

UFRRJ
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE

Síntese e avaliação farmacológica de complexos de Zn^{II} e Ag^{I} utilizando ligantes híbridos planejados como protótipos para o tratamento quimioterápico de infecções.

Henrique Jefferson de Arruda

2023



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE
COMPLEXOS DE Zn^{II} E Ag^I UTILIZANDO LIGANTES
HÍBRIDOS PLANEJADOS COMO PROTÓTIPOS PARA O
TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO DE INFECÇÕES.**

HENRIQUE JEFFERSON DE ARRUDA

Sob a Orientação da Professora
Amanda Porto Neves

e Co-orientação do Professor
Arthur Eugen Kummerle

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química.

Seropédica-RJ
Março de 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A773s Arruda, Henrique Jefferson de, 1991-
 Síntese e avaliação farmacológica de complexos de
ZnII e AgI utilizando ligantes híbridos planejados
como protótipos para o tratamento quimioterápico de
infecções. / Henrique Jefferson de Arruda. - Angra
dos Reis, 2023.
 222 f.: il.

 Orientadora: Amanda Porto Neves.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa da Pós Graduação em Química, 2023.

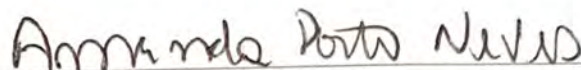
 1. Química Inorgânica. 2. Complexo. 3. Medicinal. I.
Neves, Amanda Porto, 1983-, orient. II Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa da Pós
Graduação em Química III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

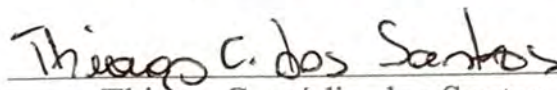
HENRIQUE JEFFERSON DE ARRUDA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, no
Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química.

TESE APROVADA EM 20/03/2023



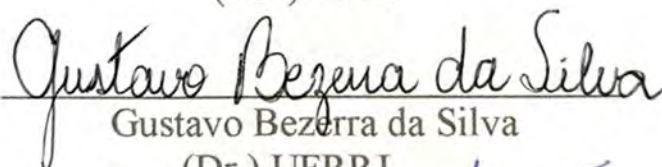
Amanda Porto Neves
(Dr^a.) UFRRJ (Orientadora)



Thiago Custódio dos Santos
(Dr.) UFRJ



Roberta Katlen Fusco Marra
(Dr^a.) UFRJ



Gustavo Bezerra da Silva
(Dr.) UFRRJ



Leonardo da Cunha Ferreira
(Dr.) UFRRJ

Dedicatória

*À memória de uma das minhas maiores
incentivadoras: Dona Geni*

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha mãe e meu irmão, Elisângela e João, por sempre apoiarem minha trajetória e minha família, principalmente nos meus piores momentos.

À minha esposa, Anne, por aguentar meus rompantes de humor e fazer do meu sonho, o sonho dela.

Aos meus filhos, Antônio e Maria Isis, por serem o alento que necessito quando estou exausto do trabalho.

À minha orientadora Amanda Neves, pela amizade, broncas e ensinamentos ao longo de todos esses 12 anos.

Ao professor Arthur Kümmerle, pela co-orientação e por sempre estar disposto a conversar e ter uma reunião de trabalho. Aos seus alunos Felipe Vitório, Larissa Pereira e Gleyton Leonel que colaboraram com o desenvolvimento deste projeto, me auxiliando com os assuntos relacionados aos ligantes e aos testes biológicos.

À professora Roberta Katlen, pelos anos que trabalhamos juntos e pela oportunidade de dar continuidade ao seu trabalho.

Ao professor Guilherme Pereira Guedes, pelas análises de difração de raios-X.

Aos técnicos Maurício (in memoriam), Vitor e Carlão, pelas análises de RMN e IV.

Ao ex-aluno de iniciação, agora químico industrial, Yuri por ter me auxiliado durante a síntese e caracterização de alguns destes complexos.

Ao ex discente de doutorado Paulo Pitasse, pela avaliação anti-t.cruzi.

Ao professor Claudio por estar disposto a realizar os ensaios antivirais.

Aos amigos que sempre me apoiam, mesmo à distância.

Aos amigos do Laboratório 19, da UFRRJ.

A todos os professores que contribuíram para minha formação.

Agradeço também ao CNPq por me conceder a bolsa durante o período de doutorado e à FAPERJ, que auxiliou os projetos aprovados em nosso laboratório. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

ARRUDA, Henrique Jefferson de. **Síntese e avaliação farmacológica de complexos de Zn^{II} e Ag^I utilizando ligantes híbridos planejados como protótipos para o tratamento quimioterápico de infecções.** 2023. 263 p. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Doenças negligenciadas são doenças causadas por agentes infecciosos e/ou parasitas e são consideradas endêmicas em populações de baixa renda. Essas doenças possuem indicadores inaceitáveis e investimentos reduzidos em pesquisa, produção de medicamentos e em seu controle, devido a isso, se fazem necessários a busca por novos fármacos que causem um melhor tratamento para os pacientes, além de que sejam menos tóxicos. Dentre as doenças negligenciadas que serão abordadas neste trabalho, se encontram a Doença de Chagas, Zika e Chikungunya, doenças essas com poucos ou nenhum fármacos disponíveis. Dentro do contexto da química medicinal, os compostos de coordenação ganharam destaque devido as suas aplicações biológicas, por exemplo, o tratamento do câncer e da artrite, agentes antimicrobianos e inibidores enzimáticos. O conhecimento estrutural e a compreensão dos mecanismos de ação farmacológica destes compostos são de fundamental importância no desenvolvimento de novos fármacos mais eficientes e seguros ao organismo humano. Derivados de cumarina e quinolona e diversos complexos metálicos vêm sendo estudados quanto ao seu potencial como agentes frente a doenças negligenciadas. Sendo assim, ligantes híbridos de cumarina-imidazopiridina do tipo 2-(**R**)-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila (**R** = 7-Et₂N (**HL1**), 7-OCH₃ (**HL2**), 8-OCH₃ (**HL3**) e 6-CH₃ (**HL4**)) e 2-(**R**)-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina (**R** = 7-OCH₃ (**HL5**), 8-OCH₃ (**HL6**)) além de quatro ligantes derivados de quinolona do tipo 3-carboetoxi-4-oxo-1,4-diidroquinolina (**R** = 6-H (**HL7**), (6-F (**HL8**), (6-Cl (**HL9**) e (6-Br (**HL10**)) foram sintetizados. Reações entre os ligantes (**HL1**-**HL6**) e cloreto de Zinco resultaram em complexos neutros do tipo [ZnCl₂(**HL1**-**HL6**)₂] (**C1**-**C6**), e as reações entre os ligantes **HL1**-**HL3** com AgNO₃ resultaram nos complexos carregados [Ag(**HL1**-**HL3**)₂]NO₃ (**C1Ag**-**C3Ag**). Sínteses envolvendo Zn(NO₃)₂, fenantrolina e os ligantes derivados de quinolona (**HL7**-**HL10**) resultaram nos complexos carregados [Zn(phen)(**HL7**-**HL10**)]NO₃ (**C7**-**C10**). As estruturas cristalinas dos complexos **C2** [ZnCl₂(**HL2**)₂] e **C3** [ZnCl₂(**HL3**)₂] foram determinadas por difração de raios X de monocristal (DRX), que revelaram a coordenação de dois ligantes através do nitrogênio do grupamento imidazopiridina, com dois cloros completando a esfera de coordenação do metal e assim, exibindo uma geometria tetraédrica distorcida. Neste trabalho, realizou-se a avaliação *anti-cruzi*, *anti-zika* e

anti-chikungunya de quatro pares de ligantes (HL1-HL4) e complexos (C1-C4). A avaliação *anti-t.cruzi* mostrou que, de forma inicial, o complexo C4 foi a molécula mais ativa, possuindo o dobro de atividade do seu ligante correspondente HL4 (12,4 e 22,8 μM), indicando que a coordenação pode estar favorecendo a atividade biológica e até mesmo ajudando a biodisponibilizar o ligante no meio biológico. Além disso, a avaliação antiviral dos ligantes (HL1-HL4) e dos respectivos complexos (C1-C4) frente a Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) mostrou que, de uma maneira geral, todos os compostos exibiram excelente atividade antiviral, com destaque para os complexos C2-C4, que foram mais ativos para ZIKV que seus ligantes de origem (IC_{50} C2-C4 = 0,8 μM , IC_{50} HL2-HL4 entre 1,2 e 4,8 μM) e cerca de 4x mais ativos que o controle Ribavirina (IC_{50} = 3,95 μM). Contra CHIKV, destaca-se o ligante HL3, que exibiu atividade mais alta que o controle e baixíssima citotoxicidade (IC_{50} = 0,67 μM e CC_{50} = 910 μM vs IC_{50} Ribavirina = 2,42 μM e CC_{50} = 297 μM), resultando em excelente índice de seletividade (SI). Diferentemente do observado para ZIKV, a atividade dos ligantes não aumentou com a complexação quando se trata do CHIKV, no entanto, todos os compostos são elegíveis a terem seus mecanismos de ação estudados, o que se encontra em andamento.

Palavras-chave: complexos de zinco, híbridos de cumarina, atividade anti-cruzi, atividade antiviral.

ABSTRACT

ARRUDA, Henrique Jefferson de. **Synthesis and pharmacological evaluation of Zn^{II} and Ag^{I} complexes using hybrid ligands designed as prototypes for the chemotherapeutic treatment of infections.** 2023. 232 p. Thesis (Doctor in Chemistry) Chemistry Institute, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Neglected diseases are diseases caused by infectious agents and/or parasites and are considered endemic in low-income populations. These diseases have unacceptable indicators and reduced investments in research, drug production and their control, because of this, it is necessary to search for new drugs that cause better treatment for patients, in addition to being less toxic. Among the neglected diseases that will be addressed in this work are Chagas disease, Zika and Chikungunya, diseases with few or no drugs available. Within the context of medicinal chemistry, coordination compounds gained prominence due to their biological applications, for example, the treatment of cancer and arthritis, antimicrobial agents and enzyme inhibitors. Structural knowledge and understanding of the mechanisms of pharmacological action of these compounds are of fundamental importance in the development of new, more efficient and safer drugs for the human body. Coumarin and quinolone derivatives and various metal complexes have been studied for their potential as agents against neglected diseases. Thus, coumarin-imidazopyridine hybrid linkers of the ethyl 2-(R)-2-oxo-2H-chromen-3-yl)imidazo[1,2-a]pyridine-3-carboxylate (R = 7-Et2N) (HL1), 7-OCH3 (HL2), 8-OCH3 (HL3) and 6-CH3 (HL4)) and 2-(R)-2-oxo-2H-chromen-3-yl)imidazo[1,2-a]pyridine (R = 7-OCH3 (HL5), 8-OCH3 (HL6)) plus four quinolone-derived linkers of the 3-carboethoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline type (R = 6-H (HL7), (6-F (HL8), (6-Cl (HL9) and (6-Br (HL10)) were synthesized. Reactions between ligands (HL1-HL6) and zinc chloride resulted in neutral complexes of the type $[\text{ZnCl}_2(\text{HL1-6})_2](\text{C1-C6})$, and reactions between HL1-HL3 ligands with AgNO_3 resulted in charged complexes $[\text{Ag}(\text{HL1-3})_2]\text{NO}_3$ (C1Ag-C3Ag). Syntheses involving $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, phenanthroline and the quinolone-derived ligands (HL7-HL10) resulted in the charged complexes $[\text{Zn}(\text{phen})(\text{HL7-10})]\text{NO}_3$ (C7-C10). The crystal structures of the C2 complexes $[\text{ZnCl}_2(\text{HL}_2)_2]$ and C3 $[\text{ZnCl}_2(\text{HL}_3)_2]$ were determined by single crystal X-ray diffraction (XRD), which reveals showed the coordination of two ligands through the nitrogen of the imidazopyridine group, with two chlorines completing the metal coordination sphere and thus exhibiting a distorted tetrahedral geometry. In this work, the anti-cruzi, anti-zika and anti-chikungunya evaluation of four pairs of ligands (HL1-HL4) and complexes (C1-C4) was carried

out. The anti-t.cruzi evaluation showed that, initially, the C4 complex was the most active molecule, having twice the activity of its corresponding ligand HL4 (12.4 and 22.8 μM), indicating that coordination can be favoring the biological activity and even helping to make the ligand bioavailable in the biological environment. Furthermore, the antiviral evaluation of the ligands (HL1-HL4) and respective complexes (C1-C4) against Chikungunya (CHIKV) and Zika (ZIKV) showed that, in general, all compounds exhibited excellent antiviral activity, with highlight for the C2-C4 complexes, which were more active for ZIKV than their parent ligands (IC_{50} C2-C4 = 0.8 μM , IC_{50} HL2-HL4 between 1.2 and 4.8 μM) and about 4x more active than the Ribavirin control (IC_{50} = 3.95 μM). Against CHIKV, the HL3 ligand stood out, which exhibited higher activity than the control and very low cytotoxicity (IC_{50} = 0.67 μM and CC_{50} = 910 μM vs IC_{50} Ribavirin = 2.42 μM and CC_{50} = 297 μM), resulting in excellent selectivity index (SI). Unlike what was observed for ZIKV, the activity of the ligands did not increase with complexation when it comes to CHIKV, however, all compounds are eligible to have their mechanisms of action studied, which is in progress.

Keywords: zinc complexes, coumarin hybrids, anti-cruzi activity, antiviral activity.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Híbridos de cumarinas-imidazopiridina e seus complexos de Zn^{II} e Ag^I | 24 |
| Figura 2: Derivados de Quinolona e seus complexos de Zn^{II} e fenantrolina..... | 24 |
| Figura 1.1: Estrutura química das cumarinas (C)..... | 30 |
| Figura 1.2: Estrutura química os diferentes tipos de cumarinas..... | 30 |
| Figura 1.3: Exemplos de cumarinas e suas aplicações farmacológicas. | 32 |
| Figura 1.4: Isômeros da imidazopiridina..... | 33 |
| Figura 1.5: Exemplos de imidazopiridinas e suas aplicações farmacológicas..... | 33 |
| Figura 1.6: Sistema de numeração utilizado para a atribuição de sinais nos espectros de RMN.. | 42 |
| Figura 1.7: Comparação do espectro de RMN de 1H do precursor A1 com o HL1 em $CDCl_3$. | 43 |
| Figura 1.8: Espectro de RMN bidimensional COSY para o HL3. Acoplamento entre hidrogênios próximos. Ampliação na região de 6,00 – 8,00 ppm no espectro 1D de 1H em $DMSO-d_6$ | 46 |
| Figura 1.9: Espectro de RMN de ^{13}C em DEPTQ para o HL3 em $DMSO-d_6$. | 46 |
| Figura 1.10: Espectro de RMN bidimensional HSQC para o HL3 em $DMSO-d_6$. Acoplamento entre carbonos e hidrogênios dos sistemas aromáticos através de uma ligação covalente, J_1 | 47 |
| Figura 1.11: Estrutura molecular do HL1. Elipsoides térmicos são desenhados a 40% de probabilidade. A cristalização da molécula de solvente foi omitida por razões de clareza. Códigos por cor: cinza (carbono), vermelho (oxigênio) e azul (nitrogênio). Os átomos de hidrogênio são representados como esferas brancas. | 48 |
| Figura 1.12: Sistema de numeração utilizado para a atribuição de sinais nos espectros de RMN. | 50 |
| Figura 2.1: Estruturas dos dedos de zinco com cadeias laterais, representadas como varetas, dos resíduos de cisteína e histidina conservados coordenados com um íon zinco (esfera vermelha). Sendo a projeção de seis dedos de zinco em um complexo com o DNA mostrados na parte inferior ¹² . Fonte: Adaptado de GERBASCH; G; BARBAS, 2014..... | 60 |

| | |
|--|----|
| Figura 2.2: Estruturas de fármacos contendo zinco. A) Acetato de zinco; B) sulfato de zinco utilizados no tratamento de doença de Wilson; C) propionato de zinco e D) caprilato de zinco usados como antifúngicos tópicos. | 61 |
| Figura 2.3: Estrutura conformacional proposta por Guilherme e colaboradores para o complexo diclofenaco-zinco (DCF-Zn)..... | 61 |
| Figura 2.4: Representação da estrutura do complexo $[Zn(qctmah)(NCO)_2]$ | 62 |
| Figura 2.5: A) Sulfadiazina de prata (I); B) Complexo de Ag^I com bis(carbeno N-heterocíclico) $[Ag(NHC)_2AgBr_2]$; C) Complexo de Ag^I com bis(difenilfosfino) alcanos $[Ag_2(barb)_2(mdppe)(DMSO)_2]$; D) Complexo de Ag^I com ftalazina $\{[Ag(qz-N)][BF_4]\}_n$; E) Complexos de Ag^I com quinazolina $\{[Ag(R-O)(phtz-N)](\mu-phtz-N,N')_2\}$ | 64 |
| Figura 2.6: Complexos de Ag^I contendo derivados de cumarina-carboxilatos..... | 65 |
| Figura 2.7: Complexos de Zn^{II} contendo derivados de cumarina e tendo fenantrolina como amina auxiliar. | 66 |
| Figura 2.8: Protótipos de sondas fluorescentes de Zn^{II} contendo derivados de imidazopiridina.. | 66 |
| Figura 2.9: Complexos de Zn^{II} contendo N-heterociclos do tipo benzoimidazol. | 67 |
| Figura 2.10: Espectros no infravermelho dos compostos HL1 e C1 . A região de 2800 a 1800 cm^{-1} foi omitida por não conter estiramentos..... | 74 |
| Figura 2.11: Numeração para a atribuição de sinais nos espectros de RMN. | 75 |
| Figura 2.12: Espectros de RMN de 1H em $CDCl_3$ de HL1 (400 MHz) e C1 (400 MHz)..... | 76 |
| Figura 2.13: Espectro de COSY em $CDCl_3$ para C1 | 77 |
| Figura 2.14: Unidade assimétrica de C2 e C3 com elipsóides térmicos traçados no nível de probabilidade de 40% e átomos de hidrogênio representados como esferas..... | 80 |
| Figura 2.15: Distância do centro metálico de C3 em relação ao oxigênio da lactona.. | 81 |
| Figura 2.16: Espectro de massas de alta resolução do complexo C1 | 83 |
| Figura 2.17: Espécies da fragmentação para o C1 | 83 |
| Figura 2.18: Espectros no infravermelho dos compostos HL5 e C5 . A região de 2800 a 1800 cm^{-1} foi omitida por não conter estiramentos..... | 86 |
| Figura 2.19: Numeração para a atribuição de sinais nos espectros de RMN..... | 87 |
| Figura 2.20: Espectros de RMN de 1H em $DMSO-d_6$ de HL5 (400 MHz) e C5 (400 MHz)..... | 88 |

| | |
|--|-----|
| Figura 2.21: Espectros no infravermelho dos compostos HL2 e C2Ag . A região de 2800 a 1800 cm^{-1} foi omitida por não conter estiramentos. | 92 |
| Figura 2.22: Numeração para a atribuição de sinais nos espectros de RMN..... | 94 |
| Figura 2.23: Espectros de RMN de ^1H em CDCl_3 de HL2 (400 MHz) e C2Ag (400 MHz).. | 95 |
| Figura 3.1: Representação das estruturas dos núcleos quinolona ($\text{X}=\text{C}$) e naftiridona ($\text{X}=\text{N}$) | 106 |
| Figura 3.2: Representação da estrutura da 1ª quinolona sintetizada, o ácido nalidíxico (a) e da cloroquina (b). | 106 |
| Figura 3.3: Derivados de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas em testes clínicos, pré-clínicos ou já comercializados. Adaptado de Pintille, 2012..... | 109 |
| Figura 3.4: Espectro no infravermelho do ligante HL7 | 117 |
| Figura 3.5: Numeração empregada na atribuição de sinais nos espectros de RMN de HL7-10 | 118 |
| Figura 3.6: Espectro de RMN de ^1H em $\text{DMSO}-d_6$ do HL7 (400 MHz)..... | 119 |
| Figura 4.1: Estrutura de quelatos de ciprofloxacina na proporção 1:2 (metal:ligantes) com diferentes íons metálicos. | 130 |
| Figura 4.2: Complexos de Fe^{III} e Zn^{II} contendo norfloxacina sintetizados por Gao e colaboradores..... | 130 |
| Figura 4.3: Complexo de Cu^{II} contendo ciprofloxacina sintetizado por Saha e colaboradores. | 131 |
| Figura 4.4: Complexo de Au^{III} contendo norfloxacina sintetizado por Refeat e colaboradores.. | 131 |
| Figura 4.5: Complexo piramidal de base quadrada de Zn^{II} contendo ofloxacina sintetizado por Liang-cai yu e colaboradores..... | 132 |
| Figura 4.6: Complexo de Zn^{II} contendo ciprofloxacina sintetizado por Tarushi e colaboradores. | 133 |
| Figura 4.7: Complexo de Zn^{II} contendo quinolona de terceira geração sintetizado por Tarushi e colaboradores. | 133 |
| Figura 4.8: Isômeros de fenantrolina sintetizados no século XIX. | 134 |
| Figura 4.9: Complexo de Cu^{II} contendo duas moléculas de fenantrolina sintetizado por TISATO <i>et al</i> , 2009..... | 135 |
| Figura 4.10: Complexos de Cu^{II} contendo norfloxacina sem $[\text{Cu}(\text{HNor})_2]\text{Cl}_2$ e com fenantrolina $[\text{Cu}(\text{HNor})(\text{phen})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3).3\text{H}_2\text{O}$ sintetizado por Ortiz e colaboradores..... | 136 |

| | |
|---|-----|
| Figura 4.11: Complexos de Ru ^{II} contendo fenantrolina e bipyridina sintetizados por Barton e colaboradores, possuindo PF ₆ ⁻ como contra-íon. | 136 |
| Figura 4.12: Complexos de Zn ^{II} contendo fenantrolina e bipyridina sintetizados por Agwara e colaboradores..... | 137 |
| Figura 4.13: Tautomeria ceto-enólica (A). Quinolona após desprotonação (B)..... | 141 |
| Figura 4.14: Espectros no infravermelho dos compostos HL7 e C11 | 142 |
| Figura 4.15: Numeração empregada na atribuição de sinais nos espectros de RMN de C11 - C14 | 143 |
| Figura 4.16: Espectro de RMN de ¹ H em DMSO-d ₆ do HL7 e do C11 | 145 |
| Figura 5.1: Panorama da Doença de Chagas na América Latina e no mundo..... | 157 |
| Figura 5.2: Principais formas de infecção: (A) picada do inseto; (B) transfusão de sangue; (C) via congênita; (D) ingestão de alimentos contaminados..... | 158 |
| Figura 5.3: Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i> nos hospedeiros vertebrado e invertebrado. Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (https://www.cdc.gov/)..... | 159 |
| Figura 5.4: (A) Fármacos com descoberta empírica que já estão disponíveis no mercado: Nifurtimox e Benzonidazol. (B) Fármacos com planejamento racional em fase clínica: Ravacozazol e Posaconazol..... | 160 |
| Figura 5.5: Epidemiologia dos vírus Zika, Chikungunya e Dengue. A área vermelha representa a distribuição geográfica ou os pontos de referência do vírus Zika. Fonte: Tham et al. (2018)... | 162 |
| Figura 5.6: O ciclo de vida do vírus Zika entre o mosquito Aedes e o hospedeiro humano.... | 163 |
| Figura 5.7: O ciclo de vida do vírus Chikungunya ⁵² . ADAPTADO de Thiboutot <i>et al</i> , 2010..... | 164 |
| Figura 5.8: Derivados de cumarina isolados da <i>mammea americana</i> | 165 |
| Figura 5.9: Estrutura proposta da soulamarina e os valores de IC ₅₀ reportados..... | 165 |
| Figura 5.10: Estrutura dos compostos (f) e (g) e seus respectivos valores de atividade tripanocida..... | 166 |
| Figura 5.11: Estrutura dos derivados de imidazopiridina sintetizados por Silva e colaboradores. | 166 |
| Figura 5.12: Estrutura dos derivados de imidazopiridina sintetizados por Pendem e colaboradores..... | 167 |
| Figura 5.13: Estrutura dos derivados de cumarina sintetizados por Hwo e colaboradores..... | 167 |

| | |
|--|-----|
| Figura 5.14: Estrutura do derivado de cumarina e imidazol sintetizado por Pohjala e colaboradores..... | 168 |
| Figura 5.15.: Resultados do ensaio do tempo de adição de fármacos dos ligantes (HL1-HL4) frente ao ZIKV..... | 181 |
| Figura 5.16.: Resultados do ensaio do tempo de adição de fármacos dos complexos (C1-C4) frente ao ZIKV..... | 182 |
| Figura 5.17.: Resultados do ensaio do tempo de adição de fármacos dos ligantes (HL1-HL4) frente ao CHIKV..... | 182 |
| Figura 5.18.: Resultados do ensaio do tempo de adição de fármacos dos complexos (C1-C4) frente ao CHIKV..... | 183 |

LISTA DE ESQUEMAS

| | |
|---|-----|
| Esquema 1.1: Reação de condensação de Perkin..... | 31 |
| Esquema 1.2: Reação de condensação de Pechmann..... | 31 |
| Esquema 1.3: Reação de condensação de Knoevenagel. | 31 |
| Esquema 1.4: Esquema genérico da síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina com grupamento éster (HL1-HL4). | 35 |
| Esquema 1.5: Esquema genérico da síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina sem grupamento éster (HL5-HL7). Adaptado de Kummerle, 2009..... | 38 |
| Esquema 1.6: Mecanismo proposto para formação dos ligantes (HL1-HL4); Adaptado de HUO, 2016).. | 40 |
| Esquema 2.1: Esquema geral de síntese dos complexos do tipo [ZnCl ₂ (HL1-6)] (C1-6)..... | 68 |
| Esquema 2.2: Esquema geral de síntese dos complexos do tipo [Ag(HL2-4)] (C1Ag-C3Ag)..... | 71 |
| Esquema 3.1: Síntese de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona empregando a metodologia de Gould-Jacobs. (adaptado de Gould-Jacobs, 1939)..... | 110 |
| Esquema 3.2: Síntese de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona usando a metodologia de Grohe-Heitzer. (Adaptado de Pintille, 2012). | 111 |
| Esquema 3.3: Síntese do aduto de Baylis-Hillman. Adaptado de Kim, 2000..... | 111 |
| Esquema 3.4: Síntese da 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona empregando reações catalisadas por paládio. Adaptado de Torri, 1991..... | 112 |
| Esquema 3.5: Síntese dos ciclizados de quinolona utilizados neste trabalho (HL8-HL12). Metodologia adaptada de Gould-Jacobs..... | 113 |
| Esquema 3.6: Síntese dos precursores malonatos de dietila (b1-b4)..... | 113 |
| Esquema 3.7: Síntese dos ciclizados de quinolona utilizados neste trabalho (HL7-HL10).. | 114 |
| Esquema 4.1: Síntese dos complexos de Zn ^{II} contendo derivados de quinolona e possuindo fenantrolina como amina auxiliar. Metodologia adaptada de Ortiz e colaboradores. | 138 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1.1: Principais bandas dos espectros no infravermelho (cm^{-1} , ATR) de HL1-4..... | 41 |
| Tabela 1.2: Caracterização dos sinais de RMN de ^1H dos ligantes (HL1-HL4) em DMSO- d_6 . Dados obtidos a 500 MHz..... | 45 |
| Tabela 1.3: Principais acoplamentos (C-H) apresentados no espectro HSQC (J_1) de HL3 DMSO- d_6 | 48 |
| Tabela 1.4: Principais comprimentos de ligação bem como ângulos de ligação HL1 obtidos por DRX..... | 49 |
| Tabela 2.1: Principais bandas no infravermelho (cm^{-1} , ATR) observadas nos espectros de C1-4 | 75 |
| Tabela 2.2: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para C1-4 em CDCl_3 | 79 |
| Tabela 2.3: Principais comprimentos de ligação bem como ângulos de ligação de C2 e C3 obtidos por DRX..... | 82 |
| Tabela 2.4: Medida de condutividade molar para o DMF, o eletrólito 1:1 e para os complexos sintetizados. | 84 |
| Tabela 2.5: Principais bandas no infravermelho (cm^{-1} , ATR) observadas nos espectros de C5- 7..... | 87 |
| Tabela 2.6: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para C5-6 em DMSO- d_6 | 90 |
| Tabela 2.7: Medida de condutividade molar para o DMF, o eletrólito 1:1 e para os complexos sintetizados..... | 91 |
| Tabela 2.8: Principais bandas no infravermelho (cm^{-1} , ATR) observadas nos espectros de C1Ag C3Ag | 93 |
| Tabela 2.9: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para C1Ag-C3Ag em CDCl_3 | 96 |
| Tabela 2.10: Medida de condutividade molar para o DMF, o eletrólito 1:1 e para os complexos sintetizados..... | 97 |
| Tabela 3.1: Principais bandas nos espectros de IV, pontos de fusão e rendimentos (cm^{-1} , ATR) dos compostos HL7-10 | 118 |
| Tabela 3.2: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para HL7-HL10 em CDCl_3 em 500 MHz..... | 120 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 4.1: Principais bandas nos espectros de IV (cm^{-1} , ATR) dos complexos C11-C14 | 143 |
| Tabela 4.2: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para C11-C14 em DMSO em 500 MHz..... | 146 |
| Tabela 4.3: Medida de condutividade molar para o DMF, o eletrólito 1:1 e para os complexos sintetizados (C11-C14)..... | 146 |
| Tabela 5.1: Médias e desvios-padrão dos valores de VCPR calculados para os experimentos contra amastigotas de <i>T. cruzi</i> (50 μM) e células LLC-MK2 (100 μM)..... | 174 |
| Tabela 5.2: Valores de IC_{50} (μM) e respectivos desvios-padrão calculados para os compostos testados frente a amastigotas de <i>T. cruzi</i> (cepa Tulahuen C2C4 LAcZ).. .. | 176 |
| Tabela 5.3: Citotoxicidade (CC_{50}), perfil anti-CHIKV (IC_{50}), anti-ZIKV (IC_{50}) e índice de seletividade (SI) dos compostos sintetizados por Moasmann..... | 179 |

LISTA DE ABREVIATURAS

ATR – *attenuated total reflection*

CC₅₀ - Citotoxicidade

CCD – cromatografia de camada delgada

CHIKV – vírus Chikungunya

COSY – *correlation spectroscopy*

d – duplete

dd – duplo duplete

DEPTQ – *distorsionless enhancement by polarization transfer including the detection of quaternary nuclei*

DMF – dimetilformamida

DMSO – dimetilsulfóxido

DRX – difração de raios X

IC₅₀ – concentração em que o fármaco produz 50% de seu efeito máximo.

Et₃N – trietilamina

FBS – soro fetal bovino

FT-IR – *Fourier-transform infrared spectroscopy*

IV – infravermelho

MeCN – acetonitrila

m/z – relação massa (m)/carga (Z)

P.f. – ponto de fusão

q – quarteto

RMN – ressonância magnética nuclear

SI – índice de seletividade

s – singleto

T. D – temperatura de degradação

t – tripleto

UV-Vis – Ultravioleta-visível

δ – deslocamento químico em ppm

ν – estiramento

VCPR – viabilidade celular

λ – comprimento de onda

ZIKV – vírus Zika

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| INTRODUÇÃO GERAL | 22 |
| CAPÍTULO 1: Híbridos cumarina-imidazopiridina | 28 |
| RESUMO..... | 29 |
| ABSTRACT | 29 |
| 1.1. INTRODUÇÃO | 30 |
| 1.2. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 34 |
| 1.2.1. Materiais e métodos de caracterização..... | 34 |
| 1.2.2. Síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina contendo o grupo éster (HL1-HL4)..... | 35 |
| 1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 39 |
| 1.3.1. Síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina com éster (HL1-4)..... | 39 |
| 1.3.2. Síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina sem éster (HL5-7)..... | 49 |
| 1.4. CONCLUSÕES..... | 50 |
| 1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 51 |
| CAPÍTULO 2: Complexos de Zn^{II} e Ag^I contendo híbridos de cumarina-imidazopiridina | 56 |
| RESUMO..... | 57 |
| ABSTRACT | 58 |
| 2.1. INTRODUÇÃO | 59 |
| 2.1.1. Complexos de Zn^{II}: papel no sistema biológico e uso terapêutico..... | 59 |
| 2.1.2. Complexos de Ag^I: uso terapêutico..... | 62 |
| 2.1.3. Complexos relevantes de Zn e Ag contendo núcleos cumarínicos, imidazopiridínicos ou correlatos..... | 64 |
| 2.2. MATERIAIS E MÉTODOS | 67 |
| 2.2.1. Materiais e métodos de caracterização..... | 67 |
| 2.2.2. Síntese dos complexos do tipo Zn^{II}-Cumarina-imidazopiridina | 68 |
| 2.2.2.1. Síntese dos complexos do tipo [ZnCl₂(HL1-6)] (C1-6) | 68 |
| 2.2.3. Síntese dos complexos do tipo Ag^I-Cumarina-imidazopiridina | 71 |
| 2.2.3.1. Síntese dos complexos do tipo [Ag(HL1-4)] (C7-9)..... | 71 |
| 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 73 |
| 2.3.1. Síntese dos complexos [ZnCl₂(HL1-4)] (C1-4) | 73 |
| 2.3.1.1. Caracterização estrutural dos complexos C1-4 | 74 |

| | |
|--|-----|
| 2.3.2. Síntese dos complexos [ZnCl ₂ (HL5-7)] (C5-6) | 85 |
| 2.3.2.1. Caracterização estrutural dos complexos C1-4 | 85 |
| 2.3.3. Síntese dos complexos [Ag(HL2-4)]NO ₃ (C7-9) | 91 |
| 2.3.3.1. Caracterização estrutural dos complexos C7-9..... | 92 |
| 2.4. CONCLUSÕES..... | 98 |
| 2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 99 |
| CAPÍTULO 3: Derivados de Quinolonas..... | 104 |
| RESUMO..... | 105 |
| ABSTRACT | 105 |
| 3.1. INTRODUÇÃO | 106 |
| 3.2. MATERIAIS E MÉTODOS | 112 |
| 3.2.1. Materiais e métodos de caracterização | 112 |
| 3.2.2. Síntese dos derivados de quinolona..... | 138 |
| 3.2.2.1. Síntese dos intermediários malonato de dietila (b1-b4)..... | 113 |
| 3.2.2.2. Síntese dos derivados de quinolona com grupamento éster (HL7-HL10)..... | 114 |
| 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 116 |
| 3.3.1. Síntese dos acrilatos (b1-b4)..... | 116 |
| 3.3.2. Síntese dos derivados de quinolona com grupamento éster (HL7-HL10)..... | 116 |
| 3.3.3. Caracterização estrutural..... | 117 |
| 3.4. CONCLUSÕES..... | 121 |
| 3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 122 |
| CAPÍTULO 4 : Complexos de Zinco contendo derivados de Quinolonas e Fenantrolina..... | 127 |
| RESUMO..... | 128 |
| ABSTRACT | 128 |
| 4.1. INTRODUÇÃO | 129 |
| 4.1.1. Quinolonas e seus complexos metálicos | 129 |
| 4.1.2. Fenantrolina e seus complexos metálicos | 134 |
| 4.2. MATERIAIS E MÉTODOS | 137 |
| 4.2.1. Materiais e métodos de caracterização | 137 |
| 4.2.2. Síntese dos complexos de quinolona e 1,10 fenantrolina (C11-C14)..... | 138 |
| 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 140 |

| | |
|---|-----|
| 4.3.1. Síntese dos complexos (C11-C14)..... | 140 |
| 4.3.2. Caracterização estrutural | 141 |
| 4.4. CONCLUSÕES..... | 148 |
| 4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 149 |
| CAPÍTULO 5: Avaliação da atividade citotóxica, anti-Cruzi e antiviral (Zika e Chikungunya)..... | 153 |
| RESUMO..... | 154 |
| ABSTRACT | 154 |
| 5.1. INTRODUÇÃO | 155 |
| 5.1.1. Doenças negligenciadas | 155 |
| 5.1.1.1. Doença de Chagas..... | 157 |
| 5.1.1.2.Arboviroses: Zika e Chikungunya..... | 161 |
| 5.1.2. Atividade anti-chagásica e anti-viral de derivados de cumarina e imidazopiridina..... | 164 |
| 5.2. MATERIAIS E MÉTODOS | 169 |
| 5.2.1. Atividade anti-t.cruzi..... | 169 |
| 5.2.2. Atividade anti-zika e anti-chikungunya – Ensaio realizado pelo grupo de pesquisa do Dr. Claudio Cirne-Santos – UFF | 171 |
| 5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 173 |
| 5.3.1. Atividade anti-chagásica | 173 |
| 5.3.2. Atividade antiviral..... | 179 |
| 5.4. CONCLUSÕES..... | 184 |
| 5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 185 |
| CONCLUSÕES FINAIS..... | 193 |
| ANEXOS..... | 194 |

INTRODUÇÃO GERAL

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as doenças negligenciadas podem ser caracterizadas como “um conjunto de doenças associadas à situação de pobreza, às precárias condições de vida e às iniquidades em saúde”¹. Com isso, pode-se dizer que as doenças negligenciadas são doenças que prevalecem em condições de pobreza, mas também são importantes para que o quadro de desigualdade seja mantido, visto que atrasam o desenvolvimento dos países. Os principais países com os mais baixos índices de desenvolvimento humano (IDH) e maior prevalência de doenças tropicais negligenciadas (DTN) estão localizados em regiões tropicais e subtropicais do mundo. O Brasil possui o 70º índice de desenvolvimento humano (IDH) do mundo. Nove das dez doenças tropicais negligenciadas estabelecidas pela OMS estão presentes no Brasil^{2,3}.

Apesar de haver financiamento e o mesmo ser oferecido às pesquisas relacionadas às doenças negligenciadas, nem todo o conhecimento produzido é revertido em avanços terapêuticos, tais como novos métodos diagnósticos, fármacos e vacinas⁴. Uma razão para esse quadro é o baixo interesse da indústria farmacêutica no assunto, que pode ser justificado pelo baixo potencial de retorno lucrativo, visto que a população atingida é, principalmente, de baixa renda e vive nos países em desenvolvimento⁵. Estes países, que representam 80% da população mundial, respondem por apenas 20% do mercado de medicamentos. Menos de 1% dos mais de 1300 novos medicamentos desenvolvidos nos últimos vinte e cinco anos foram destinados a essas doenças. Cerca de 90% dos recursos para pesquisa e desenvolvimento no setor farmacêutico são destinados a medicamentos contra doenças que atingem 10% da população mundial, como hipertensão e diabetes⁶. Para a população dos países em desenvolvimento, esse desequilíbrio existente entre suas necessidades e a disponibilidade de medicamentos é muito prejudicial. A doença do sono, por exemplo, atinge quinhentas mil pessoas e ameaça outras sessenta milhões na África. Apesar disso, até pouco tempo atrás, os pacientes tinham como única alternativa de cura um tratamento à base de arsênico que, além de doloroso, matava uma a cada vinte pessoas que se submetiam a ele. Já a dengue atinge cerca de cinquenta milhões de pessoas em mais de cem países. A malária, para a qual não há cura 100% eficaz, infecta mais de trezentos milhões e mata um milhão de pessoas a cada ano^{7,8}.

O uso medicinal de complexos metálicos não ocorreu de forma aleatória, como muitos pensam, esse uso já é conhecido desde a antiguidade. No entanto, após estudos realizados por Paul Ehrlich em 1909 em que administrou compostos químicos de arsênio no tratamento da sífilis⁹, esse enfoque se tornou maior. A química inorgânica medicinal ou química

bioinorgânica que identificamos atualmente foi promovida pelas descobertas de Francis Dwyer (entre 1950 e 1960) que obteve compostos polipiridínicos de rutênio com propriedades bacteriostáticas e anticancerígenas¹⁰, e mais tarde consolidada com a descoberta realizada por Rosenberg, que acidentalmente encontrou propriedades antitumorais do complexo de platina, complexo este (cisplatina) que ficou marcado na história por seu sucesso na quimioterapia do câncer^{11,12}, usado clinicamente no mundo todo¹³.

A versatilidade na produção de metalofármacos deve-se às propriedades que são características dos metais de transição e dos ligantes coordenados ao íon metálico. Os centros metálicos apresentam diferentes estados de oxidação, diferentes formas geométricas, além de particularidades cinéticas e termodinâmicas¹⁴. Segundo Ming¹⁵ (2003), diversos fármacos que desempenham atividades no sistema biológico podem apresentar diferentes habilidades farmacológicas e toxicológicas ao se coordenarem a metais como: Ni, Cu, Zn, Co ou Mn¹⁶.

Não é só de metal que um composto de coordenação é feito, pois os ligantes coordenados ao íon metálico desenvolvem papel tão importante quanto o metal na atividade biológica apresentada, seja através de sinergismo metal/ligante, seja a modificação de uma estrutura alvo, até mesmo na obtenção de um novo mecanismo de ação. Dentre as moléculas orgânicas promissoras, temos as cumarinas, que são compostos que apresentam atividades biológicas, tais como antiviral, antimicrobiana e antitumoral¹⁷. A warfarina por exemplo, é uma das cumarinas amplamente utilizadas atualmente como anticoagulante, cuja administração oral previne tromboembolismo venoso¹⁵. Outra classe orgânica bastante promissora e difundida dentro da química medicinal é a da imidazopiridina. Os compostos orgânicos derivados do núcleo imidazo[1,2-a] piridina apresentam diversas atividades biológicas¹⁸.

Uma terceira classe de grande interesse na química medicinal inorgânica são as quinolonas. A descoberta e o desenvolvimento da primeira quinolona com propriedades terapêuticas – o ácido nalidíxico – desencadeou o interesse de diversos cientistas em sintetizar e testar compostos desta família. Em muitos casos a formação de complexos quinolona – cátion divalente metálico origina compostos ainda mais ativos que os ligantes do tipo quinolônico que lhes deram origem, o que instiga a atenção por parte dos pesquisadores¹⁹. Diversos complexos deste tipo têm sido sintetizados para investigar as propriedades físico-químicas e biológicas, de modo a explorar possíveis aplicações para além da antimicrobiana²⁰.

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho consistiu na obtenção de ligantes inéditos híbridos de cumarina-*imidazopiridina* e seus complexos de Zn^{II} [ZnCl₂(HL1-6)₂] (C1-C6), e de Ag^I [Ag(HL1-3)₂]NO₃ (C1Ag-C3Ag), Figura 1.

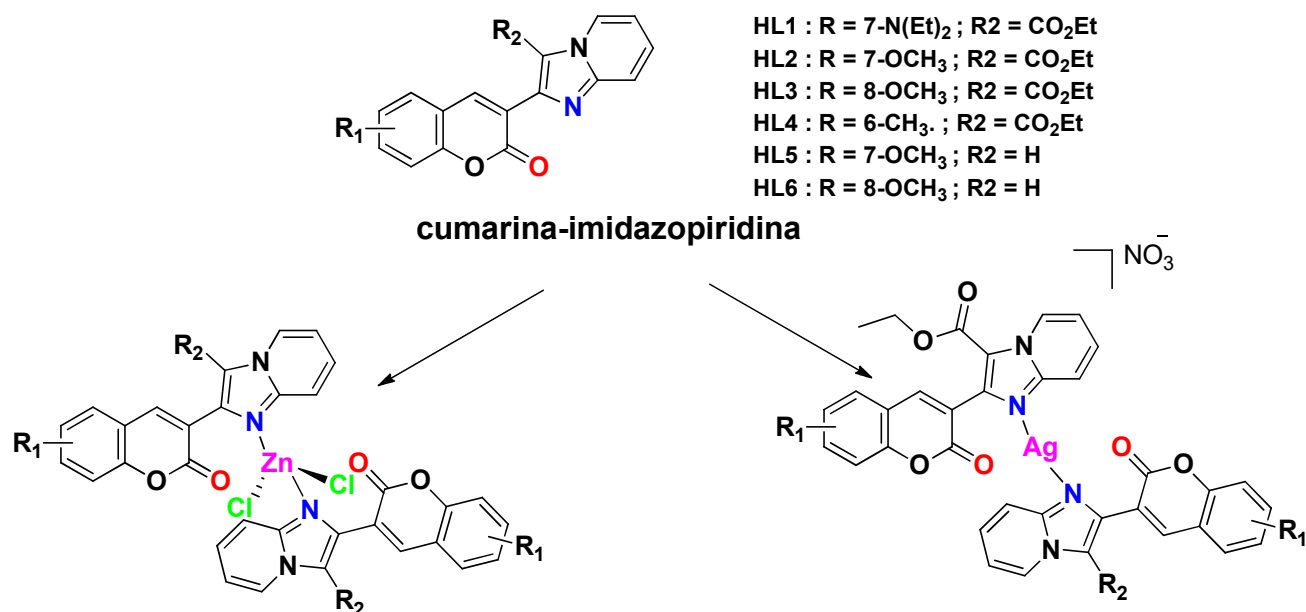


Figura 1: Híbridos de cumarinas-*imidazopiridina* e seus complexos de Zn^{II} [$\text{ZnCl}_2(\text{HL1-6})_2$] (C1-C6), e de Ag^{I} [$\text{Ag}(\text{HL1-3})_2$] NO_3 (C1Ag-C3Ag).

Também foi planejada uma classe de complexos de Zn^{II} contendo ligantes derivados de quinolonas e auxiliares do tipo fenantrolina, [$\text{Zn}(\text{phen})(\text{HLn})$] NO_3 , Figura 2.

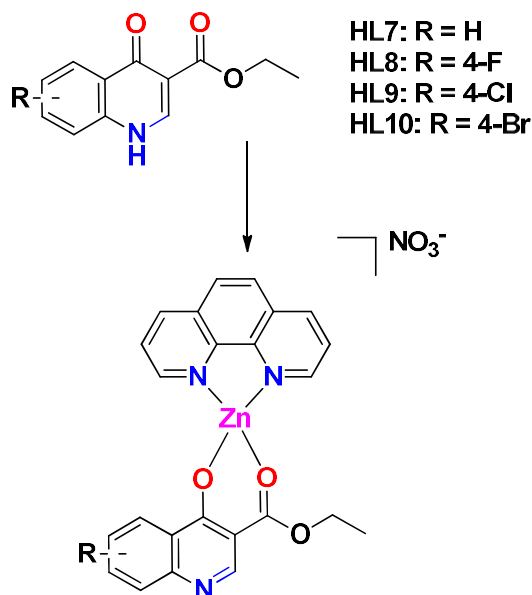


Figura 2: Derivados de Quinolona (HL7-HL10) e seus complexos de Zn^{II} e fenantrolina [$\text{Zn}(\text{phen})(\text{HL7-10})$] NO_3 (C7-C10).

Para os complexos $[ZnCl_2(HL1-6)_2]$, os ligantes se coordenariam em sua forma neutra gerando complexos também neutros, pois os cloretos completariam a carga do metal. Já para os complexos $[Ag(HL1-3)_2]NO_3$, os complexos estariam em sua forma carregada, possuindo um ânion NO_3^- fechando o balanço de carga. Para os complexos $[Zn(phen)(HL7-10)]NO_3$, derivados das quinolonas, apresentariam os híbridos coordenados de forma desprotonada, onde os complexos teriam carga +1 com um ânion NO_3^- fechando o balanço de carga.

Além da síntese, têm-se como objetivos:

- ✓ A caracterização por técnicas analíticas (p.f. e massas de alta resolução), espectroscópicas na região do infravermelho e ressonância magnética nuclear, além de DRX de monocristal, quando possível;
- ✓ Investigação da citotoxicidade dos ligantes e dos complexos frente a linhagens de células infectadas pelas formas amastigotas do *T. cruzi* em comparação com os resultados de fármacos já estabelecidos;
- ✓ Investigação da atividade anti-Zika e anti-Chikungunya dos ligantes e dos complexos.
- ✓ Estudo do mecanismo de ação dos compostos mais potentes frente a ZIKV e CHIKV.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE). Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT). Pesquisa em saúde no Brasil. Revista de Saúde Pública, v. 42, n. 4, 2008a.
- 2 – SHAHPAR, C.; LEE, CT.; WILKASON, C. *et al.* Protecting the world from infectious disease threats: now or never. **BMJ Global Health**, v. 4, p. 1885, 2019.
- 3 – Neglected tropical diseases. https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/. Accessed 18 Maio 2023.
- 4 – Fitzpatrick CNU, Lenk U, de Vlas SJ, Bundy DAP. An Investment Case for Ending Neglected Tropical Diseases. In: Disease Control Priorities (third edition), vol. 6. Washington (DC): The International Bank for Reconstruction and Development / The World Bank; 2017.

- 5 – CHIRAC, P.; TORREELE, E. Global framework on essential health R&D. **The Lancet**, v. 367, n. 9522, p. 1560-1561, 2006.
- 6 – AERTS, C.; SUNYOTO, T.; TEDIOSI, F.; SICURI, E. Are public-private partnerships the solution to tackle neglected tropical diseases? A systematic review of the literature. **Health Policy**, v. 121, p. 745-54, 2017.
- 7 – CONTEH, L.; ENGELS, T.; MOLYNEUX, D. H. Socioeconomic aspects of neglected tropical diseases. **The Lancet**, v. 375, n. 9710, p. 239-247, 2010.
- 8 – ZHOU, XN.; LEONARDO, L.; BERGQUIST, R. Preface: Sustained cooperation on research and control of neglected tropical diseases among multisectors and multipartners across borders in Southeast Asia. **Adv Parasit**, v. 105, 2019.
- 9 – FARIAS, R. F. Química de coordenação: fundamentos e atualidades. 2. ed. São Paulo: Átomo, 2009.
- 10 – DWYER, F. P. *et al.* Inhibition of landschuetz ascites tumour growth by metal chelates derived from 3, 4, 7, 8-tetramethyl-1, 10-phenanthroline. In: VOUSDEN, K. **Brit J Cancer**, v. 19, n. 1, p. 195-199, 1965.
- 11 – ROSENBERG, B. *et al.* Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. SKIPPER, M. (Ed.). **Nature**, v. 222, n. 5191, p. 385, 1969.
- 12 – ROSENBERG, B.; Van Camp, L.; Grimley, E. B.; Thomson, A. J. The inhibition of growth or cell division in *Escherichia coli* by different ionic species of platinum(IV) complexes. **J Biol Chem**, v. 25, p. 1347-1352, 1967.
- 13 – MIRANDA, V. M. "Medicinal inorganic chemistry: an updated review on the status of metallodrugs and prominent metallodrug candidates" **Rev Inor Che**, v. 42, p. 29-52, 2022.

- 14 – RODRIK-OUTMEZGUINE, V. S. *et al.* Overcoming mTOR resistance mutations with a new-generation mTOR inhibitor. **Nature**, v. 534, n. 7606, p. 272, 2016.
- 15 – FERREIRA, M.; RIBEIRO, B.; SEABRA, C.L.; FERREIRA, A.R.; GAMEIRO, P. Fluoroquinolone Metalloantibiotics: Fighting *Staphylococcus aureus* Biofilms. **Micro**, v. 2, p. 410-425, 2022.
- 16 – LAWRENCE, Geoffrey A. Introduction to coordination chemistry. New Jersey: John Wiley & Sons, 2010.
- 17 – PEREIRA, T. M.; FRANCO, D. P.; VITORIO, F.; KUMMERLE, A. E. Coumarin compounds in medicinal chemistry: some important examples from the last years. **Curr Top Med Chem**, v. 18, n. 2, p. 124-148, 2018.
- 18 – VANDA, D.; Zajdel, P; Soural, M. Imidazopyridine-based selective and multifunctional ligands of biological targets associated with psychiatric and neurodegenerative diseases. **Eur J Med Chem**, v.181:111569, 2019.
- 19 – DINE, I.; MULUGETA, E.; MELAKU, Y.; BELETE, M. Recent advances in the synthesis of pharmaceutically active 4-quinolone and its analogues: a review. **RSC Adv**, v. 13, p. 8657-8682, 2023.
- 20 – PHAM, T. D. M.; ZIORA, Z. M.; BLASKOVICH, M. A. T. Quinolone antibiotics. **Med chem comm**, v. 10, p. 1719-1739, 2019.
- 21 - KONTOGIORGIS, C.; DETSI, A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D. Coumarin-based drugs: a patent review (2008–present). **Exp Opi Therap Patents**, v. 22, n. 4, p. 437-454, 2012.
- 22 - THOTA, S., RODRIGUES, D. A., PINHEIRO, P. D. S. M., LIMA, L. M., FRAGA, C. A., & BARREIRO, E. J. N-Acylhydrazones as drugs. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 28, p. 2797-2806, 2018.

Capítulo 1: Ligantes Híbridos de cumarina-imidazopiridina

RESUMO

Este capítulo aborda a síntese e a caracterização de sete híbridos inéditos do tipo cumarina-imidazopiridina (**HL1-7**). Inicialmente foram descritos procedimentos reacionais para a obtenção de cumarinas e de compostos híbridos similares já apresentados na literatura e, em seguida, uma discussão sobre as metodologias abordadas e alguns mecanismos de reação. Nos tópicos posteriores, dados de espectroscopia no infravermelho, de ressonância magnética nuclear (1D e 2D) de ^1H e ^{13}C , bem como a descrição da estrutura de **HL1** determinada por Difração de raios-X de monocristal, serão reportados e analisados, delineando a caracterização estrutural dos ligantes.

ABSTRACT

This chapter describes the synthesis and characterization of seven novel coumarin-*imidazopiridines* hybrids (**HL1-5**). Initially, the methodologies for the synthesis of coumarins and their derivatives are reported, followed by a discussion on the procedures and some reactions mechanisms. In the subsequent topics, IR, ^1H , ^{13}C NMR (1D and 2D) spectroscopy data, as well as the description of the crystalline structure of **HL1**, determined by X-ray single crystal analyses are presented and analyzed, delineating the structural characterization of the ligands.

1.1. INTRODUÇÃO

Os compostos heterocíclicos, devido à sua variedade na natureza e funções relacionadas ao metabolismo celular, como por exemplo, sua atuação no material genético, possuem diversas aplicações tanto como fármacos, quanto em aplicações industriais¹. Dentre estes compostos encontram-se, com papel de destaque, as cumarinas, também conhecidas como cromenonas, que são lactonas do ácido hidroxicinâmico presentes em uma ampla variedade de metabólitos secundários de plantas. Podem ser produzidas por alguns tipos específicos de fungos e bactérias^{2,3}. As cumarinas são classificadas como benzopironas, que são membros de uma família de compostos em que todas as estruturas químicas possuem um anel de benzeno (A) ligado a um anel de pirona (B). As benzopironas podem ser subdivididas em benzo- α -pironas (cumarinas) (C) e o benzo- γ -pirona (flavonoides)^{4,5} (**Figura 1.1**).

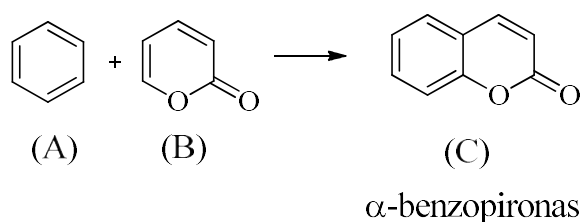


Figura 1.1: Estrutura química das cumarinas (C).

O nome cumarina é originado do tupi “kumarú” nome dado à árvore *Dipteryx odorata*, popular no norte do Brasil, de onde foram isoladas das suas sementes as primeiras cumarinas por Vogel em 1820⁶. Podem ser classificadas em: simples (**1**), furanocumarinas (**2**), piranocumarinas (**3**), cumarinas com substituintes no anel pirona (**4**) e cumarinas miscelâneas (**5**) (**Figura 1.2**)⁷.

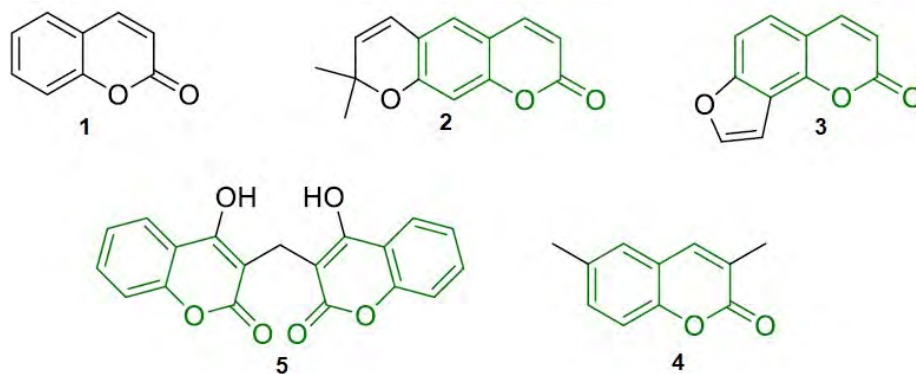
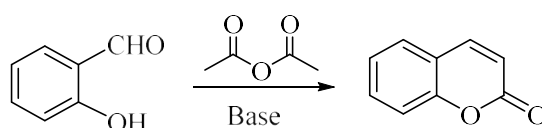


Figura 1.2: Estrutura química os diferentes tipos de cumarinas.

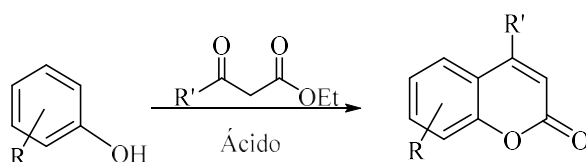
Existem mais de 1300 cumarinas isoladas de plantas, bactérias e fungos obtidas através de sua rota biossintética a partir do ácido chiquímico ou pela via dos poliketídeos^{8,9,10}. Também podem ser obtidas sinteticamente pelas reações de Perkin, Pechmann e de Knoevenagel^{11,12}.

A reação de Perkin foi a primeira reação de condensação descrita envolvendo o núcleo cumarínico em 1868¹³. Como mostra o esquema 1.1, a reação de Perkin consiste na formação núcleo cumarínico por condensação aldólica, de *orto*-hidroxibenzaldeído aromático e um anidrido ácido, na presença de um sal alcalino como catalisador¹⁴.



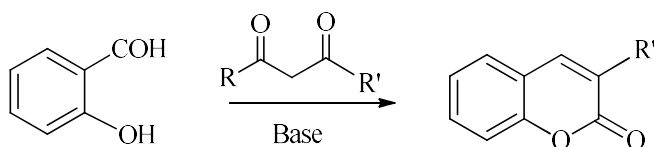
Esquema 1.1. Reação de condensação de Perkin.

Já a reação de Pechmann foi descrita pela primeira vez em 1883 como uma síntese eficiente de cumarinas, que consiste na condensação de um fenol com β -ceto éster na presença de um catalisador ácido como mostra o esquema 1.2^{15,16}. Essa rota sintética foi otimizada com reação livre de solvente, no micro-ondas, obtendo-se altos rendimentos e, diante disso, tem sido frequentemente usada para obter cumarinas e outras benzopironas com propriedades biológicas e para o uso industrial¹⁷.



Esquema 1.2. Reação de condensação de Pechmann.

A reação de Knoevenagel (Esquema 1.3) foi primeiramente publicada em 1894. A reação de condensação consiste na reação de um aldeído com dietil malonato na presença de amônia ou amina como catalisador como mostra o esquema 1.3¹⁸. A reação é catalisada por bases fracas ou pela combinação de aminas com ácido carboxílico ou ácido de Lewis.



Esquema 1.3. Reação de condensação de Knoevenagel.

Diante de suas propriedades farmacológicas, bioquímicas e terapêuticas, as cumarinas têm ganhado grande enfoque na química medicinal devido à sua atuação como antibióticos, antiparasitários, antifúngicos, anticoagulante, anti-inflamatórios, antibactericida e outros (Figura 1.3)^{19,20}, dentre outras propriedades como as relacionadas ao sistema nervoso central (SNC), sendo alvo de pesquisa para o tratamento da Doença de Alzheimer (DA) e apresentando uma ampla quantidade de compostos com grande variabilidade de atividades biológicas²¹.

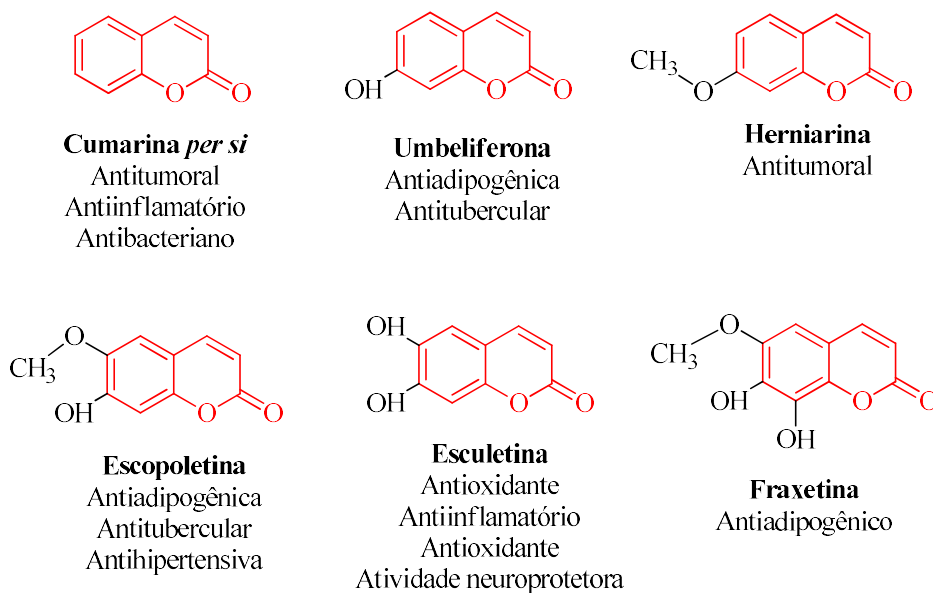


Figura 1.3. Exemplos de cumarinas e suas aplicações farmacológicas.

Como dito no início deste capítulo, a química dos heterocíclicos tem sido alvo de inúmeras pesquisas para projetar, sintetizar e explorar esqueletos com aplicações farmacêuticas^{22,23}. O uso de heteroátomos nestes esqueletos, principalmente nitrogênio, apresenta um grande enfoque e diversas linhas de pesquisa, devido a suas inúmeras aplicações em várias disciplinas como medicina, química, organometálicos e ciência dos materiais^{24,25}. Dentro destes compostos encontram-se as imidazopiridinas (IMs), que são heterociclos nitrogenados que possuem um anel imidazol fundido com anel piridínico²⁶.

São compostos que podem apresentar diferentes isômeros: imidazo[1,2-*a*]piridinas (Im[1,2-*a*]), imidazo[1,5-*a*]piridinas, imidazo[4,5-*b*]piridinas e imidazo[4,5-*c*]piridinas, classificadas de acordo com a posição dos átomos de nitrogênio resultando em diferentes anéis de imidazol e piridina e cada um com suas características e propriedades físico-químicas sendo as IMs [1,2-*a*] a forma mais conhecida (Figura 1.4)^{27,28}.

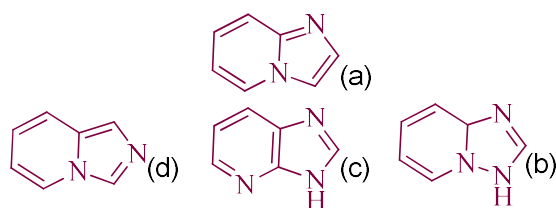


Figura 1.4. Isômeros da imidazopiridina.

Estes compostos apresentam uma ampla aplicação farmacológica apresentando atividades como antibacteriana, anticâncer, antiviral, anti-inflamatória, antitumoral, antiparasitária, agentes antipiréticos, agentes antituberculares, analgésicos, no tratamento de hepatite C e HIV. Apresentam também novas utilidades como herbicidas e fungicidas^{29,30}.

Além de serem blocos de construção muito populares de diversas estruturas as IMs[1,2- *a*] estão presente em uma série de compostos biologicamente ativos, incluindo produtos naturais e fármacos (Figura 1.5), por exemplo, saripidem, zolpidem (que é um dos medicamentos mais populares para o tratamento de insônia); além do mioprofeno (analgésico e antiinflamatório não esteroidal) e ácido minodrônico (osteoporose)^{28,30}.

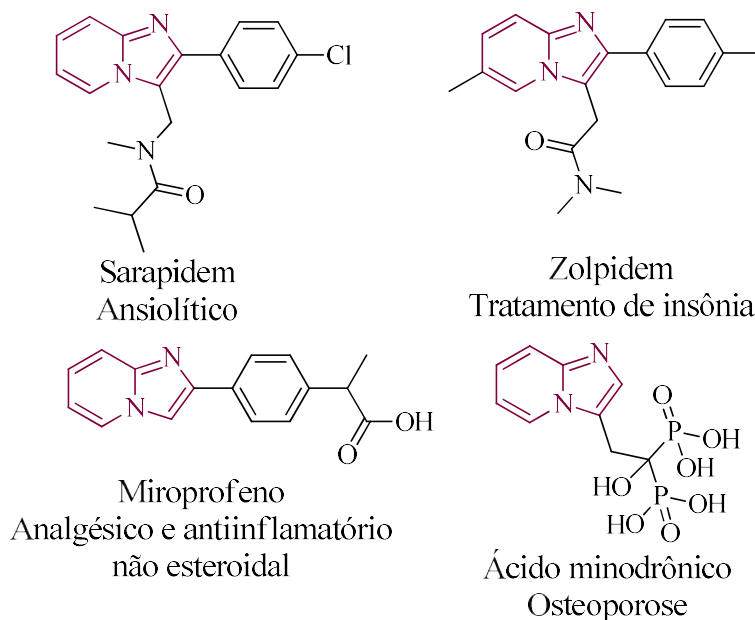


Figura 1.5. Exemplos de imidazopiridinas e suas aplicações farmacológicas.

1.2. MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1. Materiais e métodos de caracterização

Os salicialdeídos foram utilizados sem qualquer tratamento prévio. Os solventes utilizados: metanol (Vetec), etanol (Vetec), éter etílico (Vetec), diclorometano (Vetec), DMF (Vetec), DMSO (Vetec) e acetona (Vetec) foram usados como recebidos.

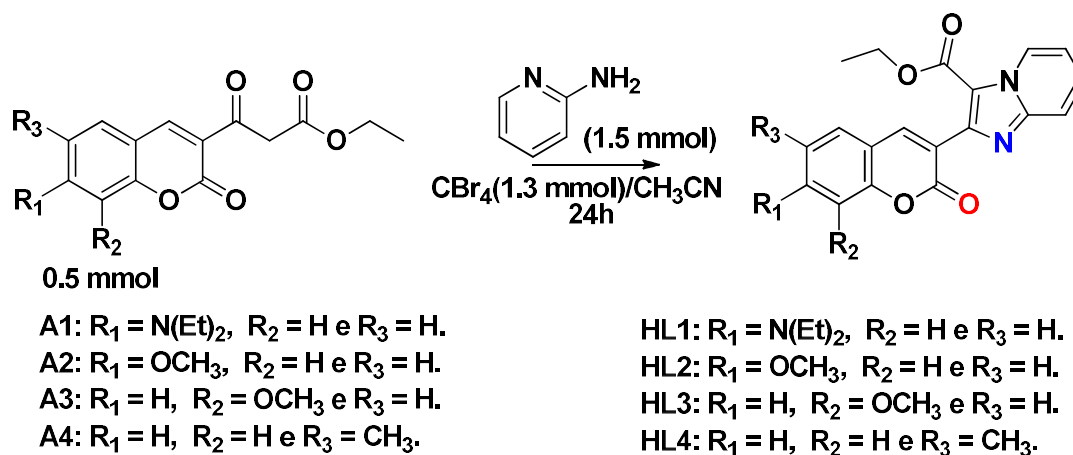
A purificação dos compostos foi realizada a partir da técnica de cromatografia líquida de adsorção em coluna flash, Isolera Biotage, modelo ISO-4SV (ICE-UFRRJ). Para a confecção da pastilha, utilizou-se sílica gel 70-230 mesh (Merck). Como fase móvel, foram utilizadas as misturas solventes como hexano/acetato de etila 30% e 50% ou diclorometano/metanol 5% de acordo com as propriedades físico-químicas de cada componente.

O ponto de fusão dos ligantes foi medido em um aparelho AAKER PMF II, no Departamento de Química da UFRRJ. Os espectros na região do infravermelho foram obtidos no modo ATR com 64 scans e resolução de 1 cm^{-1} em espectrofotômetro FT-IR Bruker Vertex 70, no Instituto de Química da UFRRJ, e atribuídos os valores de número de onda em cm^{-1} . Os espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , COSY, DEPT-Q, HSQC foram obtidos em espectrofotômetros Bruker Ultrashield Plus (RMN de ^1H : 400 ou 500 MHz e RMN de ^{13}C : 100 ou 125 MHz), em CDCl_3 e/ou DMSO-d_6 no Instituto de Química da UFRRJ. Os espectros foram interpretados utilizando o programa ACD Labs Processor 12.0.

A estrutura cristalina do HL1, obtida após evaporação lenta de solução etanólica, foi determinada por difração de raios X por monocristal no Laboratório de Difração de Raio-X (LDRX -UFF), pelo Prof. Guilherme Pereira Guedes em um difratômetro D8 Venture (Bruker), usando radiação $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0,7107\text{ \AA}$) em temperatura ambiente. O refinamento dos parâmetros de célula unitária foi realizado com o programa APEX2³¹. A redução dos dados foi feita utilizando o programa SAINT³². A correção de absorção foi feita utilizando reflexões equivalentes através do programa SADABS³³. A resolução da estrutura cristalina foi realizada nos programas SHELXS-97 e SHELXL-2014³⁴. As imagens das unidades moleculares dos complexos em forma de elipsóides foram obtidas no programa Mercury.

1.2.2. Síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina contendo o grupo éster (HL1-HL4)

Os ligantes imidazopiridínicos (HL1-HL4) e os derivados cumarínicos do tipo β -cetoéster (A1-A4) foram sintetizados em parceria com o aluno de doutorado Felipe Vitório, do grupo do LadMol-QM em sua forma pura, utilizando e adaptando metodologias já descritas na literatura^{23,25,28}, esquema 1.4.



Esquema 1.4: Esquema genérico da síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina com grupamento éster (HL1-HL4)

Essa reação consiste na condensação de Knoevenagel entre o respectivo β -cetoéster (0,5 mmol – A1-A4) e a 2-aminopiridina (1,5 mmol) refluxando em 5,0 mL de CH_3CN por 24h usando CBr_4 (1,3 mmol) como agente de bromação/catalisador. A imidazopiridina correspondente (HL1-HL4) foi obtida após colocar o conteúdo da reação na geladeira e forçar a precipitação do sólido da reação, que foi filtrado e lavado com CH_3CN gelado e seco, purificando-se posteriormente o sólido através de coluna automática de sílica (ISOLERA), utilizando hexano/acetato (50%) como eluente, obtendo-se 90% de rendimento.

HL1: 2-(7-(dietilamino)-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila

Rendimento: 90%

P.F: 200°C

RMN ¹H (500 MHz)CDCl₃: H₆' = 9,34 (1H, d, ⁴J = 1Hz, ³J = 7,08); H₄ = 7,94 (1H, s); H₃' = 7,35 (1H, d, ³J = 9,14 Hz); H₄' = 7,32 (1H,dt); H₅' = 7,27 (1H, d, J = 9,14 Hz); H₅ = 7,05 (1H, d, ³J = 7,08 Hz, ⁴J = 1 Hz); H₆ = 6,56 (1H, d, ³J = 9,14Hz, ⁴J = 2,35); H₈ = 6,55 (1H, d, J = 2,4); OCH₂ = 4,35 (2H, q); NCH₂ = 3,46 (4H, q); CH₃ = 1,28 (9H, m). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃:** C₁₀' = 160,89; C₂ = 156,85; C₇ = 151,00; C₉ = 147,20; C₂' = 147,20; C₄ = 143,18; C₅ = 140,36; C₆' = 129,46; C₃' = 127,91; C₆ = 127,74; C₈ = 96,31; C₄' = 117,38; C₉' = 116,07; C₁₀ = 113,77; C_{3 e 8}' = 108,44; C₈ = 97,14; C₁₁' = 60,72; C_{11 e 13} = 44,81; C₁₂' = 14,15; C_{12 e 14} = 12,55.

IV ATR (64 scans): 1690 (νC=O éster), 1673 (νC=O lactona), 1610 (νC=N), 1583 (νC=C), 1471, 1340, 1280, 1208, 1077, 953.

Fórmula molecular: C₂₃H₂₃N₃O₄.

HL2: 2-(7-metoxi-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila

Rendimento: 79%

P.F. : >260°C

RMN ¹H (500 MHz)CDCl₃: H₆' = 9,35 (1H, d, J = 6,81Hz); H₄ = 8,01 (1H, s), H₃' = 7,73 (1H, d, J 8,82Hz); H₄' = 7,47 (2H, t); H₅' = 7,28 (1H, d, J = 8,27); H₅ = 7,08 (1H, t); H₆ = 6,90 (1H, d, J = 7,89 Hz); H₈ = 6,89 (1H, t); OCH₂ = 4,34 (2H, q); OCH₃ = 3,92 (3H, s); CH₃ = 1,27 (3H, t). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃:** C₁₀' = 163,10; C₂ = 160,46; C₇ = 160,06; C₉ = 155,93; C₂' = 147,70; C₉' = 146,33; C₄ = 142,60; C₅ = 129,33; C₆' = 127,94; C_{3 e 8}' = 120,37; C_{4 e 5}' = 117,54; C₃' = 114,44; C₆ = 112,88; C₈ = 100,65; C₁₁' = 60,83; C₁₁ = 55,84; C₁₂' = 14,06.

IV ATR (64 scans): 1702 (νC=O éster), 1673 (νC=O lactona), 1610 (νC=N), 1581 (νC=C), 1490, 1361, 1277, 1203, 1011, 944.

Fórmula molecular: C₂₀H₁₆N₂O₅.

HL3: 2-(8-metoxi-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila

Rendimento: 64%

P.F. : 178°C (P.D)

RMN ¹H (500 MHz)CDCl₃: H_{6'} = 9,34 (1H, d, J = 6,90Hz); H₄ = 8,05 (1H, s); H_{3'} = 7,74 (1H, d, J 9,10Hz); H_{4'} = 7,49 (2H, t); H_{5'} = 7,28 (1H, t); H_{5 e 6} = 7,15 – 7,09 (2H, d); H₇ = 7,07 (1H, t); **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃:** C_{10'} = 160,50; C₂ = 159,20; C₈ = 147,14; C₉ = 147; C_{2'} = 145,85; C₄ = 142,60; C_{6'} = 127,01; C_{3 e 8'} = 128,01; C_{6 e 4'} = 124,43; C_{9'} = 124,29; C₅ = 119,72; C₁₀ = 119,66; C₇ = 114,55; C_{3' e 5'} = 113,91; C_{11'} = 60,90; C₁₁ = 56,29; C_{12'} = 14,11.

IV ATR (64 scans): 1726 (νC=O éster), 1686 (νC=O lactona), 1609 (νC=N), 1583 (νC=C), 1450, 1322, 1287, 1220, 1020, 959.

Fórmula molecular: C₂₀H₁₆N₂O₅.

HL4: 2-(6-metil-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila

Rendimiento: 56%

P.F. : 240° C

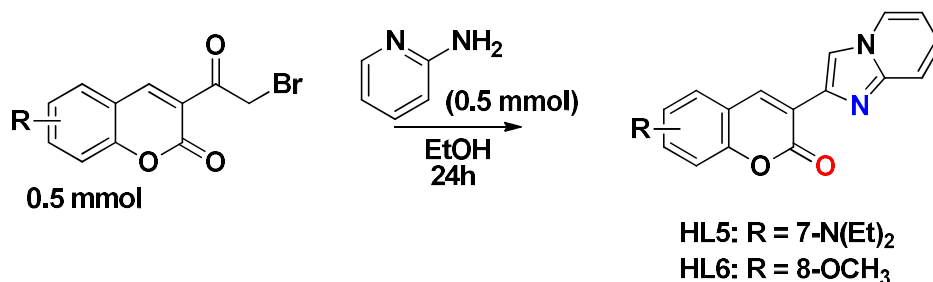
RMN ¹H (500 MHz)CDCl₃: H_{6'} = 9,35 (1H, d); H₄ = 8,01 (1H, s); H_{3'} = 7,74 (1H, d, J = 8,80Hz); H_{5'} = 7,48 (2H, t); H₇ = 7,39 (1H, d, J = 7,39 Hz); H₅ = 7,36 (1H, s); H₈ = 7,32 (1H, d, J = 8,6 Hz); H_{5'} = 7,09 (2H, dt); OCH₂ = 4,34 (2H, q); CH₃ = 2,35 (3H, s); CH₃ = 1,25 (3H, t). **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃:** C_{10'} = 160,49; C₂ = 160,01; C₉ = 152,17; C_{2'} = 143,03; C₆ = 146,12; C₄ = 142,39; C_{8'} = 134,31; C₃ = 123,91; C_{9'} = 118,79; C₁₀ = 114,12; C_{6'} = 133,09; C₇ = 128,05; C₅ = 127,97; C_{4'} = 117,62; C_{3' e 5'} = 114,52; C_{11'} = 60,48; C₁₁ = 20,81; C_{12'} = 14,02.

IV ATR (64 scans): 1725 (νC=O éster), 1696 (νC=O lactona), 1605 (νC=N), 1555 (νC=C), 1490, 1311, 1290, 1217, 970.

Fórmula molecular: C₂₀H₁₆N₂O₄.

1.2.3. Síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina sem o grupo éster (HL5-HL7)

Os ligantes foram sintetizados no Ladmol QM e cedidos em sua forma pura pela discente Larissa Ferreira do LADMOL-QM. Em um tubo de ensaio de borosilicato de (25 mL), onde foram adicionados 0,5 mmol de 3-(2-bromoacetyl)-cumarina (74a-c) e 0,5 mmol de 2-aminopiridina (62) em 2 mL de etanol. Em seguida, o frasco foi selado e a mistura foi agitada e aquecida a 80°C por 24h (Esquema 1.5).



Esquema 1.5: Esquema de síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina sem grupamento éster (HL5-HL6). Adaptado de Kummerle, 2009.

HL5: 2-(7-(dietilamino)-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina.

Rendimento: 63%

P.F.: 199°C

RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ / TMS (δ-ppm): H_{6'} = 8,91 (1H, d); H₄ = 8,83 (1H, s); H_{9'} = 8,76 (1H, d, J = 8,80Hz); H_{3'/H5/H4} = 7,80 (3H, m); H₆ = 7,37 (1H, d, J = 7,39 Hz); H₈ = 7,13(1H, s); H_{5'} = 7,07 (1H, d, J = 8,6 Hz); OCH₃ = 3,91 (3H, s); **RMN ¹³C (125 MHz) CDCl₃ / TMS (δ-ppm):** C2 = 162,70; C9 = 160,29; C7 = 157,92; C2' = 147,83; C8' = 138,63; C4 = 138,42; C5 = 129,27; C6' = 126,10; C9' = 125,56; C10 = 117,62; C5' = 116,95; C6 = 113,79; 113,20; C4' = 113,02; C5' = 112,43; C8 = 100,42; C11 = 56,02. **IV ATR:** 1720 (νC=O éster), 1620 (νC=N), 1410, 1391, 1289, 1201, 1112, 1043.

Fórmula molecular: C₁₇H₁₂N₂O₃.

HL6: 2-(8-(metoxi)-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina.

Rendimento: 64%

P.F.: 178°C

RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ / TMS (δ-ppm): H_{6'} = 9,06 (1H, d); H₄ = 8,79 (1H, s); H_{9'} = 8,61 (1H, d, J = 8,80Hz); H_{3'/H5} = 7,84 (2H, m); H_{4'} = 7,52 (1H, m); H₆ = 7,32 (1H, d,

$J = 7,39$ Hz); $H_{5'} = 7,08$ (1H, d, $J = 8,6$ Hz); $H_7 = 7,01$ (1H, d, $J = 8,6$ Hz); $OCH_3 = 3,89$ (3H, s); **RMN ^{13}C (125 MHz) $CDCl_3$ / TMS (δ -ppm):** $C_2 = 168,12$; $C_9 = 163,61$; $C_8 = 158,83$; $C_{2'} = 146,94$; $C_4 = 140,60$; $C_{9'} = 126,59$; $C_{5 \text{ e } 6'} = 124,75$; $C_6 = 120,50$; $C_{4'} = 114,51$; $C_{4' \text{ e } 7} = 114,04$; $C_{11} = 11,53$; $C_{6 \text{ e } 8} = 102,56$;

IV ATR (64 scans): 1684 ($\nu C=O$ éster), 1603 ($\nu C=N$), 1415, 1377, 1277, 1198, 1112, 1055.

Fórmula molecular: $C_{17}H_{12}N_2O_3$.

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

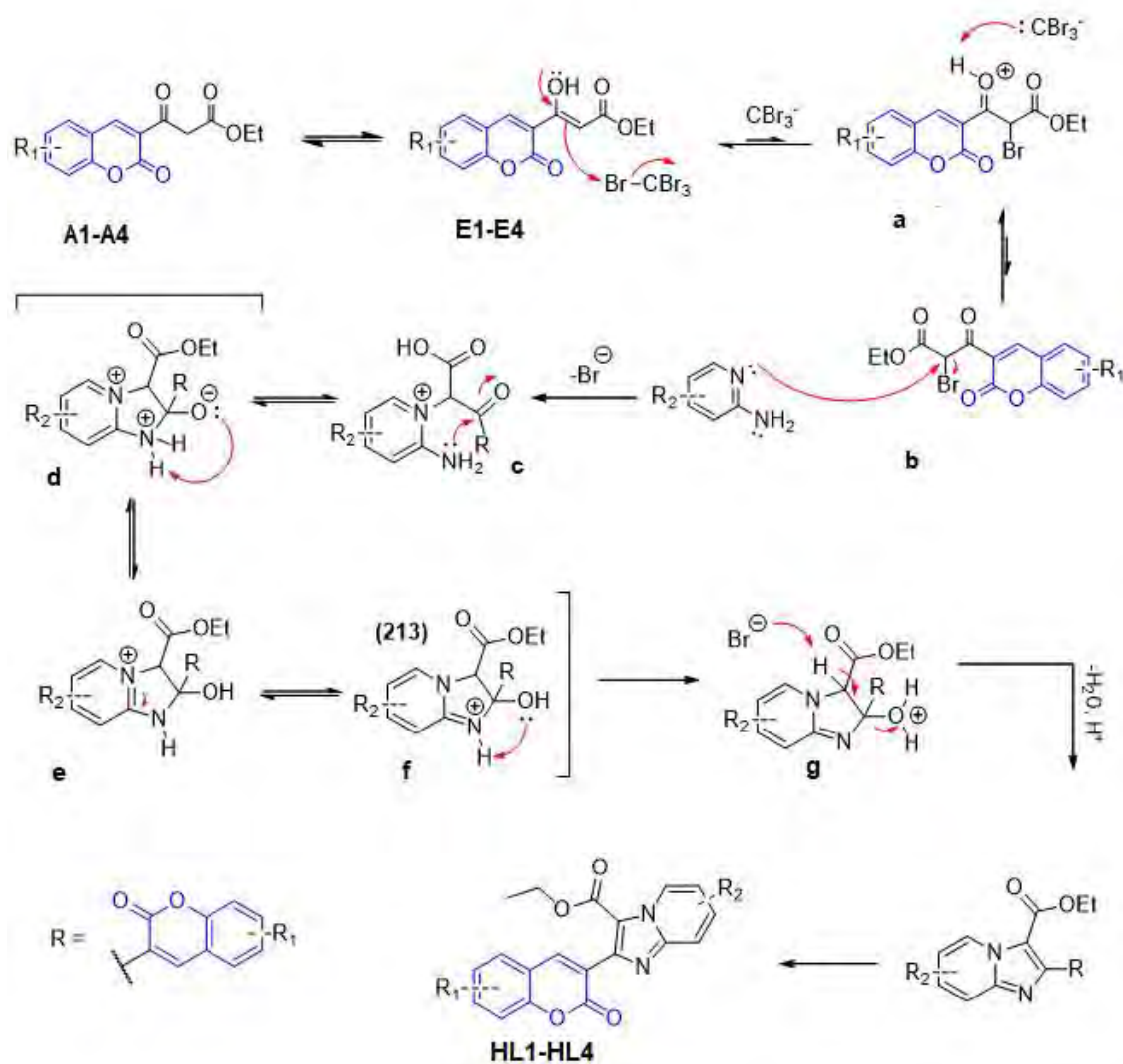
1.3.1. Síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina com éster (HL1-4)

A síntese dos ligantes inéditos **HL1-4** foi dividida em duas etapas sendo a primeira (síntese de A1-4), já descrita em literatura pelo nosso grupo de pesquisa³⁵. A primeira etapa consistiu na obtenção do núcleo cumarínico contendo um grupamento éster (**4**) através de uma condensação de Knoevenagel. Já a segunda etapa, foi obtida através de um acoplamento oxidativo na presença do tetrabromometano a aminopiridina originando os produtos HL1-HL4.

Na proposta de mecanismo representado pelo Esquema 1.5, inicialmente ocorre o equilíbrio ceto-enólico do betacetoéster (**A1-4**), sendo sua forma enólica (**E1-E4**), o nucleófilo para reação de bromação ocorrendo a adição de bromo do tetrabrometo de carbono, no carbono α -carbonílico gerando um estado de transição (a), que é desprotonado pelo íon tribromometano, formando outro intermediário (b) que reage com a aminopiridina por uma segunda substituição nucleofílica entre o bromo e o nitrogênio piridínico formando o intermediário (c). Em seguida ocorre uma adição nucleofílica acíclica da amina primária ligada ao anel piridínico, através de um ataque nucleofílico ao carbono eletrofílico da cumarina formando o estado de transição pseudo-tetraédrico (d), seguido de transferência de prótons da amina para oxigênio da carbonila formando os intermediários de ressonância, a carbinolamina neutra (e) e o íon imínio (f). Por fim, ocorre uma transferência de prótons para a hidroxila gerando o intermediário (g), seguida de eliminação de uma molécula de água, ocorre então a formação da ligação dupla carbono-carbono do composto (**HL1-4**).

A reação se mostrou dependente da reatividade da 2-aminopiridina, de acordo com os substituintes do anel heteroaromático. A 2-aminopiridina sem grupo substituinte,

proporcionou maiores rendimentos para a formação das imidazopiridinas. Por outro lado, com grupos retiradores de elétrons, como o bromo, os rendimentos tornaram-se menores³⁶. Isso ocorre porque grupos retiradores de elétrons atuam desestabilizando o estado de transição aminopiridinium, dificultando a formação dos produtos desejados. O que não ocorre quando não há substituintes ou há presença de grupos doadores de elétrons que aumentam a densidade eletrônica do anel heteroarômico, estabilizando o intermediário e diminuindo a energia de ativação para formação dos produtos (McMurry, 2012).



Esquema 1.6: Mecanismo proposto para formação dos ligantes (HL1-HL4); Adaptado de HUO, 2016).

Para confirmação dos ligantes de interesse (**HL1-4**), experimentos de determinação estrutural por IV, além de RMN de ^1H e de ^{13}C (Anexos) foram realizados. A comprovação da formação dos ligantes foi feita através da correlação com os intermediários beta-cetoésteres (A1-4).

- ***Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)***

As principais bandas de absorção dos espectros na região do infravermelho dos compostos **HL1-4** estão mostradas na **Tabela 1.1**.

Tabela 1.1: Principais bandas dos espectros no infravermelho (cm^{-1} , ATR) de **HL1-4**

| | $\nu(\text{C=O})$ | $\nu(\text{C=O})_{\text{lactona}}$ | $\nu(\text{C=N})$ | $\nu(\text{C=C})$ |
|------------|-------------------|------------------------------------|-------------------|-------------------|
| HL1 | 1690 | 1673 | 1610 | 1583 |
| HL2 | 1702 | 1673 | 1610 | 1581 |
| HL3 | 1726 | 1686 | 1609 | 1583 |
| HL4 | 1725 | 1696 | 1605 | 1579 |

Compostos contendo núcleos imidazopiridina descritos por Huo e colaboradores (2016) apresentam bandas referentes à $\nu(\text{C=O})$ em 1697 e 1686 cm^{-1} . Por outro lado, estiramentos na faixa de 1616-1606 cm^{-1} foram atribuídos à ligação C=N presente no anel imidazopiridínico³⁶.

Para **HL1**, há duas bandas referente aos $\nu(\text{C=O})$ da carbonila do éster e da lactona do anel cumarínico, em 1690 e 1673 cm^{-1} , respectivamente, já a banda em 1610 cm^{-1} é referente ao $\nu(\text{C=N})$ do grupamento imidazo[1,2-a]piridina correspondente, o que confirmou a formação dos híbridos cumarina-imidazopiridina³⁷.

- **Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

A fim de facilitar a compreensão, a figura 1.6 contém um sistema de numeração utilizado para atribuição nos espectros dos ligantes (HL1-HL4).

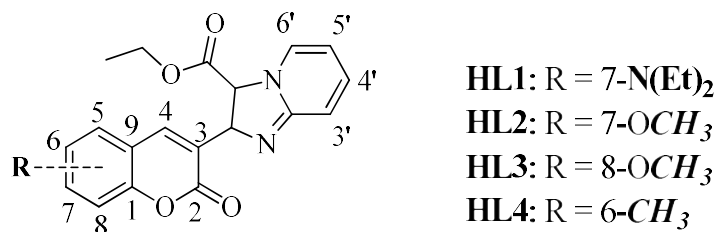


Figura 1.6: Sistema de numeração utilizado para a atribuição de sinais nos espectros de RMN.

A fim de comparação, a Figura 1,7 compara o precursor A1 com o HL1 sintetizado.

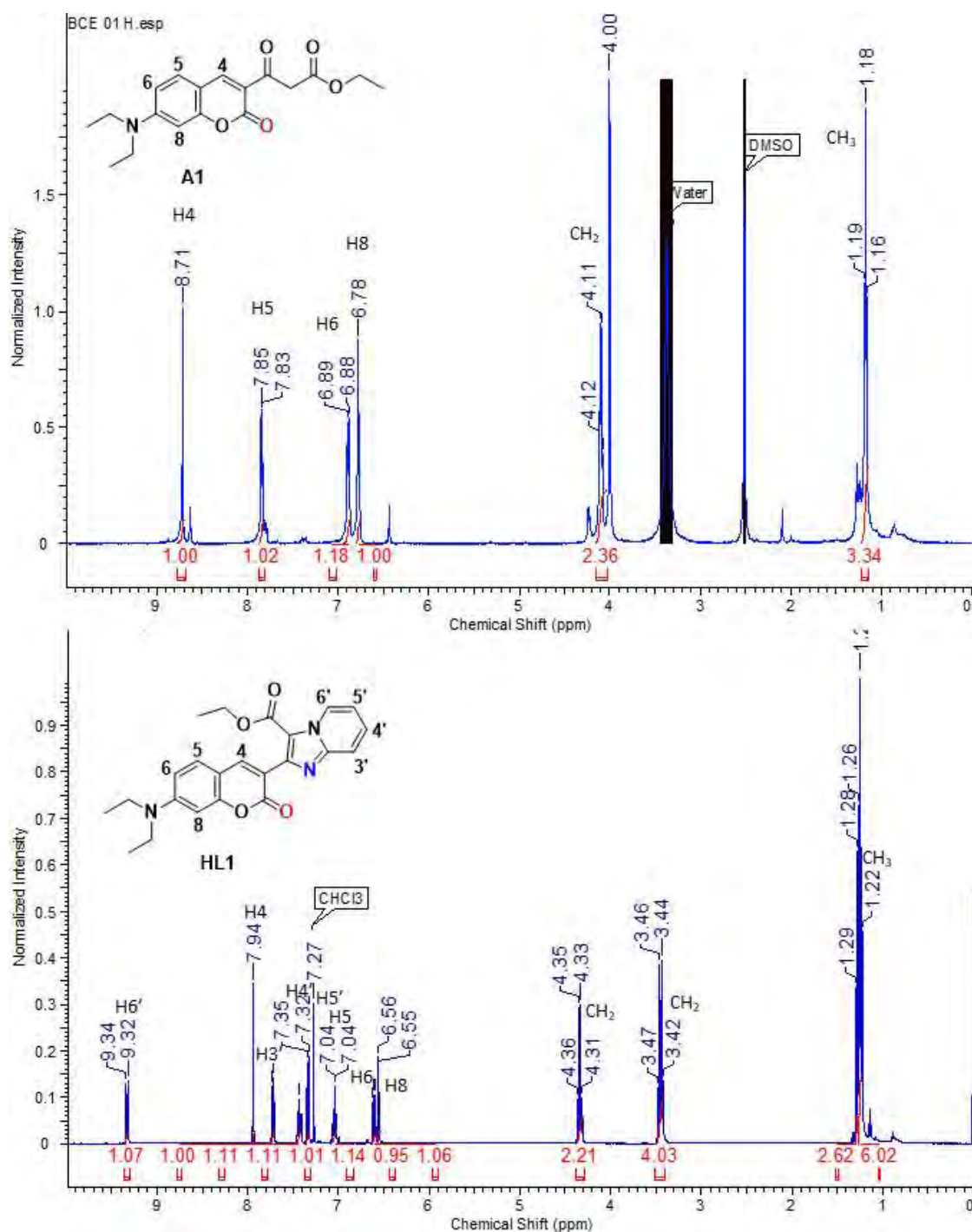


Figura 1.7: Comparação do espectro de RMN de ¹H do precursor A1 com o HL1 em CDCl₃.

Os ligantes **HL1-4** apresentam perfis bastante semelhantes em seus espectros de RMN de ¹H. A única variação encontrada é devido aos substituintes em posições diferentes, o que gera também acoplamentos diferentes. O sinal de H4, o hidrogênio mais desblindado do anel cumarínico, é visto como um singlete em δ 8,80²⁸. Os demais hidrogênios aromáticos do anel da cumarina foram atribuídos com base nos acoplamentos

observados no COSY (**Tabela 1.3** e espectros em anexo). O sinal referente a H5, em δ 7,49 foi caracterizado como um duplete devido ao acoplamento com H6. Os sinais de H6 e H8 foram verificados em deslocamento mais baixo dentre todos os hidrogênios aromáticos, na região de δ 6,53-6,84, como um duplete ou um duplo duplete e um singlete ou um duplete, respectivamente.

De maneira similar para todas as imidazopiridinas sintetizadas (HL1-HL4), o principal indicativo da formação do produto é o desaparecimento do sinal correspondente ao metileno alfa-dicarbonílico, referente ao precursor β -cetoéster (A1-A4), variando de δ 3,90- 4,00 ppm. O hidrogênio da cromenona tornou-se mais protegido, devido a presença do anel piridínico no lugar da carbonila cetônica, podendo ser observado na faixa de δ 7,95-8,56 ppm no espectro de RMN ^1H .

Identificou-se um sinal na faixa de δ 9,23-9,56 referente ao hidrogênio ortopiridínico, o que corrobora com a conclusão de ciclização e formação no núcleo imidazopiridínico.

A tabela 1.2 mostra os sinais dos espectros de RMN de ^1H para os ligantes HL1-HL4, a fim de comparação, que confirmam a formação dos híbridos e a semelhança entre eles.

Tabela 1.2: Caracterização dos sinais de RMN de ^1H dos ligantes (HL1-HL4) em DMSO- d_6 . Dados obtidos a 500 MHz.

| H | HL1 | HL2 | HL3 | HL4 |
|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) |
| 4 | 7,95 (s) | 8,01 (s) | 8,05 (s) | 8,01 (s) |
| 5 | 7,34 (d, J = 8,27 Hz) | 7,42 (d, J = 8,27 Hz) | 7,15 (m) | 7,36 (s) |
| 6 | 7,32 (d, J = 8,27 Hz) | 7,32 (d, J = 8,27 Hz) | 7,29 (m) | - |
| 7 | - | - | 7,15 (m) | 7,39 (d, J = 7,39 Hz) |
| 8 | 7,36 (s) | 7,36 (s) | - | 7,32 (d; J = 7,39) |
| 3' | 7,75 (d, J = 8,82 Hz) | 7,76 (d, J = 8,82 Hz) | 7,73 (d; J = 9,10 Hz) | 7,74 (d; J = 8,80 Hz) |
| 4' | 7,47 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,47 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,47 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,48 (dt, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) |
| 5' | 7,06 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) | 7,08 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) | 7,08 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) | 7,09 (dt, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) |
| 6' | 9,36 (d, J = 6,81 Hz) | 9,35 (d, J = 6,81 Hz) | 9,36 (d, J = 6,90 Hz) | 9,35 (d, J = 6,81 Hz) |
| OCH₂CH₃ | 4,34 (q) | 4,34 (q) | 4,34 (q) | 4,34 (q) |
| OCH₂CH₃ | 1,27 (t) | 1,27 (t) | 1,27 (t) | 1,25 (t) |
| OCH₃ | 3,92 (m) | 3,92 (s) | 3,92 (s) | - |
| NCH₂CH₃ | 1,27 (m) | - | - | - |
| NCH₂CH₃ | 3,42 (m) | - | - | - |
| CH₃ | - | - | - | 2,35 (s) |

No intuito de se determinar acoplamentos entre hidrogênios próximos foi realizado em espectro de RMN COSY³⁸ do produto **HL3** (Figura 1.8). Através deste, pôde-se verificar a interação entre o H4' e o H6' (δ 7,63 ppm – 9,22 ppm) em um acoplamento em “W”, além da interação dos hidrogênios vizinhos H5 e H6 (δ 7,84 ppm – 7,03 ppm).

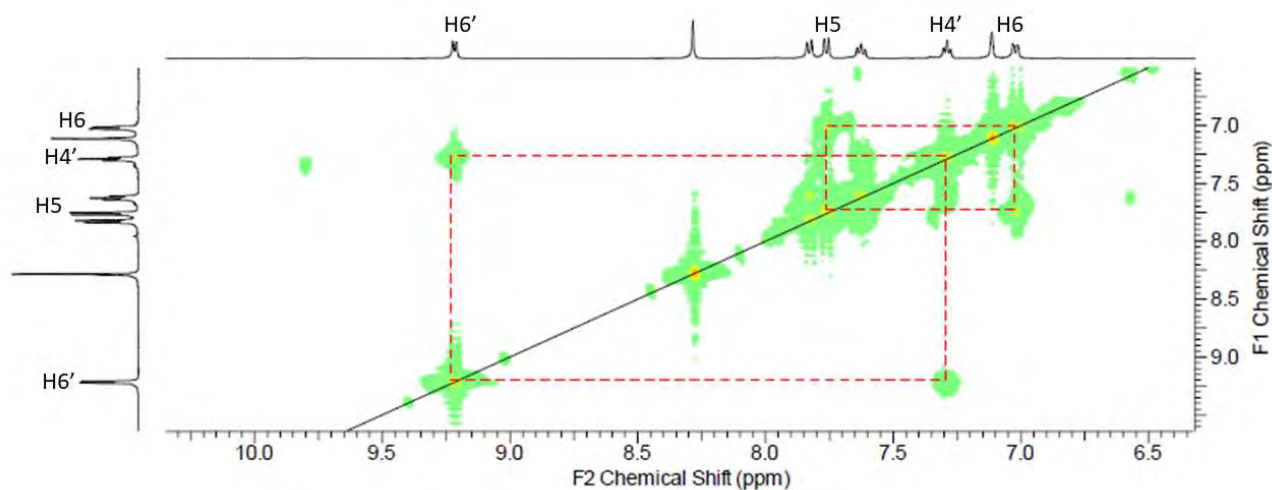


Figura 1.8: Espectro de RMN bidimensional COSY para o HL3. Acoplamento entre hidrogênios próximos. Ampliação na região de δ 6,00 – 8,00 ppm no espectro 1D de ^1H em $\text{DMSO}-d_6$.

A fim de completar e melhorar toda a caracterização, o espectro de RMN de ^{13}C em DEPTQ foi realizado, Figura 1.9.

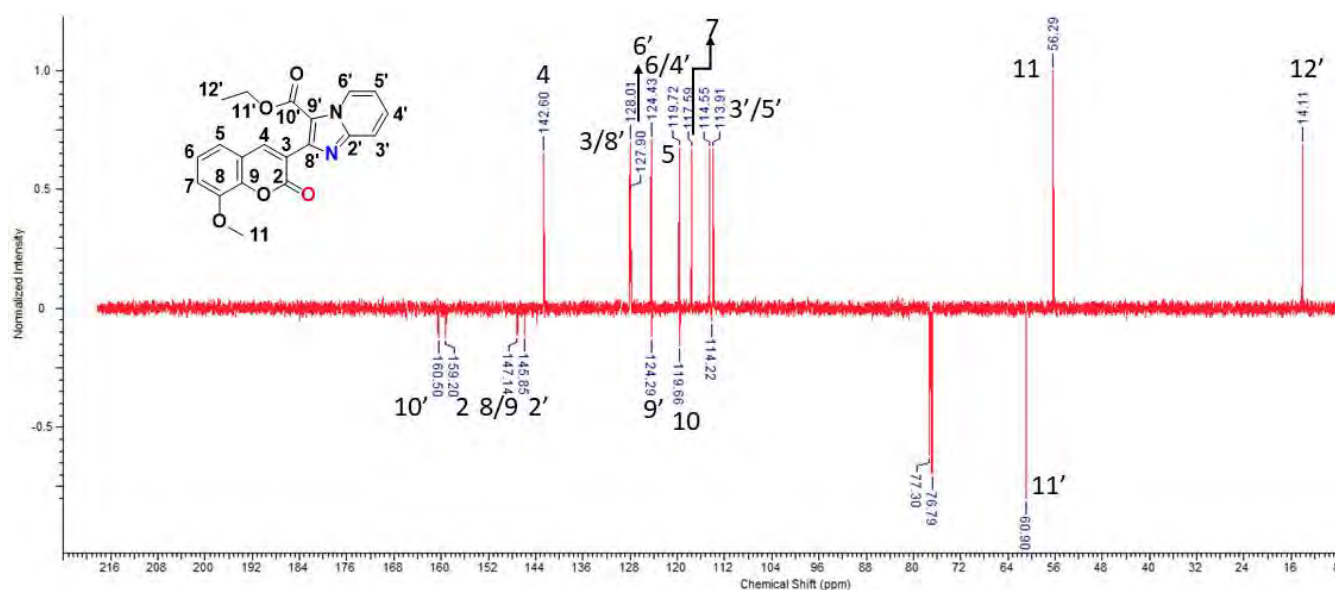


Figura 1.9: Espectro de RMN de ^{13}C em DEPTQ para o HL3 em $\text{DMSO}-d_6$.

Pela atribuição do RMN de ^{13}C DEPTQ foi possível identificar os carbonos carbonílicos, que são os mais desblindados do espectro, com destaque para o carbono 10', referente ao éster ligado ao grupamento imidazopiridínico que foi assinalado em δ 160,5, seguido do carbono 2, referente a carbonila da lactona presente no anel cumarínico que

se encontra em δ 159,2. Pode-se destacar também as atribuições dos CH₃ distintos, o carbono 11 muito mais deslocado para campo mais baixo devido ao fato de estar ligado a um oxigênio, sendo observado em δ 56,3, enquanto o CH₃ terminal do éster se encontra em δ 14,1.

Através da atribuição dos sinais no espectro de hidrogênio descritos anteriormente foi possível determinar, no espectro de carbono, os sinais correspondentes aos carbonos ligados a esses hidrogênios através de um experimento de HSQC. Este visualiza o acoplamento entre os núcleos de carbono e de hidrogênio presentes na estrutura do produto através de uma ligação covalente, J1³⁸. A Figura 1.10 demonstra o espectro de HSQC para o espectro de hidrogênio no eixo horizontal, e para o espectro de carbono no eixo vertical.

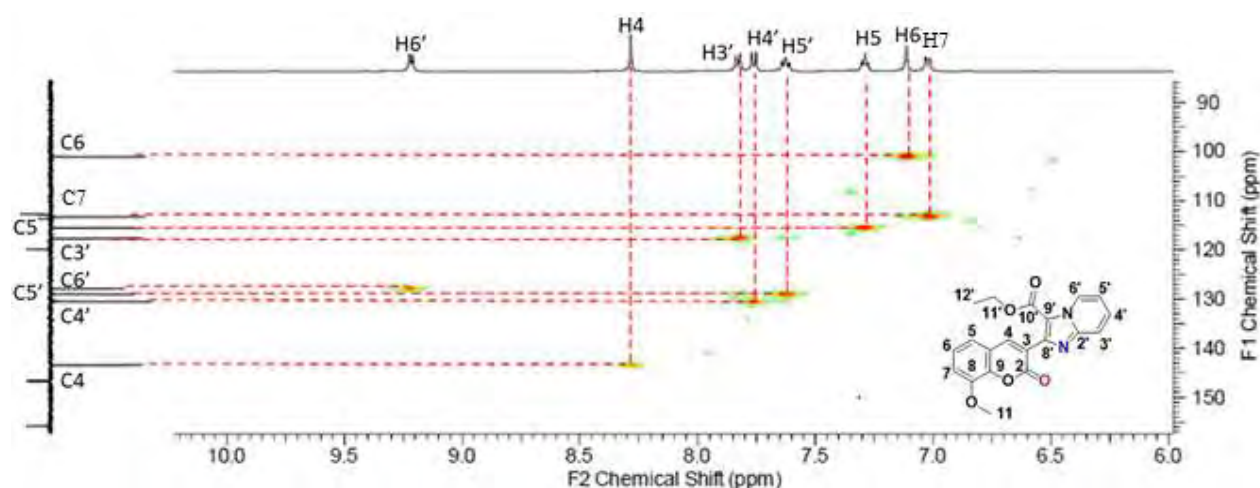


Figura 1.10: Espectro de RMN bidimensional HSQC para o **HL3** em DMSO-*d*₆. Acoplamento entre carbonos e hidrogênios dos sistemas aromáticos através de uma ligação covalente, J1.

Os acoplamentos do tipo J1 observados entre os hidrogênios e carbonos são descritos na Tabela 1.3.

Tabela 1.3: Principais acoplamentos (C-H) apresentados no espectro HSQC (J1) de **HL3** DMSO-*d*₆

| Acoplamento C-H | ¹ H | ¹³ C |
|-----------------|----------------|-----------------|
| C4-H4 | 8,28 | 143,4 |
| C5-H5 | 7,84 | 129,0 |
| C6-H6 | 7,03 | 101,3 |
| C8-H8 | 7,12 | 113,3 |
| C3'-H3' | 7,77 | 127,9 |
| C4'-H4' | 7,29 | 115,5 |
| C5'-H5' | 7,63 | 117,7 |
| C6'-H6' | 9,22 | 130,5 |

- *Análises por difração de raios X de monocristal (DRX) de HL1*

Monocristais prismáticos na cor laranja de **HL1** foram obtidos por evaporação lenta de uma mistura de hexano/acetato de etila do respectivo ligante à temperatura ambiente e confirmou a formação do núcleo imidazopiridina e sua regioquímica. O **HL1** cristaliza num grupo espacial P-1 triclínico. A unidade assimétrica deste derivado encontra-se disponível na Figura 1.11. Os dados de refinamento dos cristais de **HL1** estão disponíveis no anexo (**Tabela A1**), bem como os de comprimento e ângulos de ligações, ângulos de torção e ligações de hidrogênio (**Tabela A2-A5**).

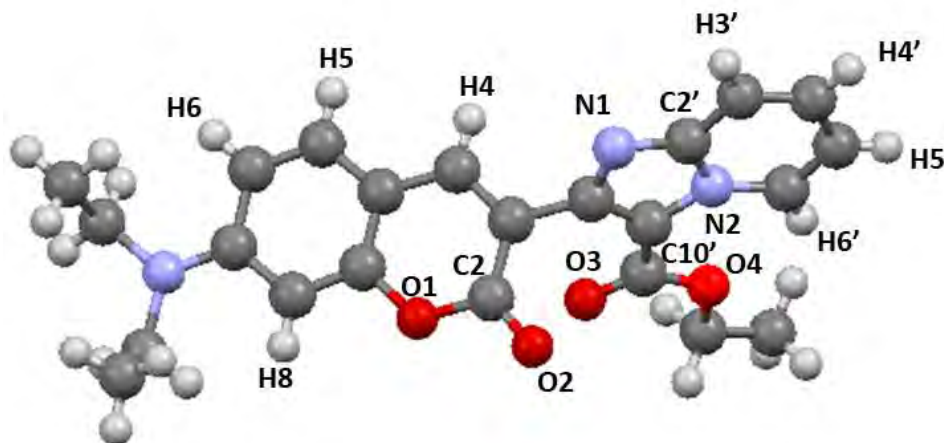


Figura 1.11: Estrutura molecular do HL1. A cristalização da molécula de solvente foi omitida por razões de clareza. Códigos por cor: cinza (carbono), vermelho (oxigênio) e azul (nitrogênio). Os átomos de hidrogênio são representados como esferas brancas.

Os comprimentos das ligações O2-C2, O3-C10' em torno de 1,20Å caracterizam uma ligação dupla entre os átomos. Já a ligação O1-C2 apresenta comprimento maior, em torno de 1,38Å caracterizando uma ligação simples. Esses valores estão de acordo com ligações similares encontradas na literatura, visto que compostos híbridos cumarina-imidazopiridina ainda não são tão descritos na literatura.

Os principais comprimentos de ligação e ângulos do ligante HL1 estão disponíveis na tabela 1.4.

Tabela 1.4: Principais comprimentos de ligação bem como ângulos de ligação **HL1** obtidos por DRX.

| <i>Átomos</i> | <i>Comprimento de Ligação</i> |
|---------------|-------------------------------|
| O(1)-C(2) | 1,3801(2) |
| O(2)-C(2) | 1,2031(8) |
| O(3)-C(10') | 1,2006(12) |

| <i>Átomos</i> | <i>Ângulo de ligação [°]</i> |
|------------------|------------------------------|
| O(1)-C(2)-O(2) | 116,13(4) |
| O(3)-C(10')-O(4) | 122,88(6) |
| N(2)-C(2')-N(1) | 111,79(4) |

1.3.2. Síntese dos híbridos cumarina-imidazopiridina sem grupo éster (HL5-7)

Devido ao fato destes ligantes terem sido cedidos pela discente de doutorado Larissa Ferreira, todos os dados sobre a síntese e purificação podem ser encontrados na dissertação de mestrado da mesma. Os espectros de RMN de ¹H confirmaram a formação e a pureza dos ligantes utilizados.

- **Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

A fim de facilitar a compreensão, a figura 1.12 contém um sistema de numeração utilizado para atribuição nos espectros dos ligantes (HL5-HL6).

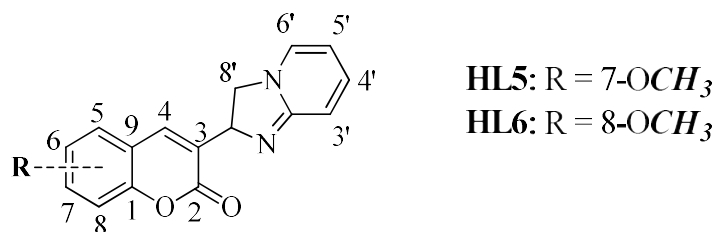


Figura 1.12: Sistema de numeração utilizado para a atribuição de sinais nos espectros de RMN.

De forma similar aos ligantes (HL1-HL4), nos espectros do HL5 e HL6 não se observou o sinal correspondente ao metileno alfa-dicarbonílico variando de δ 3,90- 4,00 ppm. O hidrogênio da cromenona (H4), característico da formação das cumarinas, tornou-se mais protegido, devido a presença do anel piridínico no lugar da carbonila cetônica, podendo ser observado na faixa de 7,95-8,56 ppm no espectro de RMN de ^1H .

Identificou-se um sinal na faixa de 9,23-9,56 referente ao hidrogênio ortopiridínico (H3'), o que corrobora com a conclusão de ciclização e formação no núcleo imidazopiridínico.

1.4. CONCLUSÕES

A metodologia reacional utilizada na síntese dos quatro derivados híbridos inéditos do tipo cumarina-imidazopiridina (**HL1-4**) mostrou-se satisfatória e reprodutível, levando à obtenção dos compostos em sua forma pura, com bons rendimentos e com as estruturas esperadas, sendo confirmadas por todas técnicas de caracterização utilizadas. A similaridade entre as análises espectroscópicas e analíticas de **HL1-4** indicaram que todos os ligantes possuem a mesma configuração. Os ligantes **HL5-HL6** foram recebidos em sua forma pura, apesar da síntese dos mesmos ser bem diferente dos **HL1-HL4**, há grande similaridade dos sinais no RMN de ^1H e de ^{13}C , corroborando com a formação e a pureza dos mesmos.

1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – RANĐELOVIĆ, S.; BIPAT, R. A Review of Coumarins and Coumarin-Related Compounds for Their Potential Antidiabetic Effect. *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*, v. 14, 2021.
- 2 - PEREIRA, T. M.; FRANCO, D. P.; VITÓRIO, F.; KUMMERLE, A. E. Coumarin Compounds in Medicinal Chemistry: Some Important Examples from the Last Years. *Curr Top Med Chem*, v. 18, p. 124-148, 2018.
- 3 - MATOS, M .J.; SANTANA, L.; URIARTE, E.; ABREU, O. A.; MOLINA, E.; YORDI, E. G. Coumarins—an important class of phytochemicals. IN: RAO, V.; RAO, L. (Ed.) **Phytochemicals-Isolation, Characterisation and Role in Human Health**, p. 113-140, BoD–Books on Demand, 2015.
- 4 - TALAPATRA S.K., TALAPATRA B. **Chem of Plant Nat Prod**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2015.
- 5 - VENUGOPALA, K. N.; RASHMI, V.; ODHAV, B. Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *J Biomed Biotech*, v. 2013, p. 1-14, 2013.
- 6 - BOSE, S. D.; RUDRADAS, A. P.; HARI BABU, M. The indium(III) chloride-catalyzed von Pechmann reaction: A simple and effective procedure for the synthesis of 4-substituted coumarins. *Tetrahedron Lett* v. 43, n. 50, p. 9195-9197, 2002.
- 7 - BAIRAGI, S. H.; SALASKAR, P. P.; LOKE, S. D.; SURVE, N. N.; TANDEL, D. V.; DUSARA, M. D. Medicinal significance of coumarins. *Inter J Pharm Res*, v. 4, p. 16-19, 2012.
- 8 - MEDINA, F. G.; MARRERO, J. G.; MACÍAS-ALONSO M.; GONZALES, M. C.; CÓRDOVA-GUERRERO, I.; GARCIA, A. G. T.; OSEGUEDA-ROBLES, S. Coumarin heretocyclic derivative: chemical synthesis and biological activity. *Natural Product Reports*, v. 32, p. 1472-1507, 2015.

- 9 – BIPAT, R. From rat poison to medicine: medical applications of coumarin derivatives. In: Rao V, Mans DRA, Rao L eds. **Phytochemicals in Human Health**, p. 91-104, 2019.
- 10 - DE SOUZA, Gabriela Alves *et al.* Discovery of novel dual-active 3-(4-(dimethylamino) phenyl)-7-aminoalkoxy-coumarin as potent and selective acetylcholinesterase inhibitor and antioxidant. **J Enz Inhib Med Chem**, v. 34, n. 1, p. 631-637, 2019.
- 11 - SHAVETA, S. M.; PALWINDER, S. Hybrid molecules: The privileged scaffolds for various pharmaceuticals. **Eur J Med Chem**, n.124, p.500-536, 2016.
- 12 - SANDHU, S.; BANSAL, Y.; SILAKARI, O.; BANSAL, G. Coumarin hybrids as novel therapeutic agents. **Bioorg Med Chem**, v. 22, n. 15, p. 3806-3814, 2014.
- 13 - EMAMI, S.; DADASHPOUR, S. Current developments of coumarin-based anti-cancer agents in medicinal chemistry. **Eur J Med Chem**, v. 102, p. 611-630, 2015.
- 14 - ANGELOVA, V. T.; VALCHEVA, V.; PENCHEVA, T.; VOYNIKOV, Y.; VASSILEV, N.; MIHAYLOVA, R. Synthesis, antimycobacterial activity and docking study of 2-aryl-1-benzopyrano[4,3-c]pyrazol-4(1H)-one derivatives and related hydrazide-hydrazones. **Bioorg Med Chem Lett** v. 27, n. 13, p. 2996-3002, 2017.
- 15 - NASR, T.; BONDOCK, S.; RASHED, H. M.; FAYAD, W.; YOUNS, M. SAKR, T. M. Novel hydrazide-hydrazone and amide substituted coumarin derivatives: Synthesis, cytotoxicity screening, microarray, radiolabeling and in vivo pharmacokinetic studies. **Eur J Med Chem**, v. 151, p. 723-739, 2018.
- 16 - SUGIURA, M.; KOBAYASHI, S. N-acylhydrazones as versatile electrophiles for the synthesis of nitrogen-containing compounds. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 44, n. 33, p.5176-5186, 2005.
- 17 - WAGNER, B. D. The use of coumarins as environmentally-sensitive fluorescent probes of heterogeneous inclusion systems. **Molecules**, v. 14, n.1, p. 210-237, 2009.

- 18 - WANG, K.; MA, L.; LIU, G.; CAO, D.; GUAN, R.; LIU, Z. Two fluorescence turn-on coumarin Schiff's base chemosensors for cyanide anions. **Dyes and Pigments** v. 126, p. 104-109, 2016.
- 19 - HE, G.; LIU, X.; XU, J.; JI, L.; YANG, L.; FAN, A.; WANG, S.; WANG, Q. Synthesis and application of a highly selective copper ions fluorescent probe based on the coumarin group. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 190, p. 116-120, 2018.
- 20 - YOU, Q. H.; LEE, A. W. M.; CHAN, W. H.; ZHU, X. M.; LEUNG, K. C. F. A coumarin-based fluorescent probe for recognition of Cu^{2+} and fast detection of histidine in hard-to transfect cells by a sensing ensemble approach. **Chem Comm**, v. 50, p. 6207-6210, 2014.
- 21 - WU, J. S.; LIU, W. M.; ZHUANG, X. Q.; WANG, F.; WANG, P. F.; TAO, S. L.; ZHANG, X. H.; WU, S. K.; LEE, S. T. Fluorescence turn on of coumarin derivatives by metal cations: a new signaling mechanism based on C=N isomerization. **Organic Lett**, v. 9, n.1, p. 33-36, 2007.
- 22 - PERICHERLA, K. *et al.* Recent developments in the synthesis of imidazo [1, 2-a] pyridines. **Synthesis**, v. 47, n. 07, p. 887-912, 2015.
- 23 - KWONG, H. C. *et al.* Crystal correlation of heterocyclic imidazo [1, 2-a] pyridine analogues and their anticholinesterase potential evaluation. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-15, 2019.
- 24 - KUSY, D.; MANIUKIEWICZ, W.; BŁAŻEWSKA, K. M. Microwave-assisted synthesis of 3-formyl substituted imidazo [1, 2-a] pyridines. **Tetrahedron Lett**, v. 60, n. 45, p. 151244, 2019.
- 25 - JADHAV, S. *et al.* Rapid and efficient one-pot microwave-assisted synthesis of 2-phenylimidazo [1, 2-a] pyridines and 2-phenylimidazo [1, 2-a] quinoline in water-PEG-400. **Synthetic Communications**, v. 47, n. 4, p. 285-290, 2017.

- 26 - HAJRA, A.; BAGDI, A. K.; SANTRA, S.; MONIR, K. Synthesis of imidazo[1,2-a]pyridines: a decade update. **Chemical communications (Cambridge, England)**, v. 51, n. 9, p. 1555–75, 2015.
- 27 - GHOSH, P.; GANGULY, B.; KAR, B.; DWIVEDI, S.; DAS, S.. Green procedure for highly efficient, rapid synthesis of imidazo[1,2-a]pyridine and its late stage functionalization. **Synt Comm**, v. 48, p. 1076-1084, 2018.
- 28 - HUO, C.; TANG, J.; XIE, H.; WANG, Y.; DONG, J.. CBr₄ Mediated Oxidative C–N Bond Formation: Applied in the Synthesis of Imidazo[1,2- α]pyridines and Imidazo[1,2- α]pyrimidines. **Org Lett**, v. 18, p. 1016-1019, 2016.
- 29 - MOHAN, S.; RANGAPPA, S.; ANILKUMAR, B. A. D.; FUCHS, J. E.; BASAPPA, A. B.; RANGAPPA, J. E.; BHATNAGAR, R. Sulfated Ceria Catalyzed Synthesis of Imidazopyridines and Their Implementation as DNA Minor Groove Binders. **Chem Biodivers**, v. 16, e1800435, 2019.
- 30 - SUNKARI, S.; BONAM, S. R.; RAO, A. V. S.; RIYAZ, S. D.; NAYAK, V. L.; KUMAR, KAMAL, H. S. M. A.; BABU, B. N. Synthesis and biological evaluation of new bisindole-imidazopyridine hybrids as apoptosis inducers. **Bioorg Chem**, v. 87, p. 484-494, 2019.
- 31 - Bruker APEX v2016.1-0 or v2017.3-0, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 2007.
- 32 - SAINT v8.37A or v8.38A, Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, 2013
- 33 - SHELDRICK, G.M. SADABS, Program for Empirical Absorption Correction of Area Detector Data University of Göttingen, Germany, 1996.
- 34 - SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystall Section C: Struc Chem**, v. 71, n. Md, p. 3-8, 2015.

35 – DE ALMEIDA, P.S.V.B.; DE ARRUDA, H.J.; SOUSA, G.L.S.; RIBEIRO, F.V.; DE AZEVEDO-FRANÇA, J.A.; FERREIRA, L.A.; GUEDES, G.P.; SILVA, H.; KUMMERLE, A.E.; NEVES, A.P. Cytotoxicity evaluation and DNA interaction of Ru^{II}-bipy complexes containing coumarin-based ligands. **Dalton Trans.** v. 50, p. 14908–14919, 2021.

36 – HUO, C.; TANG, J.; XIE, H.; WANG, Y.; DONG, J. CBr₄ Mediated Oxidative C–N Bond Formation: Applied in the Synthesis of Imidazo[1,2- α]pyridines and Imidazo[1,2- α]pyrimidines. **Org. Lett.** v. 18, p. 1016-1019, 2016.

37 – STRIANESE, M.; BRENNAN, S.; ARDIZZOIA, G.A.; GUARNIERI, D.; LAMBERTI, M.; D'AURIA, I.; PELLECCIA, C. Imidazo-pyridine-based zinc(ii) complexes as fluorescent hydrogen sulfide probes. **Dalton Trans.** v. 50, p. 17075–17085, 2021.

38 – SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 3 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Dois S.A., pp. 1-10, 65-73, 1979.

*Capítulo 2 : Complexos de Zn^{II} e
 Ag^I com derivados híbridos de
Cumarina-imidazopiridina*

RESUMO

Este capítulo se inicia com uma revisão de literatura sobre as funções biológicas dos metais Zn e Ag, suas aplicações terapêuticas, seguido das principais metodologias de síntese. Em seguida, é descrita a síntese de sete complexos inéditos do tipo $[\text{ZnCl}_2(\text{HL1-6})_2]$ (**C1-6**), com os derivados dos híbridos de cumarina-*imidazopiridina* **HL1-6** além dos complexos inéditos do tipo $[\text{Ag}(\text{HL1-3})_2]\text{NO}_3$ (**C1Ag-C3Ag**), com os derivados dos híbridos de cumarina-*imidazopiridina* **HL1-HL3**, ligantes estes descritos no Capítulo 1. Os procedimentos reacionais, bem como caracterizações por massas de alta resolução, IV, RMN (1D e 2D) de ^1H e ^{13}C , e a descrição das estruturas dos complexos **C2** e **C3** determinadas por DRX de monocristal, são discutidas no texto.

ABSTRACT

This chapter begins with a literature review on the biological functions of Zn and Ag metals, their therapeutic applications, followed by the main synthesis methodologies. Then, the synthesis of seven novel complexes of the type $[\text{ZnCl}_2(\text{HL1-6})_2]$ (C1-6) is described, with derivatives of the coumarin-imidazopyridine hybrids HL1-7, in addition to the novel complexes of the type $[\text{Ag}(\text{HL1-3})_2]\text{NO}_3$ (C1Ag-C3Ag), with derivatives of coumarin-imidazopyridine hybrids HL1-HL3, ligands described in Chapter 1. Reaction procedures, as well as characterizations by high-resolution masses, IR, NMR (1D and 2D) of ^1H and ^{13}C , and the description of the structures of the C2 and C3 complexes determined by single crystal XRD, are discussed in the text.

2.1. INTRODUÇÃO

2.1.1. Complexos de Zn^{II} : papel no sistema biológico e uso terapêutico

O Zinco, dentre os diversos metais do bloco d, é considerado o segundo mais abundante, o qual apresenta a configuração eletrônica: $[Ar] 3d^{10} 4s^2$. No meio celular, é somente encontrado na forma de Zn^{II} com o seu orbital da camada de valência totalmente preenchido eletronicamente ($3d^{10}$), originando assim, complexos diamagnéticos e incolores^{1,2}. As funções desempenhadas por este metal estão relacionadas a certas propriedades, dentre elas podem ser citadas: (a) alta estabilidade em processos de oxirredução; (b) a configuração eletrônica $3d^{10}$, que torna a geometria não dependente de campos ligantes de estabilização³ (c) sua polarizabilidade intermediária, que permite a ligação com átomos doadores, como O, N e; (d) seu caráter ácido de Lewis, capaz de agir de forma coordenante com substratos⁴. Ademais, com relação às suas geometrias, o número de coordenação (NC) mais comum para os complexos de zinco é o 4, levando a compostos tetraédricos. Além dessa, pode apresentar outras geometrias com número de coordenação iguais a 5 (bipirâmide trigonal) e 6 (octaédrico)⁵.

O Zinco está presente em diversos procedimentos metabólicos; para uma melhor exemplificação, suas principais funções são divididas em três classes: catalítica, reguladora e estrutural³. Na maioria das metaloenzimas, o Zinco apresenta atividade catalítica, atuando na transformação de substratos^{6,7}, é um cofator da anidrase carbônica, uma enzima capaz de converter dióxido de carbono (CO_2) em bicarbonato (HCO_3^-) reversivelmente. Além disso, fornece uma estabilidade estrutural a enzimas terciárias e quaternárias, semelhante à ação das pontes dissulfeto⁸. Adicionalmente, liga-se fortemente a metaloproteínas como componente estrutural^{9,10} e sua atividade regulatória pode estar relacionada aos “dedos de zinco” (figura 2.1), estruturas proteicas que possuem um ou mais cátions de zinco na sua conformação. A ação dessas espécies associa-se ao controle da transcrição genética, sendo capazes de modular outras proteínas, o DNA e o RNA, especificamente, eles regulam a transdução de sinal, diferenciação ou proliferação celular¹¹.

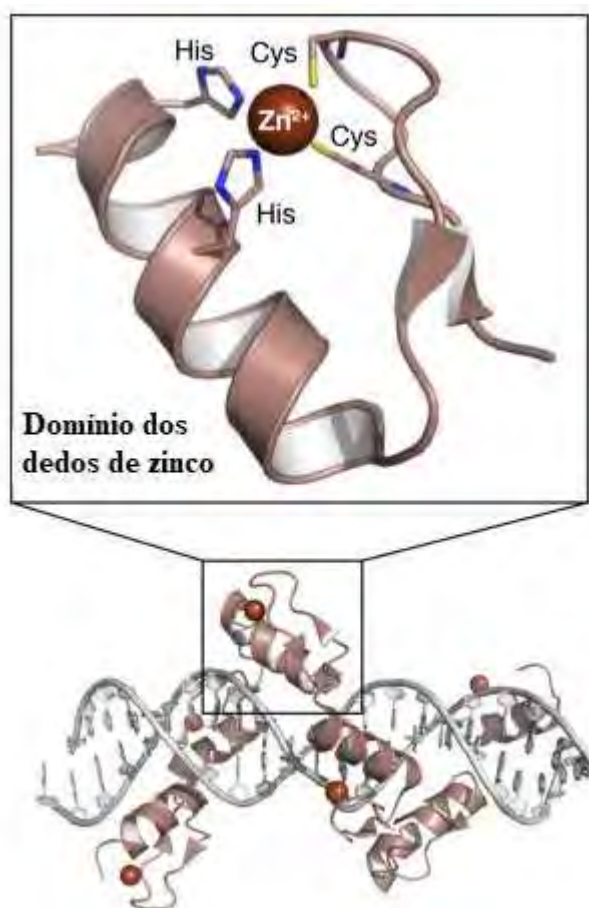


Figura 2.1: Estruturas dos dedos de zinco com cadeias laterais, representadas como varetas, dos resíduos de cisteína e histidina conservados coordenados com um íon zinco (esfera vermelha). Sendo a projeção de seis dedos de zinco em um complexo com o DNA mostrados na parte inferior¹². Fonte: Adaptado de GERBASCH; G; BARBAS, 2014.

Considerando a baixa toxicidade do Zinco, biodisponibilidade e sua essencialidade, muitos estudos também são voltados para a busca de metalofármacos, envolvendo este metal e diversas formulações farmacêuticas contendo zinco já são utilizadas na clínica¹³ (Figura 2.2).

Sais de zinco são usados por via oral para tratar doenças metabólicas graves, como a doença de Wilson, uma doença hereditária caracterizada pelo acúmulo de cobre no cérebro e no fígado. Por sua vez, piritionato de zinco é usado em xampus para tratar seborréia, enquanto propionato de zinco e caprilato de zinco são usados como agentes antifúngicos tópicos. O Dermodex®¹⁴, um fármaco contendo óxido de zinco, é empregado no tratamento de dermatites e estudos recentes demonstram o potencial antiinflamatório de complexos de zinco.

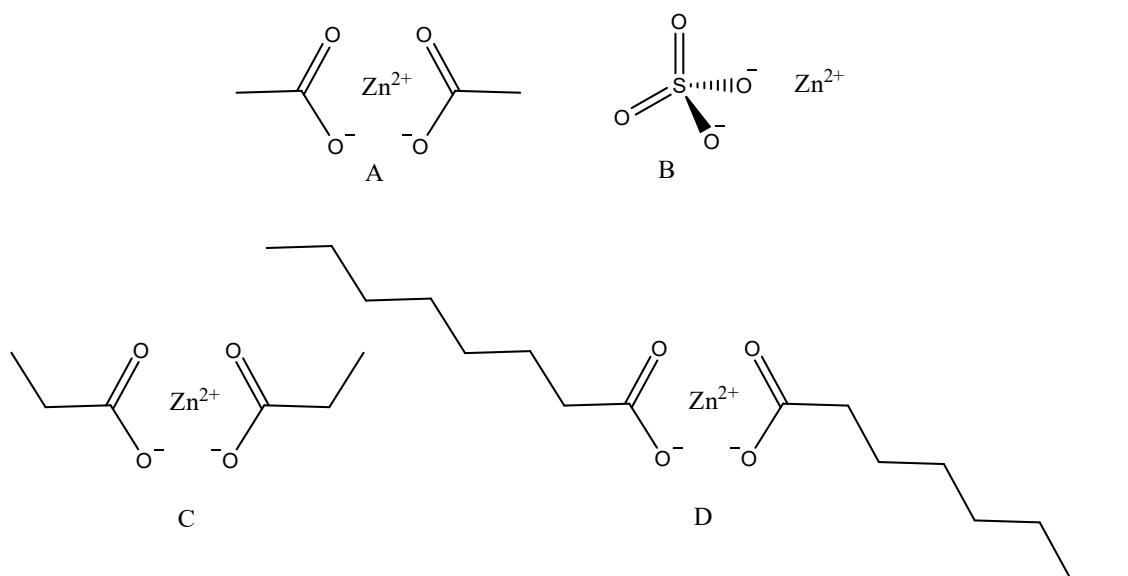


Figura 2.2: Estruturas de fármacos contendo zinco. **A)** Acetato de zinco; **B)** sulfato de zinco utilizados no tratamento de doença de Wilson; **C)** propionato de zinco e **D)** caprilato de zinco usados como antifúngicos tópicos.

Guilherme e colaboradores publicaram em 2010 dois complexos de diclofenaco- Zn^{II} e avaliaram a atividade antiinflamatória comparando com o diclofenaco de potássio. O complexo sintetizado (Figura 2.3) reduziu as contorções abdominais e o número de lesões gástricas, ou seja, possuindo menor toxidez sistêmica e com isso possui um caminho promissor se comparado a fármacos já estabelecidos no mercado¹⁵.

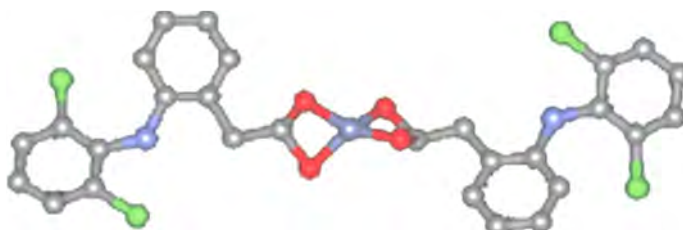


Figura 2.3: Estrutura conformacional proposta por Guilherme e colaboradores para o complexo diclofenaco-zinco (DCF-Zn)

Em 2017, Romanović e colaboradores reportaram a caracterização estrutural e espectroscópica de dois complexos de Zn^{II} sintetizados a partir do cloreto de 2-quinolino-(carboximetil)trimetilamôniohidrazona (HqctmahCl). O complexo, figura 2.4, possuía potencial antimicrobiano contra cepas de bactérias *Gram*-positivas e *Gram*-negativas, e contra uma cepa fúngica. Estes compostos apresentaram atividade antimicrobiana baixa

ou moderada frente os microorganismos testados, com valores de concentração inibitória mínima (CIM) maior do que os fármacos utilizados como controle positivo¹⁶.

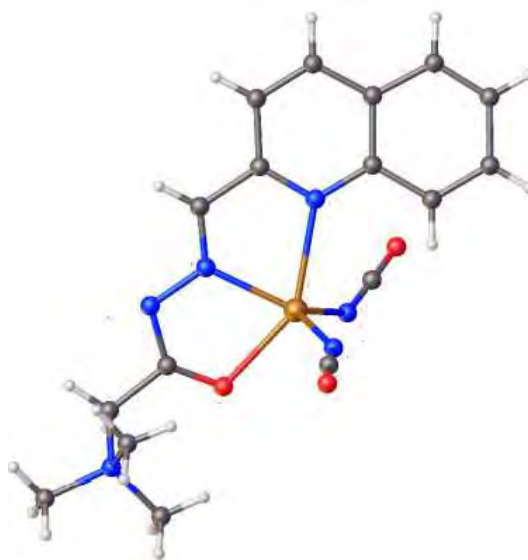


Figura 2.4: Representação da estrutura do complexo $[Zn(qctmah)(NCO)_2]$.

2.1.2. Complexos de Ag^I : uso terapêutico

A Prata é um metal de transição do grupo 11 da tabela periódica com configuração eletrônica $[Kr] 5s^1 4d^{10}$. Os compostos de Ag^I têm sido explorados durante muito tempo devido às suas propriedades medicinais, luminescentes e também no campo de materiais¹⁷. Em particular, devido ao efeito bactericida, compostos de prata vêm sendo utilizados em filtros de água, máquinas de lavar louça e geladeiras. No campo de química bioinorgânica medicinal, vários compostos de prata, como o nitrato de prata vêm sendo usados na prevenção de infecções em feridas por queimaduras, no tratamento de traumatismo, feridas abertas e úlceras crônicas. Durante muito tempo, os compostos de prata foram usados como antibióticos, mas caíram em desuso com o uso da penicilina e derivados¹⁸.

Devido ao uso indiscriminado de alguns antibióticos, toxidez sistêmica e resistência bacteriana adquirida, o desenvolvimento de compostos de prata tem se apresentado promissor na busca por fármacos com baixa toxicidade e, neste sentido, a coordenação de moléculas orgânicas com potencial atividade farmacológica a diversos metais, tais como o zinco, pode ser uma boa estratégia para a obtenção de compostos seguros e eficazes¹⁹.

Ag^{I} quando combinada a compostos orgânicos que apresentam propriedades medicinais, como antibactericida, forma diversos complexos cujas propriedades têm sido investigadas. Moléculas orgânicas como o benzotriazol e derivados, contém nitrogênio doadores de elétrons e um sistema bicíclico que demonstraram atividades biológicas como antibactericida, anticancerosa, antimicrobiana e antifúngica²⁰. Atualmente, um dos compostos contendo Ag^{I} mais utilizados como agente bactericida é a sulfadiazina de prata (figura 2.5A). O fármaco se mostrou mais eficaz no tratamento de feridas causadas por queimaduras quando comparada a antibióticos, uma vez que estes apresentaram-se inadequados devido ao surgimento de organismos resistentes²¹.

Como já dito anteriormente, a ação bactericida da prata é conhecida desde os tempos remotos, porém, mais recentemente a atividade antitumoral dos complexos de Ag^{I} vem sendo estudada. A pesquisa de terapia baseada em complexos cresceu nos últimos anos devido aos resultados satisfatórios de compostos de Pt^{II} , como a cisplatina. Porém, algumas linhas de câncer possuem resistência à cisplatina e aos fármacos de cisplatina e derivados (e.g. A2780 cis-ovário)²². Estudos apontam que em diversos tumores, complexos de Ag^{I} apresentaram maior eficiência quando comparados à cisplatina. Em alguns estudos os autores relatam que a ação farmacológica exibida pelos compostos de prata é exclusiva dos íons Ag^{I} ²³. Embora o mecanismo de ação dos íons Ag^{I} não seja devidamente compreendido e raramente abordado na literatura, o efeito desses íons pode ser observado através de mudanças estruturais e morfológica nas células. Os três possíveis mecanismos de ação propostos são: (1) inibição das funções de transporte na parede celular (respiração); (2) interrupção do metabolismo da célula (mudança na estrutura das enzimas) e (3) inibição da divisão celular (interação com DNA). Recentemente mostrou-se que um complexo de Ag^{I} com bis(carbeno N-heterocíclico) (Figura 2.5B) provocou danos na estrutura do DNA por diferentes mecanismos incluindo inibição das enzimas topoisomerase I e tioredoxina redutase (TrxR), e indução na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Além disso, o complexo revelou-se como potente inibidor da enzima poli-(ADPribose) polimerase 1 (PARP-1), que é essencial no processo de reparo do DNA, inibiu seletivamente a glicólise de células de carcinoma de ovário (A2780 e OVCAR3) e ocasionou morte celular via apoptose. Os danos causados no DNA foram consistentes para melhorar a ação citotóxica preferencialmente contra linhagens celulares A2780 resistentes a cisplatina, tornando esse complexo um promissor agente antitumoral. Por outro lado, estudos mecanísticos envolvendo complexos de Ag^{I} com bis(difenilfosfino) alcanos (Figura 2.5C) revelaram indução da apoptose de células de

adenocarcinoma de pulmão (A549) e de mama (MCF-7), evidenciado por mudanças morfológicas nas células e associado a produção excessiva de ROS. Em outro estudo, a incorporação da Ag^{I} nas estruturas dos ligantes ftalazina (Figura 2.5D) e quinazolina (Figura 2.5E) proporcionou o aumento da atividade antibacteriana frente a isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* e atuaram como agentes intercalantes do gDNA, inibindo assim sua replicação²⁴.

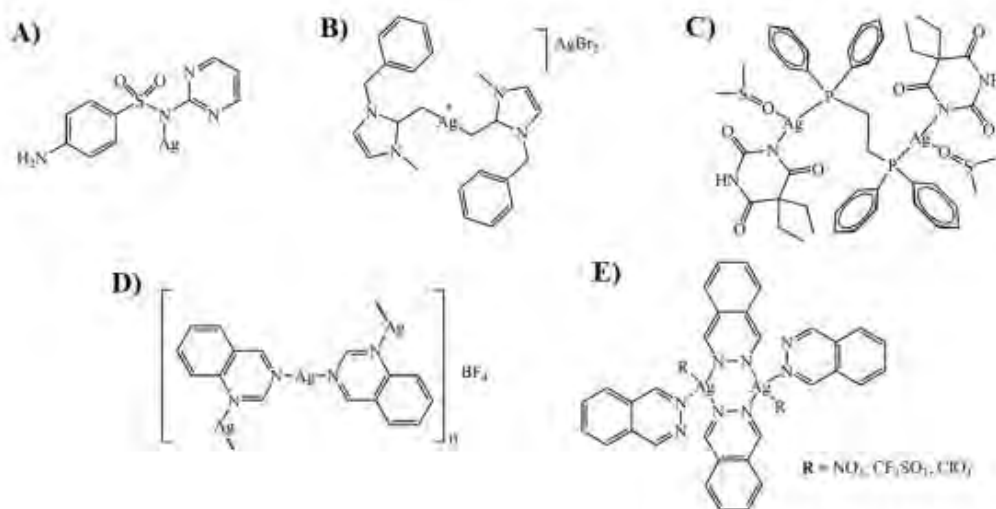


Figura 2.5: A) Sulfadiazina de prata (I); B) Complexo de $\text{Ag}(\text{I})$ com bis(carbeno N-heterocíclico) $[\text{Ag}(\text{NHC})_2\text{AgBr}_2]$; C) Complexo de $\text{Ag}(\text{I})$ com bis(difenilfosfino) alcanos $[\text{Ag}_2(\text{barb})_2(\text{mdppe})(\text{DMSO})_2]$; D) Complexo de $\text{Ag}(\text{I})$ com ftalazina $\{[\text{Ag}(\text{qz-N})][\text{BF}_4]\}_n$; E) Complexos de $\text{Ag}(\text{I})$ com quinazolina $\{[\text{Ag}(\text{R-O})(\text{phtz-N})](\mu\text{-phtz-N,N'})_2\}$

2.1.3. Complexos relevantes de Zn e Ag contendo núcleos cumarínicos, imidazopiridínicos ou correlatos

A procura por novos ligantes é um campo de interesse contínuo, para facilitar nas aplicações práticas, novos ligantes devem ser facilmente preparados através de materiais simples e disponíveis. Neste sentido, a utilização de diferentes ligantes pode modificar a atividade biológica dos complexos²⁵.

Dentre os mais diversos ligantes utilizados na obtenção de compostos de coordenação, estão os compostos heterocíclicos. Eles são caracterizados por serem estáveis e por conterem no anel pelo menos um heteroátomo (geralmente N, O ou S), sendo sua estabilidade explicada pela teoria da ressonância²⁶. A grande maioria dos

compostos heterocíclicos pode ser encontrada na natureza e possuem diversas aplicações farmacológicas e funções biológicas importantes. Exemplos destes compostos incluem a cafeína (alcalóide presente nos grãos de café), prolina (aminoácido essencial), porfírina (estrutura comum à hemoglobina e clorofila), dentre outros.

O intuito deste capítulo é sintetizar e investigar a atividade biológica de novos complexos de Zn^{II} e Ag^{I} contendo derivados de cumarina e imidazopiridina, devido as atividades biológicas e sítios de coordenação já descritos no capítulo anterior. Todo esse foco nessas classes de compostos está fundamentada em trabalhos já estabelecidos na literatura.

Em 2007, por exemplo, novos complexos de Ag^{I} contendo derivados de cumarina-carboxilatos, Figura 2.6, foram sintetizados e caracterizados por Thati e colaboradores, onde os ligantes se coordenam de forma monodentada ao metal, sendo um ligante do tipo O-doador e conferindo geometria linear. Além disso, suas atividades biológicas foram avaliadas frente a *candida albicans*, incluindo mecanismo de ação²⁷, onde os compostos apresentaram atividades promissoras, alguns possuindo MIC de 34 μM . Este trabalho demonstra ainda que a atividade antifúngica dos complexos de Ag^{I} ocorre devido à interrupção da respiração, levando assim a um aumento de vazamento na membrana, pela interrupção a síntese de ergosterol.

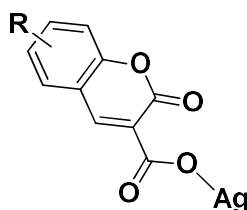


Figura 2.6: Complexos de Ag^{I} contendo derivados de cumarina-carboxilatos.

Islas e colaboradores publicaram em 2017 diversos complexos de Zn^{II} contendo cumarina e *o*-fenantrolina e avaliaram as suas atividades microbiológicas e seus comportamentos frente a fosfatase alcalina, Figura 2.7²⁸. Os complexos são octaédricos, possuindo 3 quelatos, 2 ligantes e 1 *o*-fenantrolina. Os complexos contendo fenantrolina possuíram MIC < 100, ou seja, sendo bastante ativos frente as linhagens fúngicas, mas sendo inativos, MIC > 750 frente as linhagens bacterianas.

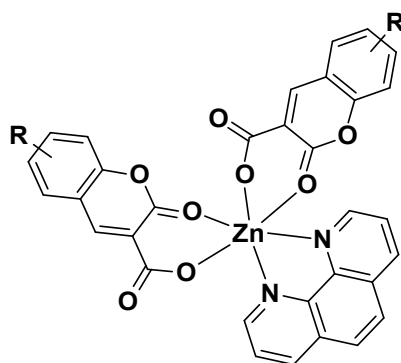


Figura 2.7: Complexos de Zn^{II} contendo derivados de cumarina e tendo fenantrolina como amina auxiliar.

Há vários artigos que exploram a coordenação de zinco a derivados imidazopiridínicos, principalmente com ligantes com atividade biológica já reconhecida, como o Zolpidem. Em 2021, Strianese e colaboradores sintetizaram complexos de zinco e imidazopiridina como protótipos para sondas fluorescentes de sulfeto de hidrogênio²⁹, Figura 2.8. Os resultados preliminares, aliados a cálculos teóricos por DFT, mostram que estes complexos podem vir a ser ótimas sondas para detecção de H_2S em modelos vivos.

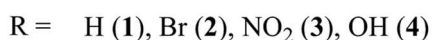
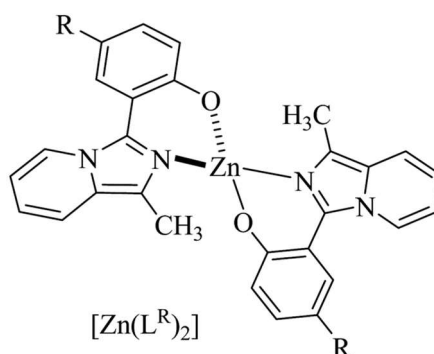


Figura 2.8: Protótipos de sondas fluorescentes de Zn^{II} contendo derivados de imidazopiridina.

Muitos autores também reportam o uso de ligantes substituídos do tipo benzoimidazol para obter os respectivos complexos de zinco com intuito de avaliação de diversas atividades biológicas. Em particular, 7 novos complexos de zinco foram reportados por Elif Apohan e colaboradores³⁰ e outros 9 foram reportados por Ulku Yilmaz e colaboradores³¹, Figura 2.9.

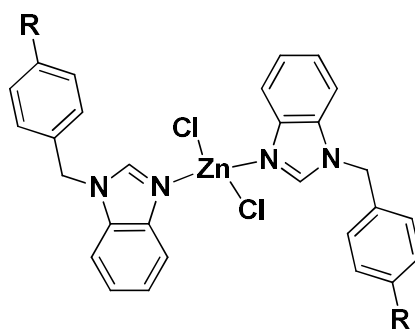


Figura 2.9: Complexos de Zn^{II} contendo N-heterociclos do tipo benzoimidazol.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1. Materiais e métodos de caracterização

Os solventes metanol, etanol, DMSO, diclorometano, hexano e acetato de etila (Aldrich) bem como acetonitrila (Vetec) e DMF seco (anhydrosolv – TEDIA), e o reagente ZnCl_2 (Aldrich), foram usados sem tratamento prévio.

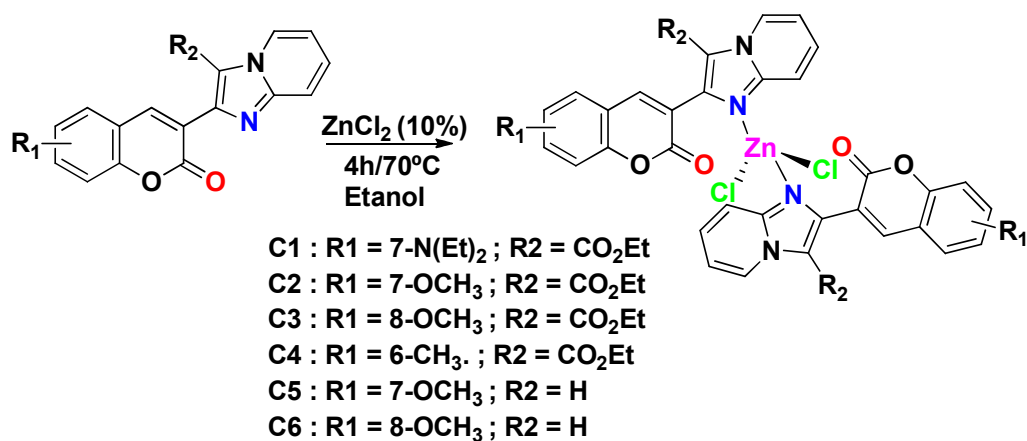
A metodologia e aparelhagem utilizadas para as análises dos complexos por ponto de fusão, espectroscopia na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H , ^{13}C , COSY) foram as mesmas descritas no Capítulo 1 para os ligantes **HL1-6**. Espectrometria de massas de alta resolução (*High resolution mass spectrometry* - HRMS) foi realizada usando o Espectrômetro de massas híbrido quadrupolo - Orbitrap QExactive™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) com ionização por eletrospray (*Electrospray ionization* -ESI). Soluções padrão de trabalho dos compostos (1000 ng mL^{-1}) foram preparadas com água/metanol 7:3 e fortificada com ácido fórmico 0,1% e NH_4COOH (formato de amônio) a 5 mM, sendo as soluções usadas por infusão direta. Dados de difração de raios X de monocristais para os complexos **C2-3** foram coletados e tratados da mesma forma como descrito para os ligantes no **Capítulo 1**. Os átomos de hidrogênio foram tratados utilizando uma mistura de refinamentos independentes e restritos. Para **C2** e **C3**, monocristais foram obtidos de uma solução 1:1 MeOH:Acetato de etila. As medidas de condutividade foram realizadas em um condutivímetro ION DDS-120W equipado com cela de platina e uma constante de célula $1,03236 \mu\text{S cm}^{-1}$, no Departamento de Química da UFRRJ. As soluções foram preparadas em DMF grau espectroscópico ($\Lambda_{\text{M}} = 0,96 \mu\text{S cm}^{-1}$) na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Brometo de tetraetilamônio ($\Lambda_{\text{M}} = 79,56 \mu\text{S cm}^{-1}$) foi utilizado como eletrólito padrão

1:1. As soluções foram medidas a temperatura ambiente, logo após serem preparadas e após 20 min em solução.

2.2.2. Síntese dos complexos do tipo Zn^{II} -Cumarina-imidazopiridina

2.2.2.1. Síntese dos complexos do tipo $[ZnCl_2(HL1-6)]$ (C1-6)

O procedimento da síntese dos complexos a partir do precursor $ZnCl_2$ foi estabelecido através da adaptação de metodologias descritas em literatura^{13,16}. O **Esquema 2.1** mostra a rota de síntese geral dos complexos **C1-6**.



Esquema 2.1: Esquema geral de síntese dos complexos do tipo $[ZnCl_2(HL1-6)]$ (**C1-6**).

Preparou-se uma suspensão contendo 50 mg dos respectivos ligantes **HL1-6** em um balão de fundo redondo contendo 10 mL de etanol, que foi levado à agitação. Em um béquer, adicionaram-se 1 equivalente de $ZnCl_2$ (com 10% de excesso) em 10 mL de etanol e a solução foi vertida sobre a suspensão de **HL1-6** contida no balão. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 4 h. O volume de solvente foi reduzido à metade por rotaevaporação e a solução final, mantida na geladeira para a evaporação lenta do solvente, onde se obteve um sólido marrom (**C1**, **C4**, **C5**, **C6**) e cristais brancos (**C2-3**). Todos os sólidos obtidos foram purificados através de filtração e lavagem com etanol gelado. Os produtos foram mantidos em dessecador sob vácuo.

(C1): bis-2-(7-(dietilamino)-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila diclorozinco (II)

Rendimento: 37%

P.F. : 154-155°C (com degradação)

RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, ppm): δ 9,37 (d, 1H, $H_{6'}$ ($J = 8,72$ Hz); 8,46 (d, 1H, $H_{3'}$ ($J = 8,40$ Hz); 7,88 (s, 1H, H_4); 7,47 (t, 1H, $H_{4'}$ ($J_1 = 8,82$ Hz e $J_2 = 7,79$ Hz); 7,07 (m, 2H, H_5 e $H_{5'}$); 6,48 (d, 1H, H_6 ($J = 7,89$ Hz); 6,29 (s, 1H, H_8); 4,27 (q, 2H, OCH_2CH_3); 3,44 (m, 2H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$); 1,25 (t, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$); 1,14 (t, OCH_2CH_3).

IV (ATR, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 1700 ($\nu\text{C=O}$ éster/lactona), 1620 ($\nu\text{C=N}$), 1523, 1401, 1356, 1211, 1145, 1012, 877.

Condutividade molar (DMF – 10^{-3} M): 11,12 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

LC-MS (m/z +): 948,23 m/z , 947,18 m/z (calculado).

Fórmula molecular: $\text{C}_{46}\text{H}_{46}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{O}_8\text{Zn}$.

(C2): bis-2-(7-metoxi-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila diclorozinco (II)

Rendimento: 39%

P.F. : 172°C (com degradação)

RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, ppm): δ 9,38 (d, 1H, $H_{6'}$ ($J = 8,72$ Hz); 8,49 (d, 1H, $H_{3'}$ ($J = 8,40$ Hz); 7,87 (s, 1H, H_4); 7,33 (t, 1H, $H_{4'}$ ($J_1 = 8,82$ Hz e $J_2 = 7,79$ Hz); 7,31 (t, 1H, $H_{5'}$ ($J_1 = 6,81$ e $J_2 = 7,79$ Hz); 7,12 (d, 2H, H_5 e H_6 ($J = 7,89$ Hz); 7,02 (s, 1H, H_8); 4,26 (q, 2H, OCH_2CH_3); 4,01 (s, 3H, OCH_3); 1,26 (t, OCH_2CH_3).

IV (ATR, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 1715 ($\nu\text{C=O}$ éster), 1700 ($\nu\text{C=O}$ lactona), 1615 ($\nu\text{C=N}$), 1573, 1443, 1377, 1225, 1173, 1021, 920.

LC-MS (m/z +): 866,11 m/z , 864,99 m/z (calculado).

Fórmula molecular: $\text{C}_{40}\text{H}_{32}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Zn}$.

(C3): bis-2-(8-metoxi-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila diclorozinco (II)

Rendimento: 50%

P.F. : 188°C (com degradação)

RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, ppm): δ 9,35 (d, 1H, $H_{6'}$ ($J = 8,72$ Hz); 8,46 (d, 1H, $H_{3'}$ ($J = 8,40$ Hz); 7,88 (s, 1H, H_4); 7,47 (t, 1H, $H_{4'}$ ($J_1 = 8,82$ Hz e $J_2 = 7,79$ Hz); 7,09

(m, 3H, *H5*, *H6* e *H7*); 7,08 (t, 1H, *H5'* (J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz); 4,34 (q, 2H, OCH₂CH₃); 4,01 (s, 3H, OCH₃); 1,26 (t, OCH₂CH₃).

IV (ATR, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 1710 ($\nu\text{C=O}$ éster), 1700 ($\nu\text{C=O}$ lactona), 1611 ($\nu\text{C=N}$), 1565, 1440, 1391, 1229, 1173, 1016, 917.

Condutividade molar (DMF – 10^{-3} M): 11,93 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

LC-MS (m/z +): 866,11 m/z , 864,99 m/z (calculado).

Fórmula molecular: C₄₀H₃₂C₁₂N₄O₁₀Zn.

(C4): bis-2-(6-metil-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila diclorozinco (II)

Rendimento: 63%

P.F. : 163°C (com degradação)

RMN de ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, ppm): δ 9,40 (d, 1H, *H6'* (J = 6,81 Hz); 8,49 (d, 1H, *H3'* (J = 8,40 Hz); 7,94 (s, 1H, *H4*); 7,33 (dt, 1H, *H4'* (J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz); 7,12 (dt, 1H, *H5'* (J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) ; 7,04 (m, 3H, *H5*, *H7* e *H8*); 4,26 (q, 2H, OCH₂CH₃); 2,38 (s, 3H, CH₃); 1,09 (t, OCH₂CH₃).

IV (ATR, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 1710 ($\nu\text{C=O}$ éster), 1700 ($\nu\text{C=O}$ éster), 1611 ($\nu\text{C=N}$), 1588, 1515, 1477, 1396, 1256, 1121, 1020.

Condutividade molar (DMF – 10^{-3} M): 18,34 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

LC-MS (m/z +): 834,11 m/z , 832,99 m/z (calculado).

Fórmula molecular: C₄₀H₃₂C₁₂N₄O₈Zn.

(C5): bis-2-(7-metoxi-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina diclorozinco (II)

Rendimento: 64%

P.F.: 178°C

RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ / TMS (δ -ppm) δ 8,83 (d, 1H, *H6'* (J = 6,81 Hz); 8,80-8,76 (m, 2H, *H4* e *H9'*); 7,84-7,82 (m, 2H, *H3'* e *H5*); 7,78 (t, 1H, *H4'* (J1 = 8,82 Hz e J2 = 7,69 Hz); 7,24 (d, 1H, *H6* (J = 7,89 Hz); 7,13 (s, 1H, *H8*); 7,06 (t, 1H, *H5'* (J1 = 6,81 Hz e J2 = 7,79 Hz); 3,91 (s, 3H, OCH₃).

IV (ATR, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 1716 ($\nu\text{C=O}$ lactona), 1652 ($\nu\text{C=N}$), 1481, 1469, 1375, 1322, 1173, 1010.

Condutividade molar (DMF – 10^{-3} M): 17,22 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

Fórmula molecular: C₃₄H₂₄C₁₂N₄O₆Zn.

(C6): bis-2-(8-metoxi-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina diclorozinco (II)

Rendimento: 62%

P.F.: 182°C

RMN ¹H (500 MHz) CDCl₃ / TMS (δ-ppm): δ 8,86 (m, 2H, *H*6' e *H*9'); 8,73 (s, 1H, *H*4); 7,85(m, 2H, *H*3' e *H*5); 7,79 (t, 1H, *H*4' (J1 = 8,82 Hz e J2 = 7,69 Hz); 7,40 (d, 1H, *H*6 (J = 7,89 Hz); 7,35 (m, 1H, *H*7 e *H*5'); 3,95 (s, 3H, *OCH*₃).

IV (ATR, ν_{max}/cm⁻¹): 1697 (νC=O lactona), 1648 (νC=N), 1607, 1595, 1520, 1443, 1377, 1225, 1173, 1021, 920.

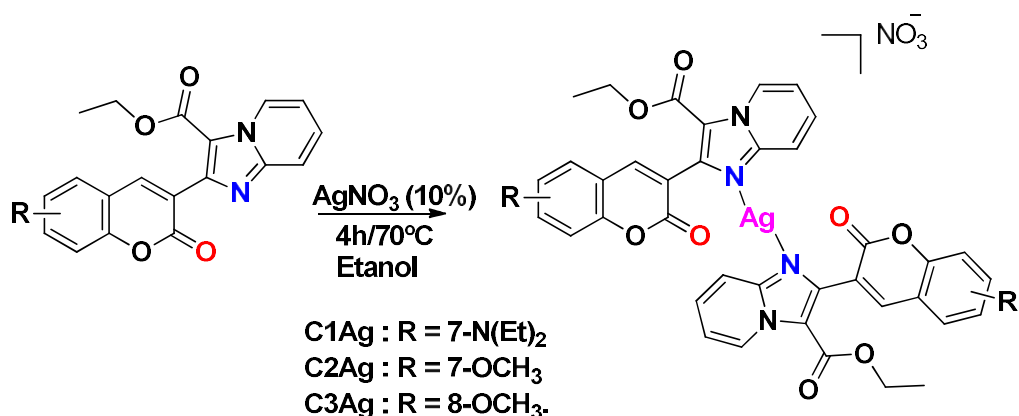
Condutividade molar (DMF – 10⁻³ M): 15,19 μs cm⁻¹.

Fórmula molecular: C₃₄H₂₄C₁₂N₄O₆Zn

2.2.3. Síntese dos complexos do tipo Ag^I-Cumarina-imidazopiridina

2.2.3.1. Síntese dos complexos do tipo [Ag(HL1-3)] (C1Ag-C3Ag)

O procedimento da síntese dos complexos de prata seguiu protocolo bem semelhante aos complexos de Zn^{II}, utilizando AgNO₃ como precursor, através da adaptação de metodologias descritas em literatura (Esquema 2.2)^{13,16}. Os complexos de Ag^I foram sintetizados utilizando sempre excesso de precursor metálico frente ao ligante, a fim de que o ligante fosse totalmente consumido e assim, o produto da síntese fosse mais fácil de purificar.



Esquema 2.2: Esquema geral de síntese dos complexos do tipo [Ag(HL1-3)], (C1Ag-C3Ag).

Preparou-se uma suspensão contendo 50 mg dos respectivos ligantes HL1-HL3 em um balão de fundo redondo contendo 10 mL de etanol, que foi levado à agitação. Em um béquer, adicionou-se 1 equivalente de AgNO₃ (Com 10% de excesso) em 10 mL de etanol e a solução foi vertida sobre a suspensão do ligante contida no balão. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 4 h. O volume de solvente foi reduzido à metade por rotaevaporação e a solução final, mantida na geladeira para a evaporação lenta do solvente, onde se obteve um sólido branco. Todos os sólidos obtidos foram purificados após filtração e lavagem com etanol gelado. Os produtos foram secos e mantidos em dessecador sob vácuo.

(C1Ag): Nitrato de bis-2-(7-dietilamino-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila prata (I)

Rendimento: 52%

P.F.: 195°C (com degradação)

RMN de ¹H (DMSO, 400 MHz, ppm): δ 9,37 (d, 1H, *H*6' (J = 8,72 Hz); 8,00 (s, 1H, *H*4); 7,79 (d, 1H, *H*3' (J = 8,82 Hz); 7,49 (t, 1H, *H*4' (J1 = 8,82 Hz e J2 = 7,79 Hz); 7,38 (d, 1H, *H*5 (J = 8,27 Hz); 7,10 (t, 1H, *H*5' (J1 = 6,61 Hz e J2 = 7,79 Hz); 6,63 (d, 1H, *H*6 (J = 7,89 Hz); 6,57 (s, 1H, *H*8); 4,37 (q, 2H, CH₂); 3,46 (m, 2H, *NCH*₂); 1,26 (t, 9H, *NCH*₂CH₃ e CH₃).

IV (ATR, ν_{max}/cm⁻¹): 1699 (νC=O éster/lactona), 1608 (νC=N), 1591, 1320, 1293, 1173, 1021, 920.

Condutividade molar (DMF – 10⁻³ M): 77,12 μs cm⁻¹.

Fórmula molecular: C₄₀H₃₂AgN₅O₁₃

(C2Ag): Nitrato de bis-2-(7-metoxi-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila prata (I)

Rendimento: 48%

P.F.: 210°C (com degradação)

RMN de ¹H (DMSO, 400 MHz, ppm): δ 9,45 (d, 1H, *H*6' (J = 8,72 Hz); 8,18 (s, 1H, *H*4); 7,99 (d, 1H, *H*3' (J = 8,82 Hz); 7,68 (t, 1H, *H*4' (J1 = 8,82 Hz e J2 = 7,79 Hz); 7,54 (d, 1H, *H*5 (J = 8,27 Hz); 6,93 (m, 1H, *H*5' e *H*6); 6,89 (s, 1H, *H*8); 4,38 (q, 2H, CH₂); 3,94 (s, 3H, *OCH*₃); 1,29 (t, 3H, CH₃).

IV (ATR, ν_{max}/cm⁻¹): 1686 (νC=O éster/lactona), 1608 (νC=N), 1524 (νN=O), 1510, 1379, 1366, 1225, 1173, 1071, 1005.

Condutividade molar (DMF – 10^{-3} M): 72,05 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

Fórmula molecular: $\text{C}_{40}\text{H}_{32}\text{AgN}_5\text{O}_{13}$

(C3Ag): Nitrato de bis-2-(8-metoxi-2-oxo-2H-cromen-3-il)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxilato de etila prata (I)

Rendimento: 56%

P.F.: 187°C (com degradação)

RMN de ^1H (DMSO, 400 MHz, ppm): δ 9,37 (d, 1H, $H6'$ ($J = 8,72$ Hz)); 8,24 (s, 1H, $H4$); 7,95 (d, 1H, $H3'$ ($J = 8,82$ Hz)); 7,62 (t, 1H, $H4'$ ($J_1 = 8,82$ Hz e $J_2 = 7,79$ Hz)); 7,29 (m, 1H, $H5$); 7,22 (m, 1H, $H6$); 7,15 (m, 1H, $H7$); 4,37 (q, 2H, CH_2); 4,00 (s, 3H, OCH_3); 1,26 (t, 3H, CH_3).

IV (ATR, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 1690 ($\nu\text{C=O}$ éster/lactona), 1612 ($\nu\text{C=N}$), 1573, 1377, 1221, 1173, 1077, 888.

Condutividade molar (DMF – 10^{-3} M): 78,34 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

Fórmula molecular: $\text{C}_{40}\text{H}_{32}\text{AgN}_5\text{O}_{11}$

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1. Síntese dos complexos $[\text{ZnCl}_2(\text{HL1-4})]$ (C1-C4)

Os complexos de Zn^{II} contendo derivados cumarínicos-imidazopiridina contendo grupamento éster foram sintetizados a partir do precursor metálico ZnCl_2 e dos ligantes HL1-HL4. Os respectivos complexos C1-C4 foram sintetizados com 10% de excesso do precursor de Zn^{II} , a fim de se consumir totalmente os ligantes.

Os derivados híbridos cumarina-imidazopiridina (HL1-HL4) são muito versáteis na química de coordenação, visto que apresentam dois pontos suscetíveis à complexação: o átomo de oxigênio da lactona do grupamento cumarínico e o átomo de nitrogênio imidazopiridínico. Após conhecer as características estruturais destes ligantes, planejou-se a síntese dos complexos C1-C4, a fim de que o ligante se coordenasse de forma bidentada ao metal e possuindo dois cloretos completando a esfera de coordenação, sendo, portanto, neutro. Alguns parâmetros foram escolhidos a fim de se chegar a uma condição ideal de síntese. O solvente utilizado, etanol, foi escolhido por solubilizar os ligantes e por ser utilizado na síntese de complexos análogos de zinco³². O tempo

reacional foi estipulado em 4h, após monitoramento das reações por CCF, indicando que este seria o tempo ideal para complexação devido à relativa reatividade do zinco.

2.3.1.1. Caracterização estrutural dos complexos C1-4

- *Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)*

Os complexos contendo o grupo éster **C1-4** foram analisados por espectroscopia no IV e as principais bandas de absorção estão mostradas na **Tabela 2.1**. Os espectros no IV dos complexos de Zn^{II} exibiram alterações características quando comparados aos respectivos ligantes (Figura 2.10).

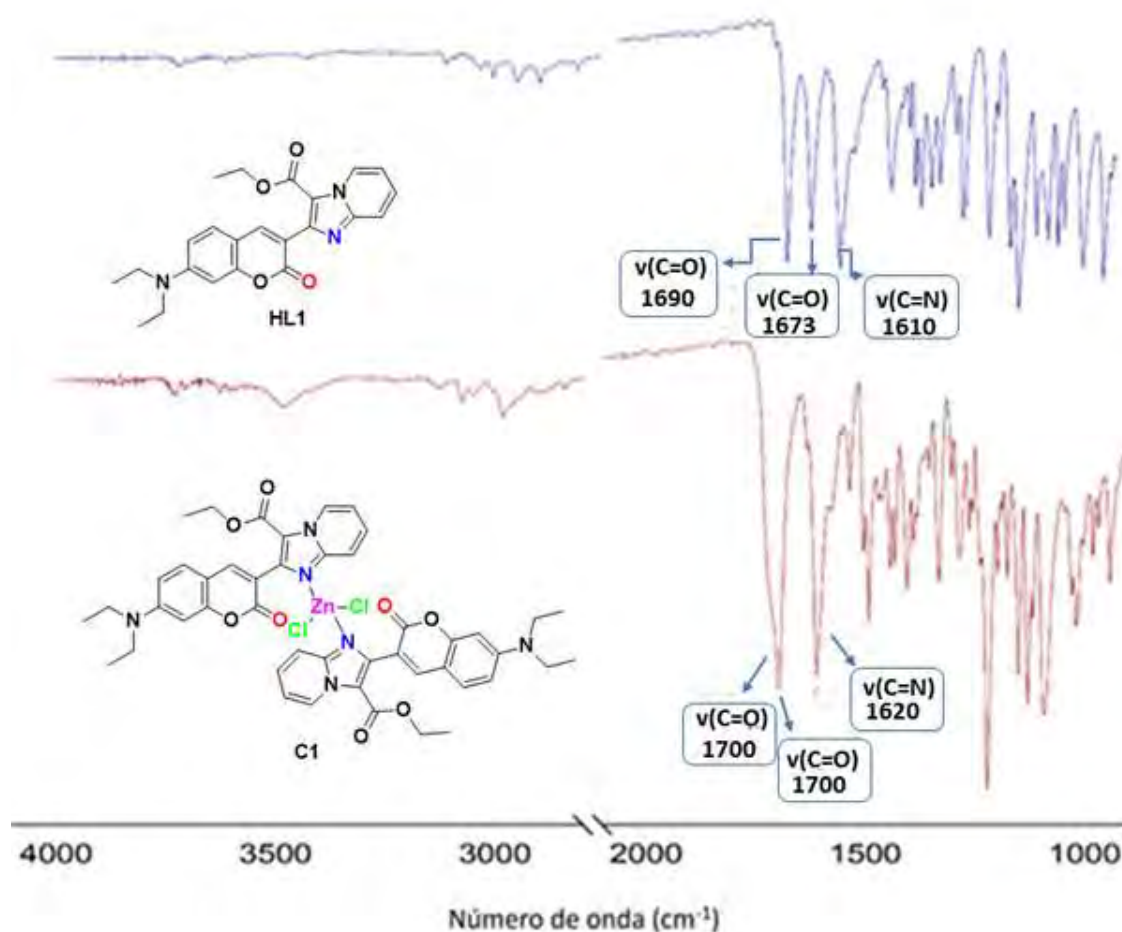


Figura 2.10: Espectros no infravermelho dos compostos **HL1** e **C1**. A região de 2800 a 1800 cm^{-1} foi omitida por não conter estiramentos.

O espectro no infravermelho dos ligantes exibe uma a banda fina em 1690 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{C=O})$ do éster presente no grupamento imidazo[1,2-a]piridina. Após a coordenação desloca para 1700 cm^{-1} , se tornando um envelope de bandas junto com o $\nu(\text{C=O})$ referente a lactona do anel cumarínico. O $\nu(\text{C=N})$ do grupamento imidazopiridiníco no ligante se encontra em 1610 cm^{-1} e após a coordenação se desloca para 1620 cm^{-1} .

Tabela 2.1: Principais bandas no infravermelho (cm^{-1} , ATR) observadas nos espectros de C1-4.

| | $\nu(\text{C=O})$ | $\nu(\text{C=N})$ |
|-----------|-------------------|-------------------|
| C1 | 1700 | 1620 |
| C2 | 1715 | 1615 |
| C3 | 1710 | 1611 |
| C4 | 1710 | 1611 |

- **Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

De maneira análoga aos seus respectivos ligantes (Capítulo 1), os complexos C1-7 foram analisados através de experimentos 1D e 2D de RMN de ^1H e ^{13}C em CDCl_3 e/ou DMSO-d_6 , e seus espectros encontram-se no anexo. A **Figura 2.11** apresenta a numeração utilizada para a atribuição dos sinais nos espectros.

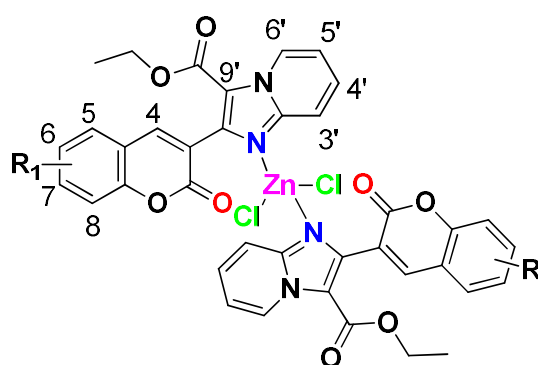


Figura 2.11: Numeração para a atribuição de sinais nos espectros de RMN.

A formação do complexo **C1** foi evidenciada pelas modificações características quando comparadas ao espectro de **HL1** (Figura 2.12).

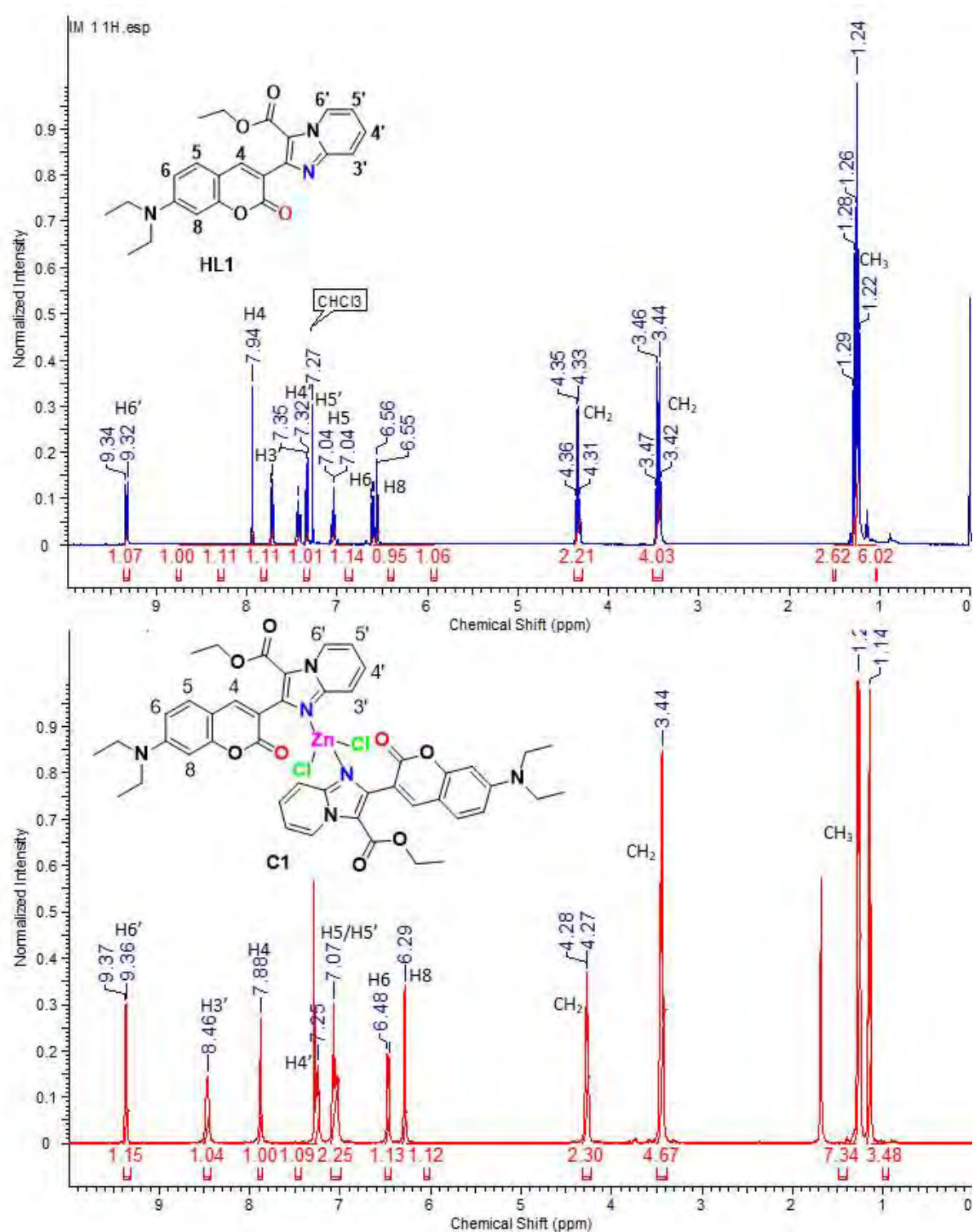


Figura 2.12: Espectros de RMN de ^1H em CDCl_3 de **HL1** (400 MHz) e **C1** (400 MHz)

No espectro do HL1, o hidrogênio mais desprotegido é o H6' presente no anel piridínico e foi atribuído como duplete em δ 9,34 ($J = 6,94$ Hz). Observa-se após a coordenação, que o H6' se mantém inalterado devido à distância deste hidrogênio dos pontos de coordenação, não sendo assim, afetado pela complexação. O segundo hidrogênio mais desblindado no HL1 é o H4, presente no anel lactâmico e foi atribuído como simpleto largo em δ 7,94. Este hidrogênio por ser de fácil identificação, por não acoplar com nenhum outro hidrogênio do espectro, foi o hidrogênio de referência para integração. Após formação do C1, o H4 sofreu um leve deslocamento para campo mais alto, em δ 7,88, que pode ser explicado pela doação eletrônica que o zinco confere ao ligante, protegendo mais este hidrogênio frente ao ligante livre.

O hidrogênio H3' se encontra na forma de duplete em δ 7,73 e é o hidrogênio característico da formação do complexo, onde o sinal em C1 aparece como duplete em δ 8,46, que sofreu deslocamento para campo mais baixo se comparado ao ligante, indicando assim a coordenação através do nitrogênio do grupo imidazólico.

No ligante, os hidrogênios H4' e H5' se apresentam como tripletos em δ 7,35 e δ 7,32 respectivamente, e os hidrogênios H5 se encontra como um duplete em δ 7,04 ($J = 8,20$ Hz). Os sinais do H6 e H8 se encontram em δ 6,64 (duplete – $J = 8,20$ Hz) e δ 6,58 (simpleto), respectivamente. Observou-se, após complexação, que todos os outros hidrogênios aromáticos (H4', H5', H6 e H8) sofreram deslocamento para campo mais alto, exceto o H5, que se manteve inalterado no espectro do complexo.

O CH₂ mais desblindado no HL1 aparece como um multipeto na faixa de δ 4,38-4,33, referente ao CH₂ do grupamento éster, e tornando-o mais desprotegido devido aos efeitos indutivos causados pelos oxigênios deste grupo. Os outros dois CH₂ referentes ao grupo dietilamino se apresentam como um multipeto largo na faixa de δ 3,49-3,44. Os hidrogênios de todos os grupos CH₃ aparecem na região esperada, como um multipeto largo na faixa de δ 1,31-1,24. Os dois sinais referentes aos CH₂ também sofreram deslocamento para campo mais alto em C1, corroborando o efeito de proteção causado pelo zinco através da doação eletrônica pela sua camada d completa. Os sinais dos CH₃ referentes ao grupo dietilamino sofreram deslocamento para campo mais baixo para δ 1,26, destacando-se assim do CH₃ do grupo éster, que se manteve inalterado em δ 1,13, devido à distância dos pontos de coordenação.

Toda a atribuição foi baseada no acoplamento apresentado pelo espectro de ¹H 2D (COSY), figura 2.13. Observa-se os acoplamentos de H5/H6, H5'/H6', H6'/H4' e H5'/H3' corroborando com a caracterização feita pelo RMN de ¹H.

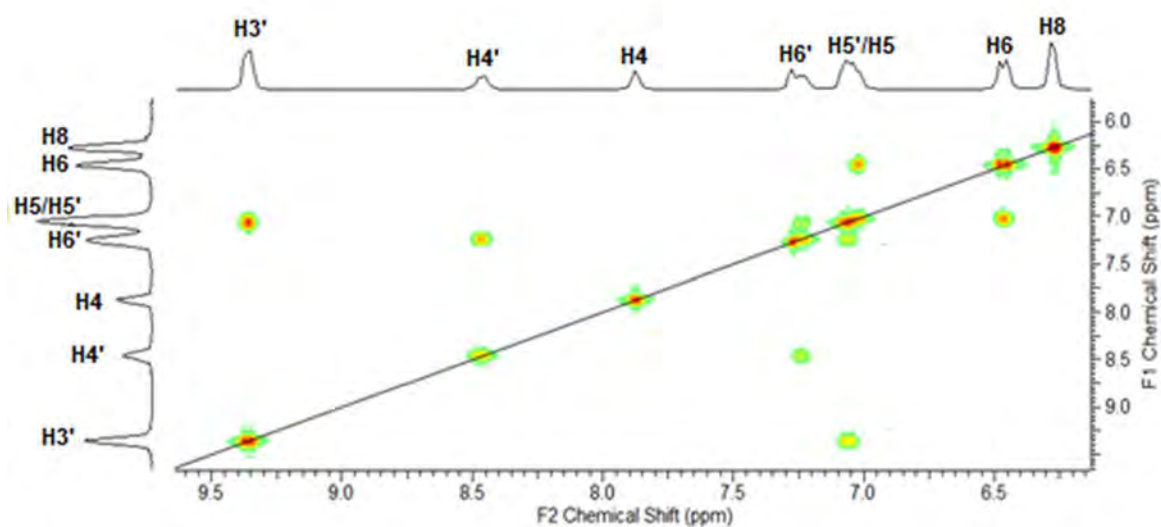


Figura 2.13: Espectro de COSY em CDCl_3 para **C1**.

Os espectros de RMN de ^1H dos demais complexos apresentaram padrão semelhante ao **C1**, o que indicou que todos se coordenaram da mesma forma ao metal. A tabela 2.2 mostra os deslocamentos químicos para os hidrogênios dos complexos **C1-C4** em CDCl_3

Tabela 2.2: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para **C1-4** em CDCl_3 .

| H | C1 | C2 | C3 | C4 |
|--|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) |
| 4 | 7,88 (s) | 7,87 (s) | 7,88 (s) | 7,94 (s) |
| 5 | 7,07 (d, J = 8,27 Hz) | 7,12 (d, J = 8,27 Hz) | 7,09 (m) | 7,04 (s) |
| 6 | 6,48 (d, J = 7,89 Hz) | 7,12 (d, J = 7,89 Hz) | 7,09 (t) | - |
| 7 | - | - | 7,09 (m) | 7,04 (d, J = 7,39 Hz) |
| 8 | 6,29 (s) | 7,02 (s) | - | 7,04 (d; 8,6) |
| 3' | 8,46 (d, J = 8,82 Hz) | 8,49 (d, J = 8,82 Hz) | 8,46 (d; J = 9,10 Hz) | 8,49 (d; J = 8,80 Hz) |
| 4' | 7,47 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,33 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,47 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,33 (dt, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) |
| 5' | 7,07 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) | 7,31 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) | 7,08 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) | 7,12 (dt, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) |
| 6' | 9,37 (d, J = 6,81 Hz) | 9,38 (d, J = 6,81 Hz) | 9,35 (d, J = 6,90 Hz) | 9,40 (d, J = 6,81 Hz) |
| OCH₂CH₃ | 4,27 (q) | 4,26 (q) | 4,34 (q) | 4,26 (q) |
| N(CH₂CH₃)₂ | 1,26 (t) | - | - | - |
| OCH₃ | - | 4,01 (s) | 4,01 (s) | - |
| OCH₂CH₃ | 1,13 (t) | 1,26 (t) | 1,26 (t) | 1,09 (t) |
| N(CH₂CH₃)₂ | 3,44 (m) | - | - | - |
| CH₃ | - | - | - | 2,38 (t) |

- **Análises por difração de raios X de monocristais (DRX) de C2 e C3**

Monocristais dos complexos **C2** e **C3** foram obtidos a partir da evaporação lenta das misturas de uma solução 1:1 de MeOH:Acetato de etila. O complexo **C2** cristalizou no grupo espacial triclínico $P\bar{1}$, enquanto **C3** cristalizou em grupo monoclínico $P2_1/c$. Dados completos de refinamento e das estruturas cristalinas estão disponíveis no anexo (**Tabela A1**). As unidades assimétricas de **C2-3** estão representadas na **Figura 2.14**.

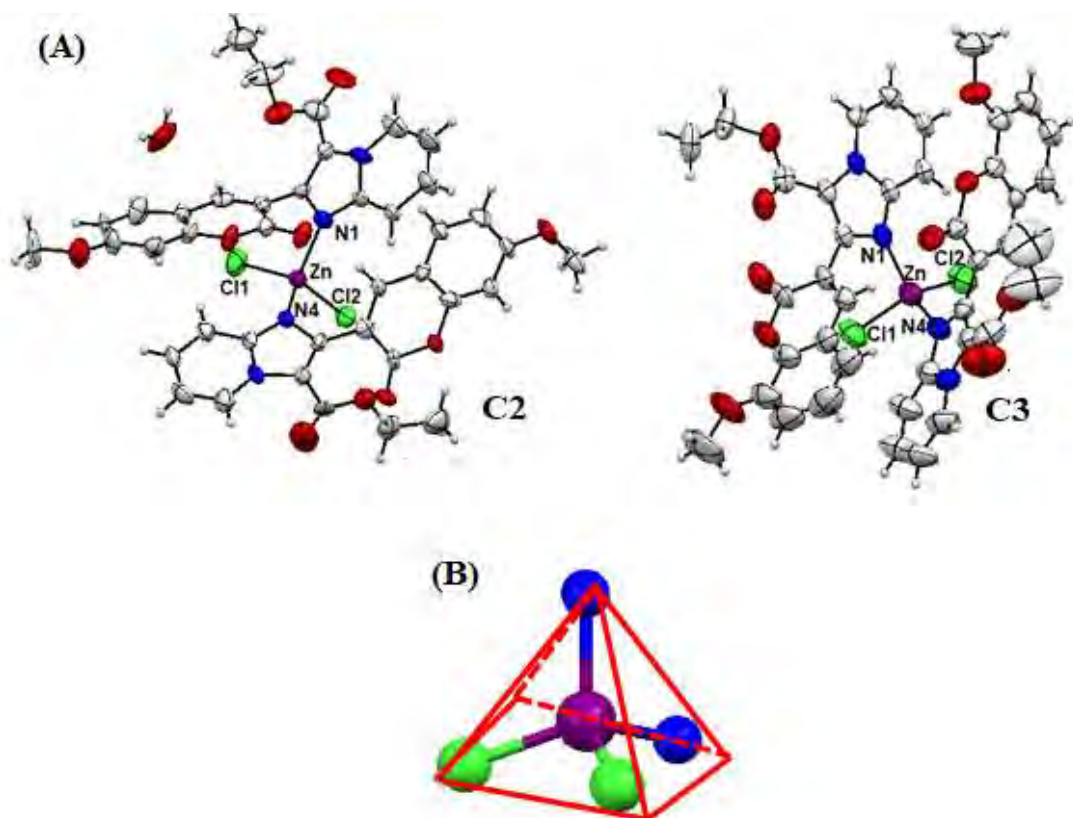


Figura 2.14: **A)** Unidade assimétrica de **C2** e **C3** com elipsóides térmicos traçados no nível de probabilidade de 40% e átomos de hidrogênio representados como esferas. Códigos por cor: cinza (carbono), vermelho (oxigênio), azul (nitrogênio), roxo (zinco) e verde claro (cloro). Os átomos de hidrogênio são representados como esferas brancas. Solventes de cristalização foram omitidos para facilitar a visualização. **B)** Visualização da geometria tetraédrica dos complexos **C2** e **C3**.

A estrutura cristalina do complexo **C2** mostra que o ligante se coordena de forma monodentada ao metal, através do nitrogênio do grupo imidazólico na proporção

2:1 (ligante e metal). Não ocorrendo complexação através da carbonila da lactona, possivelmente, este fato se deu devido ao impedimento estéreo conferido pelo grupamento éster ligado ao anel imidazólico, torcendo o ângulo de ligação e deixando inviável a coordenação do ligante ao metal de forma bidentada. A fim de demonstrar isso, na Figura 2.15 está uma imagem de C3 mostrando a distância do centro metálico em relação ao oxigênio da lactona.

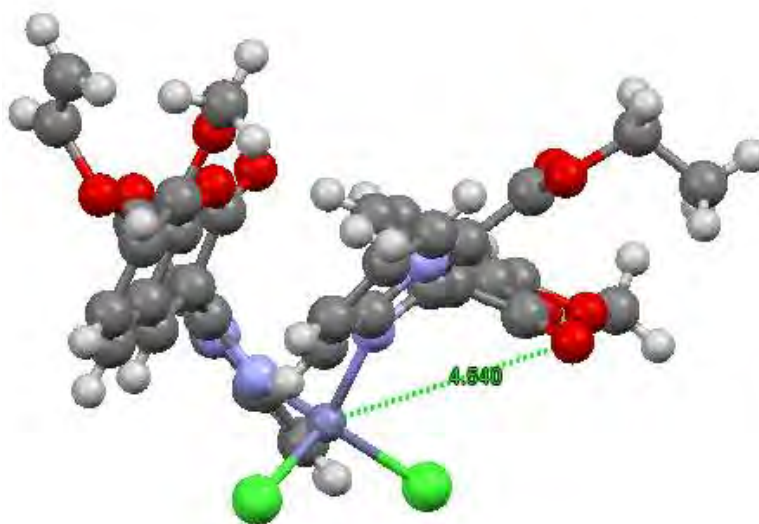


Figura 2.15: Distância do centro metálico de C3 em relação ao oxigênio da lactona.

Completando a esfera de coordenação do zinco, encontram-se dois cloretos. O centro metálico se encontra na forma Zn^{II} e exibe geometria tetraédrica distorcida.

Os ângulos das ligações N-Zn-N e Cl-Zn-Cl se encontram aproximadamente 107° para nitrogênios axiais, como em N-Zn-N e em torno de aproximadamente 115° para Cl-Zn-Cl (Tabela 2.3). Os ângulos das ligações N-Zn-Cl se encontram em torno de 107° . As ligações Zn-Cl e Zn-N apresentam uma distância média de 2,22 Å e 2,06 Å respectivamente e isso está de acordo com os valores encontrados na literatura para complexos tetraédricos distorcidos^{33,34}.

Tabela 2.3: Principais comprimentos de ligação bem como ângulos de ligação de **C2** e **C3** obtidos por DRX.

| <i>Átomos</i> | <i>Comprimento de ligação [Å]</i> | |
|---------------|-----------------------------------|-----------|
| | C2 | C3 |
| Zn(1)-N(1) | 2,044(2) | 2,049(2) |
| Zn(1)-Cl(1) | 2,234(8) | 2,345(7) |
| Zn(1)-Cl(2) | 2,221(12) | 2,227(10) |

| <i>Átomos</i> | <i>Ângulo de ligação [°]</i> | |
|-------------------|------------------------------|-----------|
| | C2 | C3 |
| Cl(1)-Zn(1)-Cl(2) | 112,87(4) | 110,59(4) |
| Cl(1)-Zn(1)-N(1) | 106,66(4) | 105,52(4) |
| Cl(1)-Zn(1)-N(4) | 112,76(4) | 111,63(4) |

- ***LC-MS dos complexos (C1-C4)***

Os complexos (C1-C4) foram analisados por espectrometria de massas de alta resolução e o resultado de C1 encontra-se na **Figura 2.16**, confirmando a pureza do sólido. Devido a similaridade dos espectros, os dos complexos C2-C4 se encontram no anexo (X). Os compostos formados se apresentam na estequiometria 1:2 (M:L) contendo dois átomos de cloro completando a esfera de coordenação.

Para a obtenção do espectro de massas de alta resolução, C1-C4 foram solubilizados em MeOH. Na figura abaixo, está destacado o espectro de massas do complexo C1 (Figura 2.14).

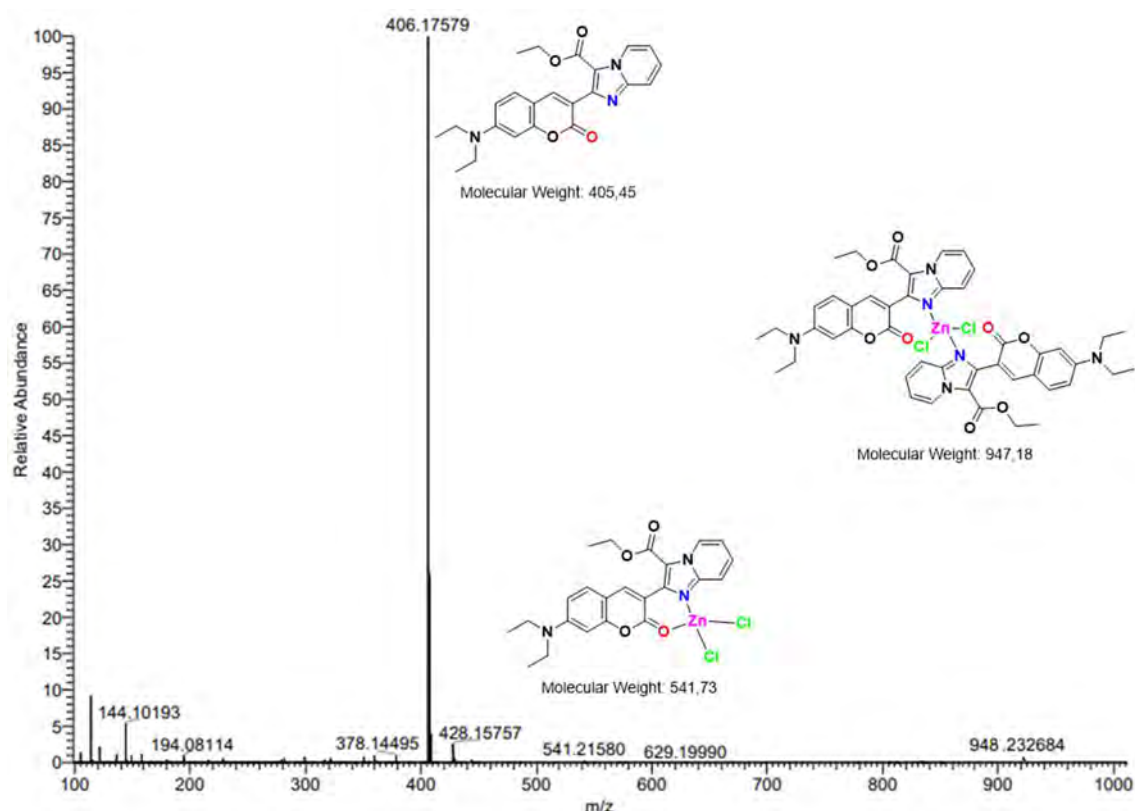


Figura 2.16: Espectro de massas de alta resolução do complexo C1.

O espectro de massas de alta resolução corrobora com os resultados obtidos em outras análises, mostrando que a estrutura proposta dos complexos C1-C4, coordenado por duas unidades de cumarina-imidazopiridina e com dois cloros está condizente.

Algumas quebras de massas foram feitas a fim de tentar atribuir alguns outros picos presentes nos espectros, como pode ser visto na Figura 2.17 para o C1.

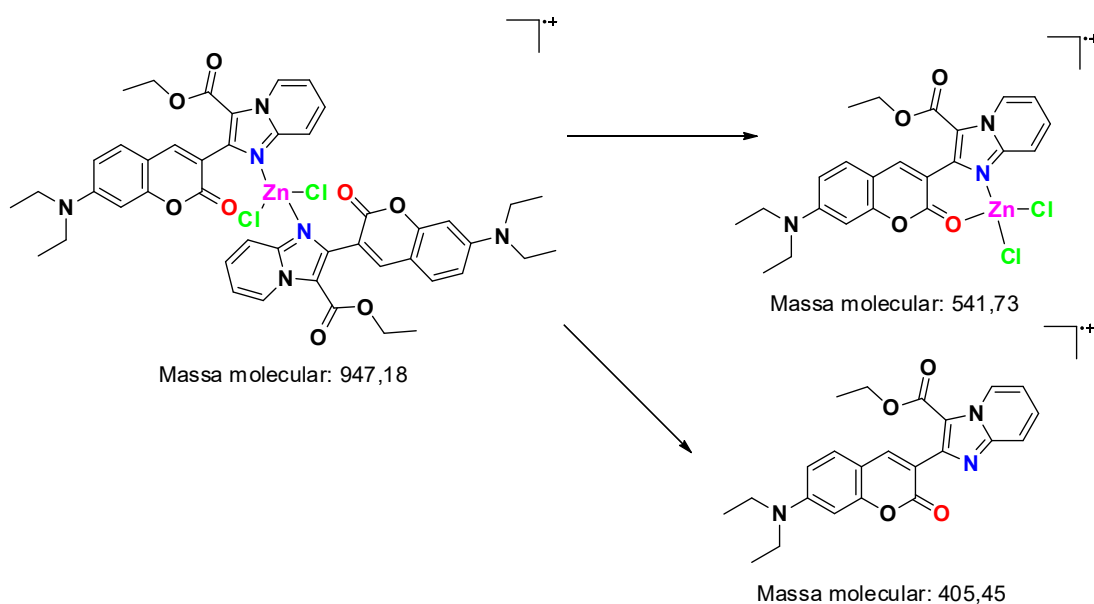


Figura 2.17: Espécies da fragmentação para o C1

Observa-se que o pico do complexo em 948 apresentado no espectro é de fato o íon molecular, devido ao fato de estar no modo positivo, a massa aumenta 1 unidade. O pico base, em 406 (100%) é da cumarina não coordenada. Outro pico encontrado foi o de 542 (10%), referente ao complexo de Zn^{II} -cumarina na proporção 1:1.

Tanto o precursor metálico como outras propostas de complexos não foram encontrados no espectro de massas de alta resolução, tanto no modo positivo quanto no negativo. Os outros complexos seguem o mesmo padrão de fragmentação e embora ainda não haja estruturas cristalinas dos complexos **C1** e **C4**, as técnicas de caracterização realizadas, aliadas com os espectros de massas de alta resolução obtidos foram eficientes na proposição das estruturas destes complexos. Outro dado que confirmou a pureza dos complexos foi o ponto de fusão, que se encontra na seção de parte experimental, pois os complexos se fundiram em grau específico e não em uma faixa larga de graus.

- **Condutivimetria dos complexos (C1-C4)**

Uma solução dos complexos C1-C4 em DMF, na concentração de 1.10^{-3} mol L^{-1} , foi utilizada para a realização de medidas de condutividade. A título de comparação, realizou-se também a medida de condutividade do DMF e de um eletrólito padrão 1:1, o brometo de tetraetilamônio³⁴. Os valores obtidos encontram-se na Tabela 2.4.

Tabela 2.4: Medida de condutividade molar para o DMF, o eletrólito 1:1 e para os complexos sintetizados.

| Composto | $\Lambda M(\mu S) cm^{-1}$ |
|-----------------------------------|----------------------------|
| DMF | 1,09 |
| Brometo de Tetraetilamônio | 79,56 |
| C1 | 11,12 |
| C2 | 15,77 |
| C3 | 18,09 |
| C4 | 18,66 |

O valor de condutividade molar obtido para os complexos C1-C4, abaixo de $20,00 \mu\text{S cm}^{-1}$, a temperatura ambiente foi inferior ao do eletrólito padrão $1:1,79,56 \mu\text{S cm}^{-1}$, indicando que o complexo é neutro³⁴. A medida de condutividade molar foi realizada novamente após 20 minutos, onde foi obtido um valor muito próximo ao primeiro, indicando que o complexo é estável em DMF durante este tempo.

Estando o complexo em sua forma neutra, logo este deve possuir dois cloretos coordenados ao Zn^{II} para os complexos C1-C4. Em conjunto com as análises de RMN de ^1H , massas de alta resolução e cristalografia, os resultados apontam coordenação através de duas unidades de imidazopiridina, sem haver coordenação através do oxigênio da lactona.

2.3.2. Síntese dos complexos $[\text{ZnCl}_2(\text{HL5-6})]$ (C5-C6)

A fim de avaliar se a função éster ligado ao grupamento imidazopiridínico estava impossibilitando a coordenação do ligante ao metal através da lactona, visto que trabalhos anteriores de nosso grupo, a lactona era um ponto de coordenação, resolveu-se sintetizar complexos com derivados cumarínicos-imidazopiridínicos sem essa função anexada.

A síntese foi similar aos complexos C1-C4, onde houve a adição do ligante em etanol em que se formou uma suspensão amarelada. Ao adicionar o precursor de zinco sólido à suspensão contendo o ligante HL5, houve solubilização do ligante e formação de uma solução amarelada. Após 4h formou-se uma solução alaranjada e após verificação através de CCF, cessou-se a reação. Os sólidos isolados da síntese por evaporação do solvente foram lavados com etanol gelado e posteriormente foram enviados para RMN de ^1H em CDCl_3 e comparado com os ligantes.

2.3.2.1 Caracterização estrutural dos complexos C5-C6

- *Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)*

Os complexos C5-C6 foram analisados por espectroscopia no IV, Figura 2.18, e as principais bandas estão mostradas na Tabela 2.5.

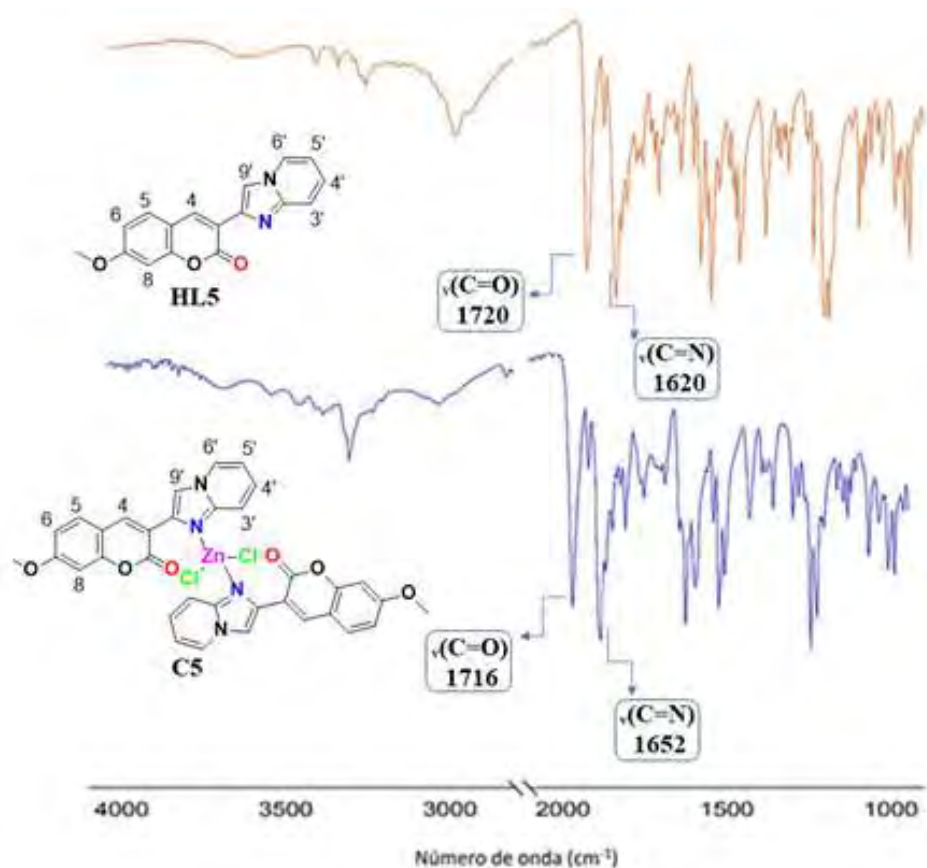


Figura 2.18: Espectros no infravermelho dos compostos **HL5** e **C5**. A região de 2800 a 1800 cm^{-1} foi omitida por não conter estiramentos.

Os espectros no IV dos complexos de Zn^{II} exibiram alterações características quando comparados aos respectivos ligantes. No espectro de infravermelho dos ligantes, há uma banda referente a $\nu(\text{C=O})$ da lactona do anel cumarínico, em 1720 cm^{-1} , enquanto que o envelope de bandas em 1620 cm^{-1} é referente ao $\nu(\text{C-N})$ do grupamento imidazo[1,2-a]piridina correspondente³⁵.

Após a formação dos complexos, o $\nu(\text{C=O})$ sofre um leve deslocamento para 1716 cm^{-1} . Os dois $\nu(\text{C-N})$ do grupamento imidazo[1,2-a]piridina sofreram um deslocamento de aproximadamente 30 cm^{-1} , indo para maior número de onda em 1652 cm^{-1} , o que pode indicar uma coordenação através deste grupo³⁶.

Tabela 2.5: Principais bandas no infravermelho (cm^{-1} , ATR) observadas nos espectros de C5-C6.

| | $\nu(\text{C=O})$ | $\nu(\text{C=N})$ |
|-----------|-------------------|-------------------|
| C5 | 1716 | 1652 |
| C6 | 1697 | 1648 |

- **Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

De maneira análoga aos seus respectivos ligantes (Capítulo 1) os complexos **C5** e **C6** foram analisados através de experimentos 1D e 2D de RMN de ^1H e ^{13}C em CDCl_3 e/ou DMSO-d_6 , e seus espectros encontram-se no anexo. A **Figura 2.19** apresenta a numeração utilizada para a atribuição dos sinais nos espectros.

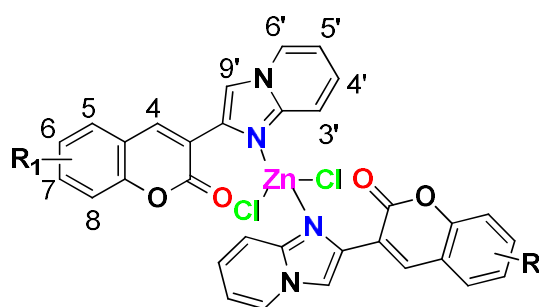


Figura 2.19: Numeração para a atribuição de sinais nos espectros de RMN.

A formação do complexo **C5** (anexo) foi evidenciada pelas modificações características quando comparadas ao espectro de **HL5** (**Figura 2.20**).

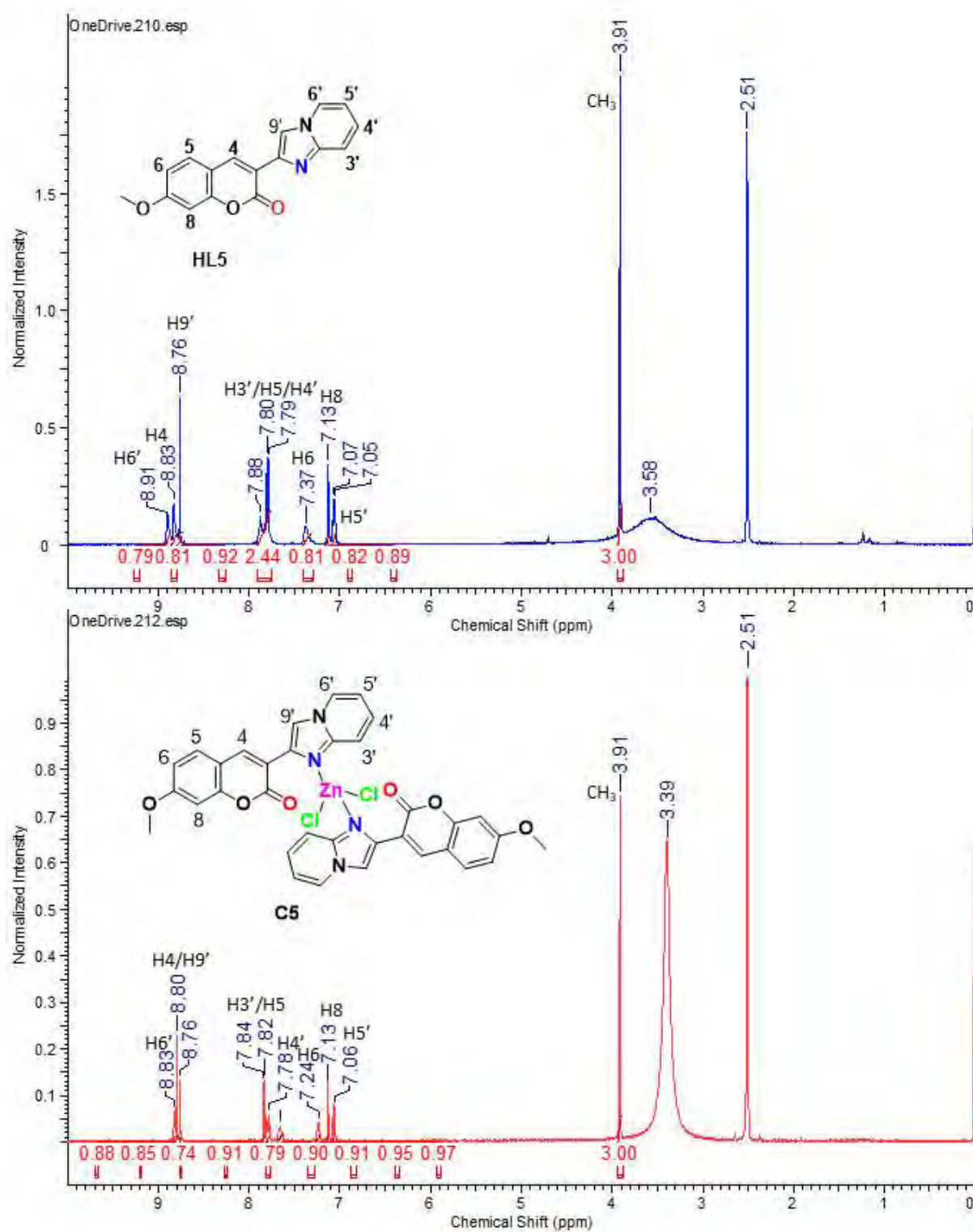


Figura 2.20: Espectros de RMN de ^1H em DMSO-d_6 de **HL5** (400 MHz) e **C5** (400 MHz)

No espectro do HL5, o hidrogênio mais desprotegido é o H6' presente no anel piridínico e foi atribuído como duplete em δ 8,91 ($J = 8,20$ Hz). Após complexação, observou-se que o H6' sofre um pequeno deslocamento para campo mais alto, sendo um duplete em δ 8,83 ($J = 8,20$ Hz), devido à distância deste hidrogênio dos pontos de coordenação, não sendo assim, tão afetado pela coordenação. O segundo hidrogênio mais desblindado é o H4, presente no anel lactâmico e foi atribuído como simpleto largo em δ 8,83. O hidrogênio H4 deslocou para campo mais alto e se encontra agrupado com o sinal do H9' em δ 8,74, um deslocamento considerável e que pode ser indício de coordenação.

Os hidrogênios H3', H5 e H4' se apresentam como multipletos em δ 7,87, 7,80 e 7,76 respectivamente. O H6 aparece como duplete em δ 7,38 ($J = 6,94$ Hz). Os sinais do H8 e H5' se encontram em δ 7,13 e 7,07 respectivamente singleto e tripleto ($J = 8,20$ Hz). Logo após formação do C5, os H3', H5 e H4' se mantiveram inalterados como multipletos em δ 7,87, 7,80 e 7,76 respectivamente. O H6 aparece mais blindado, como duplete em δ 7,20 ($J = 6,94$ Hz). Os sinais do H8 e H5' se encontram em δ 7,13 e 7,06 respectivamente singleto e tripleto ($J = 8,20$ Hz). Os hidrogênios do CH₃ do grupo metoxi aparecem na região esperada, como um singleto largo em δ 3,91 no ligante e após coordenação continuaram sem alterações visíveis, se apresentando como um singleto largo em δ 3,91⁹.

Os espectros de RMN de ¹H dos demais complexos apresentaram padrão semelhante ao C5, o que indicou que todos se coordenaram da mesma forma ao metal. A tabela 2.6 mostra os deslocamentos químicos para os hidrogênios dos complexos C5-C6 em CDCl₃. Toda a atribuição foi baseada no acoplamento apresentado pelo espectro de ¹H 2D (COSY).

Tabela 2.6: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para **C5-6** em DMSO- d_6 .

| H | C5 | C6 |
|------------------------|--|--|
| | $\delta \text{ } ^1\text{H}$ (m; J Hz) | $\delta \text{ } ^1\text{H}$ (m; J Hz) |
| 4 | 8,73 (s) | 8,73 (s) |
| 5 | 7,88 (d, J = 8,82 Hz) | 7,85 (m) |
| 6 | 7,24 (d, J = 7,89 Hz) | 7,40 (m) |
| 7 | - | 7,35 (m) |
| 8 | 7,14 (s) | - |
| 3' | 7,88 (d, J = 8,82 Hz) | 7,85 (m) |
| 4' | 7,78 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,79 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) |
| 5' | 7,13 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) | 7,35 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) |
| 6' | 8,86 (d, J = 6,81 Hz) | 8,86 (d, J = 6,90 Hz) |
| 9' | 8,86 (s) | 8,86 (s) |
| OCH₃ | 3,91 (s) | 3,95 (s) |

- **Condutivimetria dos complexos (C5-C6)**

De forma similar aos complexos (C1-C4), uma solução dos complexos C5-C6 em DMF, na concentração de $1.10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, foi utilizada para a realização de medidas de condutividade. A título de comparação, realizou-se também a medida de condutividade do DMF e de um eletrólito padrão 1:1, o brometo de tetraetilamônio. Os valores obtidos encontram-se na Tabela 2.7.

Tabela 2.7: Medida de condutividade molar para o DMF, o eletrólito 1:1 e para os complexos sintetizados.

| Complexo | | $\Lambda M(\mu S)$ |
|------------------------|-----------|--------------------|
| DMF | | 1,09 |
| Brometo | de | 79,56 |
| Tetraetilamônio | | |
| C5 | | 17,22 |
| C6 | | 15,19 |

O valor de condutividade molar obtido para os complexos C5 e C6, abaixo de $20,00 \mu S \text{ cm}^{-1}$, a temperatura ambiente foi inferior ao do eletrólito padrão 1:1, $79,56 \mu S \text{ cm}^{-1}$, indicando que o complexo é neutro³⁵. A medida de condutividade molar foi realizada novamente após 20 minutos, onde foi obtido um valor muito próximo ao primeiro, indicando que o complexo é estável em DMF durante este tempo. Estando o complexo em sua forma neutra, logo este deve possuir dois cloretos coordenados ao Zn^{II} para os complexos C5-C6. Em conjunto com as análises de RMN de ^1H e IV, os resultados apontam coordenação através de duas unidades de imidazopiridina, sem haver coordenação através do oxigênio da lactona.

2.3.3. Síntese dos complexos $[\text{Ag}(\text{HL1-3})\text{NO}_3]$ (C1Ag-C3Ag)

Para o Ag^{I} , uma síntese similar aos complexos **C1-C4** foi realizada, utilizando o mesmo procedimento, mas usando o precursor AgNO_3 . Este precursor foi escolhido a fim de que o complexo fosse carregado e assim favorecesse a solubilidade. Após o término da reação, decisão tomada após acompanhamento por ccf, percebeu-se que todos os complexos de Ag^{I} eram bastante solúveis e com isso, resolveu-se deixar na geladeira a fim de cristalizar. Não se obteve cristais aptos para difração, mas foram obtidos sólidos mais puros que foram utilizados em análises posteriores. Vale ressaltar que o tempo de síntese dos complexos até a caracterização foi relativamente curto, proporcionando caracterizações adequadas, mas a longo prazo, percebeu-se uma instabilidade nestes complexos, onde eles passavam a adquirir uma coloração preta (provavelmente devido à

redução da Ag^{I} a Ag^0)³⁷. Casos semelhantes são encontrados na literatura para compostos de Ag^{I} , o que corrobora com o que se observou até então^{38,39}.

2.3.3.1 Caracterização estrutural dos complexos C1Ag-C3Ag.

- *Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)*

A comparação do infravermelho do ligante **HL2** e do **C2Ag** se encontra na **Figura 2.21**.

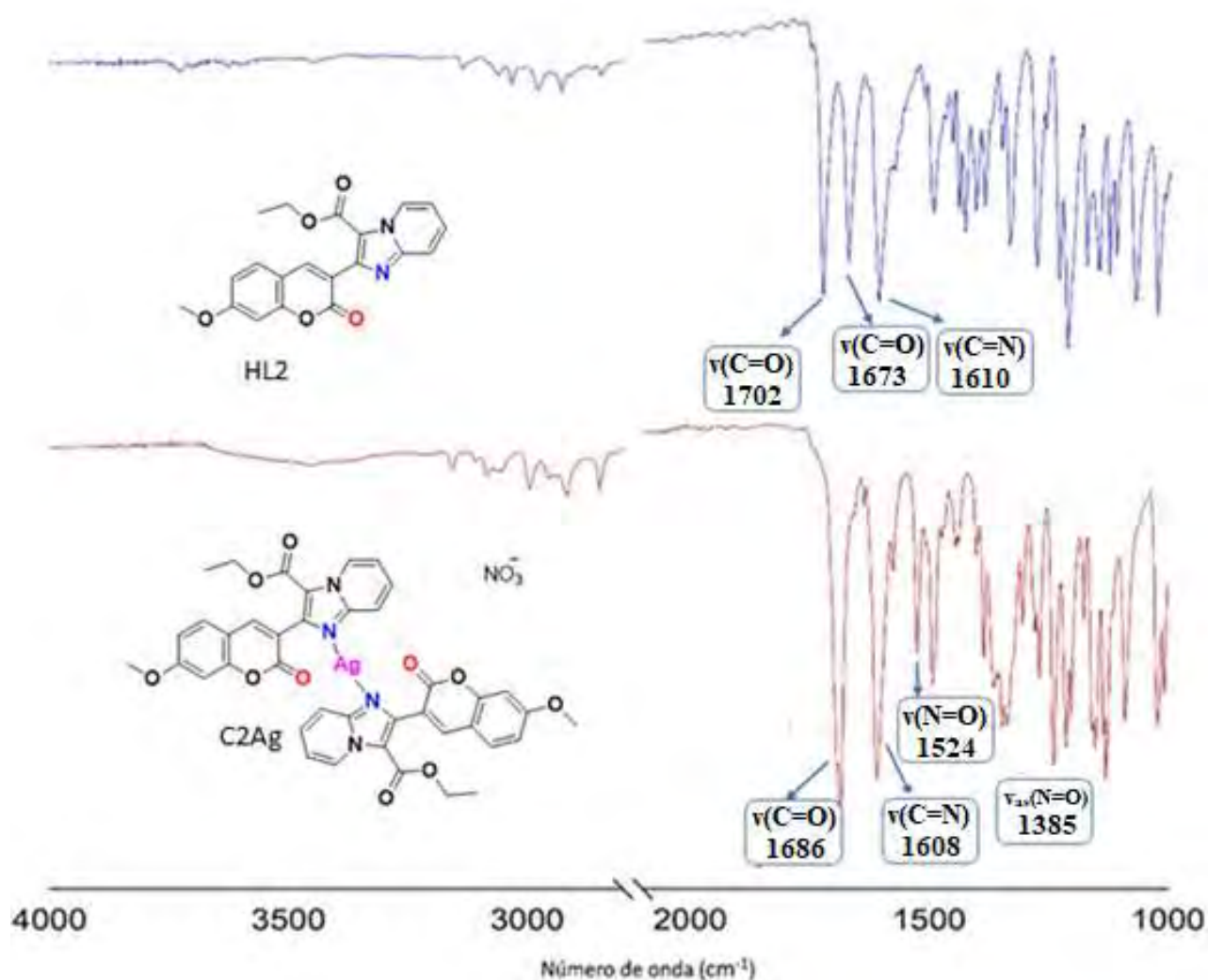


Figura 2.21: Espectros no infravermelho dos compostos **HL2** e **C2Ag**. A região de 2800 a 1800 cm^{-1} foi omitida por não conter estiramentos.

O $\nu(\text{C}=\text{N})$ foi atribuído em 1610 cm^{-1} , mantendo a mesma posição no complexo **C8**, em 1608 cm^{-1} ⁴⁰. Esse comportamento foi mantido para todos os complexos sintetizados. Além disso, sabe-se que o íon nitrato possui 4 vibrações que podem ser identificadas no espectro de absorção na região do infravermelho: ν_1 (estiramento NO), ν_2 (fora do plano) e ν_3 e ν_4 (vibrações degeneradas: estiramento NO_2 e deformação NO_2) e devido a isso, pôde-se observar, o sinal referente ao $\nu(\text{N}=\text{O})$ do contra-íon NO_3^- em $1524\text{-}1529\text{ cm}^{-1}$, ¹⁰ além de uma banda de absorção típica de grupo nitrato em 1385 cm^{-1} , que pode ser atribuída ao modo de $\nu_{\text{as}}(\text{NO}_2)\text{NO}_3$, presente apenas nos espectros dos complexos **C2Ag**, como é mostrado na **Figura 2.19**, e **C1Ag**. Já para **C3Ag**, não foi possível determinar a banda referente ao contra-íon, sendo necessário uma análise condutimétrica para confirmar a presença do mesmo.

A característica da ligação numa série de nitratos metálicos passa de iônico para covalente; a simetria do grupo nitrato passa de D_{3h} para C_{2v} . Isso é uma consequência do desdobramento da vibração ν_3 (estiramento N-O) em duas bandas e um aumento da intensidade e desdobramento da vibração ν_1 , devido à redução da simetria do radical nitrato.

Os dados de estiramento do **C2Ag**, tal como dos outros derivados se encontra na tabela 2.8.

Tabela 2.8: Principais bandas no infravermelho (cm^{-1} , ATR) observadas nos espectros de **C1Ag-C3Ag**.

| | $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{éster}}$ | $\nu(\text{C}=\text{N})$ | $\nu(\text{N}=\text{O})_{\text{nitrato}}$ | $\nu_{\text{as}}(\text{N}=\text{O})_{\text{nitrato}}$ |
|-------------|---|--------------------------|---|---|
| C1Ag | 1699 | 1608 | 1529 | 1385 |
| C2Ag | 1686 | 1608 | 1524 | 1381 |
| C3Ag | 1690 | 1612 | - | |

- **Ressonância Magnética Nuclear (RMN)**

De maneira análoga aos seus respectivos ligantes (Capítulo 1) e aos complexos de zinco, os complexos de prata foram analisados através de experimentos 1D e 2D de RMN de ^1H e ^{13}C em CDCl_3 e/ou DMSO-d_6 , e seus espectros encontram-se no anexo. A Figura 2.22 apresenta a numeração utilizada para a atribuição dos sinais nos espectros.

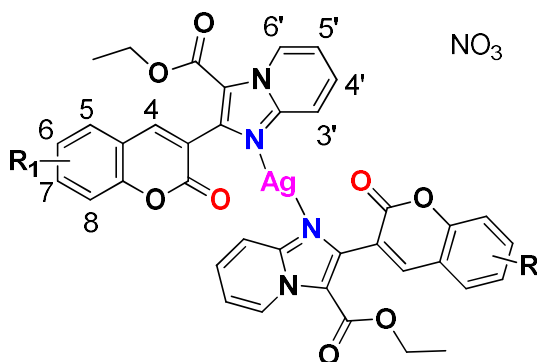


Figura 2.22: Numeração para a atribuição de sinais nos espectros de RMN.

A formação do complexo **C2Ag** foi evidenciada pelas modificações características quando comparadas ao espectro de **HL2** (Figura 2.23).

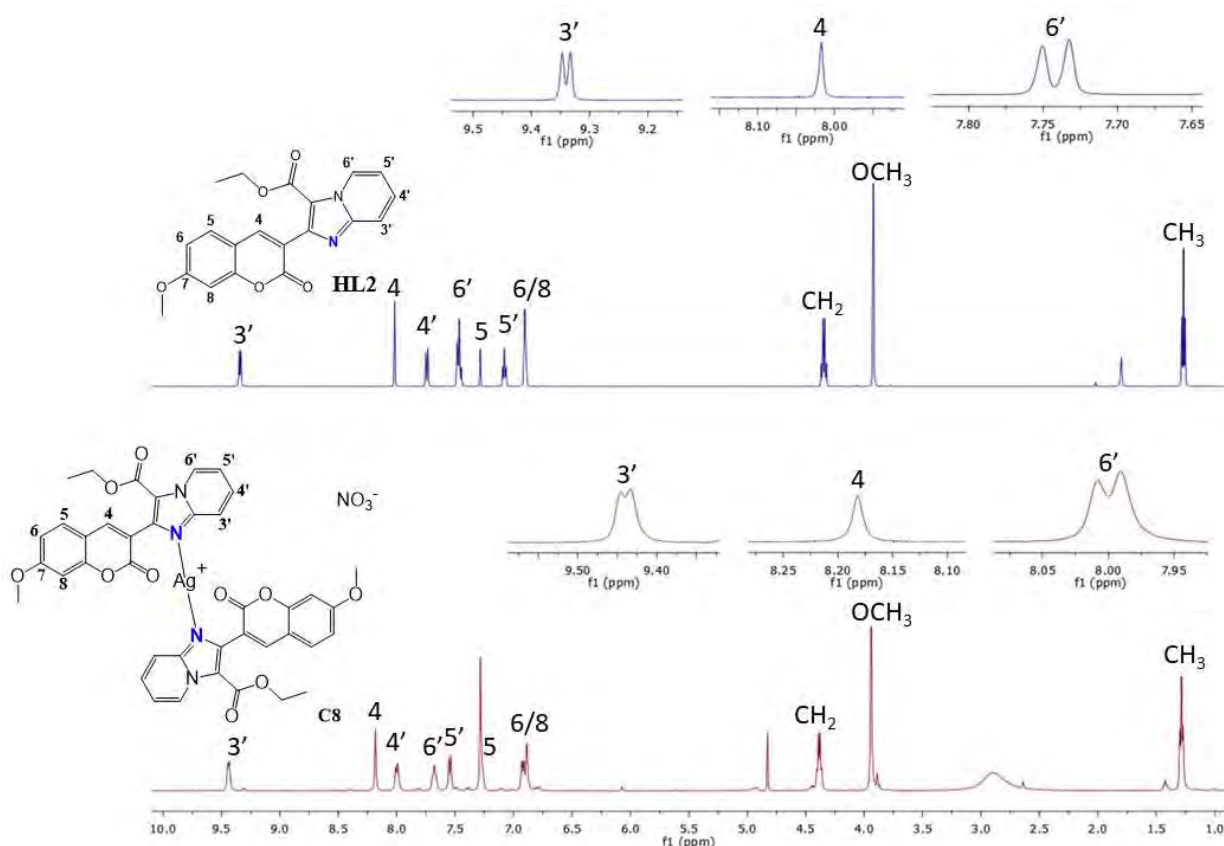


Figura 2.23: Espectros de RMN de ^1H em CDCl_3 de **HL2** (400 MHz) e **C2Ag** (400 MHz)

No espectro do HL2, o hidrogênio mais desprotegido é o H3' presente no anel piridínico e foi atribuído como duplete em δ 9,40. Após a coordenação observa-se que o H3' sofre um pequeno deslocamento para campo mais baixo, sendo um duplete em δ 9,47. O segundo hidrogênio mais desblindado é o H4 presente no anel lactâmico e foi atribuído como simpleto em δ 8,02. Após formação do C2Ag, o H4 deslocou para campo mais baixo e se encontra em δ 8,19 um deslocamento considerável e que pode ser indicio de coordenação. O hidrogênio H4' no ligante se encontra na forma de duplete em δ 7,92 e após coordenação se deslocou para campo mais baixo e se encontra em 8,05, sendo este deslocamento devido à proximidade ao ponto de coordenação. O H6', H5 e H5' se apresentam como multipletos em δ 7,87, 7,60 e 7,30 respectivamente. O H6' e H5' deslocaram para campo mais baixo, também um indicio de complexação devido a proximidade do ponto de coordenação. Os sinais do H6 e H8 se encontram no ligante em δ 7,13 e 7,07 respectivamente singleto e tripleto ($J = 8,20$ Hz). No C8, o H6 aparece mais blindado, como duplete em δ 7,20 ($J = 6,94$ Hz). Os sinais do H8 e H5' se encontram em δ 7,09 e 7,02 respectivamente singleto e tripleto ($J = 8,20$ Hz). Os hidrogênios do anel cumarínico H6/H8 se mantiveram inalterados em relação ao ligante.

Os hidrogênios do CH₃ do grupo metoxi aparecem na região esperada, como um singlete largo em δ 3,91⁹, após complexação continuam sem alterações, como um singlete largo em δ 3,87⁹. O CH₂ e o CH₃ do grupo etoxi também se mantiveram inalterados se comparados ao ligante. Toda a atribuição foi baseada no acoplamento apresentado pelo espectro de ¹H 2D (COSY). Os espectros de RMN de ¹H dos demais complexos apresentaram padrão semelhante ao C7, o que indicou que todos se coordenaram da mesma forma ao metal. A tabela 2.9 mostra os deslocamentos químicos para os hidrogênios dos complexos C1Ag-C3Ag em CDCl₃.

Tabela 2.9: Dados obtidos nos espectros de RMN de ¹H e COSY para **C1Ag-C3Ag** em CDCl₃

| H | C1Ag | C2Ag | C3Ag |
|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | δ ¹ H (m; J Hz) | δ ¹ H (m; J Hz) | δ ¹ H (m; J Hz) |
| 4 | 8,00 (s) | 8,18 (s) | 8,24 (s) |
| 5 | 7,38 (d, J = 8,27 Hz) | 7,54 (d, J = 8,27 Hz) | 7,29 (m) |
| 6 | 6,63 (d, J = 7,89 Hz) | 6,93 (m) | 7,22 (t) |
| 7 | - | - | 7,15 (m) |
| 8 | 6,57 (s) | 6,89 (s) | - |
| 3' | 7,79 (d, J = 8,82 Hz) | 7,99 (d, J = 8,82 Hz) | 7,95 (d; J= 9,10 Hz) |
| 4' | 7,49 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,68 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) | 7,62 (t, J1 = 8,82 e J2 = 7,79 Hz) |
| 5' | 7,10 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) | 6,93 (m) | 7,18 (t, J1 = 6,81 e J2 = 7,79 Hz) |
| 6' | 9,37 (d, J = 6,81 Hz) | 9,45 (d, J = 6,81 Hz) | 9,37 (d, J = 6,90 Hz) |
| OCH₂CH₃ | 4,37 (q) | 4,38 (q) | 4,37 (q) |
| OCH₂CH₃ | 1,25 (t) | 1,29 (t) | 1,26 (t) |
| OCH₃ | - | 3,94 (s) | 4,00 (s) |
| NCH₂CH₃ | 1,25 (t) | - | - |
| NCH₂CH₃ | 3,46 (m) | - | - |

- **Condutivimetria dos complexos (C1Ag-C3Ag)**

De forma similar aos complexos (C1-C6), uma solução dos complexos de prata C1Ag-C2Ag em DMF, na concentração de $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foi utilizada para a realização de medidas de condutividade. A título de comparação, realizou-se também a medida de condutividade do DMF e de um eletrólito padrão 1:1, o brometo de tetraetilamônio. Os valores obtidos encontram-se na Tabela 2.10.

Tabela 2.10: Medida de condutividade molar para o DMF, o eletrólito 1:1 e para os complexos sintetizados.

| Complexo | | $\Lambda M(\mu S)$ |
|------------------------|-----------|--------------------|
| DMF | | 1,09 |
| Brometo | de | 79,56 |
| Tetraetilamônio | | |
| C1Ag | | 77,22 |
| C2Ag | | 72,32 |
| C3Ag | | 78,12 |

O valor de condutividade molar obtido para os complexos C1Ag-C3Ag, acima de $70,00 \mu S \text{ cm}^{-1}$, a temperatura ambiente foi próxima ao do eletrólito padrão 1:1, $79,56 \mu S \text{ cm}^{-1}$, indicando que o complexo é carregado³⁵. A medida de condutividade molar foi realizada novamente após 20 minutos, onde foi obtido um valor muito próximo ao primeiro, indicando que o complexo é estável em DMF durante este tempo. Estando o complexo em sua forma carregada, logo este deve possuir um contra-íon em sua esfera de coordenação para fechar o balanço de carga. Em conjunto com as análises de RMN de ^1H e IV, os resultados apontam coordenação através de duas unidades de imidazopiridina, sem haver coordenação através do oxigênio da lactona.

2.4. CONCLUSÕES

Uma metodologia reacional reproduzida da literatura e empregada na obtenção dos complexos de Zn^{II} contendo ligantes do tipo imidazopiridina se mostrou satisfatória na obtenção de seis novos complexos (C1-6) do tipo $[\text{ZnCl}_2(\text{HL1-6})_2]$ (C1-C6). Contudo, a modificação no ligante, obtendo ligantes sem o éster ligado ao anel piridínico, foi feita no intuito de favorecer a coordenação através de dois pontos no ligante, formando assim um quelato, que apresentaria maior estabilidade frente a ligantes monodentados e com isso, poderia apresentar maior estabilidade em meio biológico. Como não se obteve cristais destes complexos, apenas suposições estruturais através das técnicas utilizadas podem ser feitas. Quanto à metodologia reacional da síntese dos complexos de Ag^{I} (C1Ag-C3Ag) se mostrou satisfatória, obtendo complexos de fácil purificação e reprodução, contudo, o íon de Ag^{I} reduz facilmente a Ag^0 , originando compostos pretos bem característicos.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B.; KLEIN, A. Bioinorganic chemistry : inorganic elements in the chemistry of life : an introduction and guide. 2 ed. West Sussex: Editora Wiley, 2013.
- 2 - MARET, W. The redox biology of redox-inert zinc ions. **Free Rad Biol Med**, v. 134, p. 311-326, 2019.
- 3 - KREŽEL, A.; MARET, W. The biological inorganic chemistry of zinc ions. **Arch. Biochem. Biophys**, v. 611, p. 3-19, 2016.
- 4 – ZORODDU, M.A.; AASETH, J.; CRISPONI, G.; MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V.M. The essential metals for humans: a brief overview. **J Inorg Biochem**, v. 195, p. 120-129, 2019.
- 5 - ABENDROT, M.; CHEĆIŃSKA, L.; KUSZ, J.; LISOWSKA, K.; ZAWADZKA, K.; FELCZAK, A.; KALINOWSKA-LIS, U. Zinc(II) Complexes with Amino Acids for Potential Use in Dermatology: Synthesis, Crystal Structures, and Antibacterial Activity. **Molecules**, v. 25, p. 951-163, 2020.
- 6 - JUROWSKI, K., SZEWCZYK, B., NOWAK, G. *et al.* Biological consequences of zinc deficiency in the pathomechanisms of selected diseases. **J Biol Inorg Chem**, v. 19, p. 1069–1079, 2014.
- 7 - BHAT, F.A., GANAI, B.A., & UQAB, B. Carbonic Anhydrase: Mechanism, Structure and Importance in Higher Plants. **Asian J Plant Sci Res**, v. 7, p. 17-23, 2017.
- 8 - MEZZAROBÀ, L.; ALFIERI, D. F.; SIMÃO, A. N. C.; REICHE, E. M. V. The role of zinc, copper, manganese and iron in neurodegenerative diseases, **NeuroToxicology**, v. 74, p 230-241, 2019.

- 9 – CHASAPIS, C. T.; NTOUPA, P. A.; SPILIOPOULOU, C. A.; STEFANIDOU, M. E. Recent aspects of the effects of zinc on human health. **Arch Toxicol**, v. 94, p. 1443-1460, 2020.
- 10 – MOUSAVI, S. *et al.* Sonication-assisted synthesis of a new cationic zinc nitrate complex with a tetradentate Schiff base ligand: Crystal structure, Hirshfeld surface analysis and investigation of different parameters influence on morphological properties, **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 46, p. 26-35, 2018.
- 11 - PRASAD, A. S. Zinc in Human Health: Effect of Zinc on Immune Cells. **Mol Med**, v. 14, p. 353–357, 2008.
- 12 – SUGARMAN, B. Zinc and infection. **Rev Infect Dis**, v. 5, p. 137-147, 1983.
- 13 – NOGRADY, T.; WEAVER, D. F. Medicinal Chemistry: A molecular and biochemical approach. New York: Oxford University Press, 3^a Ed, 2005.
- 14 – PRASAD, A. S.; BECK, F. W.; *et al.* Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress. **Am J Clin Nutr**, v. 85, p. 837-844, 2007.
- 15 - GUILHERME, V. A. *et al.* Caracterização e atividade farmacológica do diclofenaco-zinco (II) e do complexo de inclusão diclofenaco-zinco (II)- hidroxipropil- β -ciclodextrina. **Bioikos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 119-127, 2010.
- 16 - ROMANOVIĆ, M. Č.; ČOBELJIĆ, B. R.; PEVEC, *et al.* Synthesis, crystal structure, magnetic properties and DFT study of dinuclear Ni(II) complex with the condensation product of 2-quinolinecarboxaldehyde and Girard's T reagent. **Polyhedron**, v. 128, p. 30-37, 2017.
- 17 - LEE, J. D. Química inorgânica não tão concisa, 5^a ed. Edgard Blücher Ltda, p. 415-418, 1999.
- 18 - SOUZA, G. D. D.; RODRIGUES, M. A.; SILVA, P. P & GUERRA, W. “Prata: breve histórico, propriedades e aplicações.” **Educación química**, v. 24, p. 14-16, 2013.

19 - SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. Química Inorgânica. 3ª ed. Bookman, p. 192-196, 2003.

20 - SEGURA, D. F.; NETO, A. V. G.; *et al*, Synthesis and biological evaluation of ternary silver compounds bearing *N,N*-chelating ligands and thiourea: X-ray structure of $[\{Ag(bpy)(\mu-tu)\}_2](NO_3)_2$ (bpy = 2,2'-bipyridine; tu = thiourea). **Polyhedron**, v. 79, p. 197-206, 2014.

21 - CAVICCHIOLI, M. *et al*. Pt(II) and Ag(I) complexes with acesulfame: Crystal structure and a study of their antitumoral, antimicrobial and antiviral activities. **J Inorg Biochem**, v. 104, p. 533-540, 2010.

22 - ALLISON, S. J.; SADIQ, M.; BARONOU, E *et al*. Preclinical anti-cancer activity and multiple mechanisms of action of a cationic silver complex bearing N-heterocyclic carbene ligands. **Cancer Lett**, v. 403, p. 98-107, 2017.

23 – YILMAZ, V. T.; ICSEL, C.; BATUR, J *et al*. Structures and biochemical evaluation of silver(I) 5,5-diethylbarbiturate complexes with bis(diphenylphosphino)alkanes as potential antimicrobial and anticancer agents. **Eur J Med Chem**, v. 139, p. 901-916, 2017.

24 – GLIŠIĆ, B. D., SENEROVIC, L., *et al*. Silver(I) complexes with phthalazine and quinazoline as effective agents against pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* strains. **J. Inorg. Bioche**, v. 155, p. 115–128, 2016.

25 – BRAGA, A. C. *et al*. Mechanism of Alkane C–H Bond Activation by Copper and Silver Homoscorpionate Complexes. **Organometallics**, v. 25, p. 5292-5300, 2006.

26 - BROWN, D. J & MASON, S. F. Frontmatter. **Chem Heterocycl Comp**, 1962.

27 – THATI, B.; NOBLE, A. *et al*. Mechanism of action of coumarin and silver(I)-coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans*. **Toxicol In Vitro**, v. 21, p. 801-808, 2007.

- 28 – ISLAS, M. S.; MARTÍNEZ, M. J. J. *et al.* Comparisons of the spectroscopic and microbiological activities among coumarin-3-carboxylate, o-phenanthroline and zinc(II) complexes. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 198, p. 212-221, 2018.
- 29 - STRIANESE, M.; BRENNA, S. *et al.* Imidazo-pyridine-based zinc(II) complexes as fluorescent hydrogen sulfide probes. **Dalton Trans.**, v. 50, p. 17075 —17085, 2021.
- 30 - APOHAN, E.; YILMAZ, U. *et al.* Synthesis, cytotoxic and antimicrobial activities of novel cobalt and zinc complexes of benzimidazole derivatives, **J Org Chem**, v. 828, p. 52-58, 2017.
- 31 - YILMAZ, U.; TEKIN, S. *et al.* Synthesis and evaluation of anticancer properties of novel benzimidazole ligand and their cobalt(II) and zinc(II) complexes against cancer cell lines A-2780 and DU-145. **Inorg Chim Acta**, v. 495, p. 118977, 2019.,
- 32 – ARDIZZOIA, G. A.; BRENNA, S. *et al.* Synthesis, Structure, and Photophysical Properties of Blue-Emitting Zinc(II) Complexes with 3-Aryl-Substituted 1-Pyridylimidazo[1,5-*a*]pyridine Ligands. **Eur J Inorg Chem**, v. 2014, p. 4310-4319, 2014.
- 33 - VOLPI, G.; PRIOLA, E. *et al.* Blue fluorescent zinc(II) complexes based on tunable imidazo[1,5-*a*]pyridines, **Inorg Chim Acta**, v. 509, p. 119662, 2020.
- 34 – GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coord. Chem. Rev**, v. 7, p. 81-122, 1971.
- 35 – BORNER, J.; VIEIRA, I. S. V. *et al.* Zinc Complexes with Guanidine–Pyridine Hybrid Ligands – Guanidine Effect and Catalytic Activity. **Eur J Inorg Chem**, v. 2011, p. 4441-4456, 2011.

- 36 – ANTUNES, J. A.; DE TOLEDO, T. A. *et al.* Characterization of zinc complex with 4-{[(1E)-(2-Hydroxyphenyl) methylidene]amino}-1,5-dimethyl-2-phenyl-1,2-dihydro-3H-pyrazol-3-one by FT-IR and FT-Raman spectroscopies and DFT calculations. **J Mol Struc**, v. 1202, p. 127295, 2020.
- 37 – RENDOŠOVÁ, M.; GYEPES, R.; ALMÁŠI, M.; BÁRTOVÁ, I.; VARGOVÁ, Z. Silver(i) pyridylphosphonates - synthesis, structure, stability and light-insensitivity investigation. **RSC Adv**, v.9, p. 1570-1575, 2019.
- 38 – DATTA, S. P.; GRZYBOWSKI, A. K. The stability constants of the silver complexes of some aliphatic amines and amino-acids. **J Chem Soc**, v. 0, p. 1091, 1959.
- 39 - AZOCAR, M. I.; MUÑOZ, H. *et al.* Synthesis and characterization of silver(I) complexes with ligands having anti-inflammatory properties. **Comm Inorg Synt**, v. 1. p.1 9-21, 2013.
- 40 - CREAVER, B. S.; EGAN, D. A.; KAVANAGH, K.; MCCANN, M.; NOBLE, A.; THATI, B.; WALSH, M. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a series of substituted coumarin-3-carboxylatosilver(I) complexes. **Inorg Chim Acta**, v. 359, p. 3976-3984, 2016.

Capítulo 3 : Ligantes derivados de quinolonas

RESUMO

Este capítulo contém uma revisão bibliográfica descrevendo metodologias de síntese para derivados de quinolona, além de aplicações biológicas já mostrados em literatura, com destaque para aqueles que possuem propriedades biológicas importantes. A síntese de quatro ligantes do tipo quinolona com variações de substituintes na posição *para* (**HL7-10**) bem como as caracterizações por espectros no IV, de RMN (1D e 2D) de ^1H foram discutidos no contexto dos dados da literatura.

ABSTRACT

This chapter contains a literature review describing synthesis methodologies for quinolone derivatives, already shown in the literature, highlighting those that have important biological properties. The synthesis of four quinolone ligands with variations of substituents in the *para* position (**HL7-10**) as well as the characterizations by IR spectra, ^1H NMR (1D and 2D) were discussed comparing with literature data.

3.1. INTRODUÇÃO

As quinolonas, Figura 3.1, correspondem a uma classe de compostos de origem sintética contendo um núcleo heteroaromático bicíclico, que inclui uma carbonila na posição 4 ou posição 2 e um átomo de nitrogênio na posição 1.

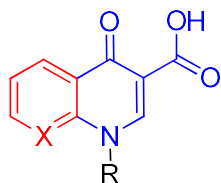


Figura 3.1: Representação das estruturas dos núcleos quinolona (X=C) e naftiridona (X=N).

São compostos de grande interesse químico por sua grande atividade biológica, principalmente como antibióticos^{1,2}, mas também como anticancerígenos, antivirais, antiplaquetárias, ansiolíticas, antimaláricas, antimetóticas e como proteção ao sistema cardiovascular³. Com mais de 800 milhões de pessoas sendo tratadas em todo mundo, as quinolonas são atualmente uma das maiores classes de agentes antimicrobianos prescritos para tratar diversas infecções, tais como: urinárias, respiratórias, ginecológicas e até sexualmente transmissíveis^{4,5}.

A evolução das 4-quinolonas começou em 1962 com a descoberta da primeira quinolona com aplicação clínica, o ácido nalidíxico, que foi obtido sinteticamente por Leshner et al em 1962 durante a síntese da cloroquina, Figura 3.2.

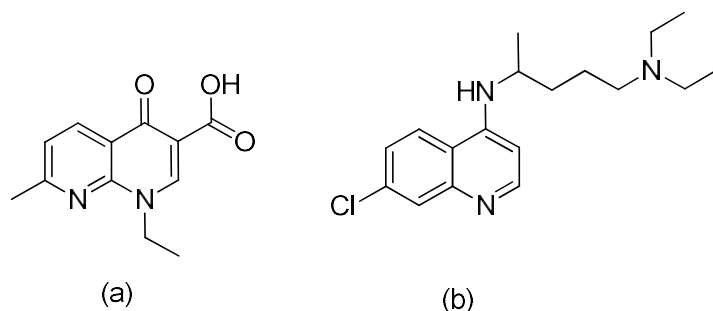


Figura 3.2: Representação da estrutura da primeira quinolona sintetizada, o ácido nalidíxico (a) e da cloroquina (b).

O ácido nalidíxico foi utilizado como antimicrobiano no tratamento de infecções urinárias, sendo posteriormente desenvolvidos novos derivados com maior espectro de ação e com melhores propriedades farmacocinéticas, permitindo a administração oral, parenteral, tópica e com ação sistêmica que passaram a serem utilizados em inúmeros tipos de infecções, até mesmo em infecções com organismos resistentes a outras classes de antimicrobianos. O mecanismo de ação das quinolonas como antibacterianos passa pela inibição da síntese de DNA bacteriano, através da interação com as enzimas DNA girase e topoisomerase IV bacterianas, responsáveis por controlar o superenrolamento do DNA durante a replicação e permitir a segregação de cromossomos pelas células filhas⁶.

O ácido nalidíxico foi alvo de inúmeras modificações com o intuito de melhorar as suas propriedades farmacológicas. A relação estrutura-atividade do modelo foi aperfeiçoada, levando a um aumento de atividade⁷, ao mesmo tempo que as suas propriedades farmacocinéticas foram otimizadas e a sua toxicidade reduzida. Inicialmente, o ácido nalidíxico detinha um uso limitado na prática clínica devido ao seu baixo espectro de ação, baixo nível plasmático e toxicidade. Em estudos relatados, o ácido nalidíxico mostrou excelente atividade contra bactérias entéricas, mas pouca ou nenhuma atividade contra *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias *gram*-positivas⁸. No entanto, devido à sua baixa absorção oral e, conseqüentemente, baixa capacidade de atingir concentrações séricas terapêuticas, verificou-se que o ácido nalidíxico não poderia ser utilizado no tratamento de infecções sistêmicas. Contudo, este poderia ser utilizado em infecções urinárias, devido à grande acumulação do fármaco a nível urinário, atingindo valores terapêuticos⁹. Como consequência da sua absorção incompleta, verificou-se também que o ácido nalidíxico atingia elevada concentração nas fezes, e poderia assim ser utilizado em diarreias causadas por *Shigella*, no entanto, nunca foi amplamente utilizado para esse fim. Outra possível aplicação proposta para o ácido nalidíxico, mas sem sucesso, seria o uso como agente profilático, seletivo, nos intestinos, em doentes neutropênicos, mas após a sua introdução no mercado, verificaram-se diversos efeitos adversos significativos, tais como dores de cabeça, distúrbios gastrointestinais e oftalmológicos, reações de fotossensibilidade e convulsões, em doentes predispostos a esta patologia¹⁰.

O avanço da resistência bacteriana frente à vários antibióticos foi o grande impulsionador da investigação de novas quinolonas com espectro de ação cada vez mais amplo e com propriedades farmacológicas otimizadas. Dentro da mesma geração, os compostos não diferem muito entre si, mas cada nova geração corresponde a um maior espectro de ação. As aplicações terapêuticas aprovadas pelas devidas entidades incluem

o tratamento de infecções no trato urinário, prostatite bacteriana, infecções cutâneas e em tecidos moles, infecções gastrointestinais causadas por *E. coli* ou estirpes de *Salmonella*, doenças sexualmente transmissíveis, entre muitas outras, inclusive o tratamento da tuberculose causada principalmente pelo *Mycobacterium tuberculosis*.

Devido ao seu grande sucesso como antimicrobiano, a utilização no tratamento da AIDS foi também considerada. Estudos demonstram que algumas quinolonas possuem ainda propriedades anticancerígenas, antimaláricas, ansiolíticas, cardiotônicas e anticolinérgicas, podendo eventualmente vir a ser utilizadas no tratamento de doenças neurodegenerativas, como alzheimer e Parkinson^{11,12}.

Esses agentes antimicrobianos designados comumente por quinolonas incluem as quinolonas e as naftiridonas. A estrutura base de ambos os subgrupos contém um grupo carboxila na posição 3 e um oxigênio exocíclico na posição 4, o que confere um segundo nome genérico a esta classe: as 4-quinolonas. Os compostos que possuem um nitrogênio na posição 1 e outro na posição 8 são classificados como naftiridonas (Figura 3.1). Os compostos contendo apenas um nitrogênio na posição 1 são classificados como quinolonas (Figura 3.1). O grupo carboxila da posição 3, juntamente com o grupo cetona da posição 4, são considerados essenciais na atividade das quinolonas, uma vez que é através destes grupos que serão estabelecidas as ligações de hidrogênio com as bases da cadeia simples de DNA bacteriano. Estas interações interferem com a ação da DNA girase e/ou da topoisomerase IV, induzindo a inibição da replicação, transcrição, reparação e recombinação do DNA bacteriano e conduzindo à morte celular¹³⁻¹⁶.

A propriedade antibacteriana dos diferentes derivados é influenciada pela natureza dos substituintes no esqueleto da 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona¹⁷. A manipulação destes substituintes tem possibilitado a ampliação do espectro de ação, combinando elevada potência e maior biodisponibilidade. Tais características permitiram o emprego em formulações orais e intravenosas, capazes de promover altos níveis séricos e ter boa distribuição sistêmica destes compostos¹⁸. Há relatos na literatura sobre o aumento da resistência de micro-organismos às 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas de 1ª e 2ª gerações, reações adversas inesperadas no sistema nervoso central, fototoxicidade, hepatotoxicidade, cardiotoxicidade e interação droga-droga após avaliações clínicas de várias 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas pós-comercialização. O desenvolvimento de novos derivados com maior espectro de ação, principalmente associada a cepa bacteriana resistente, tem um caráter estratégico no combate a diferentes doenças causadas por estes patógenos¹⁹. Desta forma, novas metodologias sintéticas que possibilitem a elaboração

do esqueleto básico e funcionalizado das 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas de forma rápida e eficiente é fundamental para descoberta de novos derivados. Após 50 anos da síntese do primeiro derivado de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona (ácido nalidíxico) utilizado como medicamento existem mais de 10 mil derivados patenteados. Contudo apenas dois por cento foram desenvolvidos e investigados em estudos clínicos, além disso, apenas vinte derivados foram comercializados com sucesso²⁰.

Novos derivados de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas têm alcançado a fase de estudo pré-clínico, como UB-890225 e IMB-07059326 e estudos clínicos como o composto JNJ-Q2, figura 3.3²¹.

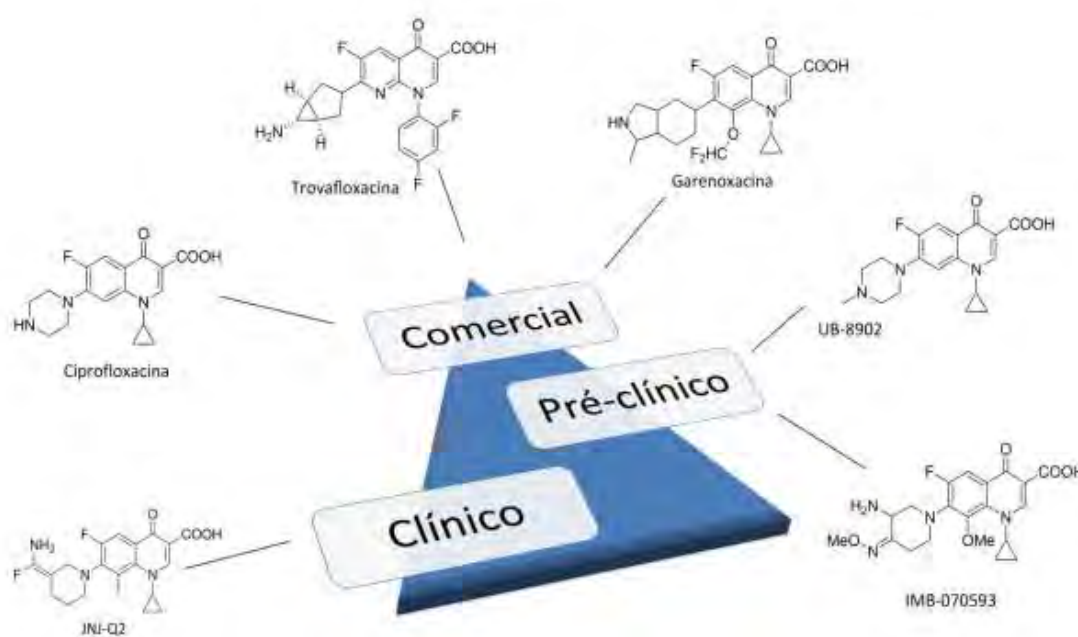
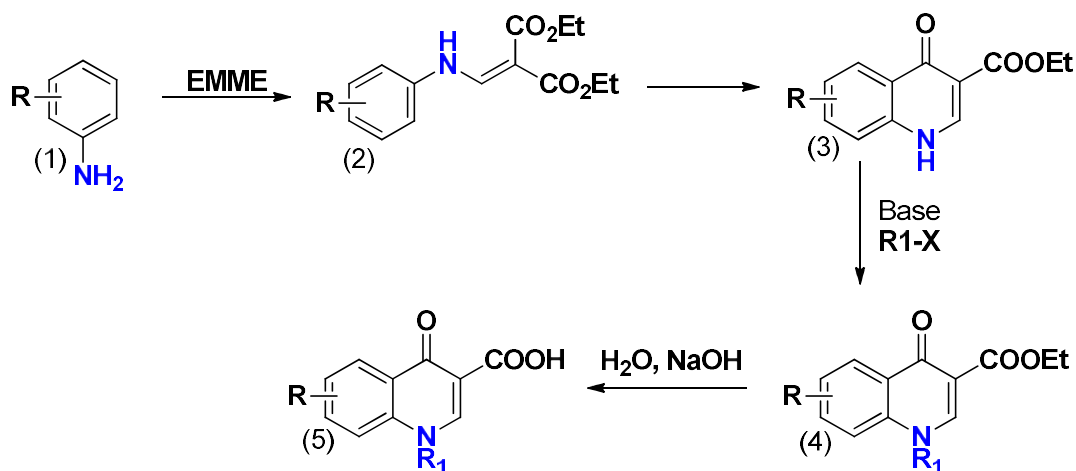


Figura 3.3: Derivados de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas em testes clínicos, pré-clínicos ou já comercializados. Adaptado de Pintille, 2012

As quinolonas possuem uma variedade de metodologias sintéticas, gerando produtos diferenciados. As principais reações para obtenção de quinolonas são: Reação de Gould-Jacobs, Grohe-Heitzer, Baylis-Hillman e utilizando metais de transição como catalisadores. Essas estratégias sintéticas permitem a introdução de diferentes substituintes nas posições dos carbonos aromáticos, além de poder introduzir novos substituintes no nitrogênio da posição 1, obtendo assim novos compostos para a classe quinolônica²².

1) Reação de Gould-Jacobs: Síntese a partir de anilina

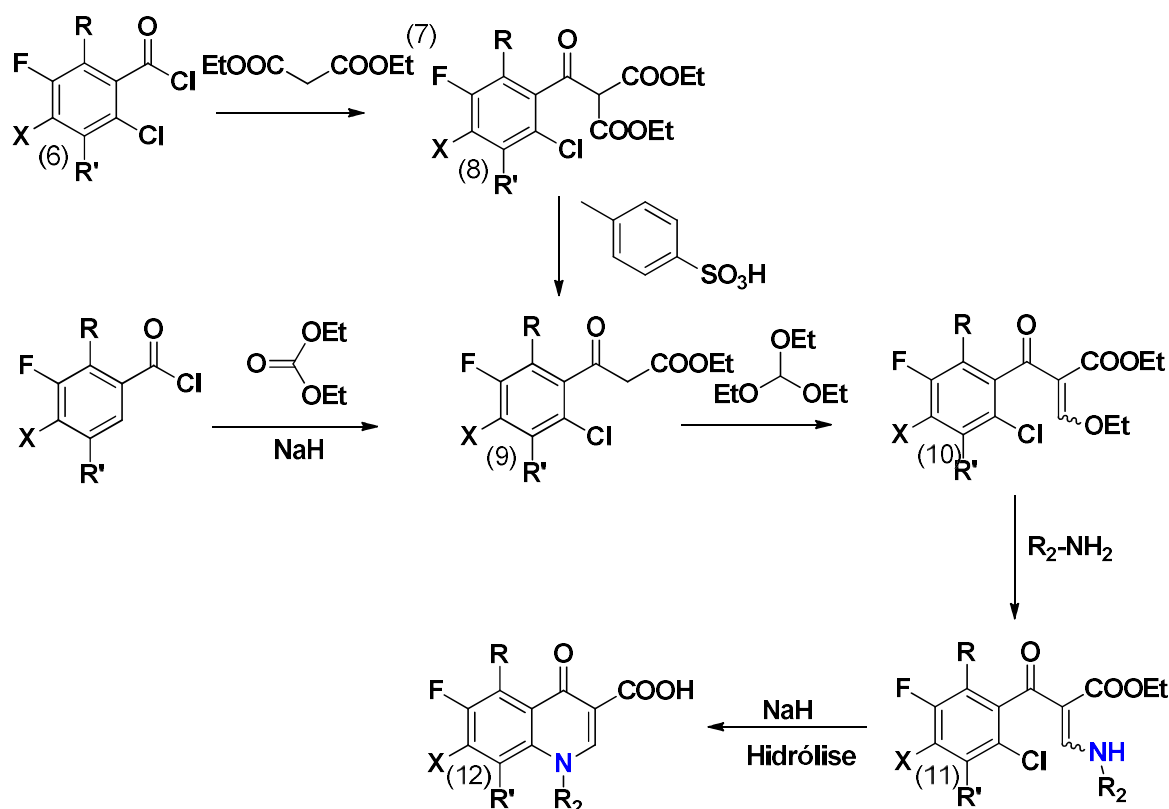
Esta metodologia consiste basicamente na adição de anilinas (1) substituídas a etoximetileno malonato de dietila (EMME). O intermediário (2) formado é aquecido na ausência de solvente fornecendo o produto ciclizado (3). Este procedimento forneceu diferentes derivados de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas (5), após hidrólise, em rendimentos baixos a moderados (Esquema 3.1). Este método sintético ficou conhecido pelo nome dos pesquisadores que o aprimoraram, Gould-Jacobs²³.



Esquema 3.1: Síntese de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona empregando a metodologia de Gould-Jacobs. (adaptado de Gould-Jacobs, 1939)

2) Reação de Grohe-Heitzer

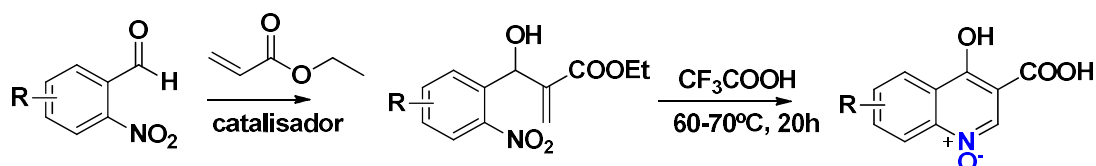
A metodologia de síntese de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas ficou mais abrangente a partir da cicloacilação de Grohe-Heitzer²⁴, esquema 3.2. Neste método o tratamento do cloreto de ácido (6) com metileno malonato de dietila (7) forneceu o intermediário (8), o qual após descarboxilação²¹ forneceu (9) como produto. Alternativamente este produto foi obtido pela reação da metil-fenil-cetona com carbonato de etila (Esquema 3.2). O produto (10) após reação com *o*-formiato de etila formou (11), que após uma adição nucleofílica produziu o composto (12), que tratado com hidreto de sódio forneceu derivados de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas (13). Esta metodologia pode ser utilizada para a síntese de diferentes quinolonas contendo substituintes nitrogenados no C-7, tais como: trovafloxacina, ciprofloxacina e temafloxacina^{25,26,27}.



Esquema 3.2: Síntese de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona usando a metodologia de Grohe-Heitzer. (Adaptado de Pintille, 2012)

3) Reação de Baylis-Hillman: Síntese a partir do aduto de Baylis-Hillman

Neste método a etapa de ciclização para a formação do anel benzo- γ -piridona ocorre via aduto de Baylis-Hillman (Esquema 3.3). Este intermediário é formado a partir da reação entre compostos carbonilados, como *o*-nitro-benzaldeído, com acrilato de etila em meio ácido²⁸.

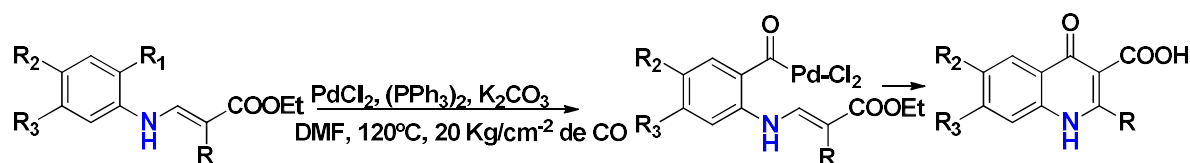


Esquema 3.3: Síntese do aduto de Baylis-Hillman. Adaptado de Kim, 2000

4) Uso de metais de transição

Métodos menos convencionais para a síntese de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona fazem o uso de metais de transição, como as reações de carbonilação catalisadas por

paládio, equema 3.4²⁹. É reportado na literatura a síntese de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas substituídas no C-2 a partir de reação de acoplamento redutivo mediada por titânio e redução catalisada por rutênio³⁰. Derivados da 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona contendo uma variedade de substituintes em diferentes posições foram obtidos através de reações catalisadas por paládio³¹.



Esquema 3.4: Síntese da 3-carboxi-quinolin-4(1H)-ona empregando reações catalisadas por paládio. Adaptado de Torri, 1991

Como visto neste capítulo, os derivados de quinolona são bem versáteis na química medicinal e conseguem ser sintetizados e reproduzidos facilmente. As diferentes rotas sintéticas disponíveis para síntese, aliado ao número de atividades biológicas apresentadas, impulsionou este capítulo para a síntese de novos derivados de quinolona através da síntese de Gould-Jacobs e seus respectivos complexos metálicos, a fim de favorecer um sinergismo entre estrutura orgânica e núcleo metálico.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

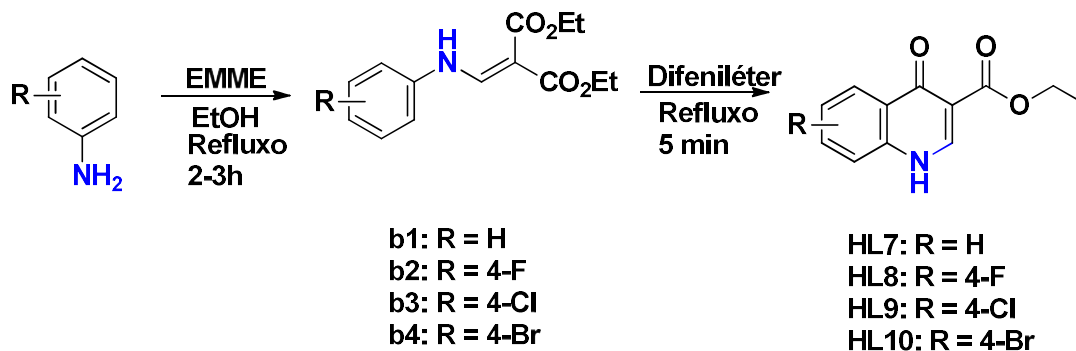
3.2.1. Materiais e métodos de caracterização

Os solventes metanol, dimetilsulfóxido, etanol, diclorometano, hexano, acetato de etila (Aldrich), bem como EMME, e as anilinas *p*-substituídas foram usados sem tratamento prévio. A metodologia e aparelhagem utilizadas para as caracterizações analíticas, espectroscópicas e voltametria cíclica dos compostos, foram as mesmas descritas nos **Capítulos 1 e 2**.

3.2.2. Síntese dos derivados de quinolona

Os ligantes foram sintetizados em parceria com a prof^a. Dr^a. Roberta Katlen Fusco Marra – IQ- UFRJ e cedidos para as sínteses dos complexos de Zinco.

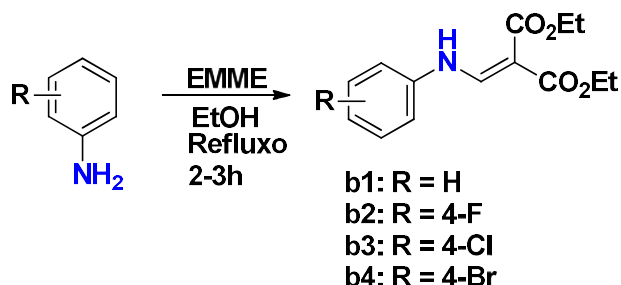
Todos os derivados de quinolona sintetizados apresentaram a mesma rota sintética, partindo de anilinas substituídas para dar origem a malonatos de dietila, os produtos acrilatos e posteriormente obter a ciclização do composto de interesse (Esquema 3.5).



Esquema 3.5: Síntese dos ciclizados de quinolona utilizados neste trabalho (HL8-HL12). Metodologia adaptada de Gould-Jacobs

3.2.2.1. Síntese dos intermediários malonato de dietila (b1-b4)

A síntese dos intermediários b1-b4 foi realizada seguindo metodologia já descrita na literatura³². Em um balão de fundo redondo contendo 10 mL de EtOH adaptado com aparelhagem para refluxo, adicionou-se 0,03 mol das anilinas substituídas correspondentes e 0,03 mol de etoximetilenomalonato de dietila (EMME). Deixou-se sob refluxo com agitação magnética por período de 2-3h. A reação foi acompanhada por cromatografia em camada fina (ccf) com diclorometano como eluente. Ao final do período resfriou-se a mistura em banho de gelo, adicionando-se cristais de gelo para promover a precipitação e os cristais formados foram filtrados a vácuo. (**Esquema 3.6**).

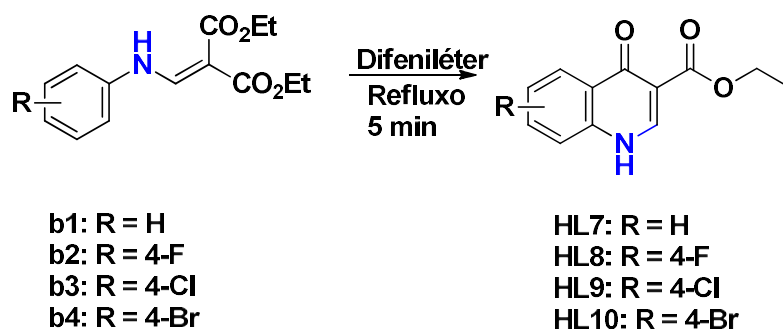


Esquema 3.6: Síntese dos precursores *malonatos de dietila* (b1-b4).

Rendimento: 60-64%. **p.f.:** acima de 77-100°C. **Solubilidade:** Solúvel em dimetilsulfóxido, dimetilformamida. Pouco solúvel em clorofórmio, diclorometano e etanol.

3.2.2.2. Síntese dos derivados de quinolona com grupamento éster (HL7-HL10)

O procedimento de síntese para os ligantes ciclizados a partir dos precursores acrilatos foi estabelecido através de modificações de metodologias descritas utilizando-se metodologia de Gould-Jacobs^{33,34}. O esquema 3.7 detalha a reação.



Esquema 3.7: Síntese dos ciclizados de quinolona utilizados neste trabalho (HL7-HL10).

Em balão de fundo redondo acoplado a uma manta de aquecimento, adicionou-se 0,03 mol dos derivados malonatos de etila correspondentes e aproximadamente 10 mL de difeniléter. Deixou-se sob aquecimento a uma temperatura de aproximadamente 100 °C por 5 min, e ao final, resfriou-se a mistura, e verteu-se em éter de petróleo gelado. Os sólidos formados foram filtrados a vácuo e lavados com éter de petróleo gelado.

HL7: 3-carboetoxi-4-oxo-1,4-diidroquinolina

Rendimento: 59%

P.F.: 243°C

RMN ¹H (500 MHz) DMSO-d₆/(δ-ppm): 12,34 (1H, s, NH), 8,56 (1H, s, H1), 8,17 (1H, s, H2), 7,71 (1H, d, 8,7, H3), 7,63 (1H, d, 8,7, H4), 7,42 (1H, d, 8,7, H5), 4,23 (2H, q, 6,9, CH₂CH₃), 1,29 (3H, t, 6,9, CH₂CH₃).

IV ATR (64 scans): 3162-3066 (νO-H), 1697 (νC=O), 1551, 1542, 1357, 1338, 1286 (νC-O).

Fórmula molecular: C₁₂H₁₁NO₃.

HL8: 3-carboetoxi-8-fluoro-4-oxo-1,4-diidroquinolina

Rendimento: 65%

P.F.: 290°C

RMN ¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / (δ-ppm): 12,51 (1H, s, NH), 8,59 (1H, s, H1), 8,04 (1H, dd, 9,2 e 2,8, H2), 7,76 (1H, dd, 9,2 e 2,8, H3), 7,68 (1H, dd, 8,8 e 4,6, H5), 4,23 (2H, q, 7,1, CH₂CH₃), 1,28 (3H, t, 7,1, CH₂CH₃).

IV ATR (64 scans): 3161-3063 (νO-H), 1688 (νC=O), 1554, 1525, 1475, 1377, 1356, 1287 (νC-O).

Fórmula molecular: C₁₂H₁₀FNO₃.

HL9: 3-carboetoxi-8-cloro-4-oxo-1,4-diidroquinolina

Rendimento: 70%

P.F.: 273°C

RMN ¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / (δ-ppm): 12,46 (1H, s, NH), 8,61 (1H, s, H1), 8,10 (1H, s, H2), 7,77 (1H, d, 8,5, H3), 7,69 (1H, d, 8,5, H5), 4,25 (2H, q, 7,1, CH₂CH₃), 1,30 (3H, t, 7,1, CH₂CH₃).

IV ATR (64 scans): 3151-3069 (νO-H), 1692 (νC=O), 1552, 1520, 1397, 1377, 1293 (νC-O).

Fórmula molecular: C₁₂H₁₀ClNO₃.

HL10: 3-carboetoxi-8-bromo-4-oxo-1,4-diidroquinolina

Rendimento: 55%

P.F.: 310°C

RMN ¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / (δ-ppm): 12,48 (1H, s, NH), 8,55 (1H, s, H1), 8,17 (1H, s, H2), 7,63 (1H, d, 8,7, H3), 7,42 (1H, d, 8,7, H5), 4,21 (2H, q, 6,9, CH₂CH₃), 1,29 (3H, t, 6,9, CH₂CH₃).

IV ATR (64 scans): 3150-3089 (νO-H), 1688 (νC=O), 1551, 1520, 1377, 1338, 1287, 1292 (νC-O).

Fórmula molecular: C₁₂H₁₀BrNO₃.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Síntese dos acrilatos (b1-b4)

A primeira etapa reacional, a síntese dos acrilatos, trata-se de uma reação análoga à reação de condensação de Michael, de compostos α,β -insaturados, onde ocorre o ataque do par de elétrons do nitrogênio no carbono β do etoximetilenomalonato de dietila, conforme descrito na literatura. Embora estas condensações pudessem ser feitas na ausência de solventes, neste trabalho utilizou-se o etanol, possibilitando o isolamento de produtos com maior pureza. Este processo é favorecido pela presença de grupos retiradores de elétrons na estrutura do eletrófilo.

3.3.2. Síntese dos derivados de quinolona com grupamento éster (HL7-HL10)

A ciclização dos derivados malonatos de dietila foi realizada através da ciclização térmica com difeniléter em refluxo (250°C). Conforme descrito na literatura, a natureza do grupo substituinte retirador de elétrons pode favorecer tanto uma reação envolvendo um único estado de transição, ou uma reação em várias etapas formando um intermediário que pode ser isolado³⁵. A metodologia de Gould-Jacobs produz apenas aminas secundárias que podem ser funcionalizadas a partir de uma reação do tipo SN_2 .

A natureza e a posição dos substituintes nas anilinas são fundamentais para a bioatividade e determinante para o perfil farmacocinético e toxicidade do núcleo benzo- γ -piridona, além de ser um fator limitante para o uso da metodologia de Gould-Jacobs. O uso de anilinas *p*-substituídas tem fornecido 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas com maior bioatividade, as quais tem um papel importante na atividade inibitória da enzima DNA-girase. Os bons rendimentos (98-90%) da reação de Gould-Jacobs são dependentes da presença de grupos doadores de elétrons na posição orto e para da anilina, visto que tais grupos aumentam o caráter nucleofílico da amina.

Substituintes retiradores de elétrons nestas posições geralmente conduzem a formação dos produtos em baixos rendimentos. Alguns pesquisadores reportaram que halogênios na posição para, como *p*-flúor ou *p*-cloro anilina, forneceram derivados de 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas em rendimentos de 25–30 %, respectivamente^{36,37}. Posteriormente ocorre uma cicloacilação (ciclização de Lappin), em altas temperaturas para a formação dos derivados 3-carboxi-quinolin-4(1H)-onas.

3.3.3. Caracterização estrutural

Após o processo de purificação, que consiste na lavagem com éter de petróleo gelado, os compostos foram caracterizados e comparados com seus precursores acrilatos.

- *Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)*

Os ligantes **HL7-10** foram analisados por espectroscopia no IV e comparados com os precursores (b1-b4). Suas principais bandas, junto com seus respectivos pontos de fusão estão mostradas na Tabela 3.1. A figura 3.4 ilustra o espectro do ligante HL7.

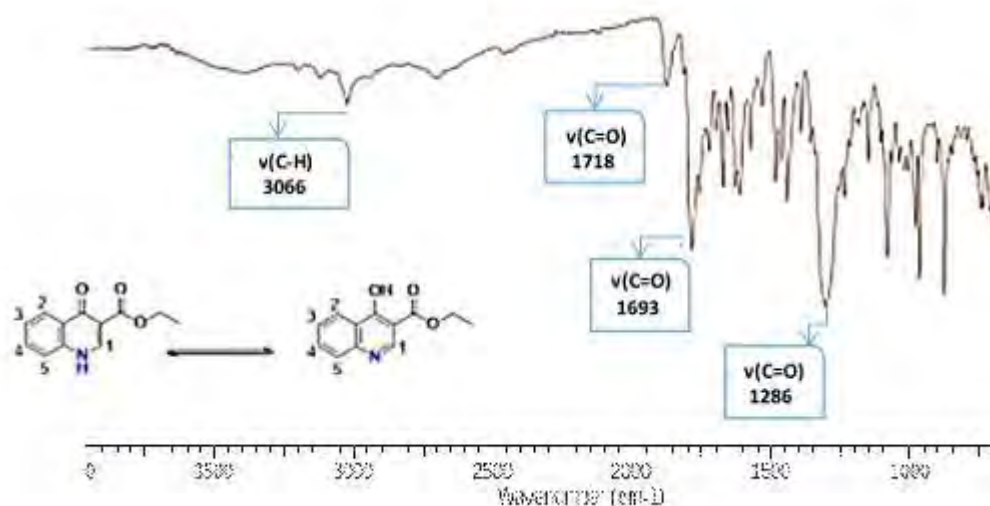


Figura 3.4: Espectro no infravermelho do ligante HL7.

Na análise do espectro no IV, pode-se destacar o desaparecimento de uma das bandas de absorção referentes à carbonila encontrada nos derivados malonatos de dietila, aproximadamente em 1623 cm⁻¹. Após a formação da ciclização e obtenção da quinolona de interesse, os compostos apresentaram uma banda de absorção em 1718 cm⁻¹ referente a cetona cíclica da quinolona, além de uma absorção em 1693 cm⁻¹ relativa à deformação axial de C=O de éster e uma banda em 1286 cm⁻¹ relativa à deformação axial de C-O de éster³⁸.

De acordo com PAVIA, compostos que apresentam tautomerização (1,3 dicetonas e β -cetoésteres) apresentam carbonilas tanto na forma ceto como na forma enol, além disso podem apresentar um estiramento O-H forte na forma enólica para as dicetonas e

fraco para os β -cetoésteres em $3200\text{-}2400\text{ cm}^{-1}$, o que explicaria uma banda de O-H fraca em 3066 cm^{-1} caindo junto com o estiramento sp^2 de C-H³⁹.

Os valores de pontos de fusão, rendimentos e absorções na região do IV dos derivados malonatos de dietila sintetizados encontram-se listadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Principais bandas nos espectros de IV, pontos de fusão e rendimentos (cm^{-1} , ATR) dos compostos **HL7-10**.

| Ligante | -R | PF (°C) lit. | PF (°C) exp. | Rendimento (%) | IV (cm^{-1}) |
|-------------|------|--------------|--------------|----------------|---|
| HL7 | H | 240-242 | 243-244 | 59 | 3162-3066 – $\nu\text{O-H}/\nu\text{C-H}$ 1697 – $\nu\text{C=O}$ 1286 – $\nu\text{C-O}$ |
| HL8 | 4-F | 296-298 | 290 | 65 | 3161-3063 – $\nu\text{O-H}/\nu\text{C-H}$ 1688 – $\nu\text{C=O}$ 1287 – $\nu\text{C-O}$ |
| HL9 | 4-Cl | >200 | 270-273 | 70 | 3151-3069 – $\nu\text{O-H}/\nu\text{C-H}$ 1692 – $\nu\text{C=O}$ 1293 – $\nu\text{C-O}$ |
| HL10 | 4-Br | 320-322 | 310-312 | 55 | 3150-3087 – $\nu\text{O-H}/\nu\text{C-H}$ 1693 – $\nu\text{C=O}$ 1292 – $\nu\text{C-O}$ |

- Ressonância Magnética Nuclear (RMN)*

Experimentos 1D e 2D de RMN de ^1H em CDCl_3 foram realizados para **HL7-10**. A Figura 3.5 apresenta a numeração utilizada para a atribuição dos sinais nos espectros e a figura 3.3 apresenta o espectro de RMN de ^1H do HL7.

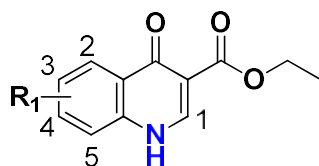


Figura 3.5: Numeração empregada na atribuição de sinais nos espectros de RMN de **HL7-10**.

Os espectros de RMN de ^1H dos ligantes **HL7-10** apresentam perfis semelhantes e os hidrogênios das estruturas se encontram em mesma região que as observadas para compostos similares e já descritos na literatura^{40,41}.

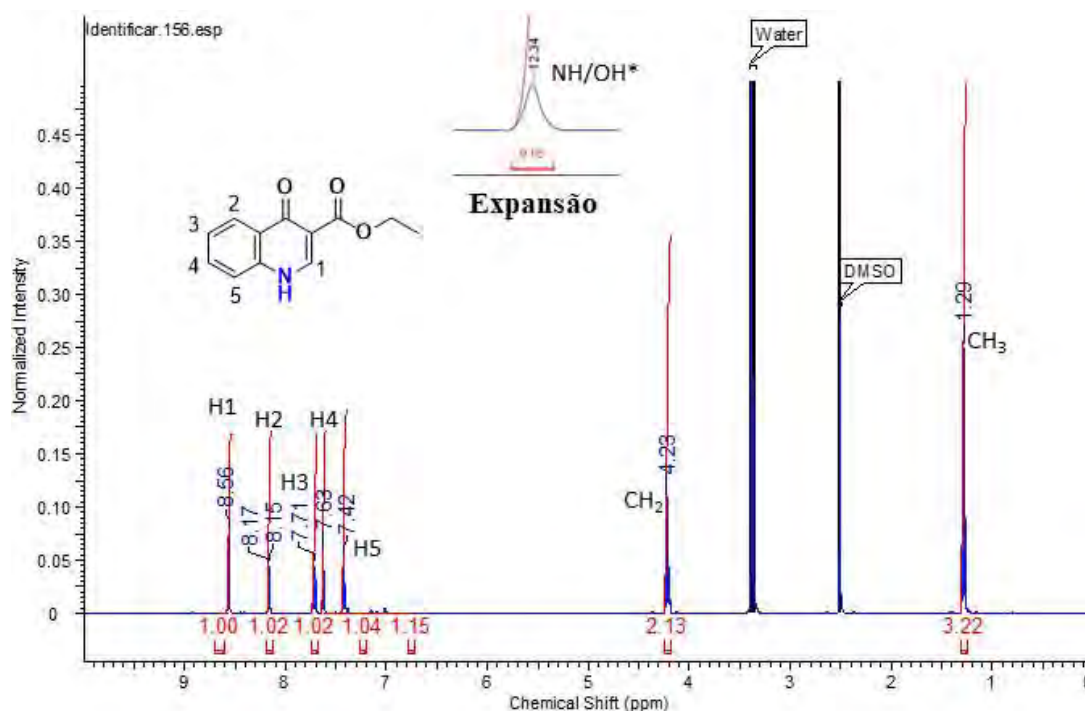


Figura 3.6: Espectro de RMN de ^1H em DMSO-d_6 do **HL7** (400 MHz)

No espectro de RMN de ^1H do **HL7**, Figura 3.4, há a presença de um hidrogênio mais desblindado em δ 12,34 referente ao NH/OH do núcleo quinolônico. O hidrogênio aromático mais desblindado é o H1 em δ 8,56, devido a sua proximidade com a dupla ligação, além do efeito de ressonância que o anel possui sobre esse ponto. Para os hidrogênios do anel aromático, por exemplo, o H2 se encontra em δ 8,17, seguido do H3 em δ 7,71, um multiplete para o H4 em δ 7,63 ppm, e o H5 em δ 7,42. Já os prótons do grupamento carboetoxi $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ foram assinalados como quarteto em δ 4,23 ppm ($J = 6,3$ Hz) e triplete em δ 1,29 ppm ($J = 6,3\text{Hz}$), Figura 3.4. Todos os dados de RMN de ^1H para os ligantes **HL7-10** se encontram na tabela 3.2.

Tabela 3.2: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para **HL7-HL10** em CDCl_3 em 500 MHz.

| | HL7 | HL8 | HL9 | HL10 |
|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) | δ ^1H (m; J Hz) |
| <u>1</u> | 8,56 (s) | 8,61 (s) | 8,61 (s) | 8,55(s) |
| <u>2</u> | 8,17 (d, 5,8) | 8,10 (dd, 8,8 e 4,6) | 8,10 (d) | 8,17 (s) |
| <u>3</u> | 7,71 (m) | 7,76 (dd, 9,2 e 2,8) | 7,77 (d, 8,5) | 7,63 (d, 8,7) |
| <u>4</u> | 7,63 (d, 5,8) | - | - | - |
| <u>5</u> | 7,42 (d, 5,8) | 7,68 (m) | 7,69 (d, 8,5) | 7,42 (d, 8,7) |
| <u>NH/OH</u> | 12,34 (s) | 12,51 (s) | 12,46 (s) | 12,48 (s) |
| <u>CH₂CH₃</u> | 4,23 (q, 6,3) | 4,25 (q, 7,1) | 4,23 (q, 7,1) | 4,21 (q, 6,9) |
| <u>CH₂CH₃</u> | 1,29 (t, 6,3) | 1,30 (t, 7,1) | 1,29 (t, 7,1) | 1,28 (t, 6,9) |

3.4. CONCLUSÕES

A metodologia sintética utilizada para a síntese destes derivados de quinolona é viável aplicando reações clássicas já descritas na literatura. Com destaque para a reação de obtenção dos derivados ciclizados (**HL7-HL10**), onde a metodologia escolhida em refluxo mostrou-se ser mais eficaz e reprodutível, com condições reacionais menos drásticas, obtendo assim compostos com rendimento acima de 60% e sem necessitar de técnicas cromatográficas para purificação dos compostos, se comparados aos métodos de ciclização de Gould-Jacobs em microondas.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - SILVA, V. L. M.; SILVA, A. M. S. Palladium-Catalysed Synthesis and Transformation of Quinolones. **Molecules**, v. 24, p. 228, 2019.
- 2 – DHIMAN, P.; ARORA, N.; THANIKACHALAM, P. V.; MONGA, V. Recent advances in the synthetic and medicinal perspective of quinolones: A review. **Bioorg Chem**, v. 92, p. 103291, 2019.
- 3 - FÖRSTER, C., BAUMANN-WILSCHKE, I. & STAHLMANN, R. Binding Capacity of Quinolones to Cartilage Components. **Drugs**, v. 45, p. 283–285, 1993.
- 4 – KANG, S. K.; PARK, S. S.; KIM, S. S.; CHOI, J-K.; YUM, E. K. Synthesis of 1,2,3-trisubstituted pyrrolo[3,2-c]quinolines via palladium-catalyzed heteroannulation with internal alkynes. **Tetrahedron Lett**, v. 40, p. 43789-4382, 1999.
- 5 - SAKHAROV, P. A.; ROSTOVSKII, N. V.; KHLEBNIKOV, A. F.; NOVIKOV, M. S. Copper(II)-Catalyzed (3+2) Cycloaddition of 2H-Azirines to Six-Membered Cyclic Enols as a Route to Pyrrolo[3,2-c]quinolone, Chromeno[3,4-b]pyrrole and Naphtho[1,8-ef]indole Scaffolds. **Molecules**, v. 27, p. 5681, 2022.
- 6 – FACCHINETTI, V.; GOMES, C. R.; DE SOUZA, M. V.; VASCONCELOS, T. R. Perspectives on the development of novel potentially active quinolones against tuberculosis and cancer. **Mini Rev Med Chem**, v. 12, p. 866-874, 2012.
- 7 - LESHER, G. Y.; FORELICH, E. D.; GRUET, M. D.; BAILEY, J. H.; BRUNDAGE, R. D. 1,8- Naphthyridine Derivatives. A New Class of Chemotherapeutic Agents. **J Med Pharm Chem**, v. 5, p. 1063, 1962.
- 8 - CHAO, SHEN.; ANMING, WANG.; JUN, XU.; ZHONGFU, AN.; KANG, YONG LOH.; PENGFEI, ZHANG.; XIAOGANG, LIU, Recent Advances in the Catalytic Synthesis of 4-Quinolones. **Chem**, v. 5, p. 1059-1107, 2019.

- 9 – Baggio, D.; Ananda-Rajah, M. R. Fluoroquinolone antibiotics and adverse events. **Aust Prescr**, v. 44, p. 161-164, 2021.
- 10 – ANDRIOLE, V. T. The Quinolones: Past, Present, and Future Clinical. **Infectious Diseases**, v. 41, p. 113, 2005.
- 11 - DANESHTALAB, M., & AHMED, A. Nonclassical Biological Activities of Quinolone Derivatives. **J Pharm Pharm Sci**, v. 15, p. 52–72, 2011.
- 12 – MASSARI, S.; DAELEMANS, D.; MANFRONI, G.; SABATINI, S.; TABARRINI, O.; PANNECOUQUE, C.; CECCHETTI, V. Studies on anti- HIV quinolones: New insights on the C-6 position. **Bioorg Med Chem** , v. 17, p. 667, 2009.
- 13 – MPHAHLELE, M. J. Synthesis of 2- arylquinolin-4(1H)-ones and their transformation to N- alkylated and Oalkylated derivatives. **J Heterocycl Chem**, v. 47, p. 1, 2010.
- 14 – GUIMARES, D. O; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibioticos: importancia terapeutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quimica Nova**, v. 33, p. 667, 2010.
- 15 – PRASHANT, D, *et al.* Recent advances in the synthetic and medicinal perspective of quinolones: A review, **Bioorganic Chemistry**, v. 92, p. 103291, 2019.
- 16 - ALDRED, K. J.; MCPHERSON, S. A.; JR, C. L.; KERNS, R. J.; OSHEROFF, N. Topoisomerase IV quinolone interactions are mediated through a water-metal ion bridge: mechanistic basis of quinolone resistance. **Nucleic Acids Res**, v. 41, p. 4628, 2013.
- 17 - KHAWCHAROENPORN, T.; VASOO, S.; WARD, E.; SINGH, K. High rates of quinolone resistance among urinary tract infections in the ED. **Am J Emerg Med**, v. 30, p. 68, 2012.
- 18 - PINTILLE, L. Em Antimicrobial Agentes. Natl. Inst. Chem. Pharm. Res. Dev., Bucharest, Roma.; Linder, 2012, cap. 12.

- 19 - SAJADIKHAH, S.S., LOTFIFAR, N. Recent methods of 4-quinolone synthesis (microreview). **Chem Heterocycl Comp**, v. 54, p. 587589, 2018.
- 20 - GOULD, JR. R. G.; JACOBS, W. A. The Synthesis of Certain Substituted Quinolines and 5,6- Benzoquinolines. **J Amer Chem Soc**, v. 61, p. 2890, 1939.
- 21 - GROHE, K.; HEITZER, H. Cycloaracylierung von Enaminen, I. Synthese von 4-Chinolon-3- carbonsäuren. **Eur J of Org Chem**, v. 31, p. 29. 1987.
- 22 - BRIGHTY, K. E. US, 1991. (CA 5162402)
- 23 – SREUFF, B.; HELMUT, L. US, 3108, 1994. (CA 5286754)
- 24 – RANDALL, J. L.; ELLEN, G. J. US, 02-15, 1996. (CA 2196538 A1)
- 25 – KIM, J. N.; LEE, K. Y.; KIM, H. S.; KIM, T. Y. Synthesis of 3-Ethoxycarbonyl-4-hydroxyquinoline N-Oxides from the Baylis–Hillman Adducts of oNitrobenzaldehydes. **Org Lett**, v. 2, p. 343, 2000.
- 26 - HUANG, J.; CHEN, Y.; KING, A. O.; DILMEGHANI, M.; LARSEN, R. D.; FAUL, M. M. A Mild, One-Pot Synthesis of 4-Quinolones via Sequential PdCatalyzed Amidation and Base-Promoted Cyclization. **Org Lett**, v. 10, p. 2609, 2008.
- 27 – GENELOT, M.; DUFAUD, V.; DJAKOVITCH, L. Heterogeneous metallo-organocatalysis for the selective one-pot synthesis of 2- benzylidene-indoxyl and 2-phenyl-4-quinolone. **Tetrahedron**, v. 67, p. 976, 2011.
- 28 – SUN, F.; ZHAO, X.; SHI, D. An efficient onestep synthesis of 2-arylquinolin-4(1H)-ones with the aid of a low-valent titanium reagent. **Tetrahedron Letters**, v. 52, p. 5633, 2011.
- 29 - UENO, S.; SHIMIZU, R.; MAEDA, R., KUWANO, R. Synthesis of 4-Quinolones through Nickel Catalyzed Intramolecular Amination on the β Carbon of o-(N-Alkylamino)propiophenones. **Synlett**, v. 23, p. 1639, 2012.

- 30 - TORRI, S.; OKUMOTO, H.; XU, L. H. Palladium catalyzed carbonylation to form 2-substituted 1,4-dihydro-4-oxo-quinoline. **Tetrahedron Letters**, v. 32, p. 237, 1991
- 31 - BORGES, J. C.; BERNARDINO, A. M. R.; OLIVEIRA, C. D.; PINHEIRO, L. C. S.; MARRA, R. K. F.; KHAN, M. A.; WARDELL, J. L.; WARDELL, S.; **J Braz Chem soc**, v. 18, p. 1571-1574, 2012.
- 32 – KOUZNETSOV, V. V.; MÉNDEZ, L. Y. V.; GÓMEZ, C. M. M. “Recent Progress in the Synthesis of Quinolines”. **Curr Org Chem**, v. 9, p. 141-161, 2005.
- 33 - BERNARDINO, A. M. R.; PINHEIRO, L. C. S.; *et al.* “Design, synthesis, SAR, and biological evaluation of new 4-(phenylamino)thieno[2,3-b]pyridine derivatives”. **Bioorg. Med. Chem**, v. 14, p. 5765-5770, 2006.
- 34 – ŠKUGOR, M. M.; ŠTIMAC, V. *et al.* Synthesis and biological activity of 4''-O-acyl derivatives of 14- and 15- membered macrolides linked to ω -quinolone-carboxylic unit. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 18, p. 6547-6558, 2010.
- 35 – HOLMES, V. E.; IVEZIC-SCHOENFELD, D. J.; ALIHODZIC, Z. 4''-O-(ω -Quinolylaminoalkylamino)propionyl derivatives of selected macrolides with the activity against the key erythromycin resistant respiratory pathogens. **Bioorg. Med. Chem**, v. 18, p. 6547, 2010.
- 36 – LAI, Y-Y.; HUANG, L-J.; LEE, K-H.; XIAO, Z.; BASTOW, K. F.; YAMORI, T.; KUO, S-C. Synthesis and biological relationships of 3',6- substituted 2-phenyl-4-quinolone-3-carboxylic acid derivatives as antimitotic agents. **Bioorg. Med. Chem**, v. 13, p. 265, 2005.
- 37 – CORELLI, F.; MUGNAINI, C.; *et al.* Investigations on the 4-Quinolone-3- Carboxylic Acid Motif Part 5: Modulation of the Physicochemical Profile of a Set of Potent and Selective Cannabinoid-2 Receptor Ligands through a Bioisosteric Approach. **Chem Med Chem**, v. 7, p. 920, 2012.
- 38 – HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R. Princípios de. Análise Instrumental. 6ª ed. Bookman, Porto Alegre, 2009.

39 - PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R.. Introdução à Espectroscopia. Tradução da 4ª edição norte-americana. Cengage Learning, 2010.

40 - CHU, D. T. W., FERNANDES P., CLAIBORNE, A. K., PIHULEAC, E., NORDEN, C. W., MALECZKA, J. R. E. & PERNET, A. G. Synthesis and structure-activity relationships of novel arylfluoroquinolone antibacterial agents. **J Med Chem**, v. 28, p. 1558-1564, 1985.

41 - BRIGHTY, K & GOOTZ, T. Chemistry and Mechanism of action of the quinolone antibacterial, In: The Quinolones Third Edition, Vincent Andriole, pp. 33-97, 2000.

*Capítulo 4: Complexos de
Zinco contendo derivados de
Quinolona e Fenantrolina*

RESUMO

Este capítulo contém uma revisão bibliográfica descrevendo complexos metálicos contendo derivados de quinolona, além de complexos de Zn^{II} contendo a amina auxiliar (fenantrolina) já mostrados em literatura, com destaque para aqueles que possuem propriedades biológicas importantes. A síntese de quatro complexos inéditos do tipo $[Zn(HL7-10)(phen)]NO_3$ contendo os ligantes derivados de quinolona (HL7-HL10) e fenantrolina, bem como as caracterizações por espectros no IV, de RMN (1D e 2D) de 1H foram discutidos no contexto dos dados da literatura.

ABSTRACT

This chapter contains a literature review describing synthesis methodologies for metal complexes containing quinolone derivatives, in addition to Zn^{II} complexes containing the auxiliary amine (phenanthroline) already shown in the literature, highlighting those that have important biological properties. The synthesis of four novel complexes of the $[Zn(HLn)(Phen)]NO_3$ type with variations of substituents in the para position (HL7-11) as well as the characterizations by IR spectra, of NMR (1D and 2D) of 1H were discussed in the context of the literature data.

4.1. INTRODUÇÃO

4.1.1. Quinolonas e seus complexos metálicos

Conforme visto no capítulo 3, as quinolonas representam uma classe de compostos sintéticos eficazes no tratamento de uma série de infecções, principalmente infecções bacterianas negligenciadas. Esses compostos possuem um largo espectro de atividade antimicrobiana, com potência moderada a elevada, boa disponibilidade biológica, dentre outros fatores farmacológicos que os fazem ser tão visados na química medicinal. Aliado a isso, é sabido que as atividades exercidas por íons metálicos nos meios biológicos têm estimulado a pesquisa e o desenvolvimento de compostos inorgânicos como agentes terapêuticos, seja por conta do sinergismo envolvido entre composto orgânico e metal tal como novos mecanismos de ação e alvos biológicos¹.

Na literatura, são encontrados numerosos estudos que relatam a complexação de cátions metálicos à fluoroquinolonas e quinolonas de destaque na química medicinal. Estes estudos, normalmente, descrevem a estrutura do complexo formado e apontam o efeito dos íons metálicos na atividade antibacteriana². Segundo o que publicou ROCHA e colaboradores em 2009, a natureza do ligante e a sua capacidade em formar um quelato com o metal, favorecem a atividade biológica da maioria destes complexos metálicos³. Além disso, os complexos catiônicos e os dinucleares contendo fluoroquinolonas com diversos íons metálicos (Mg^{II} , Cu^{II} , Co^{II} , Ni^{II} , Zn^{II} , Cd^{II} e Al^{III}), por muitas vezes são mais eficazes contra diversas doenças se comparados aos seus ligantes livres, sendo que a natureza do contra-íon também parece interferir na atividade⁴.

TUREL e colaboradores publicaram em 1996 a formação de alguns complexos metálicos contendo ciprofloxacina e avaliaram os seus modos de coordenação. Através deste estudo, observou-se que o principal modo de coordenação deste ligante aos metais ocorre de forma bidentada (Figura 4.1), com exceção do íon Cu^{II} , onde o número de coordenação está intimamente ligado ao pH da solução, onde em região mais ácida obteve-se o complexo 1:1 e aumentando o pH obteve-se o complexo 2:1⁵.

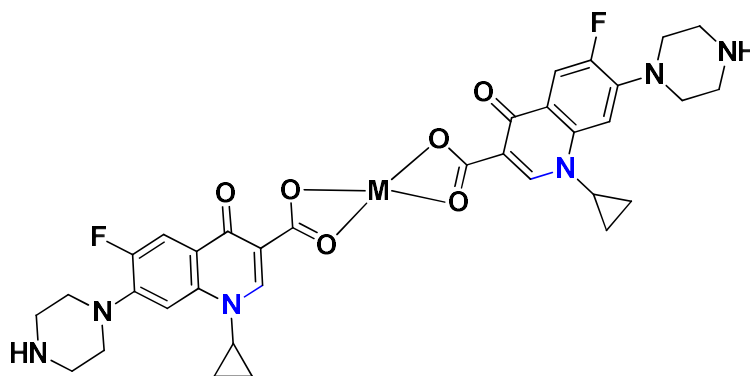


Figura 4.1: Estrutura de quelatos de ciprofloxacina na proporção 1:2 (metal:ligantes) com diferentes íons metálicos.

O efeito do íon metálico na atividade antibacteriana da norfloxacina foi ilustrado pelo trabalho de GAO e colaboradores⁶, que mostraram que os complexos de Fe^{III} e Zn^{II} apresentaram atividade superior ao ligante livre contra *Escherichia coli* e *Bacillus dysenteriae*. (Figura 4.2).

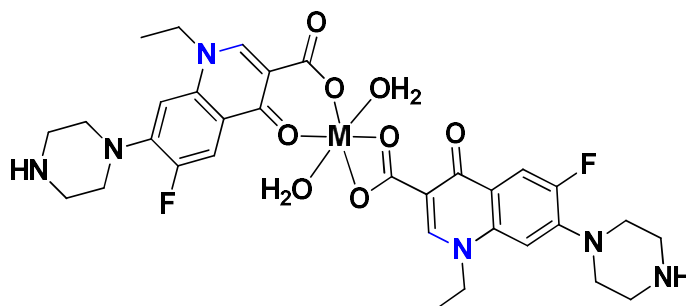


Figura 4.2: Complexos de Fe^{III} e Zn^{II} contendo norfloxacina sintetizados por Gao e colaboradores.

Testes biológicos utilizando a bactéria *Helicobacter pylori* em complexos de Bi^{III} e a ciprofloxacina mostraram que a atividade dos complexos e dos ligantes são comparáveis, o que possibilita a utilização dos complexos em substituição a fluoroquinolona⁷.

O aumento da atividade antituberculose foi verificado para um complexo de ciprofloxacina com Cobre (Figura 4.3). Os autores propõem que a formação do complexo facilita o transporte do fármaco, além de que o Cu^{II} pode ser facilmente reduzido a Cu^{I} produzindo espécies letais para o microrganismo⁸.

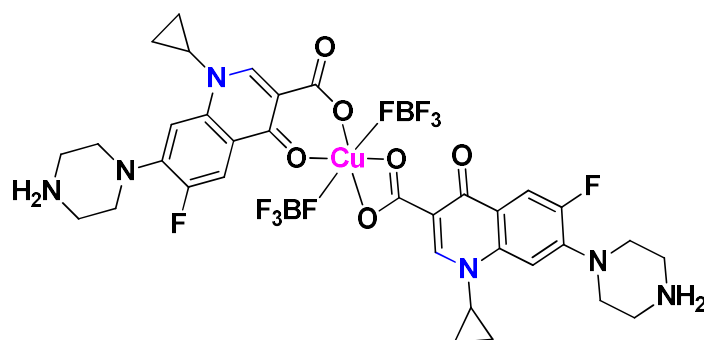


Figura 4.3: Complexo de Cu^{II} contendo ciprofloxacin sintetizado por Saha e colaboradores.

Na literatura, há alguns estudos que abordam a complexação de Au^{III} com diferentes ligantes, inclusive com as fluorquinolonas norfloxacin (NOR), levofloxacin (LEVO) e esparfloxacin (SPAR). REFAT e colaboradores obtiveram o complexo [Au(NOR)₂(H₂O)₂]Cl₃ (Figura 4.4), e sugeriram no artigo tratar-se de um eletrólito 1:3, em que o ligante está coordenado de modo monodentado⁹. A NOR e seu complexo metálico foram testados contra fungos, bactérias *Gram*-positivas e *Gram*-negativas. Tanto o ligante como o complexo apresentaram atividade moderada.

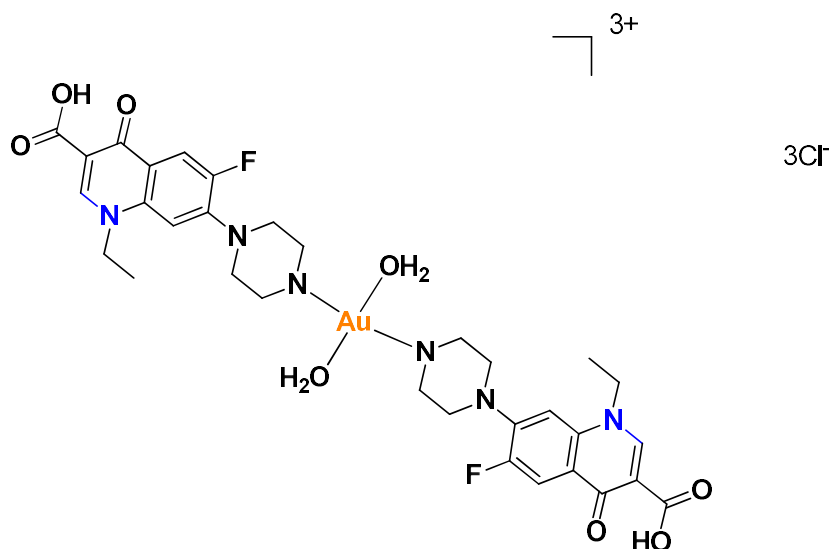


Figura 4.4: Complexo de Au^{III} contendo norfloxacin sintetizado por Refeat e colaboradores.

Outro relevante metal para a química de coordenação é o Manganês, devido à sua relevância no papel biológico. Por exemplo, há um centro mononuclear de Mn^{II} em um sítio ativo da superóxido-dismutase, uma enzima que catalisa a dismutação do superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio. Na literatura, reporta-se a coordenação

deste metal com diversas fluoroquinolonas⁹. Inclusive, alguns grupos de pesquisa, sintetizaram complexos de Mn^{II} com as fluoroquinolonas NOR e SPAR, assim como estudaram as suas atividades antichagásicas¹⁰.

Por último, mas não menos importante, o Zinco é um metal de transição que possui a seguinte distribuição eletrônica: $[Ar]3d^{10}4s^2$. Devido à perda dos elétrons do subnível 4s, seu estado de oxidação mais comum é +2. O íon Zn^{II} pode ser considerado “macio” se comparado aos demais metais de transição (segundo a classificação de Pearson), provavelmente, devido a não participação dos orbitais d nas ligações. Devido a isso, esse íon metálico troca facilmente de ligante e possui ainda um poder polarizante maior que elementos do grupo 2 e é um bom catalisador de reações ácido-base específicas e se liga fortemente a ligantes proteicos. Possui uma boa afinidade ao elétron, flexibilidade da geometria de coordenação e é inerte quanto à oxirredução. Ele forma complexos tipicamente tetraédricos (por exemplo, $[ZnCl_4]^{2-}$). Entretanto, também são conhecidos complexos com número de coordenação cinco de geometria bipiramidal trigonal ou piramidal e complexos hexacoordenados com ligantes monodentados¹¹. Na literatura, encontra-se alguns exemplos de complexos de Zn^{II} com diversas fluoroquinolonas na proporção metal:ligante de 1:2 e número de coordenação 4 ou 5. GAO e colaboradores sugeriram a estrutura de um complexo com a norfloxacin de geometria tetraédrica, $[Zn(NOR)_2]Cl_2 \cdot 7H_2O$. LIANG-CAI YU e colaboradores sintetizaram um complexo de ofloxacina (OFLO)¹² na mesma proporção e uma molécula de água de coordenação com geometria piramidal de base quadrada distorcida, $[Zn(OFLO)_2(H_2O)] \cdot 2H_2O$ (Figura 4.5).

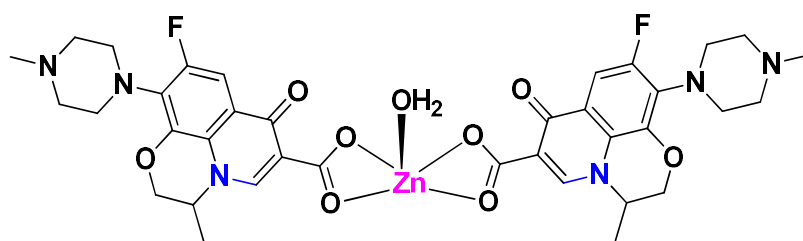


Figura 4.5: Complexo piramidal de base quadrada de Zn^{II} contendo ofloxacina sintetizado por Liang-cai yu e colaboradores.

TARUSHI e colaboradores sintetizaram em 2010, complexos de zinco contendo o fármaco antibacteriano enrofloxacin, uma quinolona de segunda geração, (Figura 4.6). Seu grupo analisou a interação desses complexos com o DNA e com a albumina sérica humana¹³.

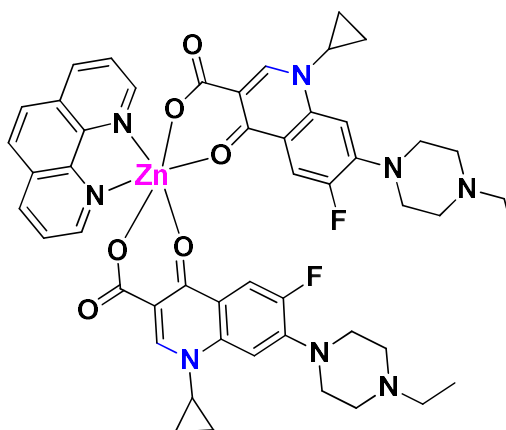


Figura 4.6: Complexo de Zn^{II} contendo ciprofloxacin sintetizado por Tarushi e colaboradores.

Em 2011, TARUSHI e colaboradores também sintetizaram complexos octaédricos de Zn^{II} contendo a terceira geração de quinolonas, tais como: levofloxacin e sparfloxacin e fenantrolina, na proporção 1:2:1 (metal:ligante:fenantrolina), (Figura 4.7). A atividade biológica desses complexos foi avaliada examinando sua capacidade de se ligar ao DNA do timo de bezerro (DNA CT) por espectroscopia UV e medidas de viscosidade. Estudos da interação dos complexos com o DNA, através de UV, revelaram que eles podem se ligar ao DNA CT, provavelmente pelo modo de ligação intercalativa¹³.

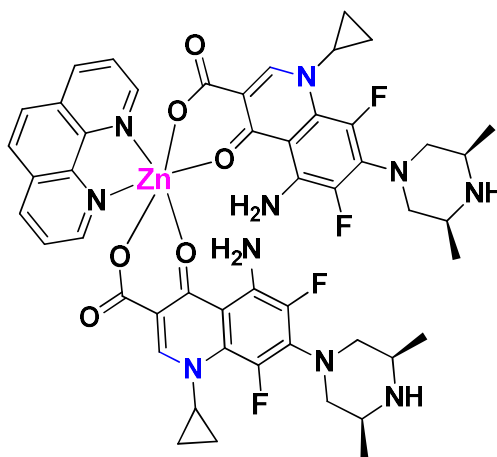


Figura 4.7: Complexo de Zn^{II} contendo quinolona de terceira geração sintetizado por Tarushi e colaboradores.

4.1.2. Fenantrolina e seus complexos metálicos

A grande classe de compostos denominada fenantrolinas também conhecido como diazafenantrenos pela comparação com o hidrocarboneto fenantreno, é integrado por dez isômeros diferenciados pelas posições de dois heteroátomos de nitrogênio presentes em sua estrutura. Os primeiros isômeros a serem sintetizados foram o 1,4- e 1,7-fenantrolina por Skraup e Vortmann em 1882 e a 2-metil-1,10- fenantrolina em 1898 por Blau, Figura 4.8^{14,15}.

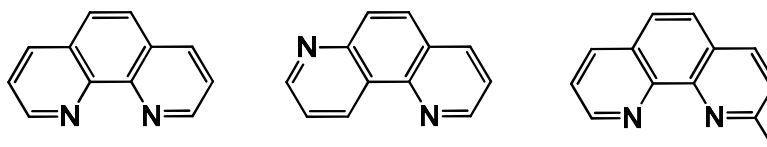


Figura 4.8: Isômeros de fenantrolina sintetizados no século XIX.

As fenantrolinas mais comuns são os isômeros 1,7-, 1,10- e 4,7-, frequentemente chamadas *meta*-, *orto*- e *para*-fenantrolinas, respectivamente. A nomenclatura está baseada nas sínteses originais que partem das correspondentes fenilenodiaminas. São poucos os exemplos de fenantrolinas de ocorrência natural. Alguns alcalóides contendo em sua estrutura a 1,10- fenantrolina, foram encontrados em vários organismos marinhos.

A 1,10- fenantrolina (phen) e seus derivados possuem importante função como suporte para agrupamentos supramoleculares¹⁶. Complexos com 1,10-fenantrolina e seus derivados são amplamente relatados na literatura¹⁷. Esse interesse deve-se às propriedades químicas e estruturais da fenantrolina que a torna um ótimo material de partida para a química orgânica, inorgânica e supramolecular¹⁸. A fenantrolina é um ligante doador sigma fraco quando comparado à etilenodiamina. Pela perspectiva eletrônica, sua força como ligante é proveniente da sua habilidade como aceptora pi de elétrons que é responsável pela força da ligação com o metal e que, portanto, contribui entalpicamente para a formação dos complexos^{18,19}. A entropia também tem um papel importante na formação dos complexos de fenantrolina. A contribuição entrópica é devido ao efeito quelato, que libera as moléculas de água do aquo-complexo, e devido à natureza hidrofóbica da fenantrolina, faz com que haja uma maior solvatação dos cátions após a formação do complexo.

Em relação ao efeito quelato (eles doam dois ou mais pares de elétrons, ou seja, ligam-se ao íon metálico através de dois ou mais átomos), é interessante a comparação da

molécula 1,10 fenantrolina com a 2,2'-bipiridina por terem estruturas bem similares. A fenantrolina possui uma estrutura rígida, enquanto na bipiridina os anéis aromáticos são livres para rotacionar. Essa rigidez da fenantrolina faz com que os átomos de nitrogênios estejam sempre em posição de ligação, enquanto na bipiridina apenas uma das formas da mesma pode se ligar de forma bidentada. Isso dá uma vantagem entrópica à fenantrolina em relação à bipiridina²⁰.

O impulso nas pesquisas de complexos metálicos contendo fenantrolina se deu pela síntese e avaliação biológica do $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$. Esse complexo apresentou atividade de fragmentação do DNA, ocasionado por um processo oxidativo. O complexo sintetizado é reduzido a $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ que se liga ao DNA através de intercalação com as bases nitrogenadas e o Cu^{I} gerado no meio reduz as moléculas de O_2 gerando radicais livres no meio(Figura 4.9)²¹.

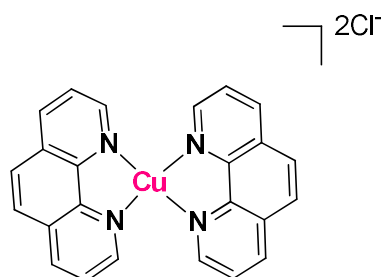


Figura 4.9: Complexo de Cu^{II} contendo duas moléculas de fenantrolina sintetizado por TISATO *et al*, 2009.

Devido aos estudos realizados com o complexo de cobre acima terem indicado atividade biológica relevante, induzindo a apoptose de células cancerosas do fígado, impulsionou-se a busca por novos complexos metálicos derivados deste sistema²².

O estudo da síntese e da atividade bactericida de diferentes complexos binários e ternários de íons metálicos e de dois tipos de ligantes, um derivado quinolônico e uma amina auxiliar, foi realizado por Ortiz e colaboradores (2007)²³. O fármaco norfloxacino, foi utilizado como ligante na formação de complexos de cobre que agiram como bactericida, cuja ação envolve a clivagem da dupla-fita de DNA e morte celular. Entre cinco diferentes complexos formados, o $[\text{Cu}(\text{HNor})(\text{phen})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Figura 4.10) apresentou atividade antibacteriana. Estudos mecanísticos com diferentes reagentes revelaram que radicais hidroxila, oxigênio singlete e radicais superóxido estão envolvidos no processo de cisão mediado por estes compostos.

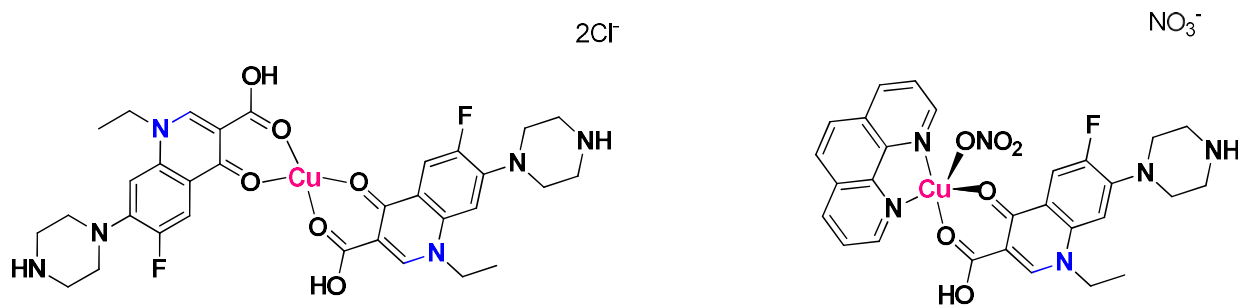


Figura 4.10: Complexos de Cu^{II} contendo norfloxacin sem $[\text{Cu}(\text{HNor})_2]\text{Cl}_2$ e com fenantrolina $[\text{Cu}(\text{HNor})(\text{phen})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ sintetizado por Ortiz e colaboradores.

Complexos metálicos do tipo $[\text{M}(\text{LL})_3]^{n+}$ onde LL pode ser 1,10-fenantrolina (phen) ou um ligante fenantrolina modificado, são particularmente atrativas para desenvolvimento de novos agentes terapêuticos e de diagnóstico. Os ligantes ou metais destes complexos podem ser variados e conduzem a diversas aplicações individuais. Entre várias aplicações possíveis, uma atenção especial tem sido dada à interação de DNA com complexos de Ru^{II} , contendo ligantes fenantrolina (ou bpy = 2,2'-bipiridil) e fenantrolina modificada (ou bpy modificada). Entre diversos complexos estudados, $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{DPPZ}]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{DPPZ}]^{2+}$ (DPPZ=dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina, um ligante fenantrolina modificado que foi reportado como um interessante ligante para interação com o DNA, além de sua capacidade luminescente, (Figura 4.11). Barton e colaboradores demonstraram que complexos de Ru^{II} do tipo $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{LL}')]^{2+}$ (LL' = ligantes pertencentes à família DPPZ) permitem variações na geometria, tamanho, hidrofobicidade, capacidade de ligações de hidrogênio, favorecendo uma variação na força de ligação com o DNA²⁴.

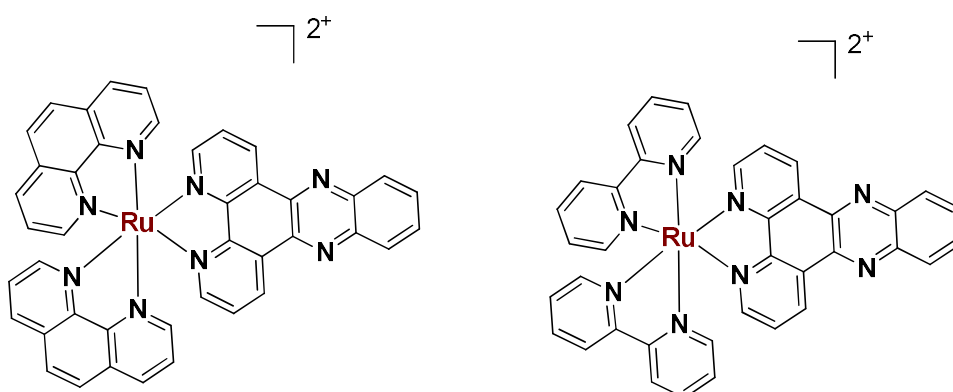


Figura 4.11: Complexos de Ru^{II} contendo fenantrolina e bipiridina sintetizados por Barton e colaboradores, possuindo PF_6^- como contra-íon.

Em 2010, Agwara e colaboradores sintetizaram alguns complexos metálicos contendo Co^{II} , Cu^{II} e Zn^{II} contendo bipyridina e/ou fenantrolina como ligantes (Figura 4.12) e avaliaram sua atividade antimicrobiana²⁶.

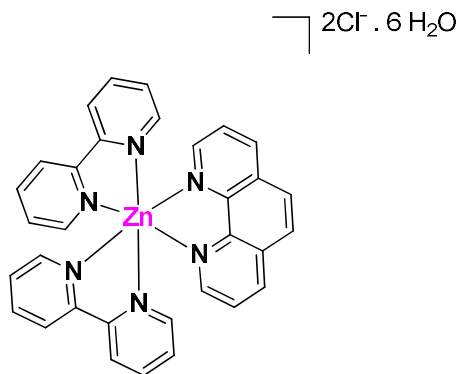


Figura 4.12: Complexos de Zn^{II} contendo fenantrolina e bipyridina sintetizados por Agwara e colaboradores.

Pelas informações dos ligantes, metais e da fenantrolina apresentada na revisão acima, o objetivo deste capítulo é sintetizar, caracterizar e posteriormente avaliar a atividade biológica de complexos usando derivados de quinolona, utilizando fenantrolina como amina auxiliar e tendo o Zn^{II} como centro metálico, a fim de favorecer um sinergismo entre as espécies envolvidas na complexação, pois estas estruturas individualmente já possuem atividades relatadas na literatura.

4.2. MATERIAIS E MÉTODOS

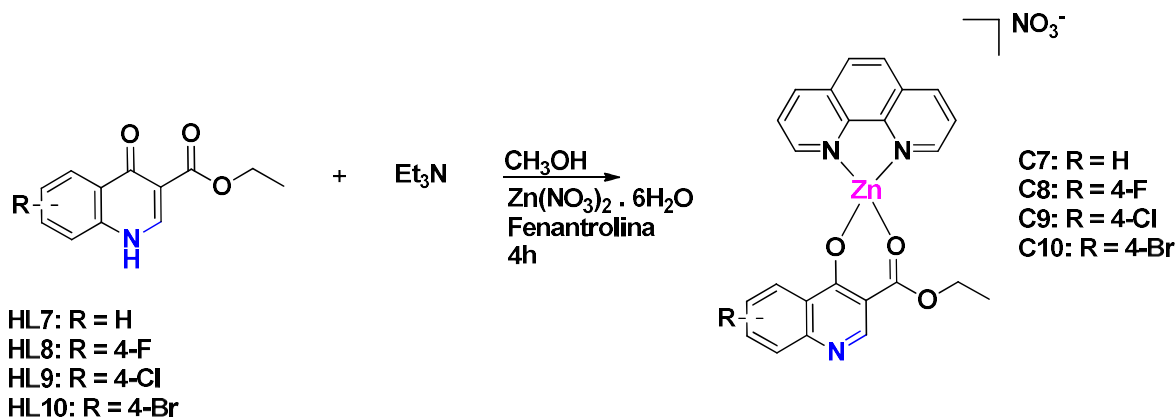
4.2.1. Materiais e métodos de caracterização

Os solventes metanol, etanol, éter etílico, bem como Et_3N , e o precursor metálico $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foram usados sem tratamento prévio.

A metodologia e aparelhagem utilizadas para as caracterizações analíticas, espectroscópicas e voltametria cíclica dos compostos, foram as mesmas descritas nos Capítulos 1 e 2.

4.2.2. Síntese dos complexos de quinolona e 1,10 fenantrolina (C7-C10)

Os complexos de Zn^{II} foram sintetizados utilizando proporção 1:1:1 (precursor metálico:ligante:amina auxiliar). Todos os complexos apresentaram a mesma rota sintética, onde se variava apenas os substituintes R do anel quinolônico, como pode ser visto no esquema 4.1.



Esquema 4.1: Síntese dos complexos de Zn^{II} contendo derivados de quinolona e possuindo fenantrolina como amina auxiliar. Metodologia adaptada de Ortiz e colaboradores²⁵.

Para a síntese dos complexos metálicos de Zn^{II} , inicialmente preparou-se 10 mL de solução metanólica de fenantrolina (9,01 mg – 0,05 mmol) e 10 mL de uma solução metanólica do ligante híbrido de quinolona (0,05 mmol) (HL7-HL10) desprotonado com 0,03 μL de trietilamina (Et_3N) (0,05 mmol – 1 equivalente). Em seguida, adicionou-se simultaneamente estas duas soluções a 10 mL de uma solução metanólica de Nitrato de Zinco (11,34 mg– 0,05 mmol). A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 3 h. O volume de solvente foi reduzido à metade por rotaevaporação e a solução final, mantida na geladeira para a evaporação lenta do solvente até formação de precipitado. Os sólidos obtidos foram filtrados, lavados com etanol gelado e secos em dessecador sob vácuo.

C7: Nitrato de 3-carboetoxi-4-oxo-1,4-diidroquinolina-1,10-fenantrolina zinco (II)

Rendimento: 41%

P.F.: 222°C (T.D)

RMN ¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,14 (1H, s, H1), 8,95 (2H, m, HF), 8,88 (1H, m, HF), 8,32 (2H, m, HF + H2), 8,14 (1H, sl, HF), 7,78 (1H, sl, H4), 7,67 (1H, d, H5), 7,43 (1H, sl, H3), 4,07 (2H, q, 8,0 Hz, CH₂) e 1,05 (3H, m, CH₃).

IV ATR (64 scans): 3151-3069 (νO-H), 1692 (νC=O), 1552, 1520, 1397, 1377, 1293 (νC-O).

Condutividade molar: 73,42 μs cm⁻¹.

Fórmula molecular: C₂₄H₁₈N₄O₆Zn.

C8: Nitrato de 3-carboetoxi-8-fluoro-4-oxo-1,4-diidroquinolina 1,10-fenantrolina zinco(II)

Rendimento: 48%

P.F.: 212°C (T.D)

RMN ¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,14 (1H, s, H1), 8,95 (2H, m, HF), 8,81 (1H, m, HF), 8,32 (2H, m, HF), 8,14 (2H, m, HF e H2), 7,82 (1H, sl, H3), 7,60 (1H, d, H5), 4,10 (2H, q, 8,0 Hz, CH₂) e 1,10 (3H, m, CH₃).

IV ATR (64 scans): 3151-3069 (νO-H), 1692 (νC=O), 1552, 1520, 1397, 1377, 1293 (νC-O).

Condutividade molar: 76,15 μs cm⁻¹.

Fórmula molecular: C₂₄H₁₇FN₄O₆Zn.

C9: Nitrato de 3-carboetoxi-8-cloro-4-oxo-1,4-diidroquinolina 1,10-fenantrolina zinco(II)

Rendimento: 62%

P.F.: 233°C

RMN ¹H (500 MHz) DMSO-d₆ / TMS (δ-ppm): 9,11 (1H, s, H1), 8,92 (2H, m, HF), 8,83 (1H, m, HF), 8,32 (2H, m, HF), 8,01 (2H, m, HF e H2), 7,80 (1H, sl, H3), 7,47 (1H, d, H5), 4,13 (2H, q, 8,0 Hz, CH₂) e 1,25 (3H, m, CH₃).

Condutividade molar: 71,23 μs cm⁻¹.

IV ATR (64 scans): 3151-3069 (νO-H), 1688 (νC=O), 1533, 1510, 1388, 1377, 1244 (νC-O).

Fórmula molecular: C₂₄H₁₇ClN₄O₆Zn.

C10: Nitrato de 3-carboetoxi-8-bromo-4-oxo-1,4-diidroquinolina 1,10-fenantrolina zinco(II)

Rendimento: 59%

P.F.: 211°C

RMN ^1H (500 MHz) DMSO- d_6 / TMS (δ -ppm): 9,15 (1H, s, H1), 8,92 (2H, m, HF), 8,75 (1H, m, HF), 8,30 (2H, m, HF), 8,16 (2H, m, HF e H2), 7,83 (1H, sl, H3), 7,68 (1H, d, H5), 4,06 (2H, q, 8,0 Hz, CH_2) e 1,15 (3H, m, CH_3).

Condutividade molar: 80,12 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

IV ATR (64 scans): 3127-3044 ($\nu\text{O-H}$), 1677 ($\nu\text{C=O}$), 1533, 1510, 1388, 1377, 1244 ($\nu\text{C-O}$).

Fórmula molecular: $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{BrN}_4\text{O}_6\text{Zn}$.

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. Síntese dos complexos de Zn do tipo $[\text{Zn}(\text{HL7-10})(\text{phen})]\text{NO}_3$ (C7-C10)

A metodologia de complexação empregada neste capítulo foi bem diferente da que foi empregada no capítulo 2, visto que aqui, além de desprotonarmos o ligante, ainda utilizou-se um sal metálico diferente ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), além da amina auxiliar fenantrolina. Os respectivos complexos C7-C10 foram sintetizados utilizando a proporção 1:1:1 (metal:ligante:fenantrolina), a fim de se consumir totalmente os ligantes, além do produto apresentar a amina auxiliar desejada. A adição da fenantrolina e do ligante de forma simultânea à solução metanólica do metal foi para favorecer a formação do complexo com 1 unidade de fenantrolina e 1 unidade de ligante.

Essa metodologia empregada foi uma adaptação de algumas encontradas na literatura, principalmente devido os aspectos físico-químicos que o ligante apresentava, pois eram pouco solúveis, mesmo após a desprotonação com Et_3N , devido a isso, acoplou-se a reação em condensador de refluxo^{5,7}. A utilização deste núcleo de quinolona neste capítulo é a fim de mimetizar os pontos de coordenação de compostos contendo porções como β -cetoéster, já utilizados em nosso grupo em outros trabalhos, que exibem pelo menos um hidrogênio α , podendo apresentar tautomeria ceto-enólica, diferindo somente pela posição do átomo de hidrogênio (Figura 4.13). A base foi adicionada ao meio reacional a fim de que o ligante se encontrasse apenas em sua forma enólica^{27,28}.

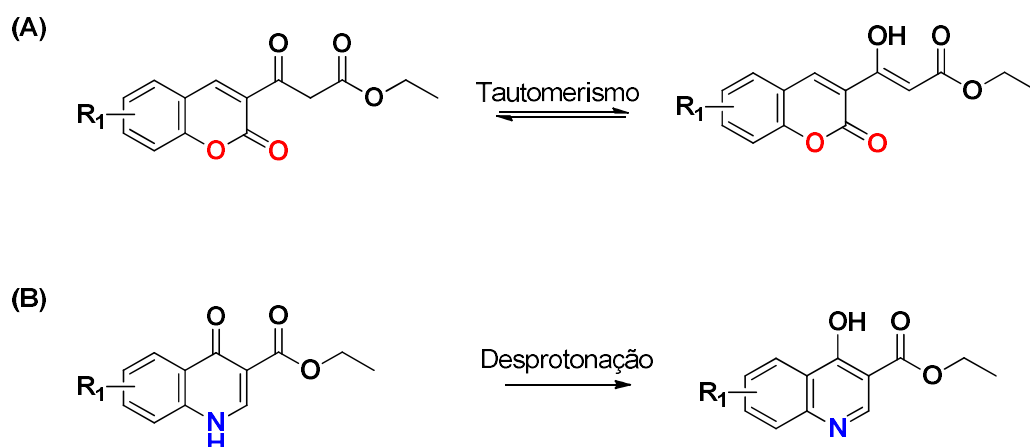


Figura 4.13: Tautomeria ceto-enólica (A). Quinolona após desprotonação (B).

O solvente utilizado, metanol, foi escolhido por solubilizar melhor os ligantes e por ser utilizado na síntese de complexos análogos de Zinco com quinolonas. O tempo reacional foi estipulado em 3-4h, após monitoramento das reações por CCF, indicando que este seria o tempo ideal para complexação devido à alta reatividade do Zinco.

4.3.2. Caracterização estrutural

Uma vez isolados, os compostos foram caracterizados e comparados com os respectivos ligantes de partida.

- *Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)*

Os complexos **C7-C10** foram analisados por espectroscopia no IV e comparados com os ligantes (HL7-H10). Os espectros no infravermelho do ligante **HL7** e do **C7** encontram-se na **Figura 4.14**.

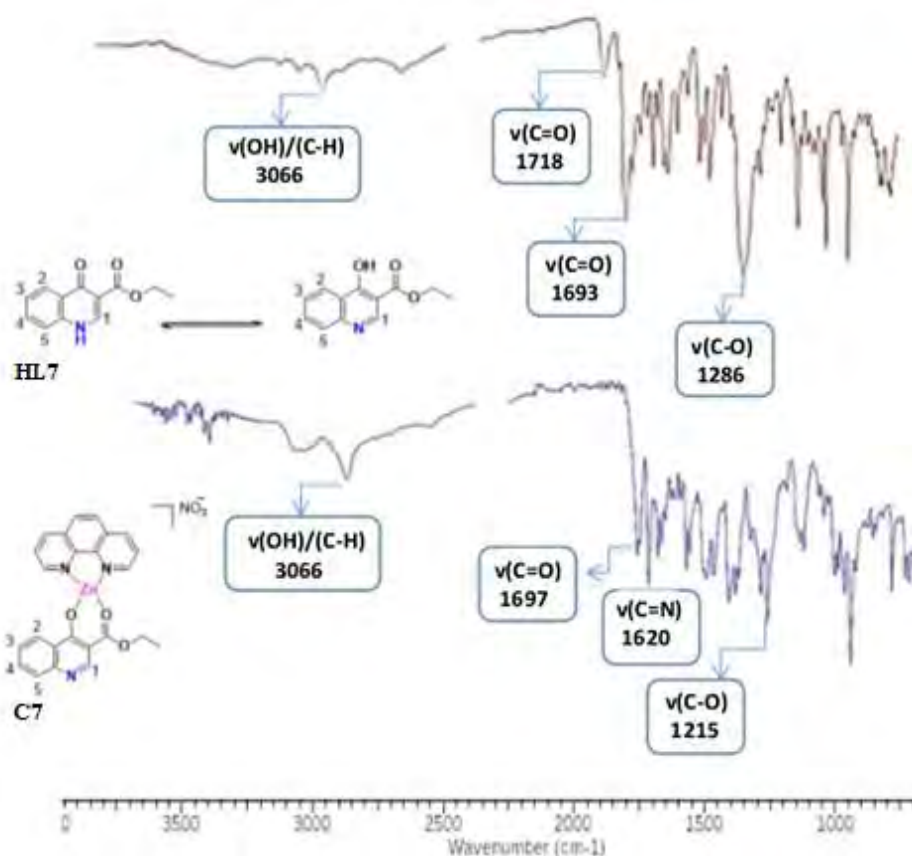


Figura 4.14: Espectros no infravermelho dos compostos **HL7** e **C7**.

O espectro no infravermelho do ligante HL7, mostra duas bandas referentes a $\nu(\text{C}=\text{O})$, em 1718 cm^{-1} e em 1693 cm^{-1} . Após a formação do C7, apenas uma banda é observada em 1697 cm^{-1} , o que pode ser o indicativo de que a complexação ocorreu.

Outra mudança que indica a complexação é a banda presente nos espectros dos complexos em torno de 1620 cm^{-1} , referente ao estiramento $\text{C}=\text{N}$ da amina auxiliar, indicando que houve a coordenação pelo ligante e também pela amina auxiliar²⁹. A banda característica de $\nu(\text{N}=\text{O})$ do contra-íon nitrato não foi encontrada, necessitando de análise condutimétrica a fim de avaliar se o complexo se encontra carregado.

Os dados espectroscópicos do infravermelho dos ligantes e seus respectivos complexos estão mostradas na **Tabela 4.1**.

Tabela 4.1: Principais bandas nos espectros de IV (cm^{-1} , ATR) dos complexos **C7-C10**.

| | $\nu(\text{C=O})$ | $\nu(\text{C-O})$ | $\nu(\text{C=N})$ |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| C7 | 1697 | 1286 | 1620 |
| C8 | 1685 | 1287 | 1615 |
| C9 | 1683 | 1293 | 1617 |
| C10 | 1688 | 1292 | 1611 |

- *Ressonância Magnética Nuclear (RMN)*

Experimentos 1D e 2D de RMN de ^1H em CDCl_3 foram realizados para **C7-10**. A **Figura 4.15** apresenta a numeração utilizada para a atribuição dos sinais nos espectros dos complexos. Os espectros de RMN de ^1H dos complexos apresentam perfis semelhantes e os hidrogênios das estruturas se encontram em mesma região que as observadas para compostos similares e já descritos na literatura³⁰.

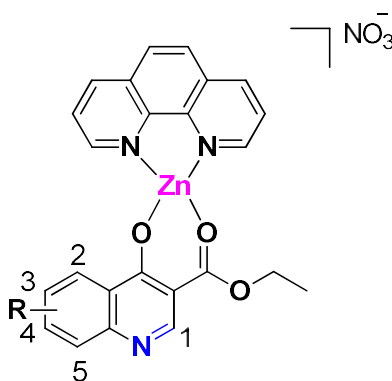


Figura 4.15: Numeração empregada na atribuição de sinais nos espectros de RMN de **C7-C10**.

A primeira etapa da reação consiste na desprotonação do ligante a fim de favorecer a espécie enólica que teria mais predisposição a se coordenar ao íon metálico. Um dos efeitos da desprotonação do ligante no espectro de RMN de ^1H é a ausência do sinal OH/NH (equilíbrio).

Conforme já dito no capítulo 3, o hidrogênio aromático mais desprotegido é o H1 presente no anel do derivado quinolínico e foi atribuído como singlete em δ 8,60. Após a complexação, observa-se que o H1 sofreu longo deslocamento para campo mais baixo em δ 9,14, sendo um singlete largo, devido a desprotonação do ligante e mudança de efeitos indutivos e de ressonância naquele ponto. Há o surgimento de sinais referentes aos hidrogênios da fenantrolina de δ 8,95-8,14, integrando 8 hidrogênios, corroborando que a complexação de fato tenha ocorrido. O H2 que aparece junto com um hidrogênio da fenantrolina e deslocado para campo mais baixo em δ 8,15 como singlete largo, integrando 2H's.

Os sinais do H4 e H5 não sofreram deslocamento apreciável, provavelmente pela distância dos pontos de coordenação.

Os sinais característicos desta complexação, junto com o surgimento dos sinais da fenantrolina, são os sinais referente ao CH_2 que sofreu deslocamento para campo mais alto em δ 4,07 e o sinal do CH_3 que foi deslocado para δ 1,05, corroborando o efeito de proteção causado pelo zinco através da doação eletrônica pela sua camada d completa, figura 4.16.

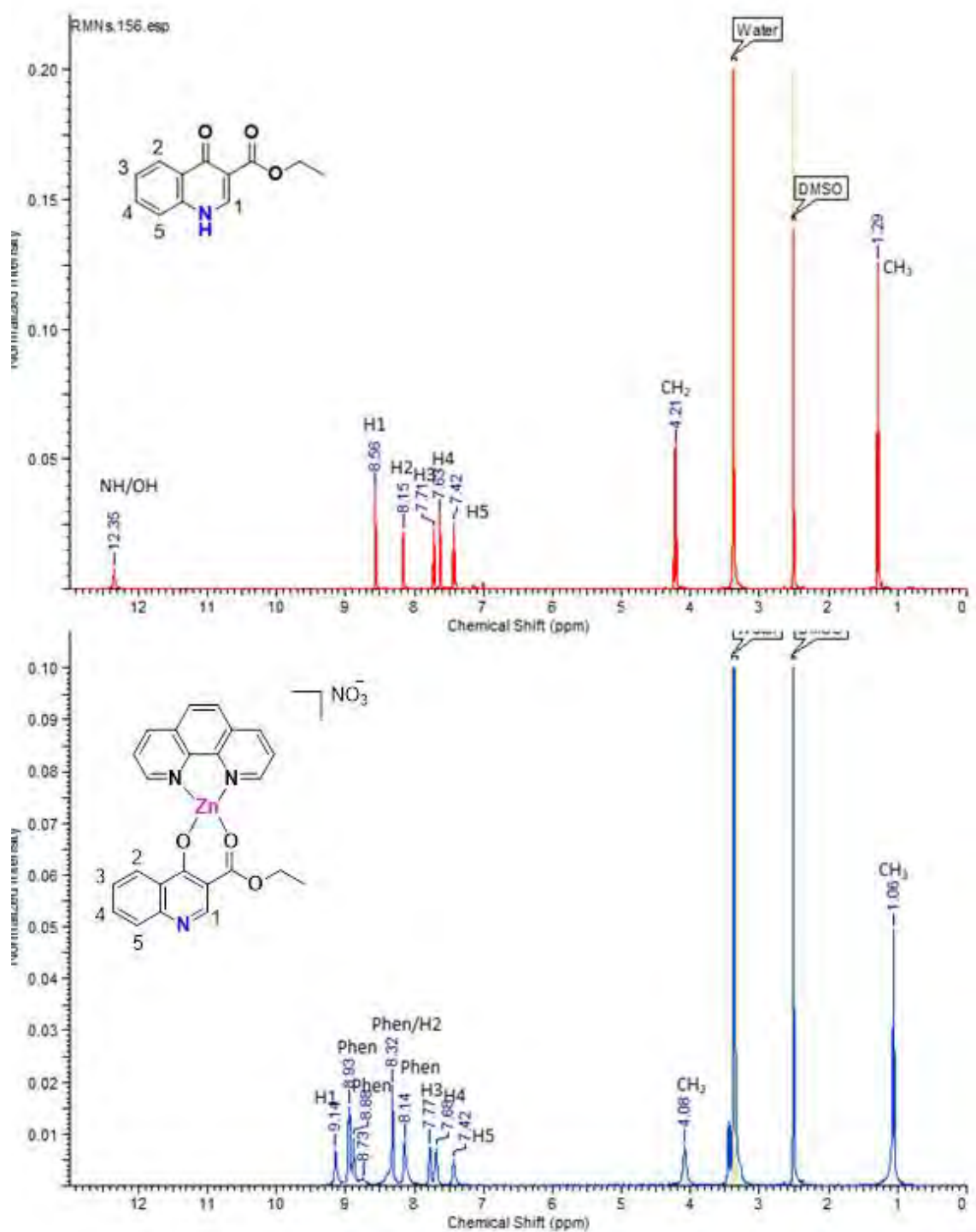


Figura 4.16: Espectro de RMN de ^1H em DMSO-d_6 do **HL7** e do **C7**.

Todos os dados de RMN de ^1H em DMSO-d_6 para todos os complexos sintetizados (C7-C10) se encontram na tabela 4.2

Tabela 4.2: Dados obtidos nos espectros de RMN de ^1H e COSY para **C7-C10** em DMSO em 500 MHz.

| H | C7 | C8 | C9 | C10 |
|-------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | $\delta\ ^1\text{H}$ (m; J Hz) | $\delta\ ^1\text{H}$ (m; J Hz) | $\delta\ ^1\text{H}$ (m; J Hz) | $\delta\ ^1\text{H}$ (m; J Hz) |
| 1 | 9,14 (d, 7,2) | 9,14 (d, 7,2) | 9,11 (m) | 9,18 (d, 7,2) |
| 2 | 8,32 (d, 5,8) | 8,14 (d, 5,8) | 8,17 (dd, 8,8 e 4,6) | 8,32 (d, 5,8) |
| 3 | 7,78 (m) | 7,82 (dd, 9,2 e 2,8) | 7,81 (dd, 9,2 e 2,8) | 7,83 (dd, 9,2 e 2,8) |
| 4 | 7,67 (d, 5,8) | - | - | - |
| 5 | 7,43 (d, 5,8) | 7,68 (m) | 7,66-7,61 (m) | 7,68 (m) |
| CH₂CH₃ | 4,07 (q, 6,3) | 4,10 (q, 6,3) | 4,13 (q, 7,1) | 4,02 (q, 6,3) |
| CH₂CH₂ | 1,05 (t, 6,3) | 1,10 (t, 6,3) | 1,25 (t, 7,1) | 1,18 (t, 6,3) |
| Fenantrolina | 8,13-8,93 | 8,10-8,95 | 8,13-8,90 | 8,13-8,94 |

• **Condutivimetria dos complexos (C7-C10)**

Uma solução dos complexos em DMF, na concentração de 1.10^{-3} mol L⁻¹, foi preparada e utilizada para a realização de medidas de condutividade. A título de comparação, realizou-se também a medida de condutividade do DMF e de um eletrólito padrão 1:1, o brometo de tetraetilamônio. Os valores obtidos encontram-se na Tabela 4.3.

Tabela 4.3: Medida de condutividade molar para o DMF, o eletrólito 1:1 e para os complexos sintetizados (C7-C10).

| Complexo | $\Lambda\text{M}(\mu\text{S})$ |
|-----------------------------------|--------------------------------|
| DMF | 1,09 |
| Brometo de Tetraetilamônio | 79,56 |
| C7 | 79,43 |
| C8 | 80,21 |
| C9 | 76,15 |
| C10 | 75,12 |

O valor de condutividade molar obtido para os complexos C7-C10, acima de 70,00 $\mu\text{S cm}^{-1}$, a temperatura ambiente foi próxima ao do eletrólito padrão 1:1, 79,56 $\mu\text{S cm}^{-1}$, indicando que o complexo é carregado³¹. A medida de condutividade molar foi realizada novamente após 20 minutos, onde foi obtido um valor muito próximo ao primeiro, indicando que o complexo é estável em DMF durante este tempo.

Estando o complexo em sua forma carregada, logo este deve possuir um contra-íon em sua esfera de coordenação para fechar o balanço de carga. Em conjunto com as análises de RMN de ^1H e IV, os resultados apontam coordenação através da quinolona, possuindo uma fenantrolina como amina auxiliar e tendo um NO_3^- como contra-íon.

4.4. CONCLUSÕES

A metodologia sintética utilizada para a síntese destes complexos de Zn^{II} contendo os derivados de quinolona é viável e de fácil reprodutibilidade dando origem a complexos estáveis e inéditos. Através de análises de IV e condutimetria, percebe-se que os complexos estão na sua forma carregada, possuindo um NO_3^- como contra-íon, o que explica a sua boa solubilidade em solventes polares, o que pode ser uma vantagem na condução dos testes biológicos.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - PHAM T. D. M.; ZIORA, Z. M.; BLASKOVICH, M. A. T. Quinolone antibiotics. **Med chem comm**, v. 10, p. 1719-1739, 2019.
- 2 – VIEIRA, L.M.M. *et al.* Platinum (II) complexes with fluoroquinolones: Synthesis and characterization of unusual metal-piperazine chelates. **Inorg Chim Acta**, v. 369, p. 2060-2064, 2009.
- 3 - ROCHA, D. P. *et al.* Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 34, n.1, p. 111-118, 2011.
- 4 – AKTAR, FAHIMA & HOSSAIN, *et al.* Iron (II) and Zinc (II) complexes of gemifloxacin mesylate: synthesis, characterization, serum binding profiling, and evaluation of antimicrobial activity. **J Bangladesh Acad Sci**, v. 46, p. 203-211, 2022.
- 5 – FOZIAH, A. *et al.* Synthesis, spectroscopic, thermal, biological, morphological and molecular docking studies of the different quinolone drugs and their cobalt(II) complexes, **J Mol Liquids**, v. 249, p. 438-453, 2018.
- 6 – GAO, F. *et al.* Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Novel Fe(III), Co(II), and Zn(II) Complexes with Norfloxacin. **J Inorg Biochem**, v. 60, p. 61-67, 1995.
- 7 - TUREL, I. *et al.* Antibacterial tests of Bismuth(III)-Quinolone (Ciprofloxacin, cf) compounds against *Helicobacter pylori* and some other bacteria. Crystal structure of (cfH₂)₂[Bi₂Cl₁₀].4H₂O. **J Inorg Biochem**, v. 71, p. 53-60, 1998.
- 8 - SAHA, D. K. *et al.* Hydrothermal synthesis, crystal structure, spectroscopy, electrochemistry and antimycobacterial evaluation of the copper (II) ciprofloxacin complex: [Cu(cf)₂(BF₄)₂].6H₂O. **Inorg Chem Comunic**, v.5, p. 1022-1027, 2002.
- 9 – REFAT, M. S. Synthesis and characterization of norfloxacin-transition metal complexes (group 11, IB): Spectroscopic, thermal, kinetic measurements and biological activity. **Spec Acta, Part A**, v.68, p.1393–1405, 2007.

- 10 – MODIA, C. K. e JANIB, D. H. Mn(III) mixed-ligand complexes with bis-pyrazolones and ciprofloxacin drug: synthesis, characterization and antibacterial activities, **Appl Organometal Chem**, v. 25, p.429–436, 2011.
- 11 - BATISTA, D.G.J. *et al.* Co(II), Mn(II) and Cu(II) complexes of fluoroquinolones: synthesis, spectroscopical studies and biological evaluation against *Trypanosoma cruzi*. **Polyhedron**, v. 16, p. 1718-1725, 2011.
- 12 – SHRIVER, D. F. *et al.* Química Inorgânica. São Paulo: Artmed Editora S.A., 2008. 847p.
- 13 – LIANG-CAI, YU *et al.* Syntheses and crystal structures of Zn(II) and Co(II) complexes with ofloxacin and enoxacin. **J Coord Chem**, v. 62, n. 8, p. 1313-1319, 2009.
- 14 – CHRISOULA, K, *et al.* Synthesis, characterization and biological activity of Zn coordination compounds with the quinolone gatifloxacin, **Polyhedron**, v. 166, p. 98-108, 2019.
- 15 – PATRIQUE, N, *et al.* Copper Complexes with 1,10-Phenanthroline Derivatives: Underlying Factors Affecting Their Cytotoxicity. **Inorg Chem**, v. 59, p. 9116-913, 2020.
- 16 - DIETZ, C.; SEIDEL, R. W.; OPPEL, I. M. Crystal structure of catena-(μ 2-sulfato)-diaqua-(1,10-phenanthroline)- cobalt(II), Co(H₂O)₂(C₁₂H₂N₂)SO₄ at 106 K and refinement of crystal structure of catena-(μ 2-sulfato)-diaqua-(1,10-phenanthroline)copper(II), Cu(H₂O)₂(C₁₂H₂N₂)SO₄ at 106 K. Zeitschrift für Kristallographie - **New Crystal Structures**, v. 224, n. 3, p. 509–511, 2009.
- 17 - ACCORSI, G. *et al.* 1,10-Phenanthrolines: Versatile Building Blocks for Luminescent Molecules, Materials and Metal Complexes. **Chem Soc rev**, v. 38, n. 6, p. 1690– 700, 2009.
- 18 - MATOS, C. *et al.* New iron(III) anti-cancer aminobisphenolate/phenanthroline complexes: Enhancing their therapeutic potential using nanoliposomes. **Intl J Pharma**, v. 623, p. 121925, 2022.
- 19 - BENCINI, A.; LIPPOLIS, V. 1,10-Phenanthroline: A versatile building block for the construction of ligands for various purposes. **Coord Chem Rev**, v. 254, n. 17–18, p. 2096–2180, 2010.

- 20 - GARCÍA-RAMOS, J. C. *et al.* The π -back-bonding modulation and its impact in the electronic properties of Cu(II) antineoplastic compounds: an experimental and theoretical study. **Chem (A Eur J)**, v. 20, n. 42, p. 13730–13741, 2014.
- 21 - ACCORSI, G. *et al.* 1,10-Phenanthrolines: Versatile Building Blocks for Luminescent Molecules, Materials and Metal Complexes. **Chem Soc rev**, v. 38, n. 6, p. 1690– 700, 2009.
- 22 – TISATO, F.; MARZANO, C.; PORCHIA, M.; PELLEI, M.; SANTINI, C. Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies. **Med Res Rev**, v. 30, p. 708-749, 2010.
- 23 – CHANDRALEKA , S.; & CHANDRAMOHAN, G. Synthesis, characterization and thermal analysis of the copper(II) complexes with 2,2-bipyridyl and 1,10-phenanthroline. **Afr J of Pure and Appl Chem**, v. 8, p. 162-175, 2014.
- 24 - BARTON, J. K.; DANISHEFSKY, A.; GOLDBERG, J. Tris(phenanthroline)ruthenium(II): stereoselectivity in binding to DNA. **J. Am. Chem. Soc**, v. 106, p. 2172-2176, 1984.
- 25 – RUÍZ, P.; ORTIZ, R.; PERELLÓ, L.; ALZUET, G.; GONZÁLEZ-ALVAREZ, M.; LIU-GONZÁLEZ, M.; SANZ-RUÍZ, F. Synthesis, structure, and nuclease properties of several binary and ternary complexes of copper(II) with norfloxacin and 1,10 phenanthroline. **J Inorg Biochem**, v. 101, p. 831-840, 2007.
- 26 - AGWARA, M. O.; NDIFON, P. T.; NDOSIRI, N. B.; PABOUDAM, A. G.; YUFANYI, D. M.; MOHAMADOU, A. Synthesis, characterisation and antimicrobial activities of cobalt(ii), copper(ii) and zinc(ii) mixed-ligand complexes containing 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine. **Bull. Chem. Soc. Ethiop**, v. 24, p. 383-389, 2010.
- 27 – AREAS, E. S. *et al.* Redox-Activated Drug Delivery Properties and Cytotoxicity of Cobalt Complexes Based on a Fluorescent Coumarin- β -Keto Ester Hybrid. **Euro J. of Inorg Chem**, v. 2019, p. 4031-4039, 2019.
- 28 – DE ALMEIDA, P.S.V.B.; DE ARRUDA, H.J.; SOUSA, G.L.S.; RIBEIRO, F.V.; DE AZEVEDO-FRANÇA, J.A.; FERREIRA, L.A.; GUEDES, G.P.; SILVA, H.; KUMMERLE, A.E.;

NEVES, A.P. Cytotoxicity evaluation and DNA interaction of Ru^{II}-bipy complexes containing coumarin-based ligands. **Dalton Trans.** v. 50, 14908–14919, 2021.

29 – TARUSHI, A.; PSOMAS, G.; RAPTOPOULOU, C. P.; KESSISSOGLOU, D. P. Zinc complexes of the antibacterial drug oxolinic acid: structure and DNA-binding properties. **J Inorg Biochem**, v. 103, p. 898-905, 2009.

30 – MUHIB, AHMED, *et al.* Synthesis and characterisation of phenanthroline-oxazine ligands and their Ag(I), Mn(II) and Cu(II) complexes and their evaluation as antibacterial agents. **BioMetals**, v. 35, p. 173-185, 2022.

31 - GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. *Coord. Chem. Rev*, v. 7, p. 81-122, 1971.

Capítulo 5: Avaliação das atividades antibacteriana, anti t-cruzi, anti-zika e anti-chikungunya.

RESUMO

O Capítulo 5 aborda uma visão geral de doenças negligenciadas, dando destaque para a Doença de Chagas e arboviroses como: Zika e Chikungunya, também traz atividade antivirais a antiparasitárias de derivados de cumarina, imidazopiridina já reportados na literatura. Também descreve a análise e a discussão da atividade anti-cruzi, anti-ZIKV e anti-CHIKV dos ligantes **HL1-4** e dos complexos **C1-4** contra as células infectadas e células saudáveis, além da comparação com resultados de estruturas similares descritas na literatura.

ABSTRACT

Chapter 5 provides an overview of neglected diseases, highlighting Chagas Disease and arboviruses such as: Zika and Chikungunya, as well as activities of coumarin derivatives, imidazopyridine and of zinc already reported in Literature. The analysis and discussion of the anti-cruzi, anti-ZIKV and anti-CHIKV activity of HL1-4 ligands and C1-4 complexes against infected and healthy cells is also described, in addition to the comparison with results of similar structures described in the literature.

5.1. INTRODUÇÃO

5.1.1 Doenças negligenciadas

Em um passado não tão distante, as doenças negligenciadas eram conhecidas como “doenças tropicais”, por uma relação entre a causalidade e a localização geográfica. Contudo, o termo “doenças tropicais” foi substituído por “doenças negligenciadas”, mais amplo, preciso e que contempla um contexto político, econômico e social em que acontecem as doenças. Essa mudança de termo foi proposta pela OMS (Organização Mundial da Saúde), pelo MSF (Médicos sem Fronteiras), pelo DNDi (Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas) e pela atenção que as diferentes doenças recebem por parte da indústria farmacêutica. A proposta divide as doenças em globais, negligenciadas e extremamente negligenciadas^{1,2}.

Quando se fala sobre doenças negligenciadas, na verdade, fala-se sobre as doenças que acometem pessoas ao redor do mundo, as quais não contam com tratamento medicamentoso apropriado¹. Uma doença é considerada negligenciada quando as alternativas de tratamento são nulas ou inadequadas, por questões de renda e preço. Além disso, em sua grande maioria, são medicamentos velhos, de difícil administração e tolerância e com pouca efetividade face à ampliação da resistência parasitária². Dentro desse contexto, o acesso ao tratamento medicamentoso adequado é uma condição essencial para que se possa alcançar o estado de saúde, pois o medicamento completa o processo que vai desde a prevenção e o tratamento clínico até o tratamento especializado e exames adequados. As populações afetadas pelas doenças negligenciadas sofrem com a falta de tratamento medicamentoso adequado, com a deficiência na prevenção e dos sistemas e serviços de saúde, em três tipos de ‘falhas’: de ciência (medicamentos inexistentes devido ao conhecimento técnico/científico insuficiente, como vacinas contra malária, HIV/AIDS), de mercado (medicamentos caros, fora do alcance das populações) e de sistemas e serviços de saúde (diagnóstico precoce, remédios baratos ou mesmo gratuitos, que não chegam aos pacientes)³.

A maioria das doenças negligenciadas são doenças tropicais infecciosas, que acometem populações pobres, com maior prevalência em países pobres (DNDi, 2009)¹. Exemplos dessas doenças no mundo, com maior prevalência na América Central, América do Sul e África, são tuberculose, leishmaniose, doença do sono, malária, doença de Chagas e HIV. No caso do Brasil, além das doenças já negligenciadas no mundo, há mais alguns exemplos: dengue, zika, chicungunya, esporotricose, esquistossomose, febre amarela, hanseníase, leptospirose, paracoccidiose e riquetsiose, doenças que não apresentam riscos para a saúde pública nos países

desenvolvidos².

No caso do HIV, embora haja medicamentos e novas pesquisas em andamento, a maior parte da população infectada no mundo pelo vírus, grande maioria da África subsaariana, não tem acesso aos medicamentos inovadores para tratá-la. Situação bem diferente ocorre no Brasil, que tem um programa de prevenção e tratamento, considerado referência para a Organização das Nações Unidas – ONU³.

Em uma classificação que contempla os contextos de desenvolvimento político, econômico e social, as doenças negligenciadas dividem-se em simplesmente negligenciadas (mais prevalente em países em desenvolvimento), extremamente negligenciadas ou mais que negligenciadas (exclusiva dos países em desenvolvimento).

Se examinarmos mais profundamente as doenças negligenciadas, percebe-se que há doenças que podem ser consideradas extremamente negligenciadas, pois essas, em menor percentual, afetam também pessoas em países ricos, como a tuberculose e a malária. No caso da malária, os indivíduos de países ricos contraem essa doença em viagens ao exterior ou na recepção de turistas estrangeiros. Nessas doenças negligenciadas, a indústria farmacêutica ainda tem algum interesse marginal. Doenças como a do sono, de Chagas e leishmaniose são consideradas extremamente negligenciadas, porque afetam populações muito pobres, sem nenhum grito social ou poder de compra para medicamentos. Isso faz com que as instituições privadas não tenham interesse e os governos tenham pouco interesse, disponibilizando poucos recursos para investimento no desenvolvimento de um novo medicamento⁴.

De acordo com o estudo (G-Finder, na sigla em inglês) sobre financiamento mundial de inovação para doenças negligenciadas, menos de 5% do financiamento foram investidos no grupo das doenças extremamente negligenciadas, ou seja, doença do sono, leishmaniose visceral e doença de Chagas, ainda que mais de 500 milhões de pessoas sejam ameaçadas por essas três doenças parasitárias⁵.

5.1.1.1 Doença de Chagas

A doença de Chagas é reconhecida pela OMS como uma das 13 doenças tropicais mais negligenciadas do mundo⁶, também conhecida como Tripanossomíase americana, que foi descoberta e descrita etimologicamente pelo médico sanitarista brasileiro Carlos Chagas em 1909⁷. Esta enfermidade é causada pela infecção com o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, que pertence à família dos tripanossomatídeos, e que causam um número significativo de doenças negligenciadas, como as Leishmanioses provocadas por gêneros da espécie *Leishmania*⁸, e a Doença do sono que é causada pelo *Trypanosoma brucei*^{9,10}.

A Doença de Chagas tem sido um flagelo para a humanidade desde a antiguidade e continua a ser um problema social e econômico relevante em muitos países da América Latina onde é endêmica¹¹, porém sua difusão tem sido possível para outros países devido à crescente imigração de pessoas infectadas para áreas não endêmicas, e já são encontrados casos na América do Norte, Ásia e Europa (Figura 5.1). Por falta de um controle rigoroso em países onde a doença não é comum, sua contaminação por transplantes e transfusões tem sido recorrente¹².



Figura 5.1: Panorama da Doença de Chagas na América Latina e no mundo.

Segundo dados da *Iniciativa de Medicamentos para Doenças Negligenciadas* (DNDi, sigla em inglês de *Drugs for Neglected Diseases Initiative*)¹, há 5,7 milhões de pessoas infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* em 21 países da América Latina, mais de 6 milhões no mundo (incluindo aproximadamente 300.000 casos nos Estados Unidos) e calcula-se que 70 milhões de pessoas estejam em risco de contrair a doença e que causa 7.000 mortes por ano somente na América Latina^{13,14}.

A Figura 5.2 ilustra as principais formas de infecção em seres humanos. A forma mais comum é pela picada do inseto vetor, conhecido vulgarmente como “barbeiro” (*Triatoma infestans*). Este meio de contaminação confere a cerca de 90% dos casos.



Figura 5.2: Principais formas de infecção: (A) picada do inseto; (B) transfusão de sangue; (C) via congênita; (D) ingestão de alimentos contaminados.

Durante ou imediatamente após picar uma pessoa, o inseto defeca sobre a pele da vítima, eliminando grande quantidade do protozoário *Trypanosoma cruzi*, permitindo que o mesmo penetre no organismo humano através da ferida da picada. O ato de coçar o local que foi picado aumenta a chance de contaminação. A infecção por transfusões de sangue ou por via congênita também são possíveis. Casos de infecção através da ingestão de alimentos contaminados pelo parasito têm sido identificados e estudados^{15,16,17}.

- Ciclo de vida do *T. cruzi*

O ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* no inseto vetor e em mamíferos é ilustrado na Figura 5.3. Esse ciclo se inicia quando a forma *tripomastigota* é ingerida pelo mosquito *triatomídeo* (barbeiro). Então, as formas *tripomastigotas* diferenciam-se no tubo digestório do inseto para a forma *epimastigota*, que é a forma replicativa do parasito. Após a replicação, as *epimastigotas* transformam-se mais uma vez em *tripomastigotas* e é nesse estágio que ocorre a contaminação de mamíferos em geral. Uma vez dentro da célula do hospedeiro as *tripomastigotas* transformam-se em sua forma replicativa em humanos, a *amastigota*, que se reproduzem várias vezes antes de voltar à forma *tripomastigota* e ser liberada para as correntes sanguíneas e linfáticas após o rompimento da parede celular. Uma vez que isso ocorre, o parasito se espalha pelo organismo invadindo novas células e repetindo o processo de replicação¹⁸.

A doença apresenta duas fases clínicas, a aguda e a crônica. A fase aguda se dá entre quatro e dez dias após a picada. Neste período a vítima apresenta febre, anorexia, dilatação do fígado e do baço, e inflamações do miocárdio, podendo até levar ao desenvolvimento da meningoencefalite, que

é fatal. A fase crônica é caracterizada por um longo período de latência, em que os indivíduos não apresentam sintomas por até 20 anos. Quando os sintomas se apresentam, os mais comuns são: megaesôfago, megacólon, megalocardia, insuficiência cardíaca, arritmias, entre outros. No cérebro há frequentemente a formação de granulomas, mas neste estágio a doença é geralmente fatal mesmo com tratamento^{19,20}.

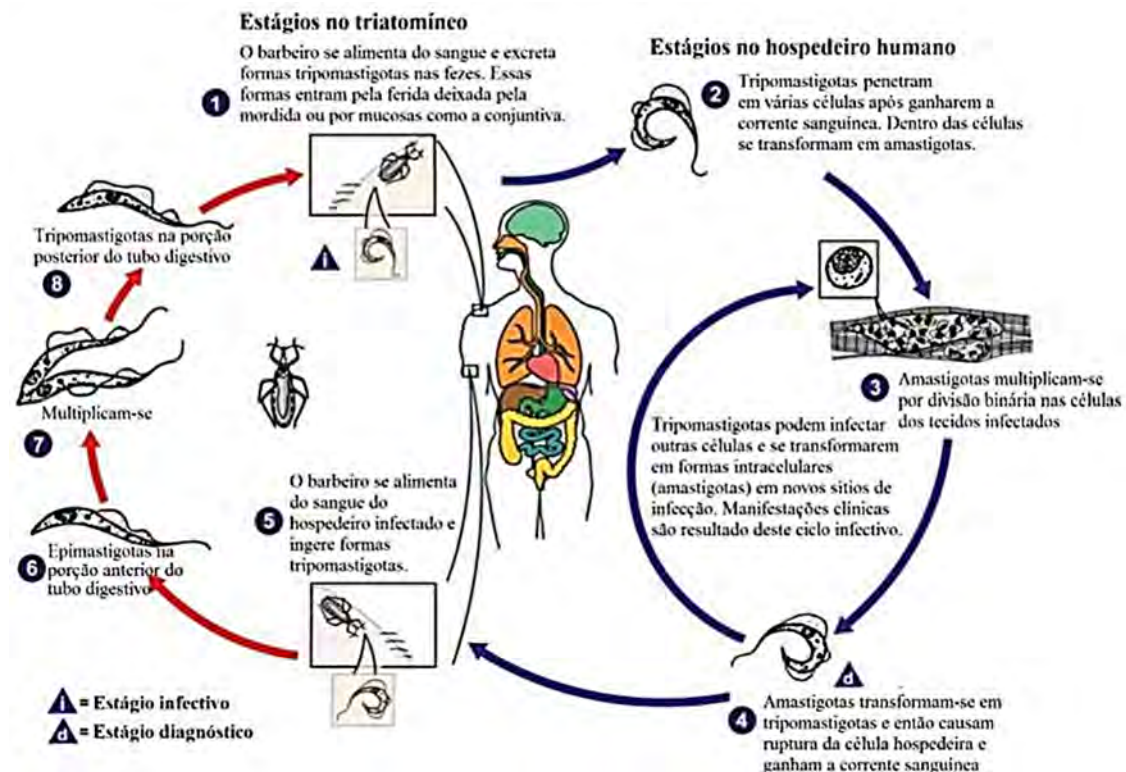


Figura 5.3: Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* nos hospedeiros vertebrado e invertebrado. Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (<https://www.cdc.gov/>)

- *Tratamento da doença*

Atualmente os únicos fármacos disponíveis para o tratamento da doença de Chagas foram introduzidos no mercado há mais de 30 anos, o Nifurtimox (Lampit®, Bayer) e o Benzonidazol (Rochagan® ou Radanil®, Roche) (Figura 5.4).

Estes fármacos são mais ativos na fase aguda da doença (cura em 80% dos casos) que na fase crônica (cura em apenas 20% dos casos), mas ambos não respeitam os critérios básicos estabelecidos pela OMS para serem considerados fármacos seguros, que são: levar a cura parasitológica em ambas as fases da doença; possuir efeitos em doses diárias únicas ou em

pequenas doses; ser acessível a todos os infectados; sem efeitos colaterais graves ou teratogênicos; não ser preciso a hospitalização do paciente para o tratamento e não induzir resistência no agente etiológico, que é o caso do Benzonidazol²¹.

Ambos os fármacos apresentam nos pacientes efeitos colaterais sérios como anorexia, perda de peso, mudanças psicológicas, tremores, sonolência, vômito, dor abdominal, diarreia, convulsões, entre outros. Com tudo isso, estratégias para descoberta de novos fármacos para doenças negligenciadas têm sido estudadas em todo o mundo, e com essas descobertas estão em fase clínica o Ravuconazol e o Posaconazol^{22,23}, também descritos na Figura 5.4.

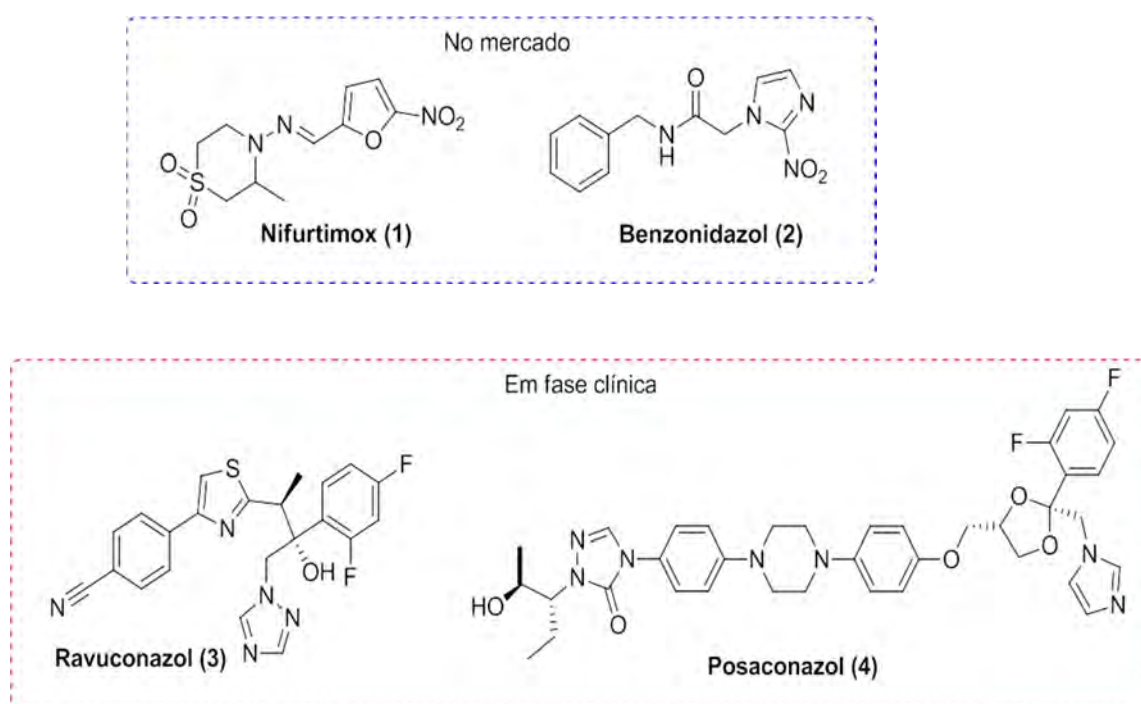


Figura 5.4: (A) Fármacos com descoberta empírica que já estão disponíveis no mercado: Nifurtimox e Benzonidazol. (B) Fármacos com planejamento racional em fase clínica: Ravuconazol e Posaconazol.

5.1.1.2 Arboviroses: Zika e Chikungunya

O termo arbovírus²⁴ define tipos de vírus que são mantidos na natureza através de transmissão biológica entre um hospedeiro vertebrado e suscetível e um artrópode hematófago, como um mosquito. Se destacam por possuírem um ciclo de replicação exógeno ao hospedeiro definitivo, dentro do inseto, mas caracterizam-se pela transmissão vetorial²⁵. Aproximadamente 545 espécies de arbovírus foram descritas, sendo que 150 destas (a maioria de origem zoonótica) estão associadas às doenças em seres humanos. Os arbovírus que causam essas doenças estão classificados essencialmente em cinco famílias: *Bunyaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae* e *Togaviridae*, disseminadas em todos os continentes, exceto no Antártico²⁶. Para sustentar o ciclo de transmissão de arbovírus normalmente é necessária a infecção de um vetor artrópode.

Há inúmeras arboviroses existentes, mas este trabalho dará ênfase nos vírus Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV).

- Vírus Zika (ZIKV)

O ZIKV é um vírus de RNA do tipo icosaédrico, envelopado, possui fita simples²⁷ que pertence ao gênero *Flavivírus* e à família *Flaviviridae* e o seu envelope consiste em uma bicamada lipídica e glicoproteínas. Análises filogenéticas indicaram claramente que o ZIKV pode ser agrupado em duas linhagens distintas: linhagem asiática e linhagem africana, com base nas suas sequências genômicas completas²⁸.

Este vírus em específico foi isolado pela primeira vez de um macaco rhesus na floresta Zika da Uganda em 1947²⁹. No ano seguinte, ocorreu o primeiro isolamento do vírus no mosquito *Ae. africanus*. Em 1954, foi relatada na Nigéria a primeira infecção humana³⁰. As circulações subsequentes foram restritas a África e sudeste da Ásia²⁸. Em meados de maio de 2015 ocorreu o surto no Brasil³¹, seguido por 29 outros países que relataram transmissão do ZIKV antes de 2016³². A figura 5.5 mostra a presença das arboviroses pelo globo.

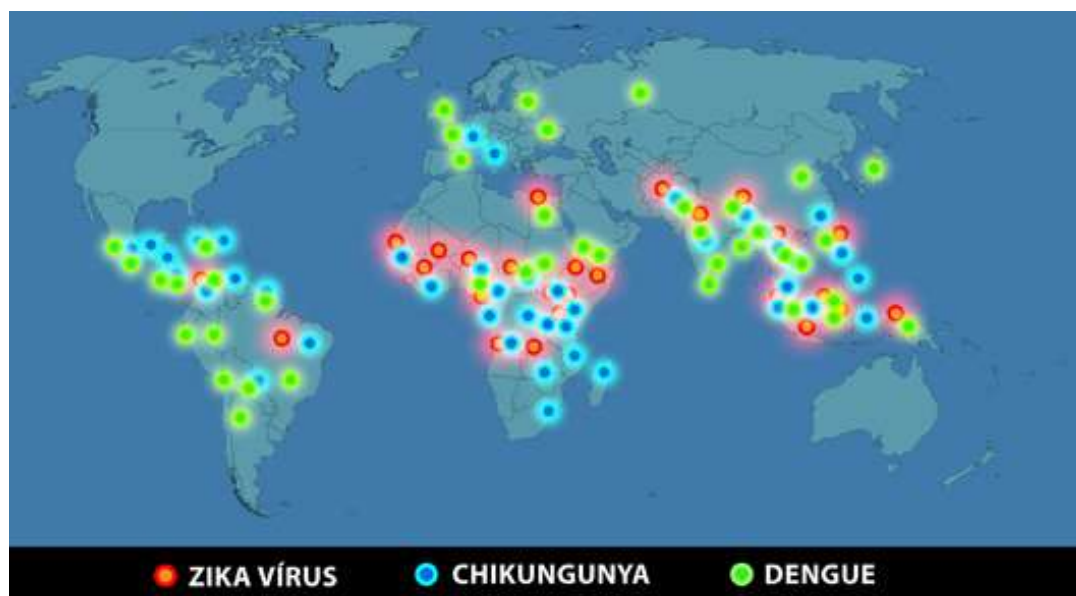


Figura 5.5: Epidemiologia dos vírus Zika, Chikungunya e Dengue. A área vermelha representa a distribuição geográfica ou os pontos de referência do vírus Zika. Fonte: Tham et al. (2018).

Logo após o surto no Brasil, uma potencial associação da microcefalia aos neonatos de mães infectadas pelo ZIKV foi relatada³³, sendo apoiada por estudos subsequentes em que crianças com microcefalia estavam associadas à infecção por ZIKV durante a gravidez. De acordo com o boletim epidemiológico que foi disponibilizado pela Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde no ano de 2019 referente à Semana Epidemiológica (30/12/2018 à 02/02/2019), para a doença aguda pelo vírus Zika, 45 casos suspeitos em 15 municípios foram notificados, o que corresponde a uma redução de 25% comparando ao mesmo período do ano de 2018 quando houve um registro de 60 casos suspeitos³⁴.

O ZIKV é transmitido aos hospedeiros por mosquitos vetores do gênero *Ae.* incluindo: *Ae. africanus*, *Ae. aegypti*, *Ae. vitattus*, *Ae. furcifer*, *Ae. apicoargenteus* e *Ae. luteocephalus*³⁵. Entre cientistas e agências de saúde existe um consenso global de que *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* são os principais vetores do ZIKV em áreas urbanas., isto foi confirmado através de experimentos de competência vetorial para ZIKV que foram conduzidos exclusivamente para espécies deste gênero, principalmente *Ae. aegypti*³⁶. Curiosamente, alguns estudos demonstraram que populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* apresentam baixas taxas de transmissão do ZIKV ou nenhuma^{37,38}. Com isso, o papel de outros vetores na disseminação do ZIKV tem sido negligenciado³⁹. Diante do fato de que *Ae. aegypti* não é a única espécie de mosquito que vive em áreas epidêmicas, outras espécies foram suspeitas de transmitir o vírus.

Além disso, um mosquito transmissor de ZIKV precisa se alimentar de uma pessoa com alta viremia e ser infectado, e o vírus deve se disseminar para a hemolinfa, infectar as glândulas salivares e ser secretado para a saliva⁴⁰. Esse mesmo mosquito deve então se alimentar de uma ou várias outras pessoas para disseminar o vírus na população. Para a maioria das espécies de mosquitos que não o *Ae. aegypti*, isso seria extremamente improvável devido ao seu menor comportamento antropofílico (Figura 5.6).

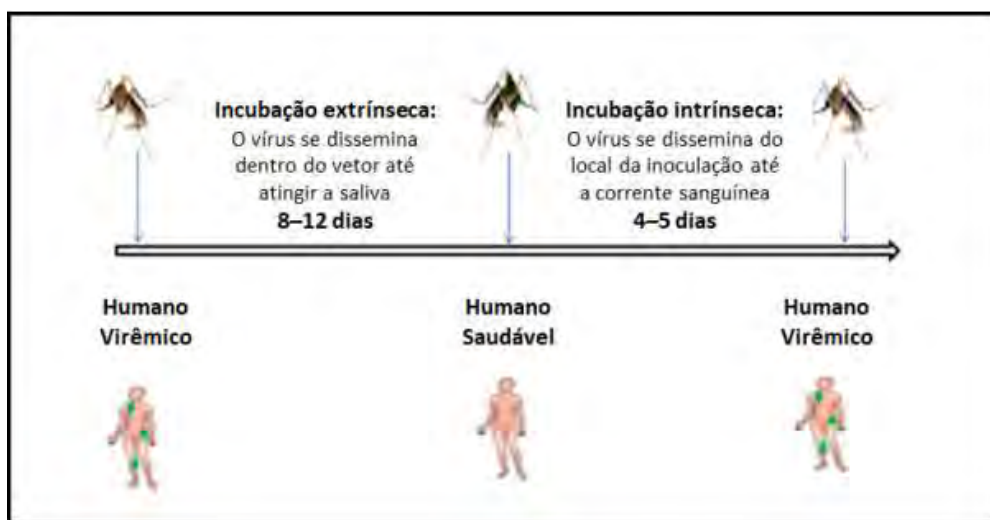


Figura 5.6 – O ciclo de vida do vírus Zika entre o mosquito *Aedes* e o hospedeiro humano.

- Vírus Chikungunya (CHIKV)

De forma similar ao ZIKV, o CHIKV é um arbovírus emergente membro da família Togaviridae, gênero Alphavirus e pertence ao complexo antigênico da Floresta de Semliki.

Entre os membros desse complexo, estão os vírus Mayaro, O'Nyong-nyong e Ross River, todos capazes de causar doenças em humanos^{41,42,43}. É um vírus de RNA, cadeia simples, polaridade positiva, com aproximadamente 12kb de comprimento⁴⁴. A partícula viral é esférica, aproximadamente 70 nm de diâmetro, formada por 240 cópias da proteína do capsídeo e circundada por um envelope composto por uma bicamada lipídica. Inseridos no envelope estão 80 pontas em forma de trímero formadas por glicoproteínas E1 e E2⁴⁵.

O CHIKV é um vírus zoonótico que utiliza vários primatas não-humanos e provavelmente outros vertebrados como hospedeiros intermediários e de amplificação^{46,47}, que também poderiam servir como reservatórios de vírus durante os períodos inter-epidêmicos. O primeiro caso conhecido e relatado de infecção humana por CHIKV aconteceu na Tanzânia em 1952-53. Desde então, vários surtos ocorreram em todo o continente africano⁴⁸. Entre 1960 e

1980, o vírus foi identificado na África Central, Ocidental e do Sul e nos anos seguintes - na Índia e em outros países da Ásia e da África⁴⁹.

O aumento das viagens nos últimos anos e a presença de vetores apropriados permitiram uma disseminação do CHIKV com relatos até mesmo nos Estados Unidos, Brasil, Espanha, Itália e Austrália, entre outros^{50,51}.

A Chikungunya tem ciclos de transmissão enzoótico/silvestre e urbano e ocorre através de uma picada de mosquitos fêmeas infectados do gênero *Aedes*. Como pode ser melhor observado na Figura 5.7

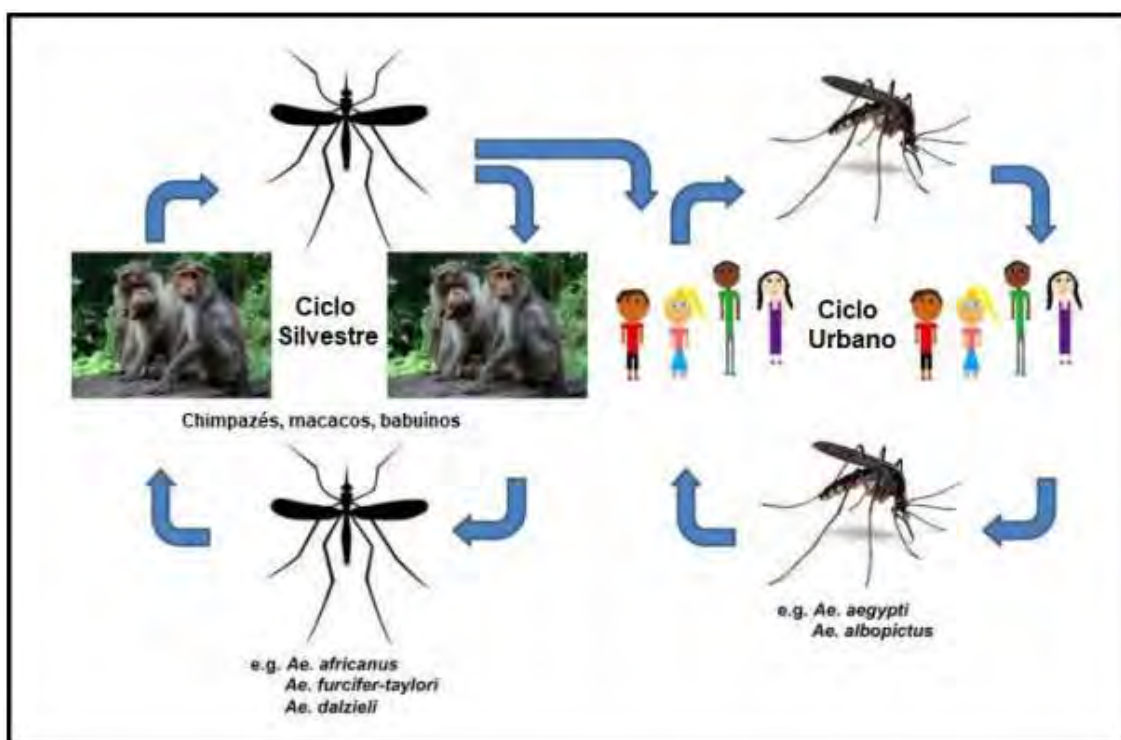


Figura 5.7 – O ciclo de vida do vírus Chikungunya⁵². ADAPTADO de Thiboutot *et al*, 2010

5.1.2. Atividade anti-chagásica e anti-viral de derivados de cumarina e imidazopiridina

Conforme já descrito no capítulo 1, a estrutura das cumarinas tem chamado a atenção dentro da Química Medicinal nos últimos anos, pois elas podem apresentar a capacidade de exercer interações não-covalentes com vários sítios ativos nos organismos vivos, possuindo assim uma vasta gama de atividade biológica, tais como anticancerígena, anticoagulantes, antituberculose, antimicrobiana, anti-inflamatória, anti-HIV, tripanocida, dentre outros⁵³. O grupo de pesquisa de Reyes-Chilpa e colaboradores isolaram cumarinas de folhas e cascas de frutas das árvores *Calophyllum brasiliense* e *Mammea americana* (Clusiaceae), duas árvores de

florestas tipicamente tropicais do continente americano. Essas cumarinas, (Figura 5.8) foram testadas *in vitro* contra as formas epimastigotas e tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi* (Tabela 5.1).

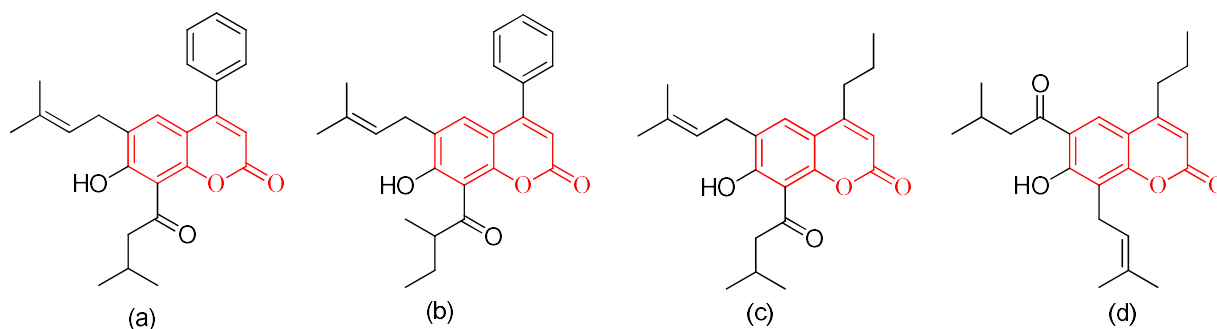


Figura 5.8 –Derivados de cumarina isolados da *mammea americana*.

Os compostos (a)-(d) isolados de *Mammea americana*⁵⁴ se mostraram mais ativos com valores de CM100 na faixa de 15 a 90 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Em 2013, um grupo de pesquisa liderado por Lago e colaboradores isolaram pela primeira vez e elucidaram a cumarina soulamarina (e) a partir da casca do caule de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) (Figura 5.9). Ao avaliar a atividade antichagásica de soulamarina, os autores observaram que a ação letal em relação ao *T. cruzi* envolve danos à membrana plasmática e disfunção mitocondrial, o que pode ter contribuído para a morte do parasita⁵⁵.

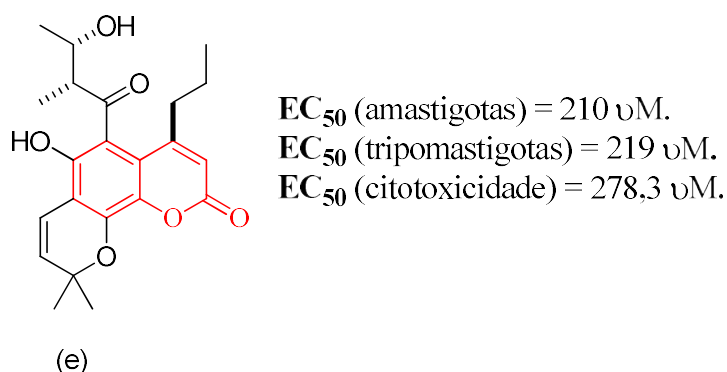


Figura 5.9 –Estrutura proposta da soulamarina e os valores de IC_{50} reportados.

Diante do espectro de atividade biológica apresentado pelas cumarinas de origem natural, aumentou-se a busca por novas cumarinas semi-sintéticas ou sintéticas, que contenham atividade biológica similar ao seu análogo natural. Em um trabalho publicado por Munoz e colaboradores, além de descreverem a síntese de 3- carboxamidocumarinas, foi feita a avaliação

in vitro da atividade tripanocida dos compostos obtidos frente às formas epimastigotas e tripomastigotas do *T. cruzi*. Todos os compostos sintetizados mostraram baixa atividade contra a forma tripomastigota do parasito. No entanto, os compostos (f) e (g), Figura 5.10, apresentaram boa atividade em epimastigotas, com valores de IC₅₀ semelhantes ao Nifurtimox (IC₅₀ = 17,40 ± 1,30 µM), composto usado como referência (além de ser o único fármaco disponível atualmente).

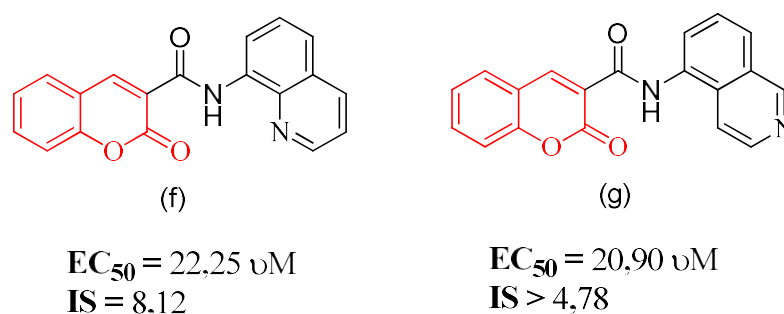


Figura 5.10 –Estrutura dos compostos (f) e (g) e seus respectivos valores de atividade tripanocida.

De forma análoga a tudo o que foi dito para a classe das cumarinas nesse tópico, as imidazopiridinas também podem ser consideradas bem versáteis dentro da Química Medicinal, possuindo diversas atividades biológicas já relatadas, tanto *in vitro*, quanto *in vivo*. Silva e colaboradores ratificam esta afirmação quando publicam em 2017 a síntese de 22 derivados de imidazopiridina, Figura 5.11, e testando frente a *t.cruzi*, *t.brucei* e células de mamíferos⁵⁶.

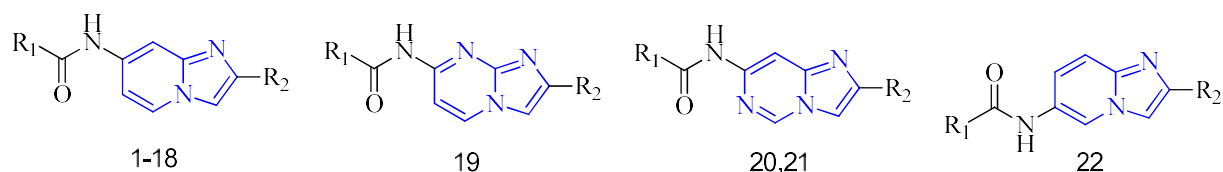


Figura 5.11 –Estrutura dos derivados de imidazopiridina sintetizados por Silva e colaboradores.

Em 2018, uma pesquisa realizada por Pendem e colaboradores também relatou a síntese e relação estrutura-atividade de derivados de imadazopiridina e de triazolpirimidinas frente a trianossomíases, incluindo a eficácia *in vivo* destes compostos⁵⁷, Figura 5.12.

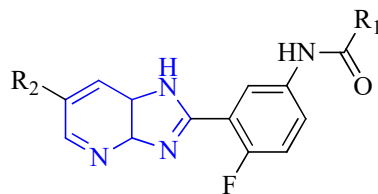


Figura 5.12 –Estrutura dos derivados de imidazopiridina sintetizados por Pendem e colaboradores.

As cumarinas também são consideradas “estruturas privilegiadas” para projetar novos agentes com alta afinidade e especificidade para diversos alvos moleculares frente a agentes antivirais⁵⁸. Elas possuem uma característica farmacofórica única tendo um núcleo aromático planar conectado com um receptor de ligação de hidrogênio; além da lactona como um facilitador de ligação proteína-ligante⁵⁹.

As cumarinas ganharam atenção importante nas últimas três décadas como estruturas de grande interesse para a descoberta de antivirais não-peptídicos, além de agentes não-peptídicos⁶⁰. Várias das moléculas naturais, semissintéticas e sintéticas contendo arcabouço de cumarina foram descobertas em um passado relativamente recente e estão em várias fases do desenvolvimento de drogas⁶¹. Dos vários artigos de revisão que já foram publicados, a grande maioria focam no potencial anti-HIV desta classe de compostos, sendo alguns outros dedicados a outras atividades⁶².

Hwu e colaboradores investigaram uma série de novos compostos híbridos de uracil-cumarina-arenos como potenciais agentes inibidores para o vírus chikungunya (CHIKV), Figura 5.13. Um conjunto de híbridos duplos (uracil-cumarina) e híbridos triplos (uracil-cumarina-arenos) foram avaliados para estabelecer o SAR. A modificação estrutural do anel duplo conjugado para o anel triplo conjugado, utilizando um vinculador SO₂ era necessária para a atividade anti-CHIKV⁶³.

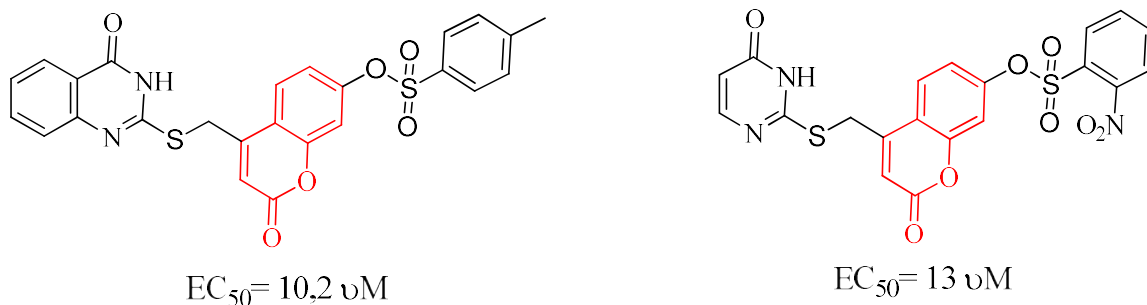


Figura 5.13 –Estrutura dos derivados de cumarina sintetizados por Hwu e colaboradores.

Pohjala e colaboradores realizaram um screening em torno de 356 compostos naturais e drogas clinicamente aprovadas contra chikungunya (CHIKV) e vírus da Floresta Semliki (SFV)⁶⁴. Uma das cumarinas híbridas de triagem anti-SFV (Figura 5.14) composta por um anel de cumarina fusionado com um grupo imidazólico, exibiu excelente valores de IC₅₀ viral, na faixa de micromolar. Essa cumarina exibiu um valor de IC₅₀ de 0,4 µM contra SFV e um índice de seletividade de 308 e dentro desse screening, foi o mais potente inibidor de CHIKV-Rluc (valor IC₅₀ de 6,4 µM).

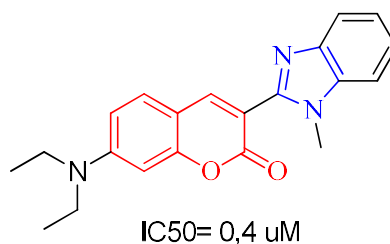


Figura 5.14 – Estrutura do derivado de cumarina e imidazol sintetizado por Pohjala e colaboradores.

Com o objetivo de planejar e sintetizar novos complexos que possam atuar frente a doenças negligenciadas, baseados em estudos prévios dos grupos farmacofóricos que constituem os ligantes híbridos sintetizados por nosso grupo no capítulo 1, resolveu-se complexar os ligantes híbridos de cumarina-imidazopiridina com o íon Zn^{II}, a fim de criar um sinergismo entre o ligante e o íon metálico, quem sabe assim, potencializando a ação do fármaco e possuindo uma menor toxidez sistêmica se comparados a de fármacos já existentes.

Os ligantes (HL1-HL4) e seus respectivos complexos de Zn^{II} (C1-C4), sintetizados e descritos nos capítulos 1 e 2, foram testados frente algumas doenças consideradas negligenciadas, tais como: Doença de Chagas, ZIKV e CHIKV.

5.2. MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1. Atividade anti-*t.cruzi*

(Ensaio *in vitro* de atividade inibitória do crescimento de amastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ) – Ensaio realizado pelo Dr. Paulo Pitasse na UFRRJ.

A uma placa de 96 poços de material acrílico transparente foram semeadas, em cada poço, $1,0 \times 10^4$ células LLC-MK2 (ATTC) em 100 μ L de suspensão em meio DMEM sem vermelho de fenol (DMEM-SVF) suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB)⁶⁵. Após a adesão das células (36°C, 5% CO₂, 4 h), foram semeadas, por poço, $1,0 \times 10^5$ formas tripomastigotas de *T. cruzi*⁶⁶ da cepa Tulahuen C2C4 transfectada com gene de β -galactosidase (Tulahuen C2C4 Lac Z) foram semeadas em 20 μ L de suspensão em meio DMEM-SVF + 5% SFB. Após o período de infecção (36°C, 5% CO₂, *overnight*) os poços foram lavados com solução tampão fosfato (PBS, $2 \times 150 \mu$ L) e foram adicionados 120 μ L de DMEM-SVF + 5% SFB. Em seguida, realizou-se o tratamento com os compostos em triplicata. Os experimentos de avaliação preliminar da inibição do crescimento de amastigotas (ICA) de *T. cruzi* foram realizados à concentração constante de 50 μ M para todos os compostos. Os experimentos para a determinação dos valores de concentração inibitória do crescimento em 50 % (IC₅₀, realizados apenas para os compostos que apresentaram ICA de *T. cruzi* superior a 50% na avaliação preliminar) foram realizados em diluição seriada em 7 concentrações de 100 – 0,41 μ M (fator de diluição de 2,5). Controles negativo (sem tratamento - Vivo), do veículo (DMSO a 0,3 %), positivo (benzonidazol a 10 μ M) e branco (LLC-MK2 sem parasitos) foram mantidos a fim de comparação em todos os experimentos. Após o tratamento, os experimentos permaneceram sob incubação por 120 h em estufa de cultura de células (36°C, 5% CO₂), sendo adicionados em seguida 30 μ L de solução 0,3 mg/mL do reagente vermelho de clorofenol β -galacto-*D*-piranosídeo (CPRG, *Sigma-Aldrich*) contendo 8 μ L/mL de detergente Igepal (*Sigma-Aldrich*). Após 1 h de incubação (36°C, 5% CO₂), foram medidas as absorbâncias dos poços em leitor de placas (Bio-Rad iMarkTM, $\lambda = 570$ nm). Os valores de absorbância foram convertidos em valores de viabilidade celular percentual relativa aos controles negativo e branco conforme a **Equação 1** com o auxílio do programa Microsoft Excel 2007:

$$VCPR (\%) = \frac{x - \bar{C}_B}{\bar{C}_N - \bar{C}_B} \times 100$$

(1)

Onde, $VCPR (\%)$ = viabilidade celular percentual relativa

x = medida de absorbância da situação tratada

\bar{C}_B = média das medidas de absorbâncias do controle branco

\bar{C}_N = média das medidas de absorbâncias do controle negativo

Os valores de IC_{50} referentes a cada experimento bem como os gráficos ilustrativos foram obtidos com o auxílio do programa GraphPad Prism 7.00, sendo a comparação dos dados realizada com base no teste T de Dunnett (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; **** $P < 0,0001$).

Ensaio *in vitro* de atividade citotóxica sobre células LLC-MK2

A uma placa de 96 poços de material acrílico transparente foram semeadas, em cada poço, $1,0 \times 10^4$ células LLC-MK2 (*ATTC*)⁶⁷ em 100 μ L de suspensão em meio DMEM sem vermelho de fenol (DMEM-SVF) suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB)⁶⁸. Após a adesão das células (36°C, 5% CO_2 , overnight), os poços foram lavados com solução tampão fosfato (PBS, $2 \times 150 \mu$ L) e foram adicionados 120 μ L de DMEM-SVF + 5% SFB. Os experimentos de avaliação preliminar de inibição do crescimento celular (ICC) foram realizados à concentração constante de 100 μ M para todos os compostos. Os experimentos para a determinação dos valores de IC_{50} (realizados apenas para os compostos que ICC superior a 50% na avaliação preliminar) foram realizados em diluição seriada em 7 concentrações de 100 – 0,41 μ M (fator de diluição de 2,5). Controles negativo (sem tratamento), do veículo (DMSO a 0,3 %), positivo (Triton 0,1%) e branco (DMEM-SVF + 5% SFB sem células) foram mantidos a fim de comparação. O experimento permaneceu sob incubação por 120 h em estufa de cultura de células (36°C, 5% CO_2), sendo adicionados em seguida 20 μ L de solução 1,25 mg/mL do sal brometo de tiazolil azul de tetrazólio (MTT, *Sigma-Aldrich*) contendo 0,11 mg/mL de metassulfato de fenazina (PMS, *Sigma-Aldrich*). Após 1 h de incubação (36°C, 5% CO_2), o meio de cultura foi removido e os cristais de formazana de MTT solubilizados em DMSO (150 μ L / poço). As medidas as absorbâncias dos poços foram obtidas em leitor de placas (Bio-Rad iMarkTM, $\lambda = 570$ nm). Os valores de absorbância foram convertidos em percentuais de viabilidade celular relativos aos controles veículo e negativo conforme a **Equação 1**.

Os valores de IC₅₀ referentes a cada experimento bem como os gráficos ilustrativos foram obtidos com o auxílio do programa GraphPad Prism 7.00, sendo a comparação dos dados realizada com base no teste T de Dunnett (ns (não significativo) = $P > 0,05$; * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,01$; *** = $P < 0,001$; **** = $P < 0,0001$)

5.2.2. Atividade anti-Zika e anti-Chikungunya – Ensaio realizado pelo grupo de pesquisa do Dr. Claudio Cirne-Santos – UFF.

Para a triagem de atividade anti-ZIKA e anti-CHIKV, as células Vero foram cultivadas em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Cultilab, São Paulo, Brasil) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS; Cultilab, São Paulo, Brasil), penicilina (100 U/ml), estreptomicina (100 µg/ml) e anfotericina B (25 µg/ml; Cultilab, São Paulo, Brasil). As culturas de células foram mantidas a 37°C em uma atmosfera umidificada de 5% de CO₂. ZIKV (ATCC® VR-1839™) foi amplificado em linha de células de mosquito C6/36 de *Aedes albopictus*, adaptado para crescer a 28°C, foi cultivado em meio L-15 (Leibovitz) suplementado com 0,5% de caldo de triptose fosfato, 0,03% glutamina, solução de aminoácidos não essenciais MEM a 1% e FBS a 5%. Os experimentos de CHIKV foram realizados com um vírus isolado de pacientes infectados, e a sequência foi depositada no GenBank sob o número de acesso: MK910738 (BRA/RJ/1 F). A manipulação foi realizada em Laboratório de Segurança, classificação de risco nível 3, conforme determinação do Ministério da Saúde, Portaria nº 2.349, 14 de setembro de 2017.

Efeito dos compostos sobre a viabilidade celular

A citotoxicidade dos compostos foi determinada em células Vero e avaliada pelo método MTT. Resumidamente, 2×10^4 células Vero foram semeadas em cada poço de uma placa de 96 poços e incubadas por 24 horas (h) a 37°C com concentrações crescentes dos compostos, variando de 50 a 1000 µM diluído em meio DMEM. Após este período, as células foram submetidas ao método MTT e avaliadas em leitor de microplacas para determinação da viabilidade celular conforme descrito no método. Células tratadas com DMSO (1,0%) em DMEM foram usadas como controle. A viabilidade celular relativa foi calculada como uma porcentagem comparando as células tratadas com as células não tratadas e as células em DMSO. Concentrações que mantiveram mais de 90% de viabilidade celular após o tratamento foram consideradas atóxicas.

Ensaio TCID₅₀ para vírus infeccioso

Para avaliar se os compostos afetam a replicação de ZIKV e CHIKV, 2×10^5 células Vero foram semeadas em cada poço de uma placa de 24 poços no dia anterior à infecção. O inóculo do vírus foi diluído para uma multiplicidade de infecção (MOI) de 0,1 em DMEM sem soro. Após 1 h de adsorção a 37 °C, o inóculo viral foi removido por aspiração, as células foram lavadas com PBS para remover o resíduo viral não adsorvido e meio fresco foi adicionado na concentração indicada dos compostos. As células infectadas também foram tratadas com meio de cultura contendo 1% de DMSO para determinar o efeito antiviral residual, e a ribavirina foi usada como controle positivo para a atividade antiviral. Após 24 h de incubação a 37 °C, o meio de cultura foi coletado e o rendimento do vírus infeccioso no sobrenadante celular foi determinado por titulação usando o ensaio TCID₅₀ em células VERO e também foi avaliado por ensaio para a produção de placas virais.

Ensaio de tempo de adição de drogas

Para entender inicialmente o mecanismo de ação dos compostos, foi realizado um ensaio de tempo de adição de drogas. Parte das monocamadas de células Vero cultivadas em placas de 24 poços foram pré-tratadas com os compostos 2 (duas) e 1 (uma) hora antes da infecção. Após células de outros poços foram infectadas com ZIKV e CHIKV em um MOI de 3 no tempo zero, incubadas por 2 horas, lavadas e posteriormente tratadas com os compostos na concentração final de 10 µM. Os tempos de tratamento dos poços pós infectados foram, 0, 1, 2, 4, 6 e 8 h. Após uma incubação de 12 h, os sobrenadantes foram coletados e adicionados a células não infectadas. A adsorção do vírus foi permitida por 2 h; em seguida, as células foram lavadas e cobertas com 2,5% de carboximetilcelulose em meio de cultura. Após 72 h de incubação a 37 °C, as células foram fixadas com formaldeído 20% por 2 h e coradas com cristal violeta por 5 minutos. As placas formadas após cada tratamento foram contadas e o título calculado.

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1. Atividade anti-chagásica

Primeiramente os ligantes (HL1-HL4) e seus respectivos complexos de Zn^{II} (C1-C4) foram avaliados *in vitro* à concentração fixa de 50 μM contra amastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ). O objetivo desse ensaio preliminar é determinar quais compostos possuem atividade inibitória do crescimento de parasitos apreciável. Dessa forma permite-se selecionar os compostos mais ativos para os ensaios de determinação do IC_{50} , de modo que somente os compostos que reduzirem a viabilidade celular de amastigotas de *T. cruzi* a valores menores ou iguais a 50% ($VCPR < 50\%$) relativos ao controle negativo (Vivo) serão considerados na etapa subsequente. Adicionalmente foi incluída a informação de atividade do veículo (DMSO) utilizado para a solubilização dos compostos testados previamente à adição nos poços. Essa estratégia é necessária uma vez que os compostos apresentam caráter essencialmente polar, o que dificultaria a sua dissolução diretamente em meio aquoso salino. O controle do veículo foi mantido a 0,6% v/v de DMSO, percentual equivalente à quantidade mais alta de DMSO utilizada para solubilizar os compostos no poço de cultura celular. Além da avaliação preliminar contra amastigotas de *T. cruzi*, foi também avaliada a atividade inibitória *in vitro* do crescimento de células LLC-MK2, utilizadas como hospedeiras para a infecção com o parasito. Os resultados da avaliação preliminar da atividade inibitória *in vitro* dos compostos contra amastigotas de *T. cruzi* (50 μM) e contra células LLC-MK2 (100 μM) são apresentados na **Tabela 5.1** na forma de percentual de viabilidade celular relativa (VCPR) à média das absorbâncias do controle negativo (**Vivo**, sem tratamento) e corrigida com o controle branco, conforme apresentado na **Equação 1**. Os valores são reportados como as médias das viabilidades percentuais relativas calculadas a partir de três experimentos independentes e os respectivos desvios-padrão (σ).

Tabela 5.1. Médias e desvios-padrão dos valores de VCPR calculados para os experimentos contra amastigotas de *T. cruzi* (50 µM) e células LLC-MK2 (100 µM).

| Percentual de Viabilidade Celular ^a | | | | |
|--|-------------------------|------------------|------------------|------------------|
| Composto | <i>T. cruzi</i> (50 µM) | | LLC-MK2 (100 µM) | |
| | Média | σ | Média | σ (%) |
| HL1 | 95,3 | 0,3 | 62,1 | 2,9 |
| HL2 | 91,9 | 2,4 | 68,1 | 8,2 |
| HL3 | 72,6 | 10,0 | 74,9 | 1,6 |
| HL4 | 28,7 | 4,7 | 77,2 | 4,9 |
| C1 | 96,1 | 7,1 | 65,3 | 4,7 |
| C2 | 66,2 | 10,0 | 56,1 | 4,5 |
| C3 | 94,7 | 4,9 | 81,6 | 5,3 |
| C4 | 18,5 | 6,1 | 79,8 | 8,1 |
| Vivo | 100,0 | 1,9 ^b | 100,0 | 3,6 ^b |
| DMSO | 100,2 | 3,8 | 99,4 | 3,0 |

^a Relativos ao controle **Vivo** (sem tratamento)

^b Percentual em relação às medidas de absorbância

Os gráficos a seguir ilustram os resultados constantes na **Tabela 5.1**. A linha em vermelho simboliza o valor de VCPR mínimo observado para a seleção dos compostos para o experimento de determinação do IC₅₀. No **Gráfico 5.1** são apresentados os resultados da avaliação anti-amastigota de *T. cruzi*, com destaque para os compostos **HL4** e **C4**, que apresentaram valores de VCPR inferiores a 50%. Já no **Gráfico 5.2** são apresentados os resultados da avaliação contra células LLC-MK2.

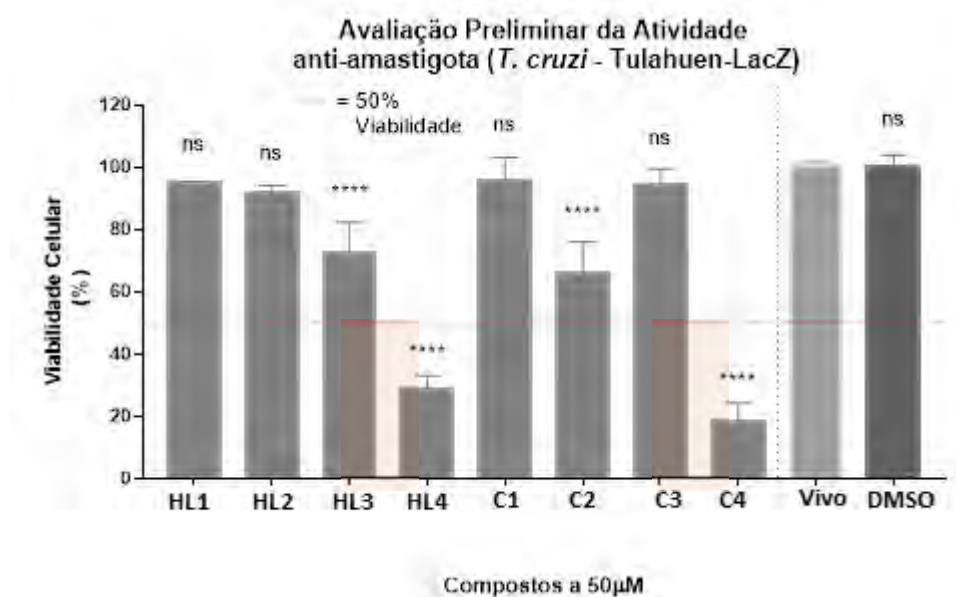


Gráfico 5.1. Resultados da avaliação preliminar dos compostos à concentração de 50 µM contra amastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LacZ).

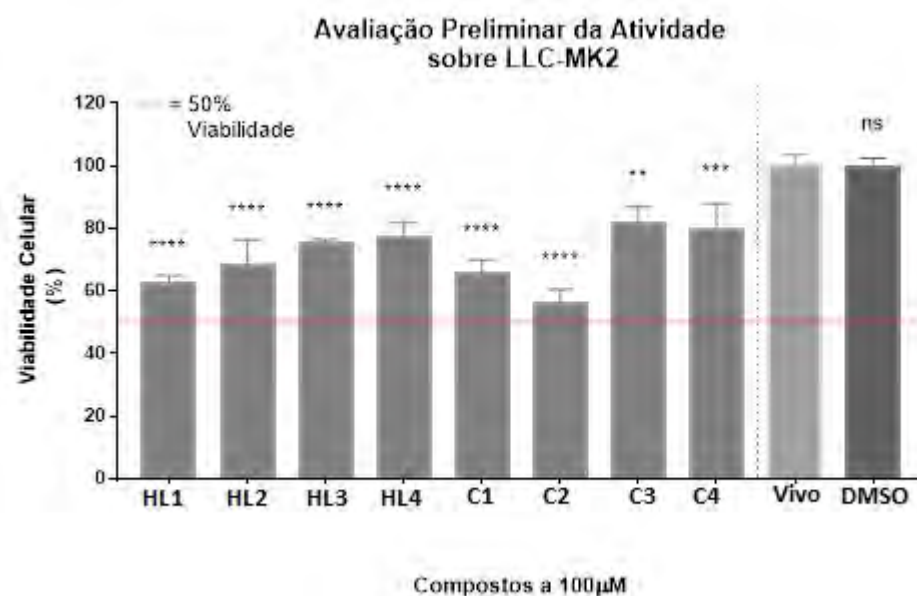


Gráfico 5.2. Resultados da avaliação preliminar dos compostos à concentração de 100 µM contra células LLC-MK2.

A partir dos resultados obtidos, observa-se que dois dos compostos testados a 50 µM ocasionaram reduções nos valores de VCPR de *T. cruzi* a valores inferiores a 50% (**HL4**, 28,7% e **C4**, 18,5%). Logo, estes compostos foram selecionados para a realização dos experimentos de determinação do IC₅₀ contra amastigotas de *T. cruzi*. Adicionalmente, os testes de inibição do crescimento celular de LLC-MK2 a 100 µM revelaram que estes compostos não reduziram a VCPR a valores inferiores a 50%, não sendo necessário o cálculo do IC₅₀ para este tipo celular

para os compostos em questão. Os valores de IC₅₀ foram calculados a partir de valores de VCPR em triplicata obtidos a partir do tratamento de culturas de células com os compostos em diferentes concentrações: 100, 40, 16, 6,4, 2,6, 1,0 e 0,4 µM. Adicionalmente, foi calculado o IC₅₀ do fármaco de referência no tratamento da doença de Chagas, benzonidazol, a fim de controle e comparação. Os valores aqui reportados são referentes à média de três experimentos independentes e os respectivos desvios-padrão (σ) em micromolar. Os resultados descritos encontram-se na **Tabela 5.2**.

Tabela 5.2. Valores de IC₅₀ (µM) e respectivos desvios-padrão calculados para os compostos testados frente a amastigotas de *T. cruzi* (cepa Tulahuen C2C4 LAcZ).

| Composto | Amastigotas de <i>T. cruzi</i> (Tulahuen LacZ) | | |
|---------------------|---|---|---------------|
| | IC ₅₀ | ± | σ (µM) |
| HL4 | 24,43 | ± | 2,08 |
| C4 | 12,52 | ± | 0,90 |
| Benzonidazol | 1,45 | ± | 0,20 |

Os gráficos a seguir ilustram o perfil de inibição dos compostos testados a diferentes concentrações. As barras apresentadas em cada concentração são representativas das médias entre os valores de VCPR observados em três experimentos independentes.

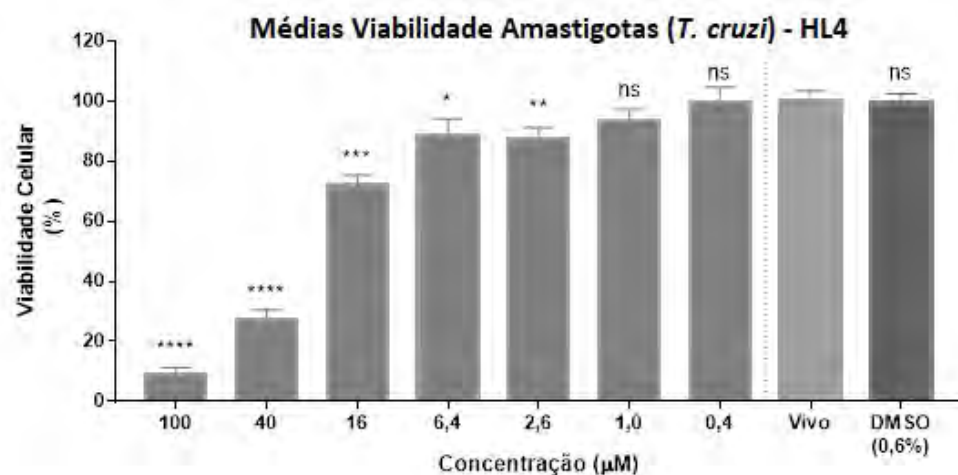


Gráfico 5.3. Valores de médios de VCPR de amastigotas de *T. cruzi* (Tulahuen C2C4 LacZ) tratados com **HL4** em diferentes concentrações.

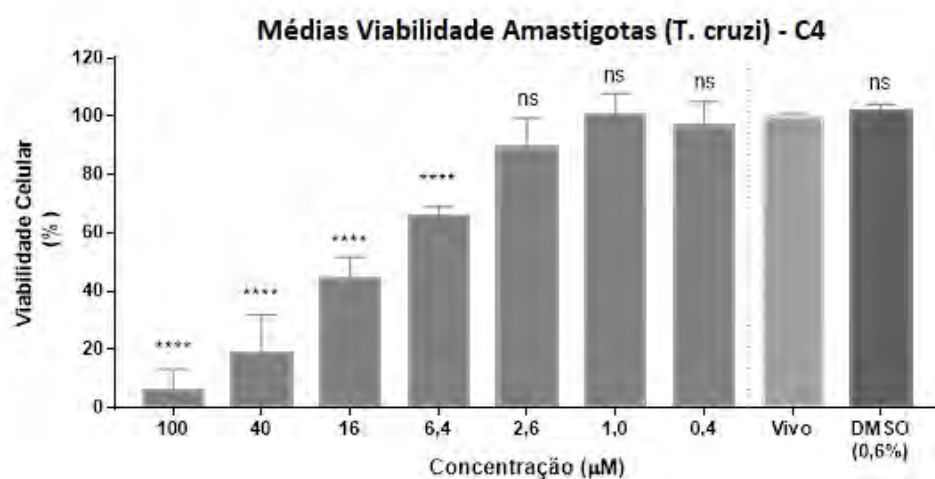


Gráfico 5.4. Valores de médios de VCPR de amastigotas de *T. cruzi* (Tulahuen C2C4 LacZ) tratados com **C4** em diferentes concentrações.

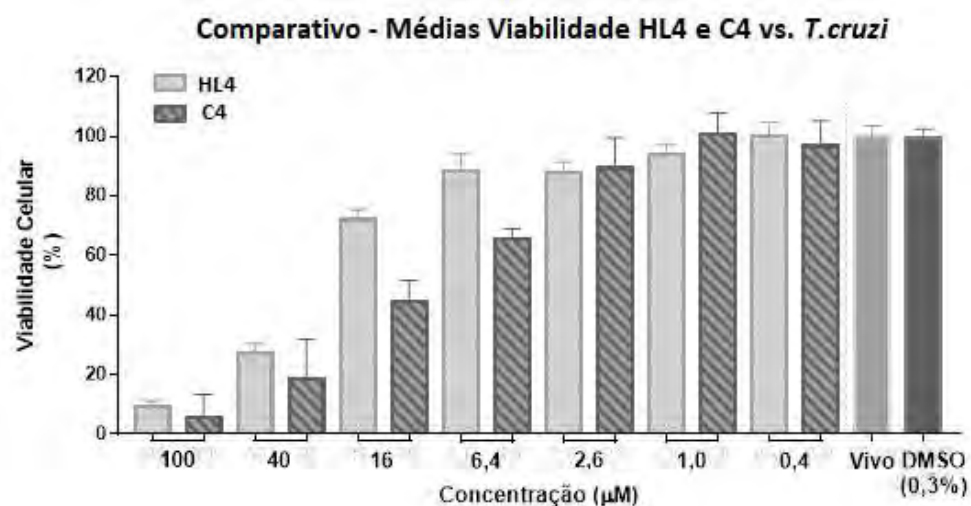


Gráfico 5.5. Comparativo dos valores de médios de VCPR de amastigotas de *T. cruzi* (Tulahuen C2C4 LacZ) tratados com **HL4** e **C4**.

A metodologia empregada permitiu a identificação de 2 novos compostos ativos contra *T. cruzi*. Os compostos apresentaram baixa toxicidade às células hospedeiras utilizadas no modelo de infecção *in vitro*, LLC-MK2, sendo observados valores de VCPR superiores a 50% a 100 µM. Este resultado denota a seletividade dos compostos sobre o *T. cruzi* em relação à célula hospedeira.

Observa-se que os compostos ativos HL4 e C4 apresentam relação estrutural entre si, uma vez C4 representa o complexo metálico de Zinco com duas unidades de **HL4**. Observa-se ainda que a razão entre o valor de IC₅₀ de **C4** é aproximadamente a metade do valor de IC₅₀ de **HL4**. Uma explicação plausível para este fato seria a de que o complexo está se desfazendo no meio, liberando duas unidades de ligante.

5.3.2. Atividade antiviral

A citotoxicidade (CC₅₀) de extratos de algas em células Vero e neurônios foi avaliada por MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] (Sigma-Aldrich), conforme descrito anteriormente por Mosmann (1983) com algumas modificações⁶⁹. Os resultados da Tabela 5.3 mostram que os valores de CC₅₀ dos extratos variaram de 210 a 910 µM demonstrando uma toxicidade relativamente baixa. Para avaliar o potencial dos extratos em inibir a replicação de ZIKV e CHIKV, células Vero foram infectadas em placas de 96 poços com 0,1 CHIKV MOI, incubadas por 1 h para adsorção viral e, posteriormente, tratadas com concentrações crescentes dos compostos. Os compostos tiveram um efeito significativo na inibição da replicação de ambos os vírus embora os valores encontrados para IC₅₀ para ZIKV fossem menores que para CHIKV, mas mesmo assim nas determinações de SI para ambos os vírus observamos bons resultados com valores superiores a 334 a 1409 para o ZIKV e 164 a 631 para o CHIKV.

Tabela 5.3. Citotoxicidade (CC₅₀), perfil anti-CHIKV (IC₅₀), anti-ZIKV (IC₅₀) e índice de seletividade (SI) dos compostos sintetizados por Moasmann.

| Compostos | CC ₅₀ ^a (µM) | ZIKV IC ₅₀ ^b (µM) | SI ^c | CHIKV IC ₅₀ ^b (µM) | SI ^c |
|-------------------------|------------------------------------|--|-----------------|---|-----------------|
| HL1 | 820±6.6 | 0.55±0.08 | 1490 | 2.5±0.9 | 328 |
| HL2 | 210±6.8 | 4.8±1.2 | 43 | 2.2±0.6 | 95 |
| HL3 | 910±7.9 | 3.2±1.4 | 284 | 0.67±0.05 | 1358 |
| HL4 | 550±5.6 | 1.2±0.2 | 458 | 0.89±0.04 | 617 |
| C1 | 448 ± 4.45 | 1.34± 0.035 | 334.8 | ND | ND |
| C2 | 637 ± 5.2 | 0.77 ± 0.018 | 828.3 | 2.22 ± 0.38 | 287.3 |
| C3 | 464 ± 3.18 | 0.78 ± 0.012 | 595.23 | 2.08 ± 0.09 | 223.2 |
| C4 | 451 ± 4.1 | 0.80± 0.017 | 564 | 1.92 ± 0.088 | 235 |
| Ribavirina ^d | 297 ± 4.95 | 3.95 ± 0.095 | 75.2 | 2.42 ± 0.49 | 122 |

Dados representados como medias ± SD de três experimentos independentes.

^a Concentração que reduziu a concentração citotóxica em células Vero em 50% quando comparada a controles não tratados.

^b Concentração que reduziu a replicação do CHIKV em 50% quando comparado aos controles infectados.

^c O índice de seletividade foi definido como a razão entre CC₅₀ e IC₅₀ e representa a segurança para ensaios in vitro.

^dRibavirina foi utilizada como controle.

Em relação ao ZIKV, os melhores valores de IC_{50} apresentados pelos ligantes foram os do **HL1** e **HL4** (0,55 e 1,2 μM) e dos complexos foram os do **C2**, **C3** e **C4** ($< 0,80 \mu M$) quando comparados à referência ribavirina. É interessante notar que, com exceção do par **HL1/C1**, em todos os outros casos, a complexação levou a um aumento de 1,5 a 6x na atividade antiviral contra o ZIKV (Tabela 5.3).

Dentre todos os compostos, o **HL1** ($R = Et_2N$) possuiu o melhor valor de IC_{50} e melhor índice de seletividade quando comparados aos demais, inclusive a referência utilizada. Nesse primeiro ensaio, HL1 seria a amostra com resultado mais promissor frente ao ZIKV.

Agora analisando frente a CHIKV, todos os compostos, ligantes e complexos, apresentaram valores de IC_{50} melhores quando comparados à Ribavirina. O melhor valor de IC_{50} é o do HL3, seguido do HL4, pois além de bom IC_{50} , possuem também os melhores índices de seletividade, com destaque maior para o HL3 ($SI = 1358$ vs 122 do controle). Até então, estes ligantes foram os compostos mais promissores frente a CHIKV, uma vez que diferente do observado para ZIKV, a complexação não causou aumento na atividade.

Todos os compostos apresentaram valores de CC_{50} em concentrações muito maiores do que as apresentadas para os valores de IC_{50} , ou seja, são citotóxicos em concentrações muito mais altas do que as necessárias para atuar em um possível tratamento contra os microorganismos, o que é desejável para suas aplicações como agente antivirais.

O HL2 foi o mais citotóxico (210 μM) dentre os compostos, apresentando também o menor índice de seletividade ($SI = 43$ para ZIKV e 95 para CHIKV). Por outro lado, HL1 e HL3 foram os menos citotóxicos e os mais seletivos para ZIKV e CHIKV, respectivamente ($SI_{HL1} = 1490$ vs ZIKV e $SI_{HL3} = 1358$ vs CHIKV), já que suas atividades também foram altas para estes vírus. Isto poderia justificar a aplicação destes ligantes como possíveis fármacos. O mesmo se pode dizer para os complexos C2-C4 frente ao ZIKV, que apresentaram excelente

atividade antiviral ($IC_{50} \sim 0,80$ mM) e relativa baixa citotoxicidade, refletindo-se em índices de seletividade acima de 550.

O ensaio de tempo de adição de fármacos foi implementado para tentar esclarecer, inicialmente, qual seria o mecanismo de ação do fármaco. Esse ensaio foi realizado tanto para o ZIKV, como para o CHIKV. Para o ZIKV, os resultados do ensaio se encontram na Figura 5.15.

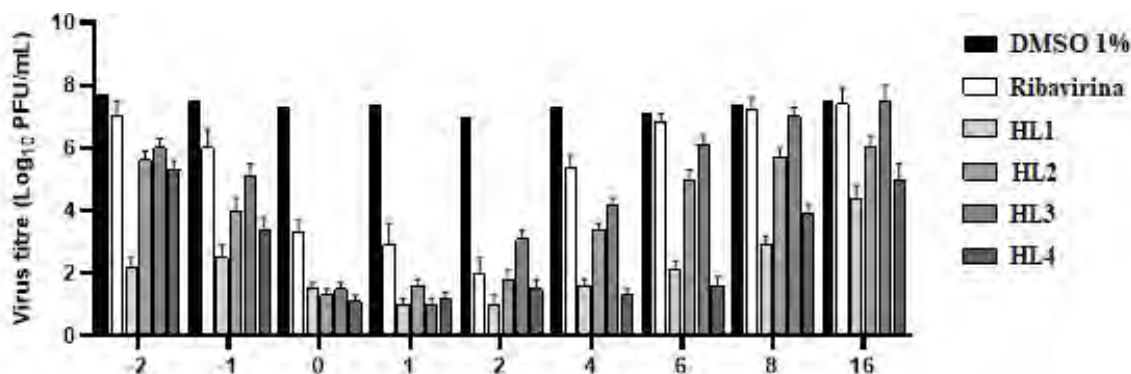


Figura 5.15.: Resultados do ensaio do tempo de adição de fármacos dos ligantes (HL1-HL4) frente ao ZIKV.

Percebe-se para ZIKV, que o HL1 demonstra ser bem interessante, pois em uma condição de pré-tratamento das células (tratamento antes da célula ser infectada), ele já é capaz de inibir quase 80% da replicação viral. O HL1 se mantém inibindo consideravelmente até a 8ª hora pós infecção. O HL4 por sua vez, não foi capaz de inibir a replicação viral no pré-tratamento, porém inibiu fortemente no tempo 0 e manteve seu potencial inibitório até a 6ª hora, diminuindo o potencial inibitório progressivamente.

Alguns outros pontos foram importantes neste ensaio, tais como: i) O DMSO não apresentou potencial de inibição em nenhum dos tempos testados; ii) Todos os compostos se mostraram mais ativos do que a Ribavirina. Os compostos ficaram abaixo de 2 PFU/mL e a ribavirina em 3 PFU/mL; iii) Os ligantes HL1 e HL4 apresentaram os melhores resultados e se mantiveram ativos por mais tempo após infecção (T8).

Os complexos (C1-C4) também foram avaliados no ensaio de adição de fármacos, figura 5.16.

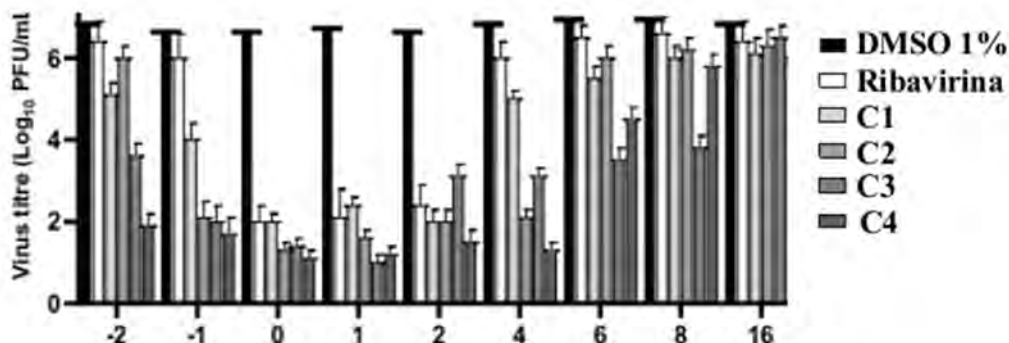


Figura 5.16.: Resultados do ensaio do tempo de adição de fármacos dos complexos (C1-C4) frente ao ZIKV.

Os complexos C2, C3 e C4 demonstram ser bem interessantes, pois já na condição de pré-tratamento das células (tratamento antes da célula ser infectada), eles são capazes de inibir quase 80% da replicação viral. Os complexos C2, C3 e C4 se mantêm inibindo consideravelmente até a 4ª hora pós-infecção. O C1 por sua vez, não foi capaz de inibir a replicação viral no pré-tratamento, porém inibiu fortemente no tempo 0 e manteve seu potencial inibitório até a 2ª hora, diminuindo o potencial inibitório progressivamente. De forma análoga, podemos analisar o CHIKV frente aos protótipos de fármacos sintetizados neste trabalho, figura 5.17.

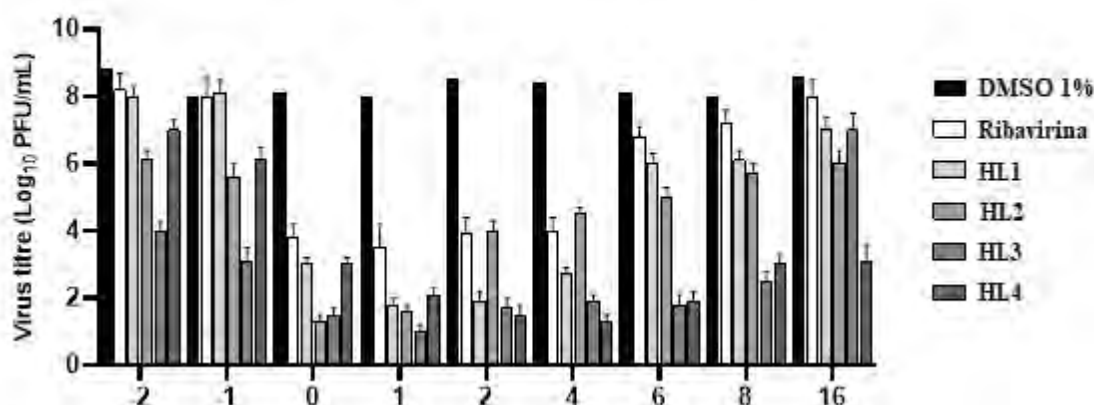


Figura 5.17.: Resultados do ensaio do tempo de adição de fármacos dos ligantes (HL1-HL4) frente ao CHIKV.

Conforme pode ser visto, para o CHIKV, o ligante HL1 não possuiu uma atividade relevante, fez a inibição apenas durante a primeira e segunda hora pós-infecção, perdendo seu potencial após a 4ª hora pós-infecção. Já o ligante HL3 inibiu a replicação viral fortemente nas primeiras horas perdendo seu potencial inibitório após a 8ª hora pós-infecção, perdendo sucessivamente seu potencial de inibição após este tempo. O ligante HL4 apresentou boa inibição após a 1 hora e manteve seu potencial de inibição até a 16ª hora pós-infecção.

A fim de comparar com os respectivos ligantes, analisou-se os complexos frente a CHIKV também, Figura 5.18

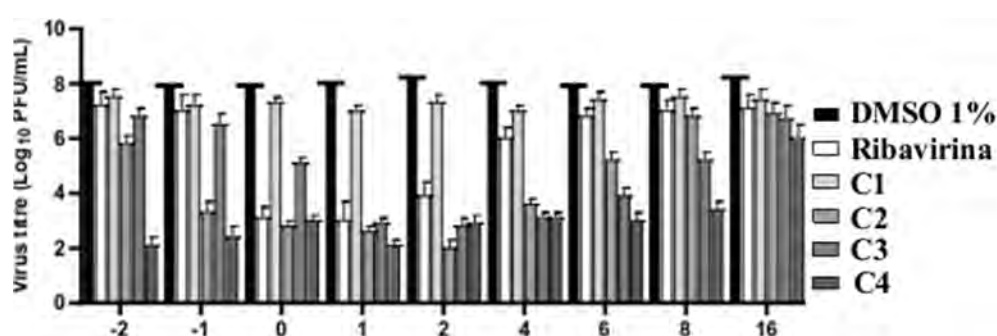


Figura 5.18.: Resultados do ensaio do tempo de adição de fármacos dos complexos (C1-C4) frente ao CHIKV.

Para CHIKV, os compostos C1 e C3 não possuíram uma atividade relevante durante o pré-tratamento, ficando sempre acima do valor registrado pela Ribavirina. O complexo C4 teve um ótimo resultado, já inibindo nas condições de pré tratamento e se mantendo até a 8ª hora de infecção, sempre possuindo melhor atividade frente à referência. O C2 também inibiu consideravelmente nas condições de pré-tratamento, atingindo maior inibição na 2ª hora pós tratamento e perdendo sua inibição nas horas seguintes. C1 não teve atividade durante todo o processo e o C3 não teve inibição durante a fase de pré-tratamento, mas inibiu de T0 até T6.

5.4. CONCLUSÕES

A série cumarina-imidazopiridina (**HL1-HL4**) e seus respectivos complexos metálicos de Zn^{II} (**C1-C4**) teve sua atividade anti-t.cruzi, anti-zikv e anti-chikv avaliada. A avaliação anti-cruzi revelou que somente um par ligante e complexo (**HL4 e C4**) teve atividade significativa, enquanto os outros derivados não possuíram atividade apreciável. Após a coordenação, a atividade dobrou, o que pode estar relacionado a dissociação do complexo no meio biológico, liberando assim, duas moléculas do ligante.

Em relação as atividades anti-zikv e anti-chikv, a complexação melhorou significativamente a atividade frente aos ligantes livres frente ao ZIKV, mas não frente ao CHIKV, indicando assim que a coordenação pode estar sim associada a melhora de atividade. Porém, vale ressaltar que tanto os ligantes híbridos (**HL1-4**) quanto os complexos (**C1-4**) apresentaram atividades promissoras frente ao ZIKV e CHIKV, possuindo também altos índices de seletividade, o que faz com que essa classe de compostos possa ser melhor explorada futuramente.

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Drugs for Neglected Disease Initiative. Dados sobre doenças negligenciadas. 2021. Disponível em: <https://dndial.org/doencas/doenca-de-chagas/>. Acesso em: 07 out. 2021.
- 2 – LI, K.; JI, Q.; JIANG, S. AND ZHANG, N. Advancement in the Development of Therapeutics Against Zika Virus Infection. **Front. Cell. Infect. Microbiol.** v. 12, p. 946-957, 2022.
- 3 - MOREL, C.M. INCT de Inovação em Doenças Negligenciadas. 2008. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/14113>. Acesso em: 05 nov, 2021.
- 4 – CHIRAC, P & TORRELE, E. Global framework on essential health R&D. *Lancet*. v. 367, p. 1560-1561, 2006.
- 5 - ALEXANDRE, J. P. DE O.; TESTON, A. P. M.; JÚNIOR, G. Z. Tratamento da doença de chagas: um antigo problema de saúde pública. **Revista UningáReview**. v. 20, n. 2, p. 91-96, 2014.
- 6 – PATHAK, DR & BHARDWAJ, *et al.* A comprehensive review on potential candidates for the treatment of chagas disease. **Chemical biology & drug design.**, 2023
- 7 - COELHO, G. S. Síntese, Modelagem Molecular e Avaliação da Atividade Tripanossomicida In Vitro de Cumarinas Tricíclicas Bioativas. 142f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais, 2018.
- 8 - CDC – Centers of Disease Control and Prevention. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/epi.html>. Acesso em 20 out. 2021.
- 9 – FAUNDEZ. M., PINO, L., *et al.* Buthionine sulfoximine increases the toxicity of nifurtimox and benznidazole to *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob Agents Chemother*; v. 49, n. 1, p. 126-30. 2005.

- 10 – GRIEBLER, A. Atividade anti-bacteriana e anti-trypanosoma Cruzi de extratos de sementes de *lonchocarpuscultratus*. 86f. Dissertação de mestrado.Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavél, PR, 2017.
- 11 – ROSENTHAL, L. D.; *et al.* Conhecimentos sobre a doença de Chagas e seus vetores em habitantes de área endêmica do Rio Grande do Sul, Brasil. **Cad Saúde Colet**, v. 28, p. 345-352, 2020.
- 12- BIOSCIENCE. Disponível em: <http://www.bioscience.org/2003/v8/e/948/fulltext.php?bframe=figures.htm>. Acesso em 12 set. 2019.
- 13 – LANA, M. de; TAFURI, W. L; NEVES, D. P; MELO, A. L. de; GENARO, O; LINARD, P. M. *Trypanosoma cruzi* Doença de Chagas.**Parasitologia Humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, cap. 11, p. 85-108, 2005.
- 14 – LINÃRES, G. E.; RAVASCHINO, E. L.; RODRIGUEZ, J. B. Progresses in the field of drug design to combat tropical protozoan parasitic diseases. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 3, p. 335360, 2006.
- 15 - LOZANO, V. F. Avaliação da atividade antiparasitária e efeito sinérgico de compostos cumarínicos comparados ao benznidazol em duas cepas de trypanosomacruzi. 117f. Dissertação de mestrado. Universidade Bandeirante de São Paulo, São Paulo, 2011.
- 16 - MCMURRY, J. Química Orgânica. vol. 1 e 2. 7 ed.Cengage Learning, 2012. Ministério da saúde. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas/situacao-epidemiologica>>. Acesso em: 15 set. 2021.
- 17 - MONCADA-BASUALTO, M.; LAPIERC, M.; MAYAC, J. D.; MATSUHIROB, B.; OLEAAZARA, C.; DELOGUD G. L.; URIARTE, E.; SANTANA. L; MATOSE, M. J. Evaluation of Trypanocidal and Antioxidant Activities of a Selected Series of 3-amidocoumarins. **Med Chem**, v. 14, p. 1-12, 2018.
- 18 – DIAS, J. C. P; COURA, J. R. 1997. Epidemiologia. In JCP Dias, JR Coura (eds), *Clínica e terapêutica da doença de Chagas*, Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, p. 33-66.

- 19 - REY, L. Parasitologia. 3^a. Rio de Janeiro: Guanabara koogan. 2001.
- 20 - OLIVEIRA, M. F, DIAS, A. T. N., PONTES, V. M. O., SOUZA, A. S. J. R., COELHO, H. L. L, COELHO, I. C. B. Tratamento etiológico da doença de Chagas no Brasil. **Rev Patol Trop**, v. 37, p. 209-228, 2008.
- 21 - PEREIRA, V. L, MARCOS DE, A. A, BOAINAIN E. Xenodiagnostico, Hemocultura e teste de lise mediada pelo complemento, como critérios de seleção de pacientes chagásicos crônicos para quimioterapia. **Rev Inst Med Trop**, v. 31, p. 301-307, 1989.
- 22 – REA, A.; TEMPONE, A. G.; PINTO, E.G.; MESQUITA, J. T.; RODRIGUES, E.; SILVA, L. G. M.; SARTORELLI, P.; LAGO, J. H. Soultamarin Isolated from Calophyllum brasiliense (Clusiaceae) Induces Plasma Membrane Permeabilization of Trypanosoma cruzi and Mitochondrial Dysfunction. **PLOS Neg Trop Diseases**, v.7, n. 12, p.2556, 2013.
- 23 – ROSA, I. A. Planejamento e síntese de derivados cumarínicos com potencial leishmanicida e antitumoral. 128f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, 2014.
- 24 – RITU, G. & REEMA, G. Antiviral therapeutics for chikungunya virus. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, 2020.
- 25 – MAYER, S. V.; TESH, R. B.; VASILAKIS, N. The emergence of arthropod-borne viral diseases: A global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. **Acta Trop**, v. 166, p. 155-163, 2017.
- 26 – HEINZ, F. X.; STIASNY, K. The Antigenic Structure of Zika Virus and Its Relation to Other Flaviviruses: Implications for Infection and Immunoprophylaxis. **Microbiol Mol Biol Rev**, v. 8, p. 55-66, 2017.
- 27 – THAM, HONG-WAI.; BALASUBRAMANIAM, VINOD.; OOI MAN, K., CHEW, MIAW-FANG. Viral Determinants and Vector Competence of Zika Virus Transmission. **Front. in Microbiol**, v. 9, 2018.

- 28 – BATTISTI, V.; URBAN, E.; LANGER, T. Antivirals against the Chikungunya Virus. *Viruses*, v. 13, p. 1307, 2021.
- 29 – LANCIOTTI, R. S.; KOSOY, O. L.; LAVEN, J. J.; VELEZ, J. O.; LAMBERT, A. J.; JOHNSON, A. J.; STANFIELD, S. M.; DUFFY, M. R. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic. **Emerg Infect Dis**, v. 14, p. 1232-1239, 2008.
- 30 - MACNAMARA FN. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 48, p. 139-145, 1954.
- 31 - RODRIGUEZ-MORALES, A. J. Zika: the new arbovirus threat for latin america. **J. infect dev ctries**, v. 9, p. 684-685, 2015.
- 32 – HENNESSEY, M.; FISCHER, M.; STAPLES, J. E. Zika Virus Spreads to New Areas - Region of the Americas, May 2015-January 2016. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 29, p. 65, 2016.
- 33 - DE ARAÚJO, T. V. B.; RODRIGUES, L. C, et al. investigators from the Microcephaly Epidemic Research Group; Brazilian Ministry of Health; Pan American Health Organization; Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira; State Health Department of Pernambuco. Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary report of a case-control study. **Lancet Infect Dis**, v. 16, p. 1356-1363, 2016.
- 34 - Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3a. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2019.
- 35 – HUANG, Y-J. S. et al. Culex Species Mosquitoes and Zika Virus. **Vector-borne and zoonotic diseases**, v. 16, p. 673-676, 2016.
- 36 - VALLE, D.; PIMENTA, D. N.; AGUIAR, R. Zika, dengue e chikungunya: desafios e questões. **Epidemiol. Serv. Saúde.**, v. 25, n. 2, p. 419-422, 2016.

- 37 – BOORMAN, J. P.; PORTERFIELD, J. S. A simple technique for infection of mosquitoes with viruses; transmission of Zika virus. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 50, p. 238-42, 1956.
- 38 - CHOUIN-CARNEIRO, T.; VEGA-RUA, A.; VAZEILLE, M.; YEBAKIMA, A.; GIROD, R.; GOINDIN, D, et al. Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 10, 2016.
- 39 – RICHARD, V.; PAOAAFAITE, T.; CAO-LORMEAU, V-M. Vector Competence of French Polynesian *Aedes aegypti* and *Aedes polynesiensis* for Zika Virus. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 10, p. 1-8, 2016.
- 40 – GUEDES, D. R.; PAIVA, M. H. et al. Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. **Emerg Microbes Infect**, v. 9, p. 6-8, 2017.
- 41 – EPELBOIN, Y.; TALAGA, S.; EPELBOIN, L.; DUSFOUR, I. Zika virus: An updated review of competent or naturally infected mosquitoes. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 11, p. 113-120, 2017.
- 42 - DOTTERS-KATZ, S.; GRACE, M. R.; STRAUSS, R. A.; CHESCHEIR, N.; KULLER, J. A. Chikungunya Fever: Obstetric Considerations on an Emerging Virus. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 70, p. 453-457, 2015.
- 43 – OLAJIGA, O. M.; ADESOYE, O. E.; et al. Chikungunya Virus Seroprevalence and Associated Factors among Hospital Attendees in Two States of Southwest Nigeria: A Preliminary Assessment. **Immunol Invest**, v. 46, p. 552-565, 2017.
- 44 – CLETON, N.; KOOPMANS, M.; REIMERINK, J.; GODEKE, G. J.; REUSKEN, C. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. **J Clin Virol**, v. 55, p. 191-203, 2012.
- 45 – THIBERVILLE, S. D.; MOYEN, N.; DUPUIS-MAGUIRAGA, L.; NOUGAIREDE, A.; GOULD E. A.; ROQUES, P.; DE LAMBALLERIE, X. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. **Antiviral Res**, V. 99, P.345-370, 2013.

- 46 – TSETSARKIN, K. A.; CHEN, R.; WEAVER, S. C. Interspecies transmission and chikungunya virus emergence. **Curr Opin Virol**, v. 16, p. 143-150, 2016.
- 47 - Althouse, B. M., Guerbois, M., Cummings, D. A. T. *et al.* Role of monkeys in the sylvatic cycle of chikungunya virus in Senegal. **Nat Commun**, v. 9, p. 1046-1055, 2018.
- 48 – POWERS, A. M.; BRAULT, A. C.; TESH, R. B.; WEAVER, S. C. Re-emergence of Chikungunya and O'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. **J Gen Virol**, v. 81, p. 471-479, 2000.
- 49 – WAHID, B.; ALI, A.; RAFIQUE, S.; IDREES, M. Global expansion of chikungunya virus: mapping the 64-year history. **Int J Infect Dis**, v. 58, p. 69-76, 2017.
- 50 – TANABE, I. S. B., TANABE, E. L. L., SANTOS, E. C., MARTINS, W. V., ARAÚJO, I. M. T. C., et al. Cellular and Molecular Immune Response to Chikungunya Virus Infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, p. 12-19, 2018.
- 51 – BOCANEGRA, C.; SULLEIRO, E.; et al. Zika virus infection in pregnant women in Barcelona, Spain. **Clin Microbiol Infect**, v. 22, p. 648-650, 2016.
- 52 – THIBOUTOT, M. M.; KANNAN, S.; et al. Chikungunya: A Potentially Emerging Epidemic. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 4, p. 623, 2010.
- 53 - WEI, H.; RUAN, J.; ZHANG, X. Coumarin–chalcone hybrids: promising agents with diverse pharmacological properties. **RSC Adv.**, vol. 6, p. 10846-10860, 2016.
- 54 - REYES-CHILPA, R.; E. ESTRADA-MUÑIZ, E. *et al.* Trypanocidal constituents in plants . Mamea-type coumarins, vol. 103, p. 431-436, 2008.
- 55 – TAPPE, D.; PÉREZ-GIRÓN, J. V.; ZAMMARCHI, L. *et al.* Cytokine kinetics of Zika virus-infected patients from acute to convalescent phase. **Med Microbiol Immunol**, v. 205, p. 269-273, 2016.

- 56 – SILVA, D. G.; GILLESPIE, J. R.; *et al.* New Class of Antitrypanosomal Agents Based on Imidazopyridines. **ACS Med Chem Lett**, v. 27, p. 766-770, 2017.
- 57 - NAGENDAR, PENDEM, N. GILLESPIE, J. *et al.* Triazolopyrimidines and Imidazopyridines: Structure–Activity Relationships and in Vivo Efficacy for Trypanosomiasis. **ACS Publications**, v. 5, 2018.
- 58 - PENTA, S. Advances in Structure and Activity Relationship of Coumarin Derivatives; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2015.
- 59 – TORRES, F. C.; BRUCKER, N.; ANDRADE, S. F.; KAWANO, D. F.; GARCIA, S. C.; POSER, G. L.; EIFLER-LIMA, V. L. New insights into the chemistry and antioxidant activity of coumarins. **Curr Top Med Chem**, v. 14, p. 2600-2623, 2014.
- 60 – KOSTOVA, I.; RALEVA, S.; GENOVA, P.; ARGIROVA, R. Structure-Activity Relationships of Synthetic Coumarins as HIV-1 Inhibitors. **Bioinorg Chem Appl**, v. 2006, p. 68274, 2006.
- 61 – KOSTOVA, I. Coumarins as inhibitors of HIV reverse transcriptase. **Curr HIV Res**, v. 4, p. 347-363, 2006.
- 62 – YU, D.; SUZUKI, M.; XIE, L.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; LEE, K. H. Recent progress in the development of coumarin derivatives as potent anti-HIV agents, **Med. Res. Rev**, v. 23, p. 322-345, 2003.
- 63 – HWU, J. R.; KAPOOR, M. *et al.* Benzouracil-coumarin-arene conjugates as inhibiting agents for chikungunya virus, **Antiv. Res**, v. 118, p. 103-109, 2015.
- 64 – POHJALA, L.; UTT, A.; VARJAK, M.; LULLA, A.; MERITS, A.; AHOLA, T.; TAMMELA, P. Inhibitors of alphavirus entry and replication identified with a stable Chikungunya replicon cell line and virus-based assays, **PLoS One**, v. 6, p. 28923, 2011.

- 65 – PAPADOPOULOU, M. V *et al.* 3-Nitrotriazole-based piperazides as potent antitrypanosomal agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 103, p. 325-334, 2015.
- 66 – PAPADOPOULOU, M. V *et al.* Antitrypanosomal activity of 5-nitro-2-aminothiazole-based compounds, ***European Journal of Medicinal Chemistry***, v. 117, p. 179-186, 2016.
- 67 – SANTOS, K. *et al.* Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L. ***Experimental Parasitology***, v. 131, p. 130-132, 2012.
- 68 – ORHAN, I.; SENER, B.; KAISER, M.; BRUN, R.; TASDEMIR, D. Inhibitory activity of marine sponge-derived natural products against parasitic protozoa. ***Mar Drugs***, v. 15, p. 47-58, 2010.
- 69 – MOSSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. ***J Immunol Meth***, v. 65, p. 55-63, 1983.

CONCLUSÕES FINAIS

Dezenove compostos inéditos foram sintetizados e caracterizados neste trabalho sendo seis ligantes híbridos do tipo cumarina-imizadopiridina (**HL1-6**), seis complexos do tipo Zn^{II} contendo **HL1-6** como ligantes (C1-C6), três complexos de Ag^I contendo HL1-HL3 como ligantes (**C1a-C3a**), além de quatro complexos contendo derivados de quinolona (C7-C10) e possuindo fenantrolina como amina auxiliar. Todas as metodologias sintéticas se mostraram reprodutíveis e as caracterizações espectroscópicas, analíticas e de difração de raios X, para os complexos C2 e C3 foram convergentes, mostrando que as estruturas obtidas estavam de acordo com o que foi planejado.

Após sintetizados e caracterizados, todos os compostos e seus precursores foram testados quanto à capacidade anti-t.cruzi, anti-ZIKV e anti-CHIKV. Os excelentes resultados obtidos para a classe de compostos do tipo Zn^I -cumarina-imidazopiridina, tais como para os ligantes livres, encoraja a continuidade do trabalho, devido a altos índices de seletividade e baixo IC_{50} , além dos ensaios promissores do tempo de adição de fármacos e, por isso, como perspectivas futuras tem-se a elucidação do mecanismo de ação, testes in vivo e testes com outra classe sintetizada neste trabalho (HL7-HL10 e seus respectivos complexos C7-C10).

ANEXOS

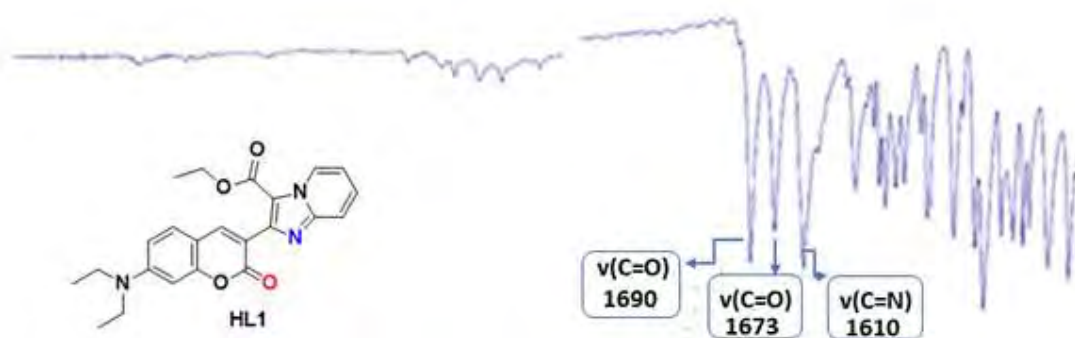


Figura 2: Espectro de infravermelho do HL1 na região MID.

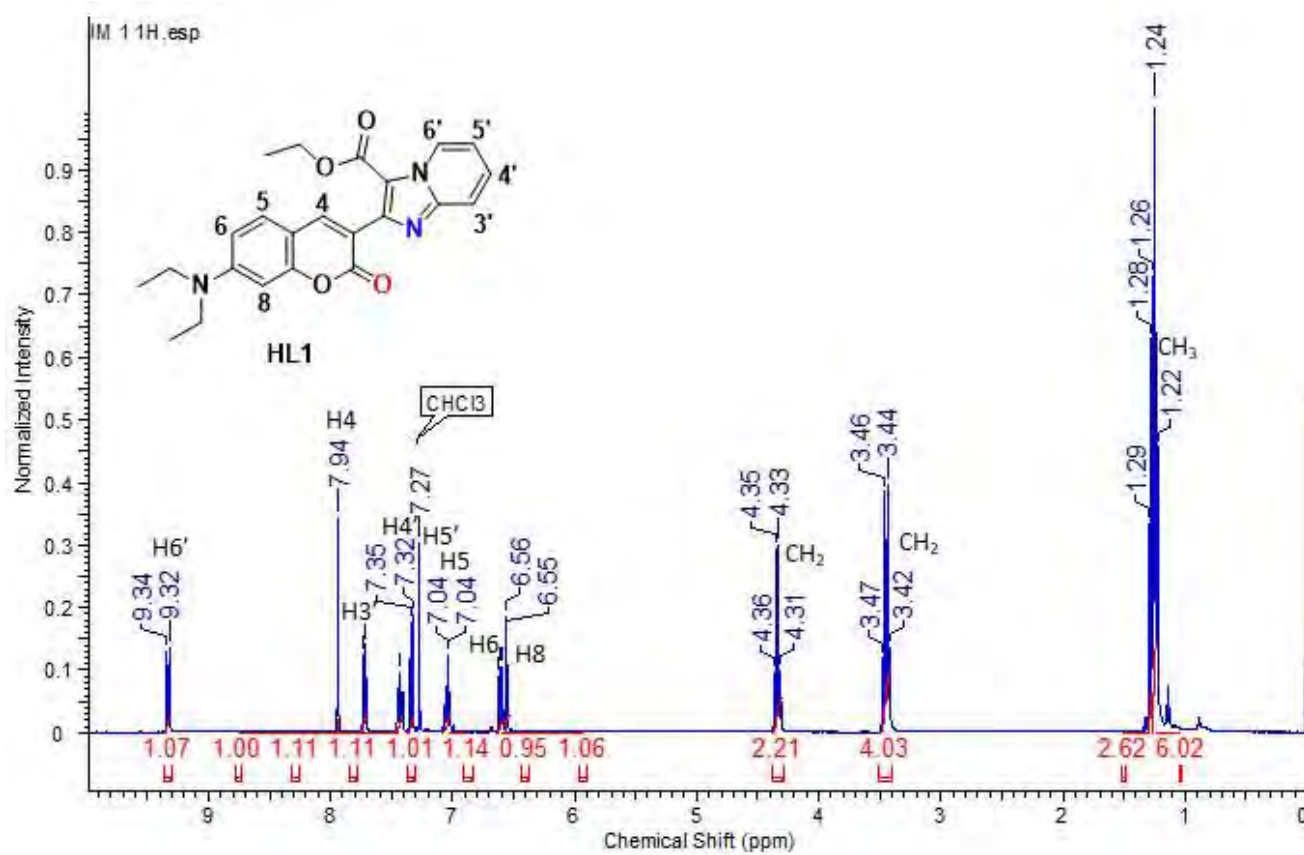


Figura 3: Espectro de RMN de ^1H de HL1 em CDCl_3 .

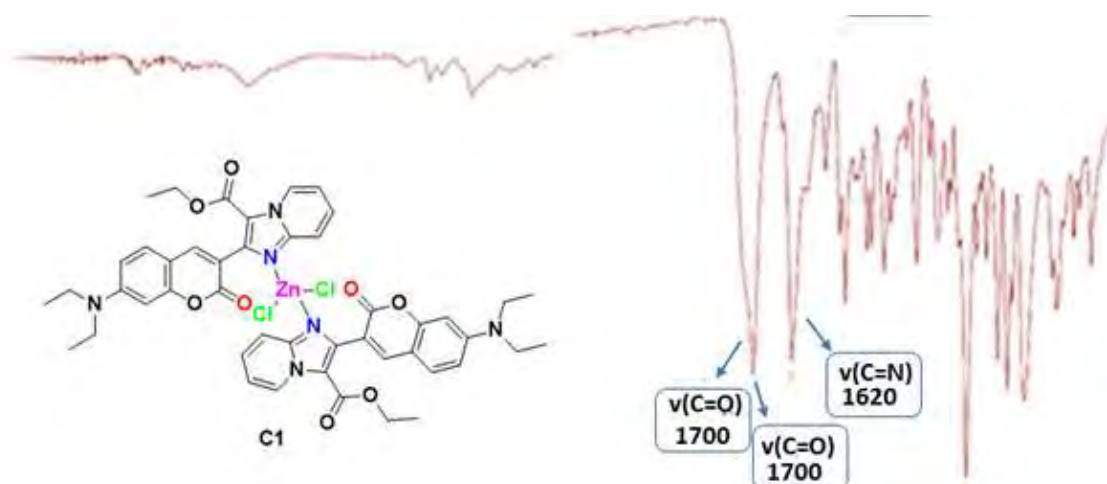


Figura 4: Espectro de infravermelho do C1 na região MID.

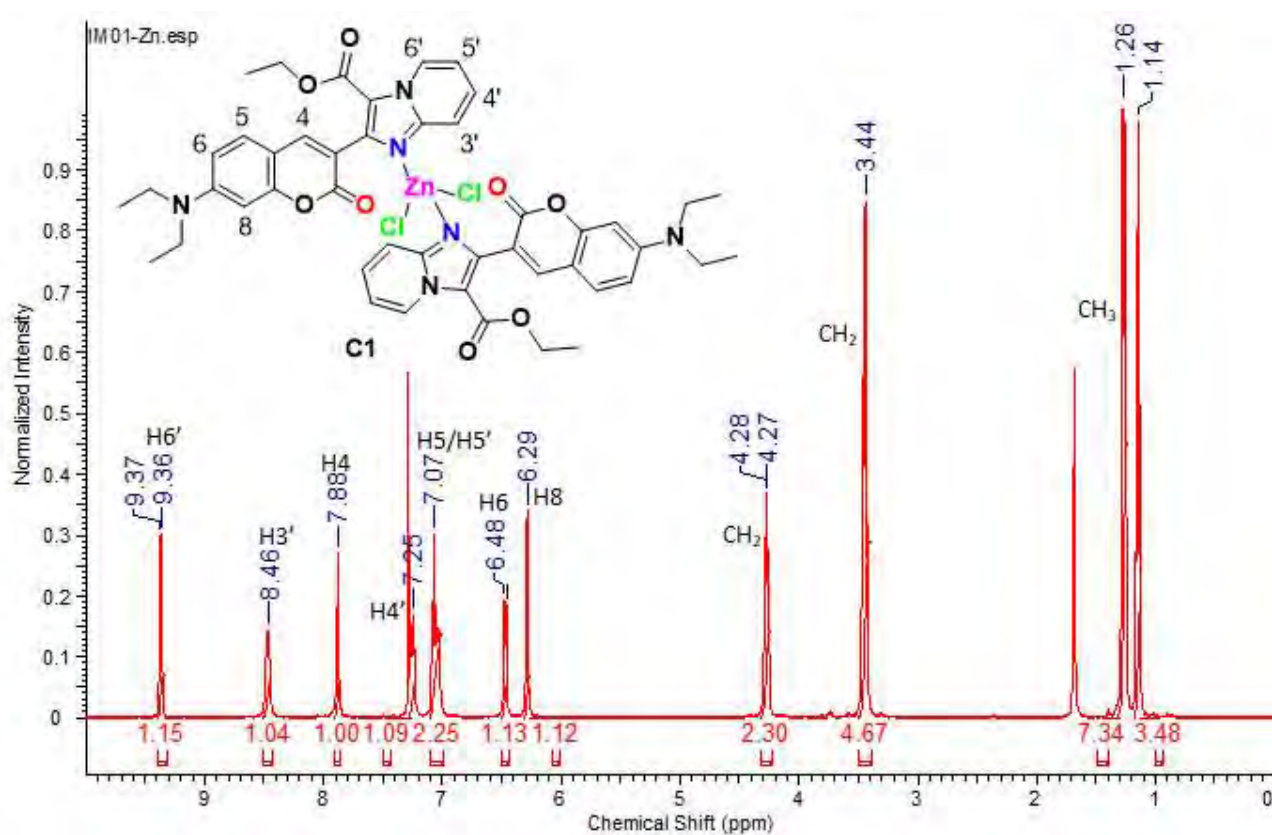


Figura 5: Espectro de RMN de ^1H de C1 em CDCl_3 .

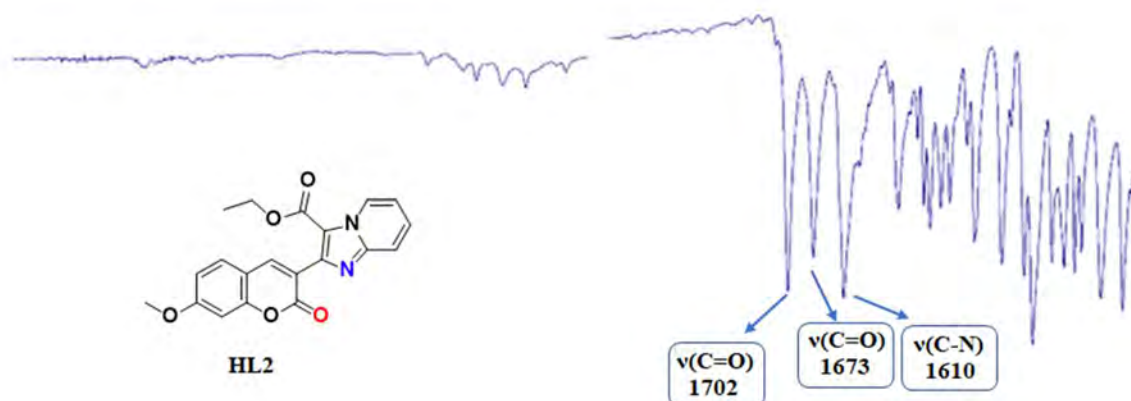


Figura 6: Espectro de infravermelho do HL2 na região MID.

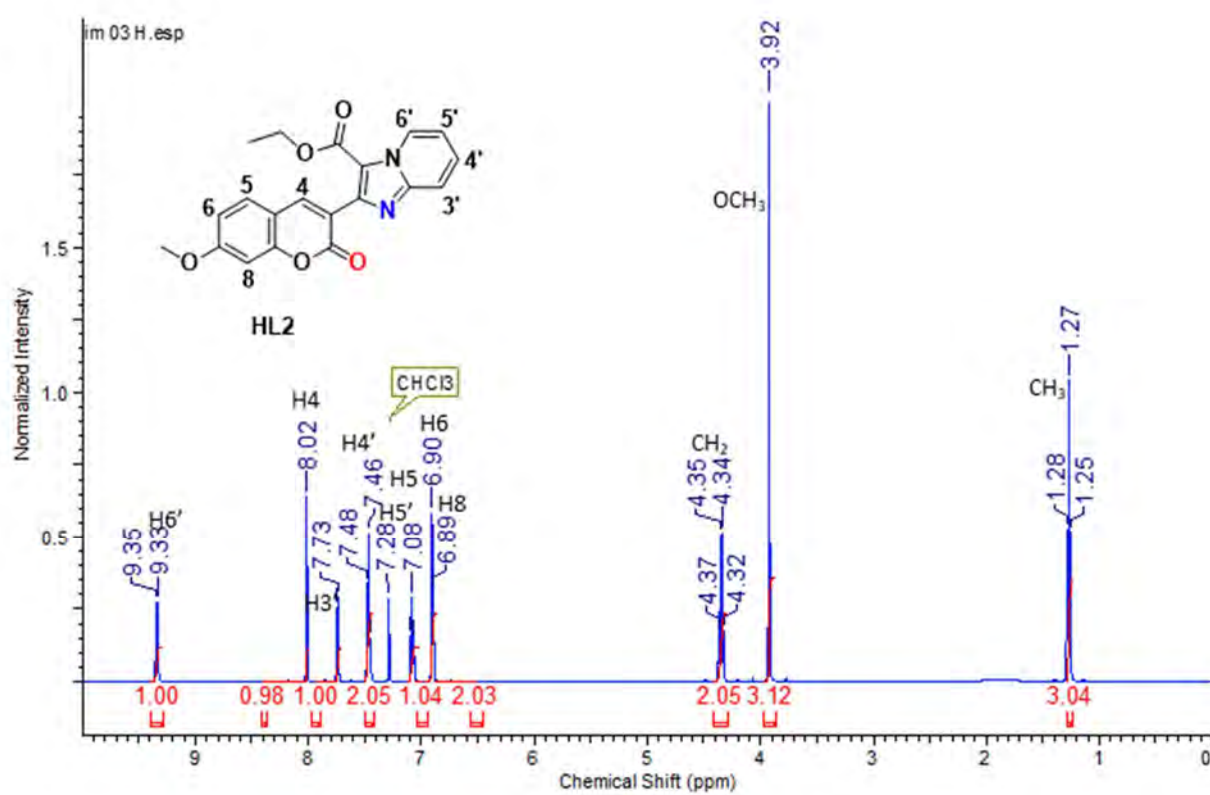


Figura 7: Espectro de RMN de ^1H de HL2 em CDCl₃.

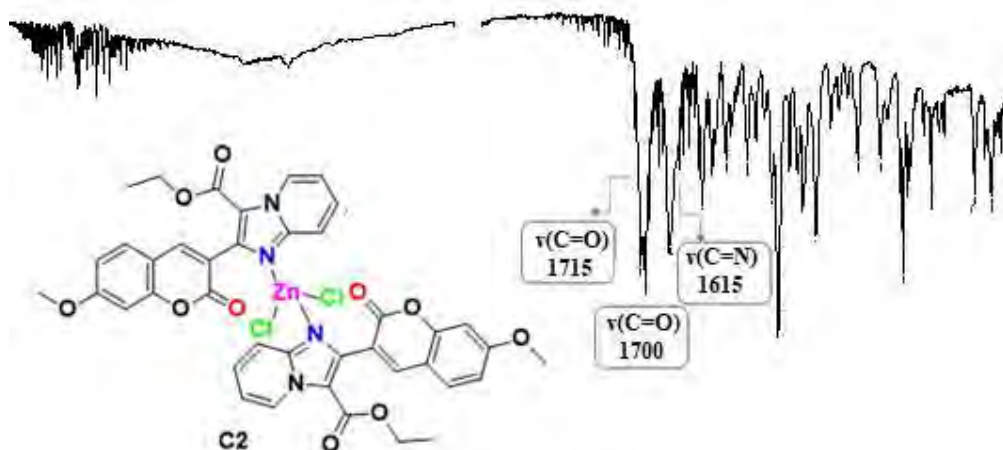


Figura 8: Espectro de infravermelho do C2 na região MID.

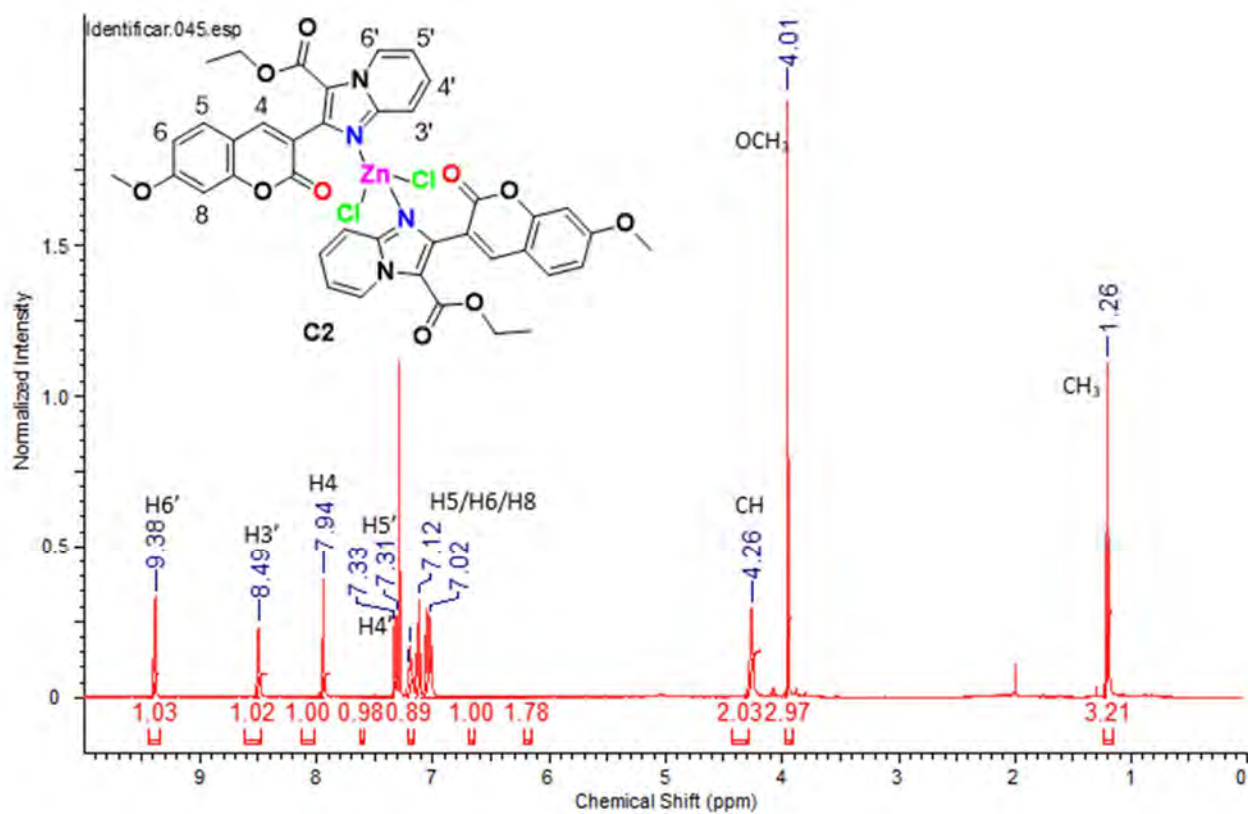


Figura 9: Espectro de RMN de ^1H de C2 em CDCl_3 .

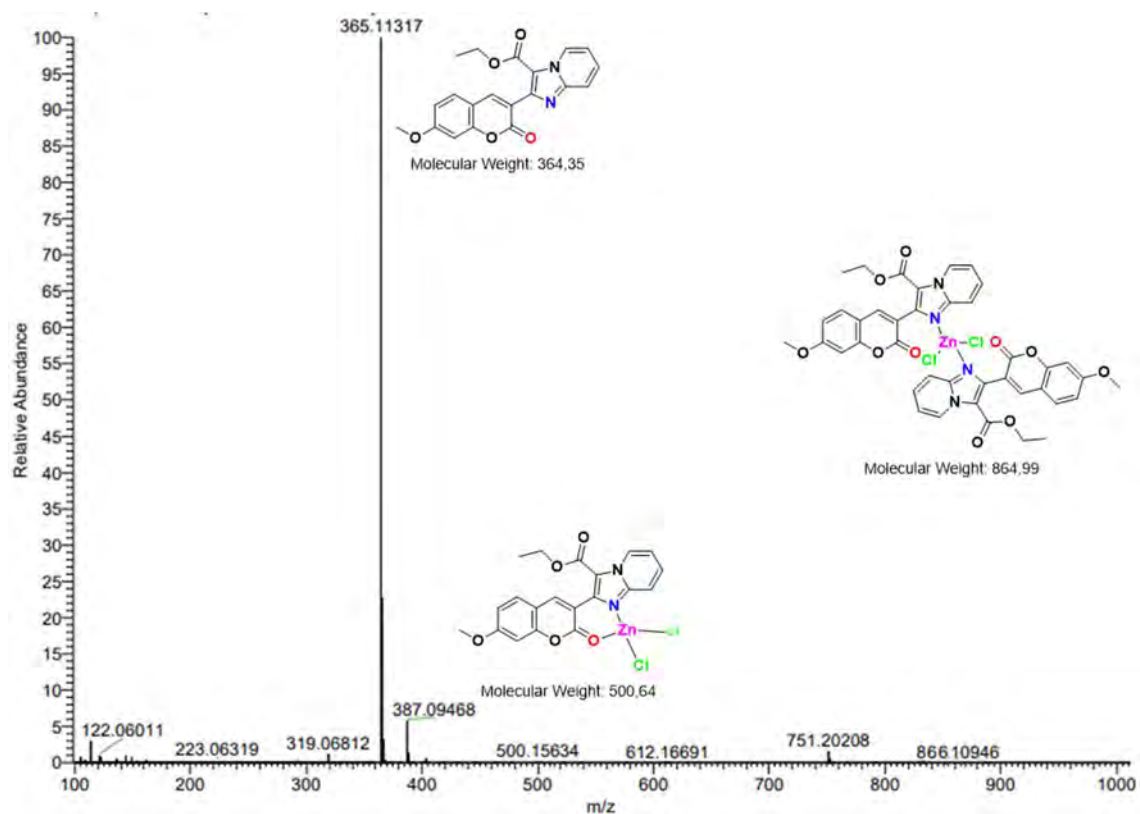


Figura 16: Espectro de massas de alta resolução do complexo C2.

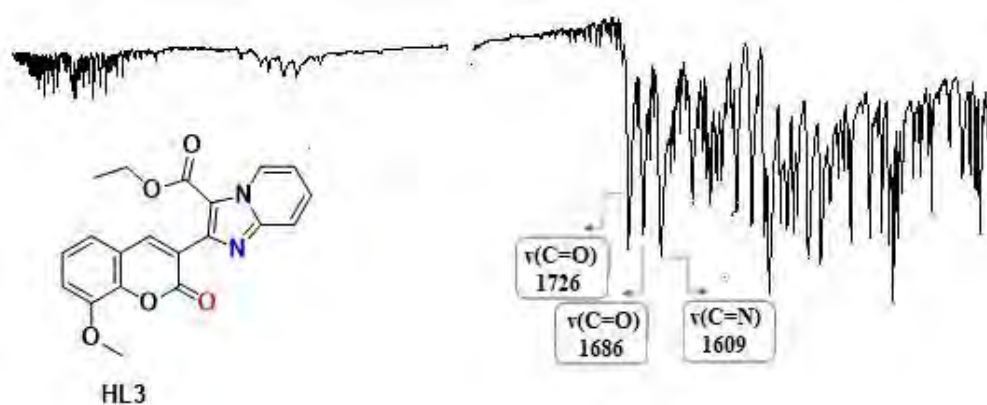


Figura 17: Espectro de infravermelho do HL3 na região MID.

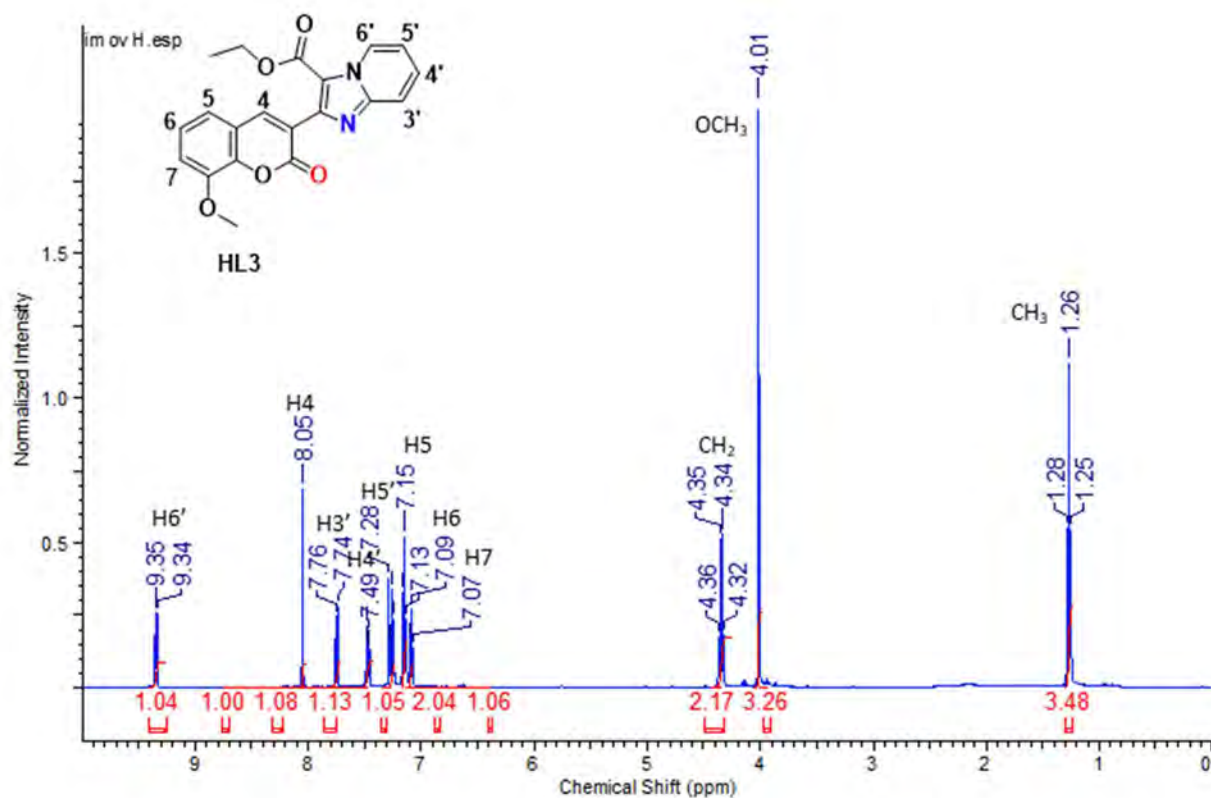


Figura 18: Espectro de RMN de ^1H de HL3 em CDCl_3 .

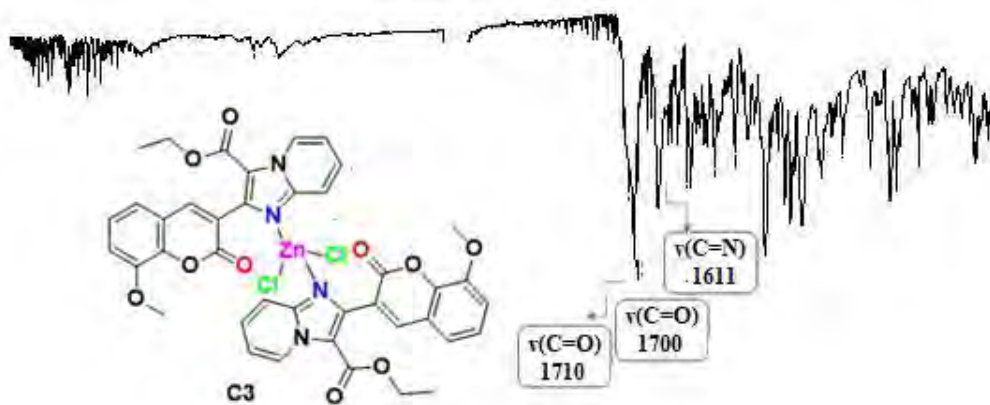


Figura 19: Espectro de infravermelho do C3 na região MID.

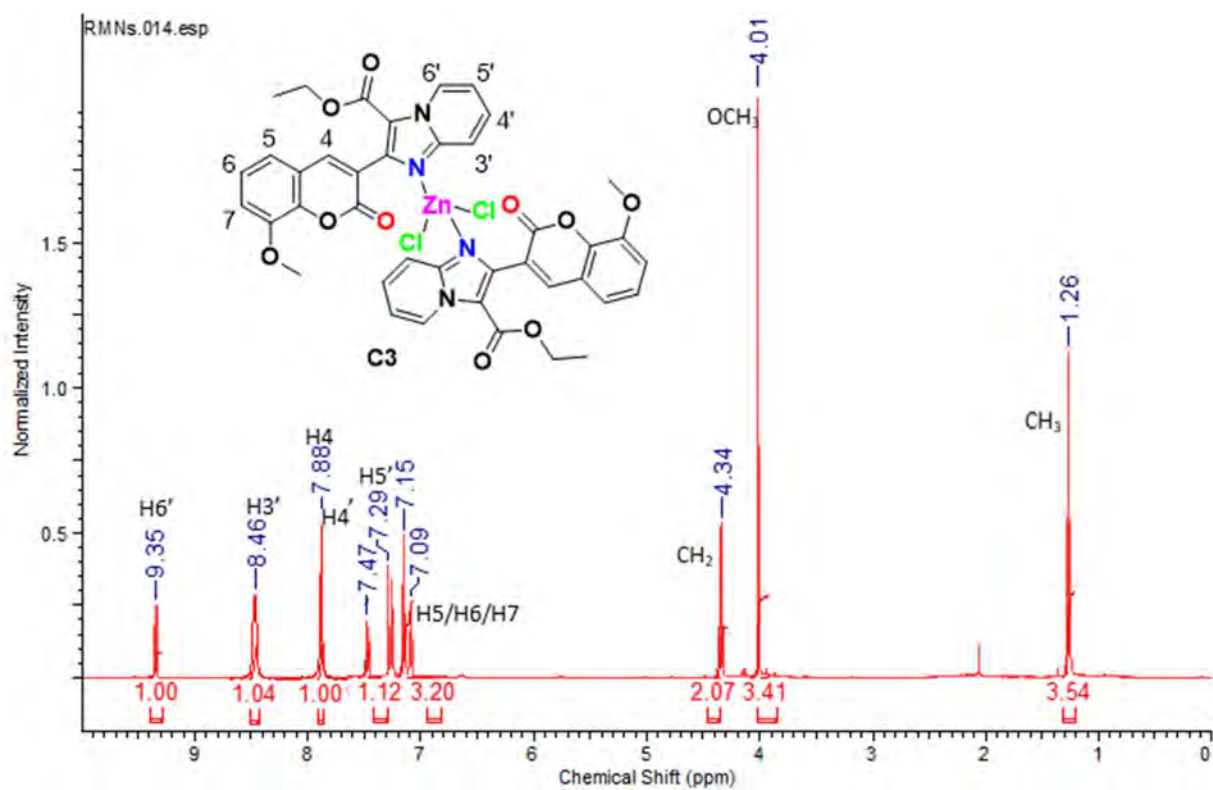


Figura 10: Espectro de RMN de ^1H de C3 em CDCl_3 .

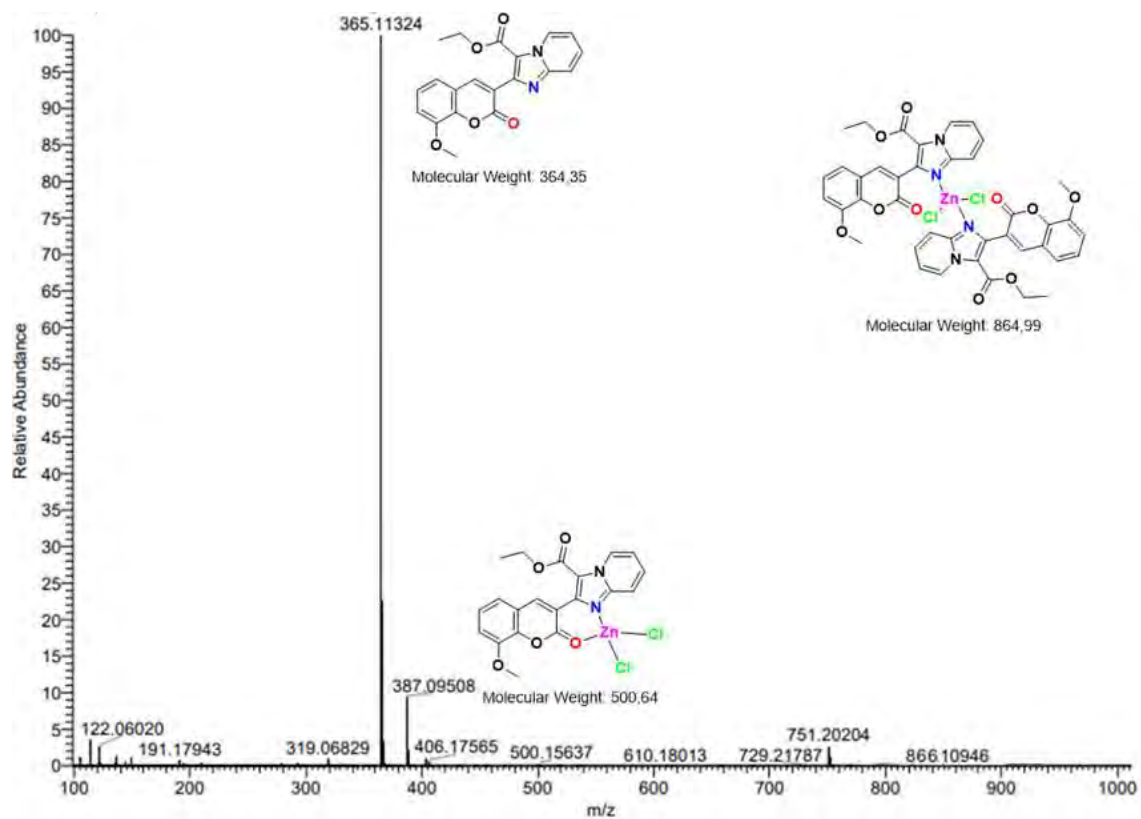


Figura 20: Espectro de massas de alta resolução do complexo C3.

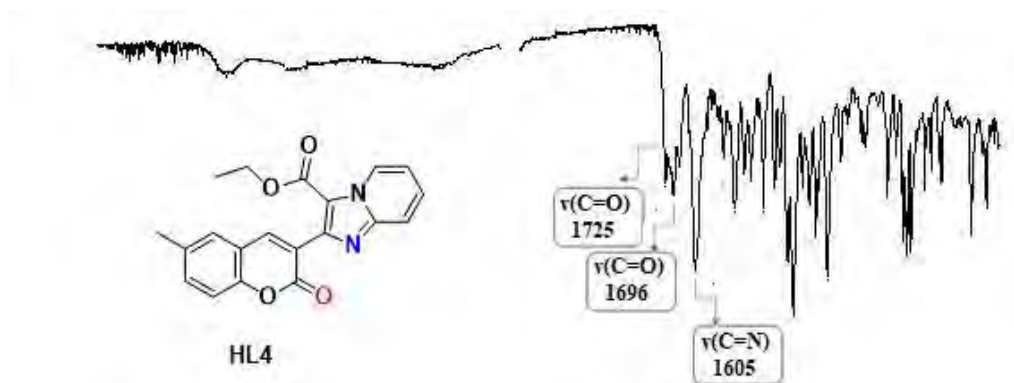


Figura 21: Espectro de infravermelho do HL4 na região MID.

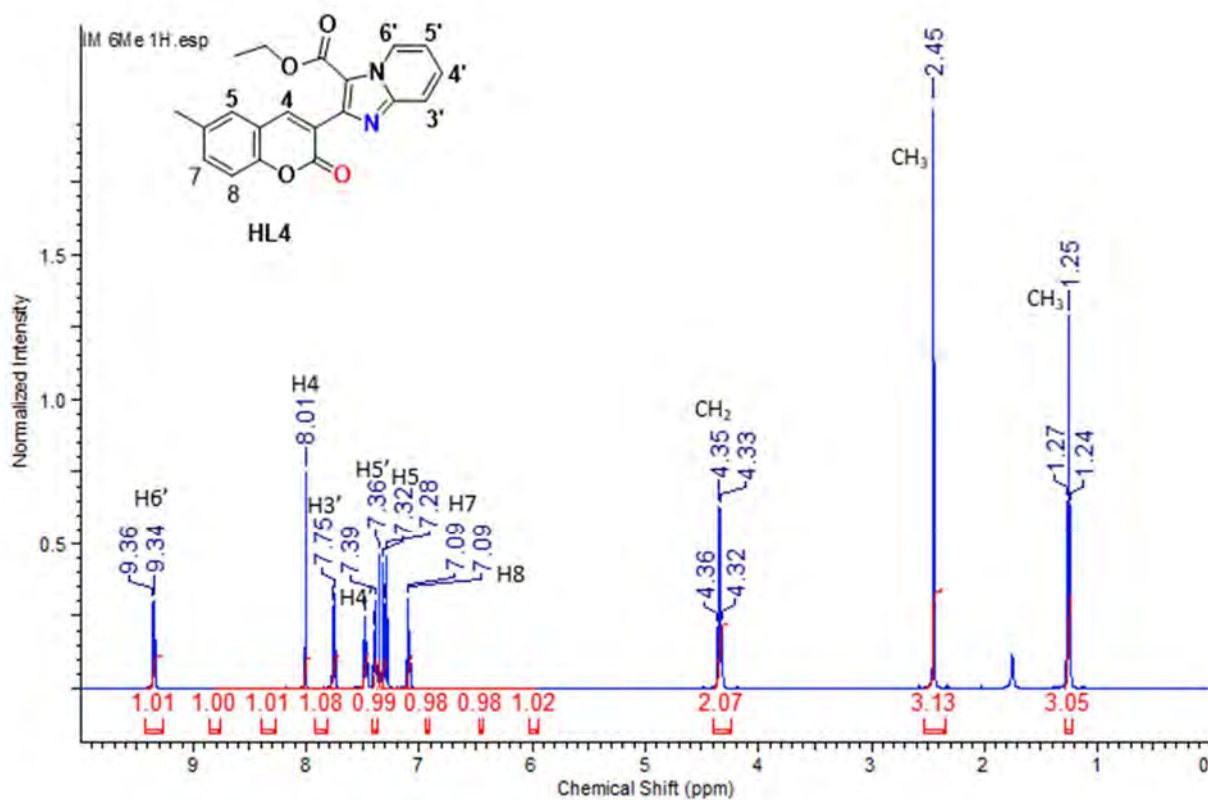


Figura 11: Espectro de RMN de ^1H de HL4 em CDCl_3 .

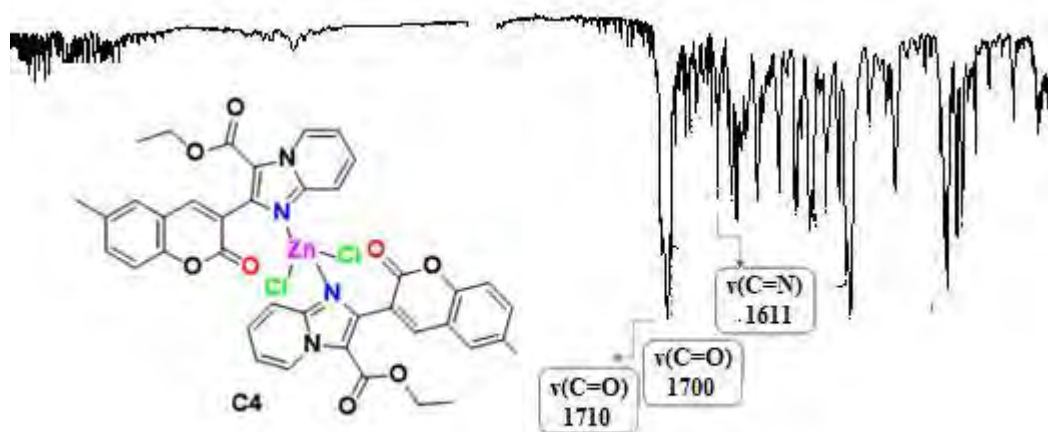


Figura 12: Espectro de infravermelho do C4 na região MID.

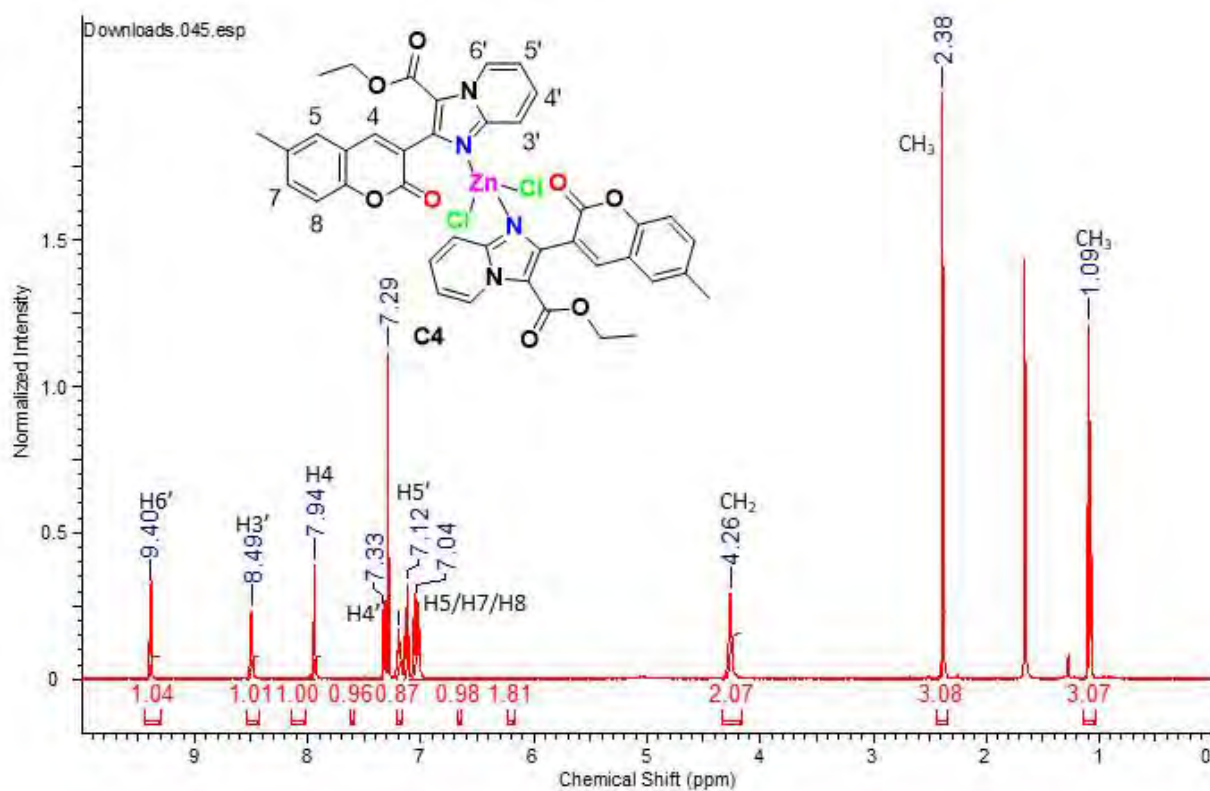


Figura 13: Espectro de RMN de ^1H de C4 em CDCl_3 .

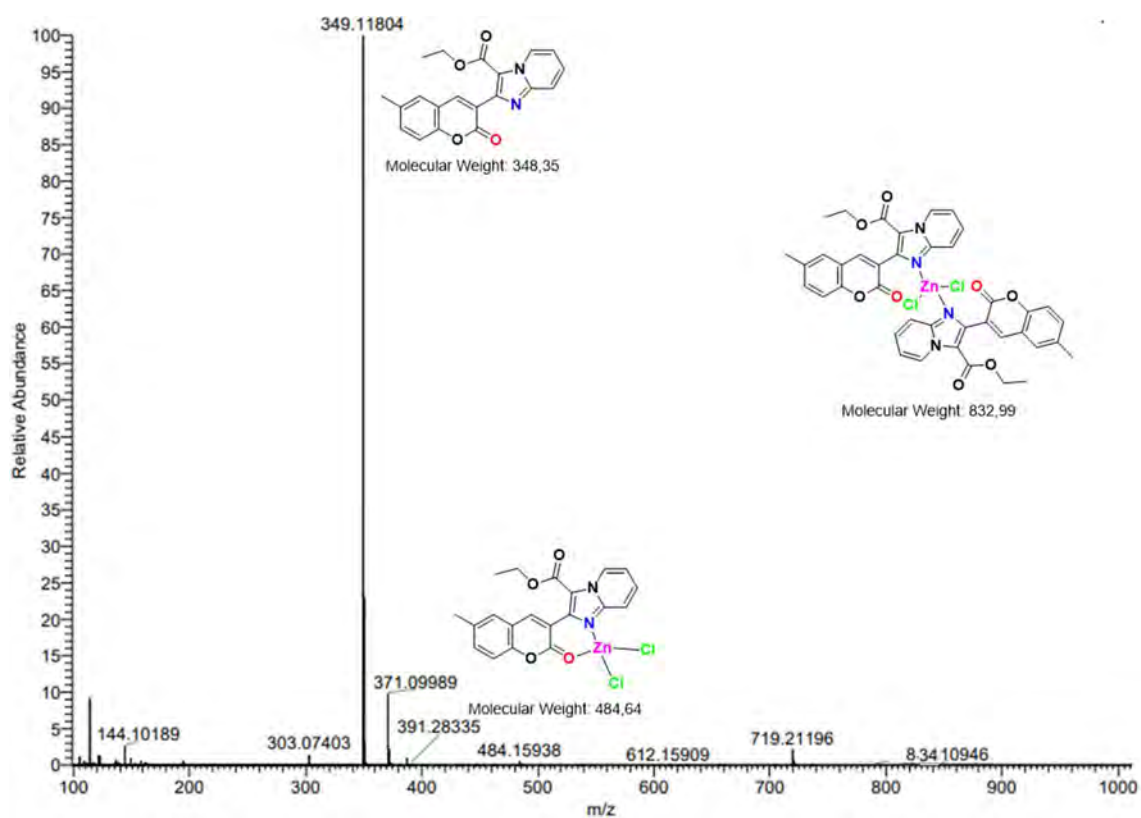


Figura 14: Espectro de massas de alta resolução do complexo C4.

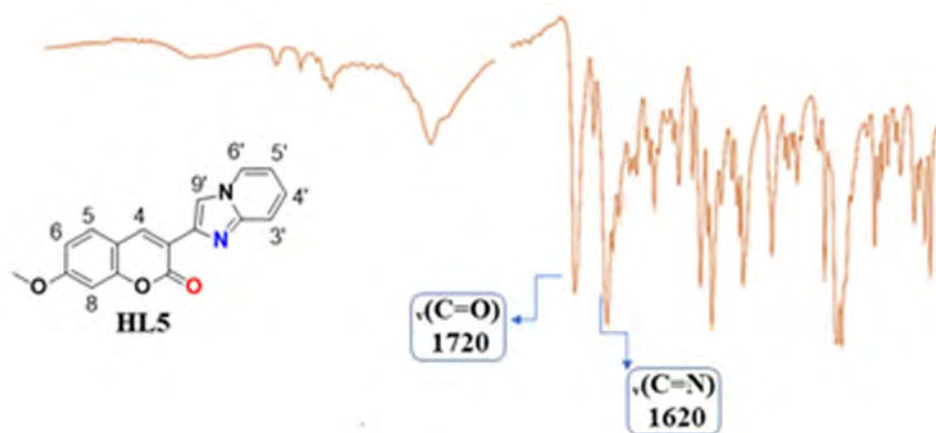


Figura 15: Espectro de infravermelho do HL5 na região MID.

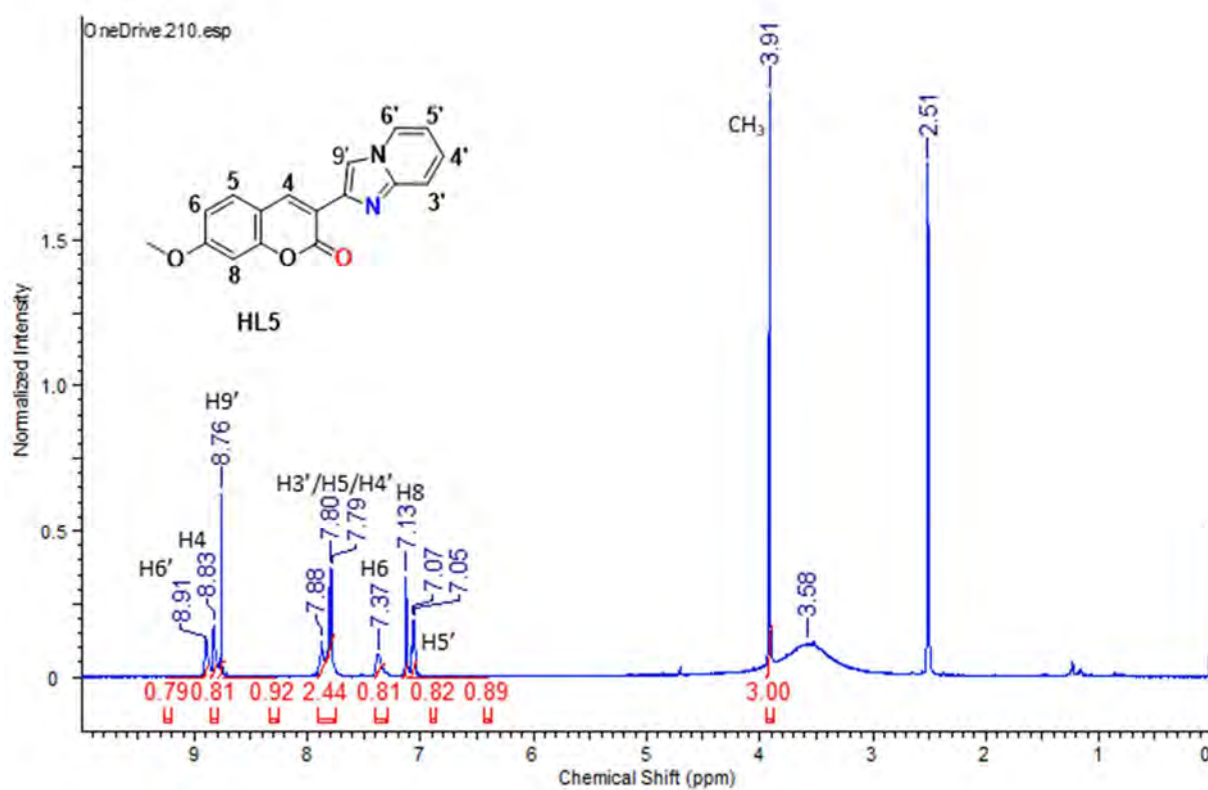


Figura 16: Espectro de RMN de ^1H de HL5 em DMSO-d_6 .

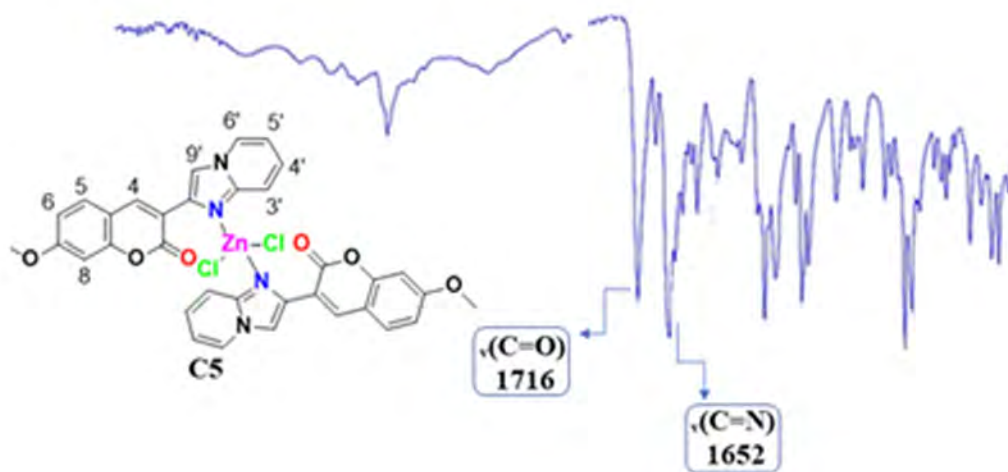


Figura 17: Espectro de infravermelho do C5 na região MID.

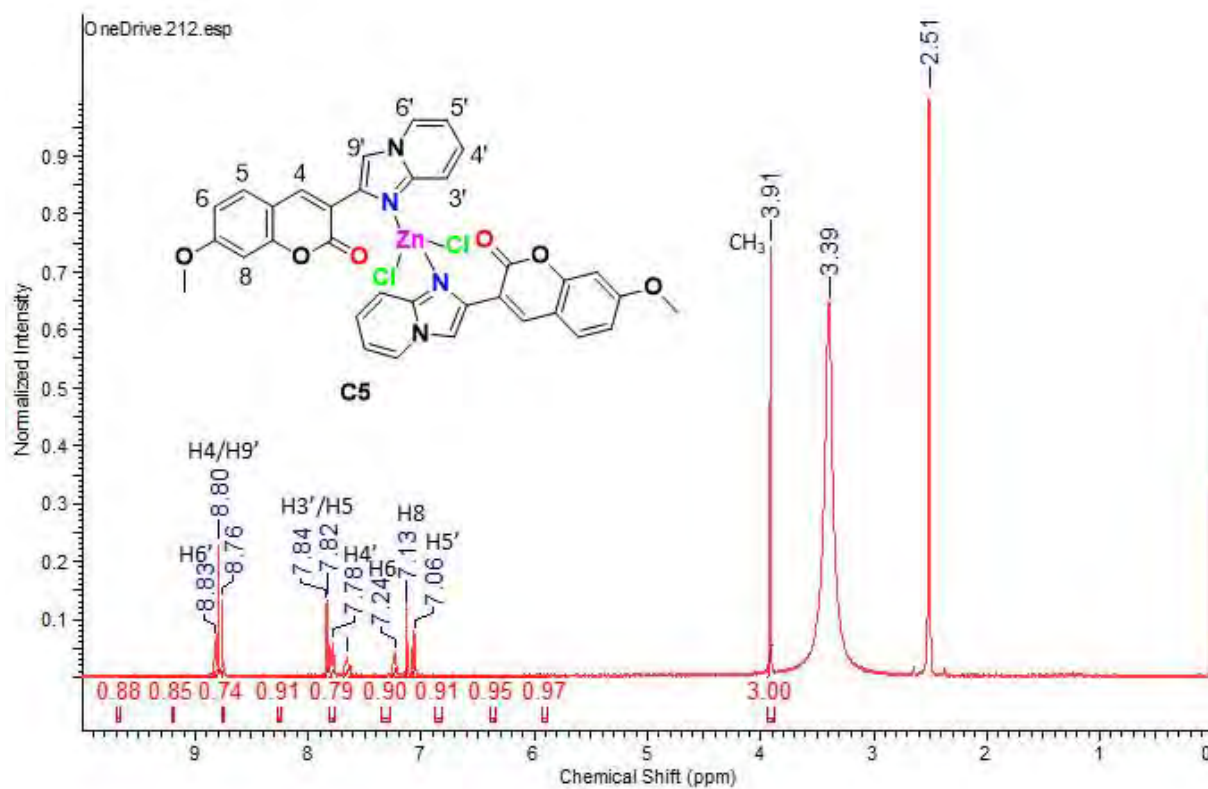


Figura 18: Espectro de RMN de ^1H de C5.

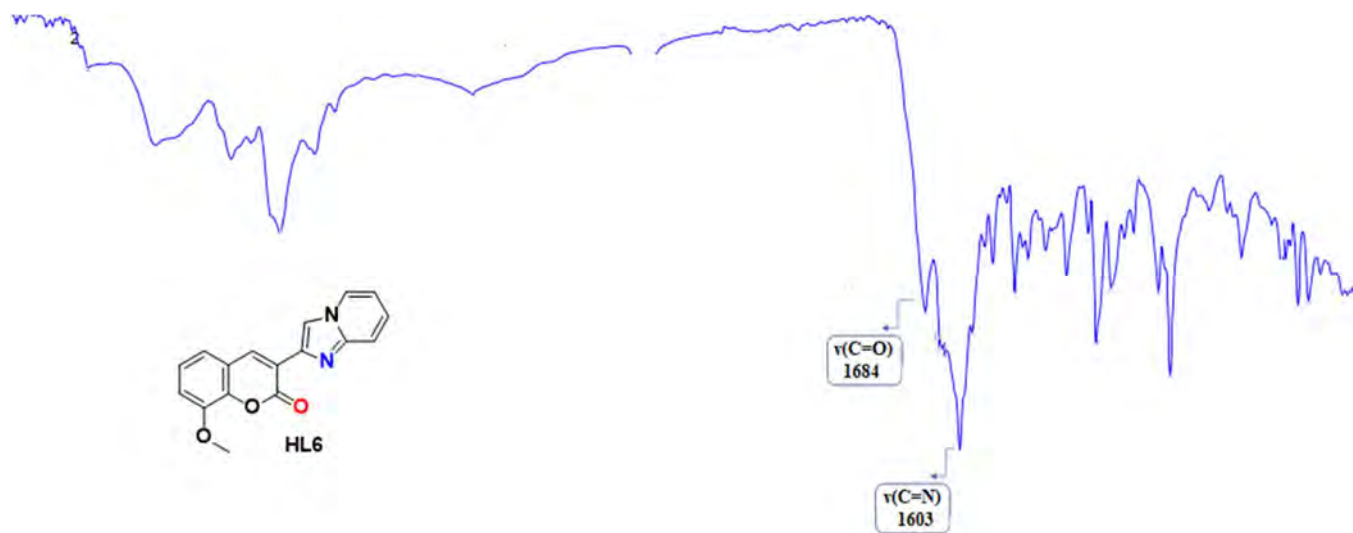


Figura 30: Espectro de infravermelho do HL6 na região MID.

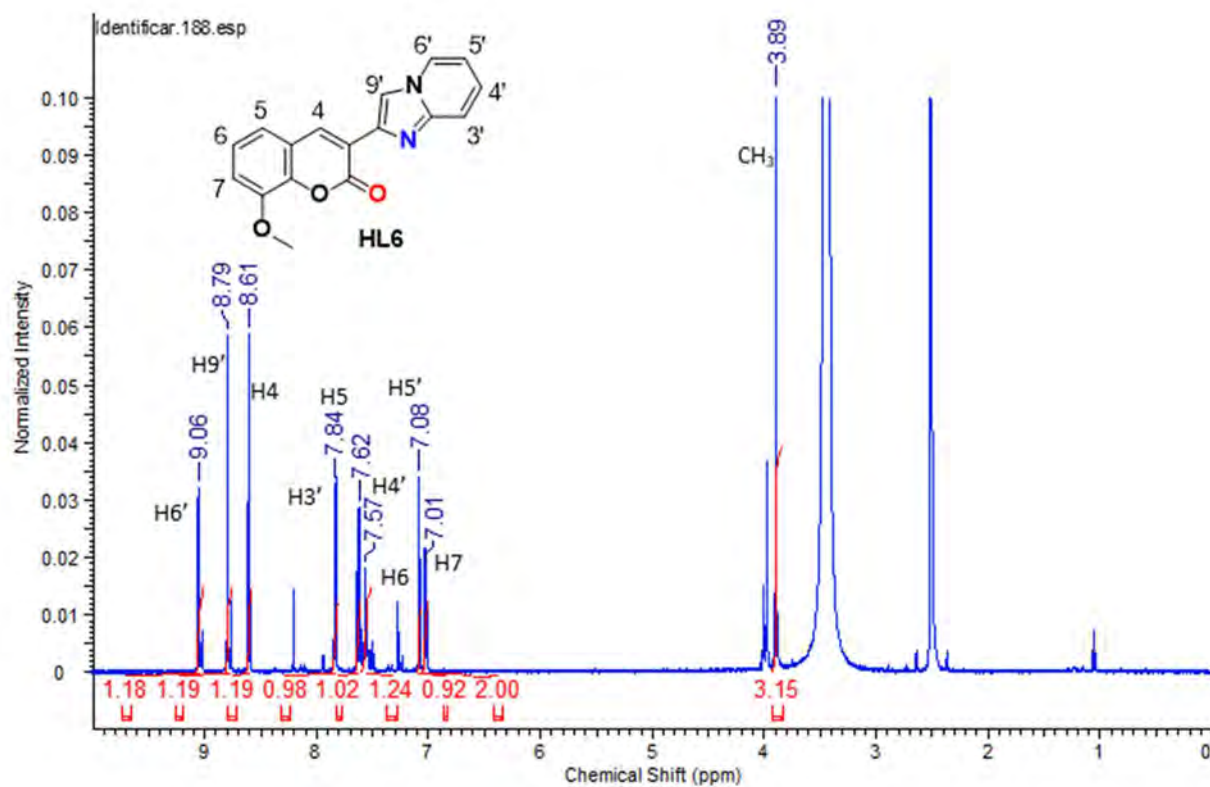


Figura 31: Espectro de RMN de ^1H de HL6 em DMSO-d_6 .

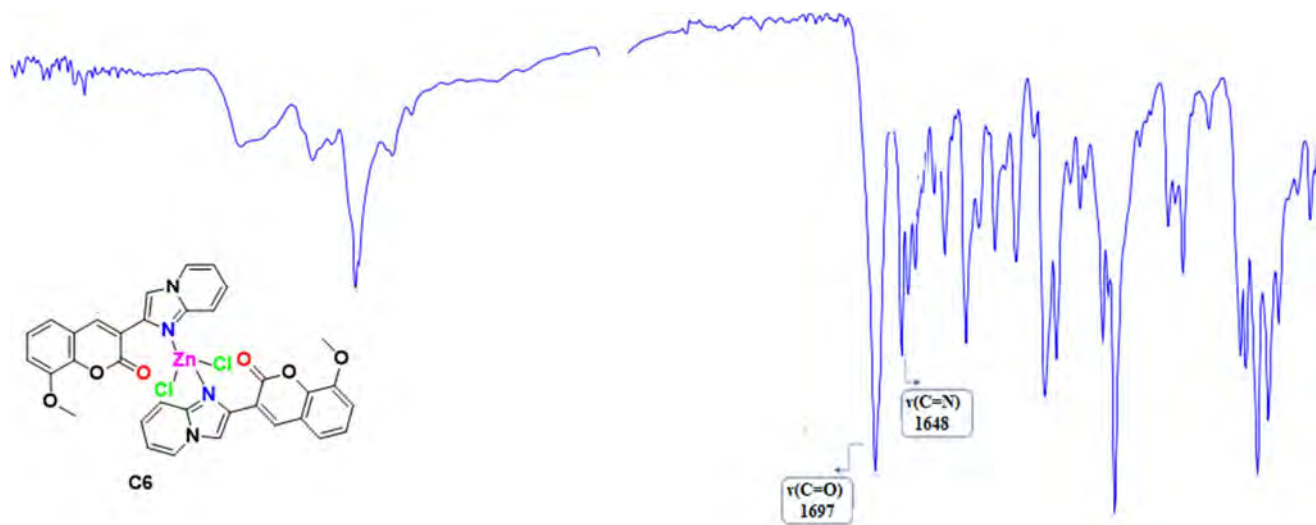


Figura 19: Espectro de infravermelho do C6 na região MID.

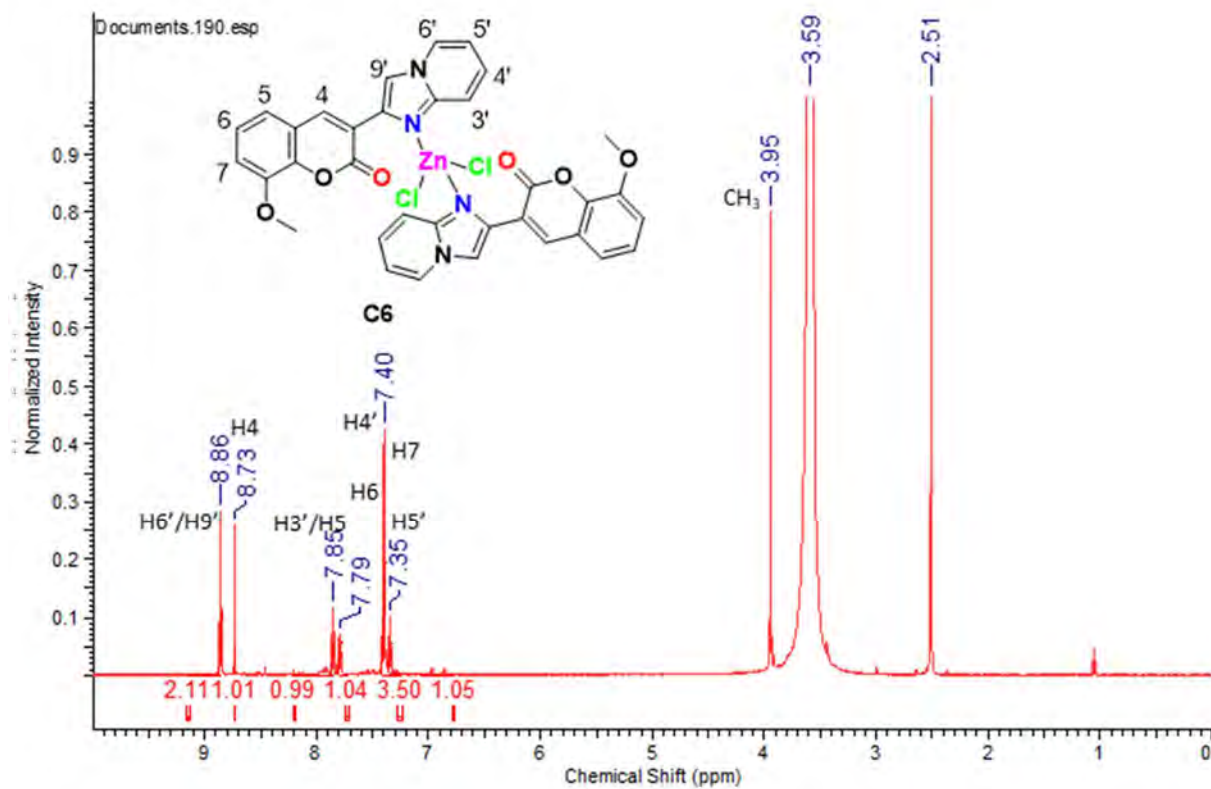


Figura 20: Espectro de RMN de ^1H de C6 em DMSO-d_6 .

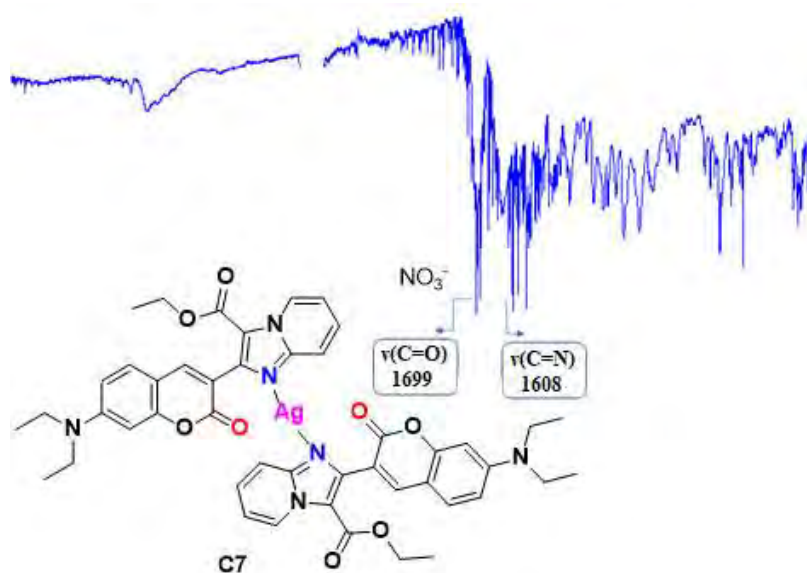


Figura 21: Espectro de infravermelho do C7 na região MID.

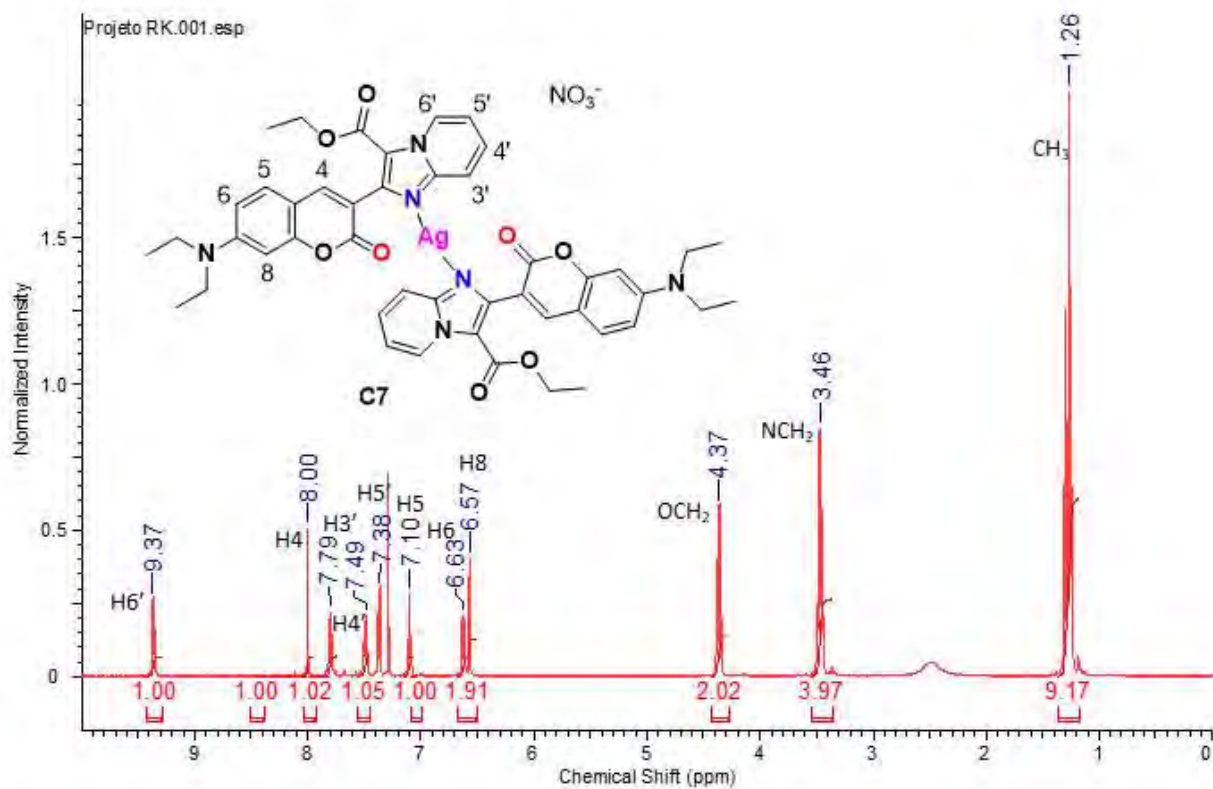


Figura 22: Espectro de RMN de ^1H de C7 em CDCl_3 .

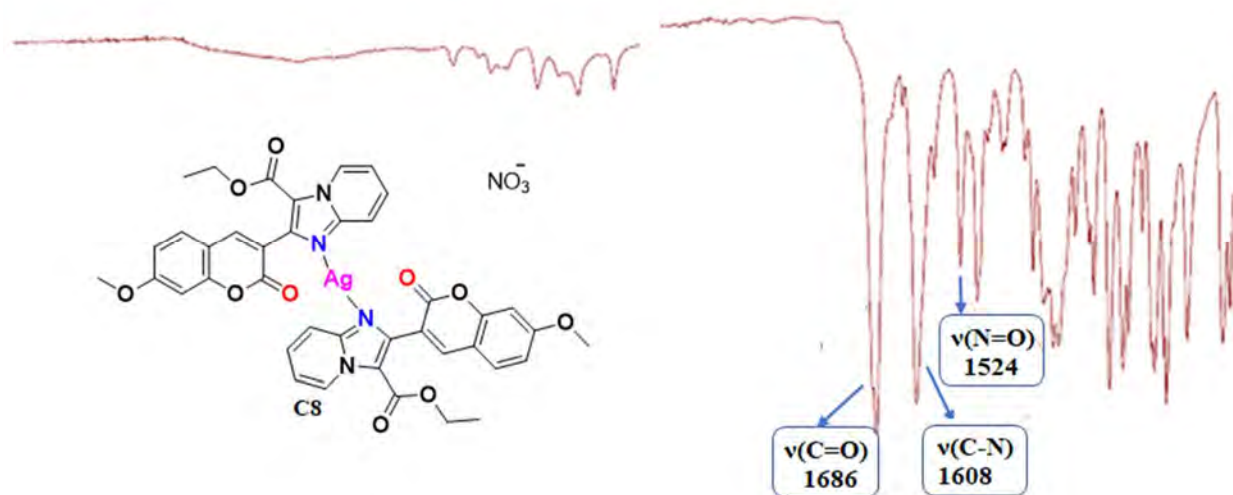


Figura 23: Espectro de infravermelho do C8 na região MID.

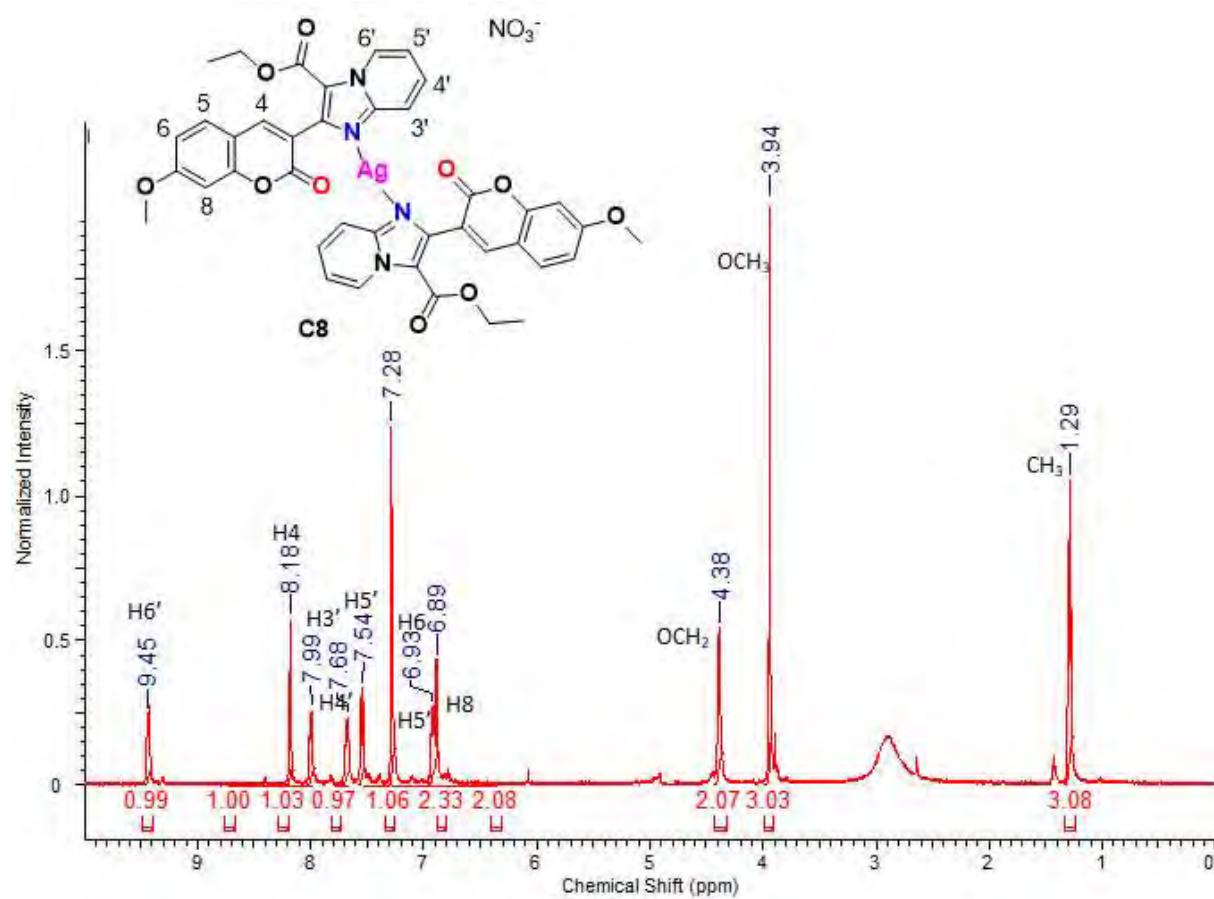


Figura 24: Espectro de RMN de ^1H de C8 em CDCl_3 .

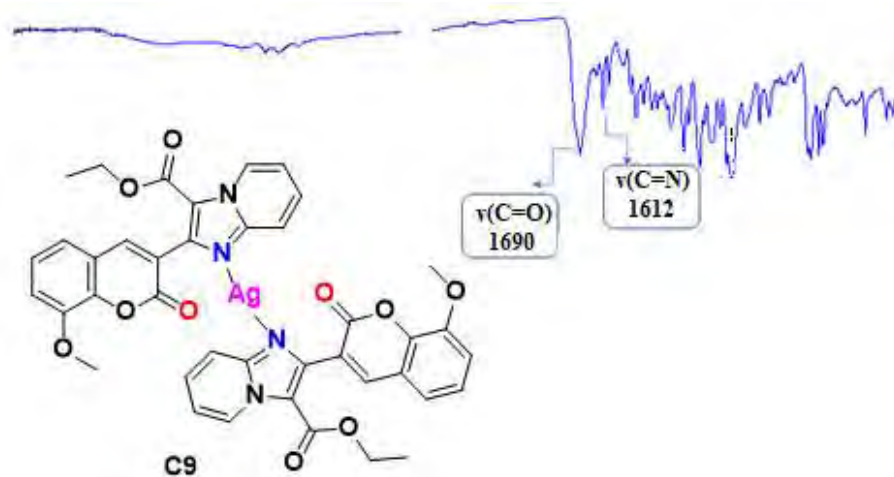


Figura 25: Espectro de infravermelho do C9 na região MID.

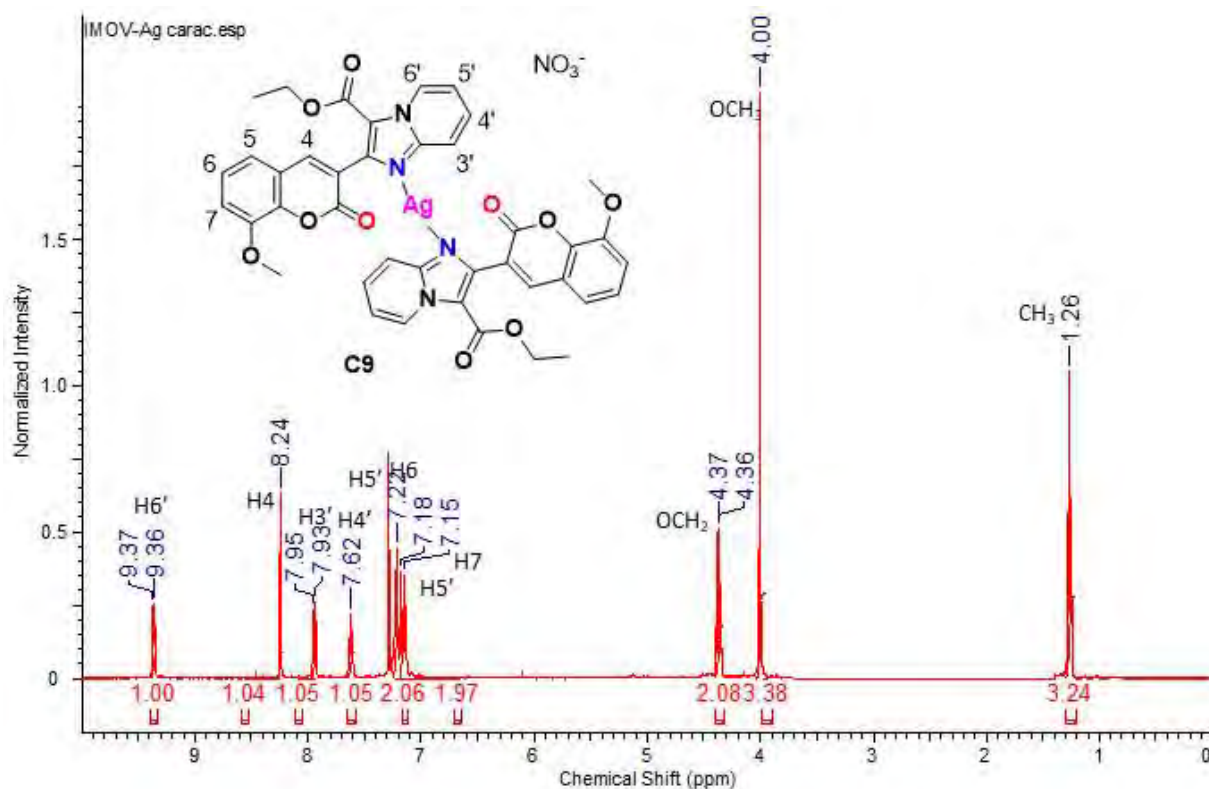


Figura 26: Espectro de RMN de ^1H de C9 em CDCl_3 .

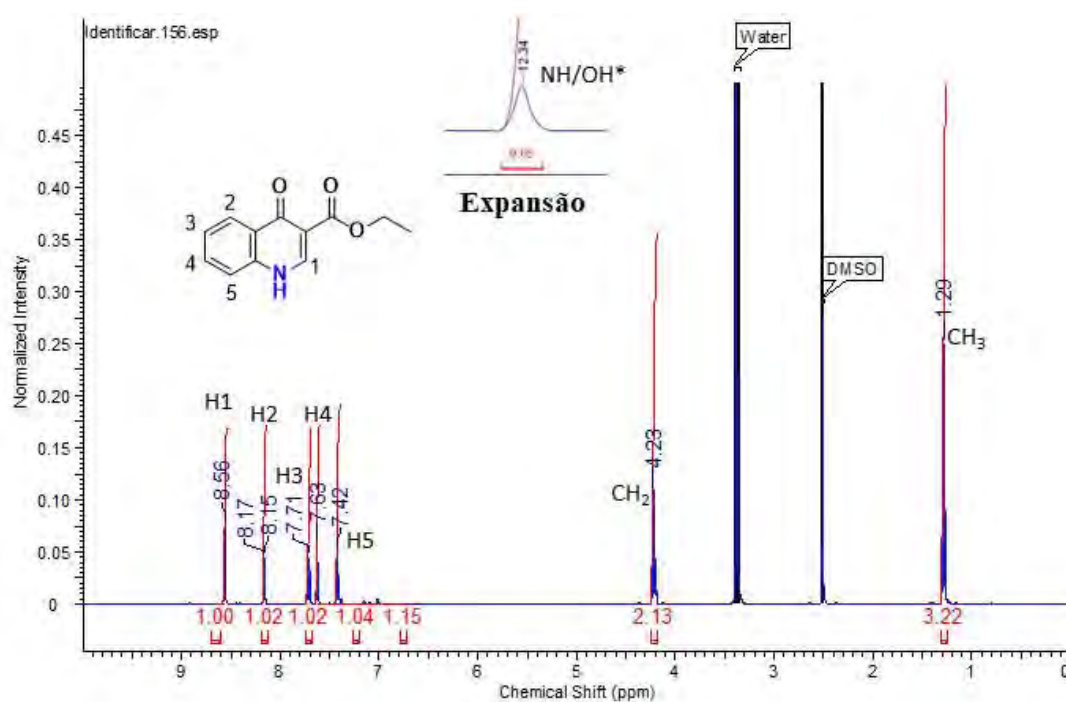


Figura 40: Espectro de RMN de ^1H de HL7 em DMSO-d_6 .

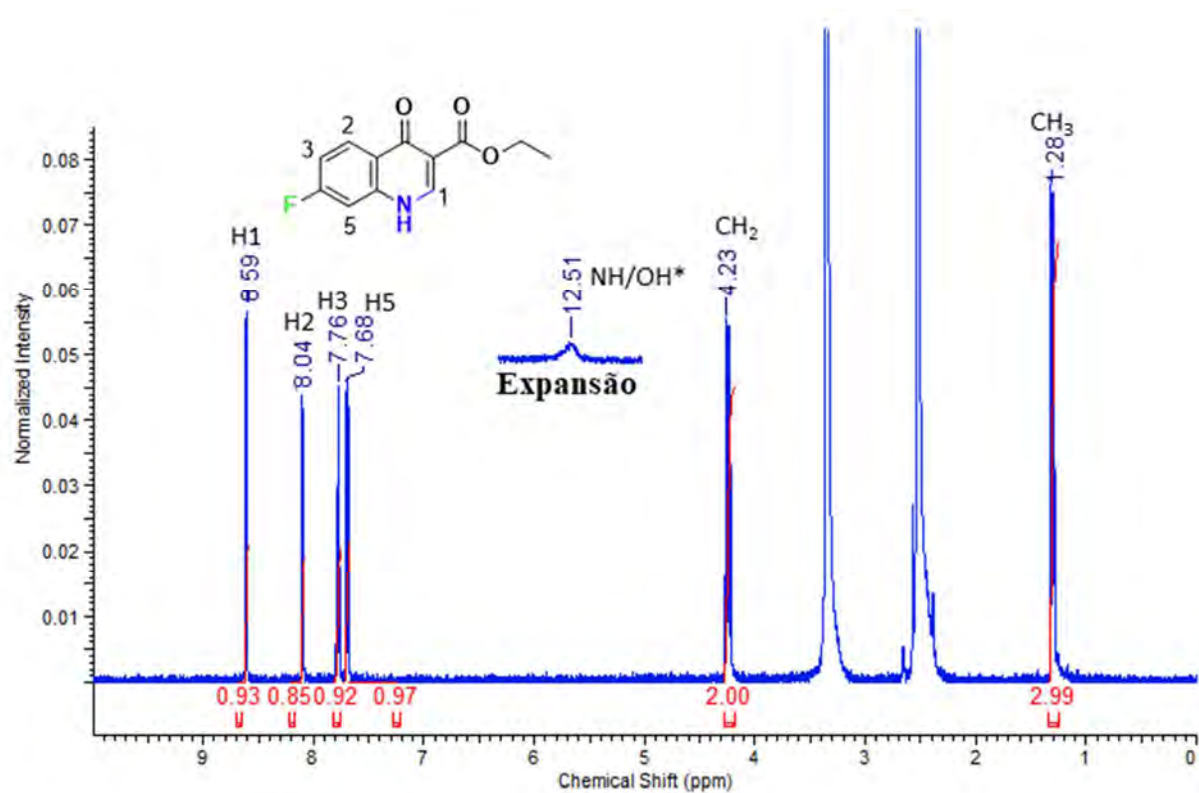


Figura 41: Espectro de RMN de ^1H de HL8 em DMSO-d_6 .

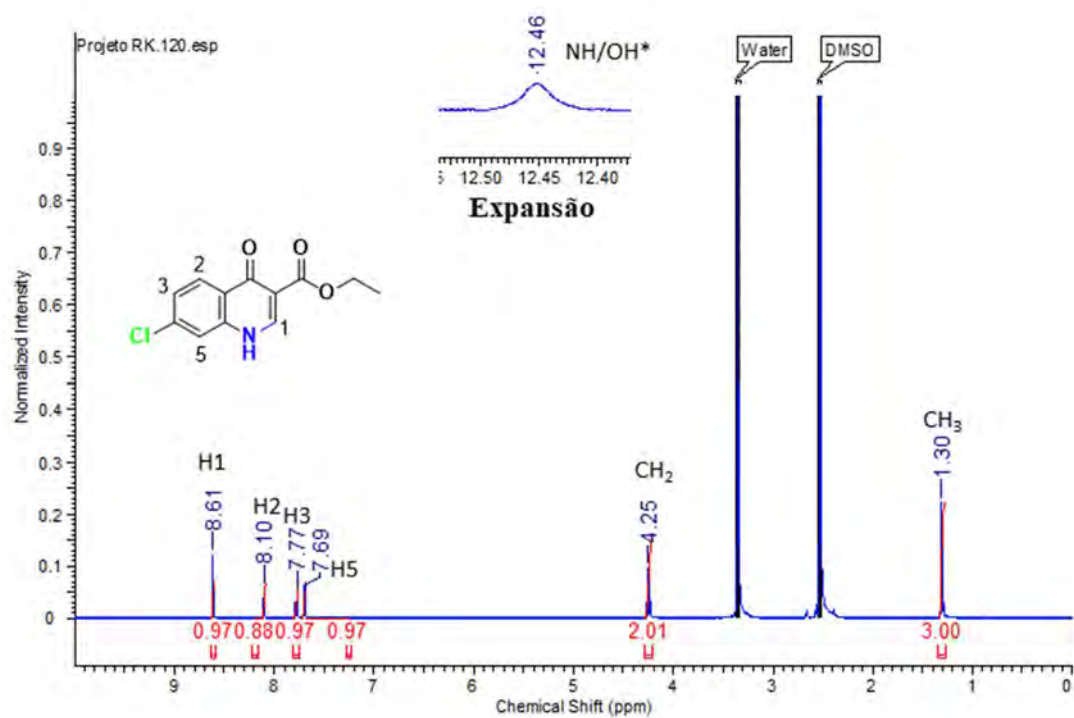


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H de HL9 em DMSO-d_6 .

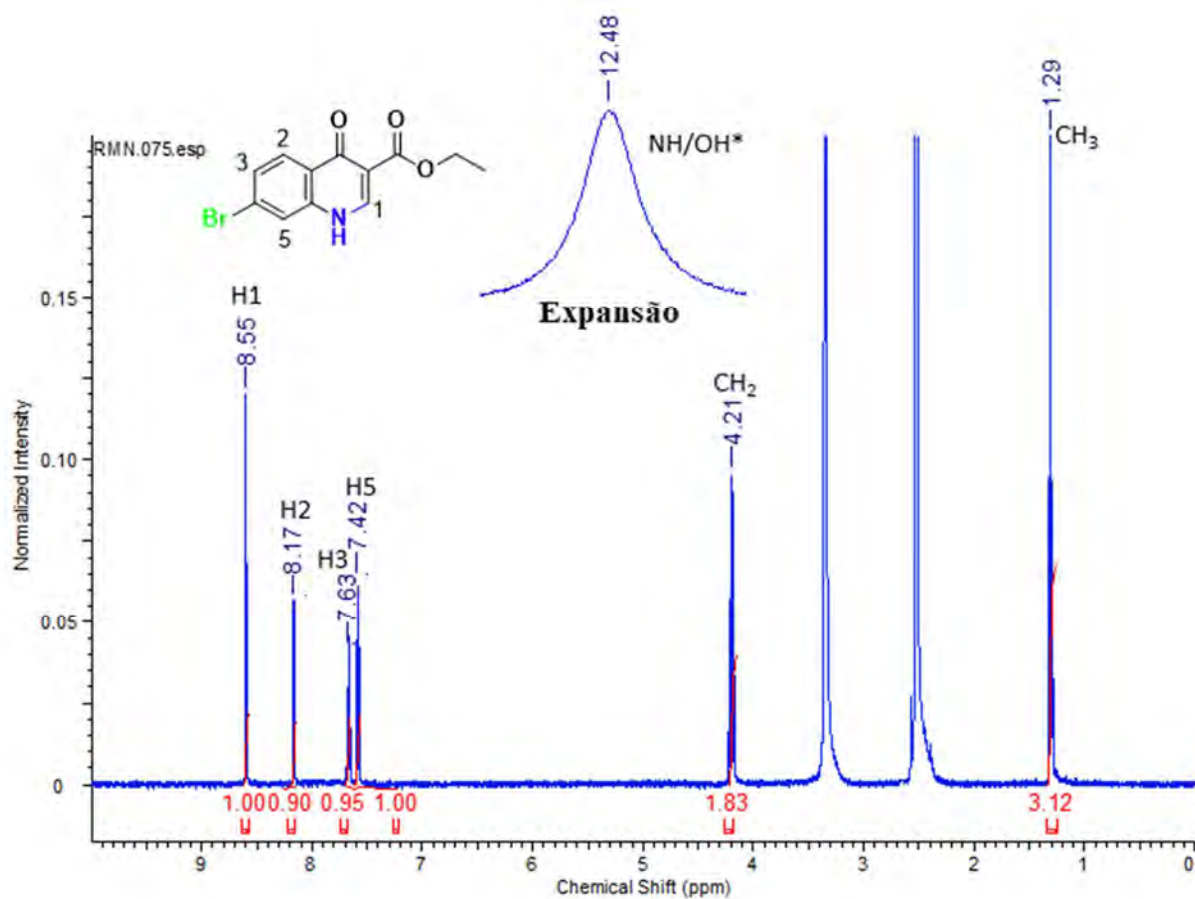


Figura 28: Espectro de RMN de ^1H de HL10 em DMSO-d_6 .

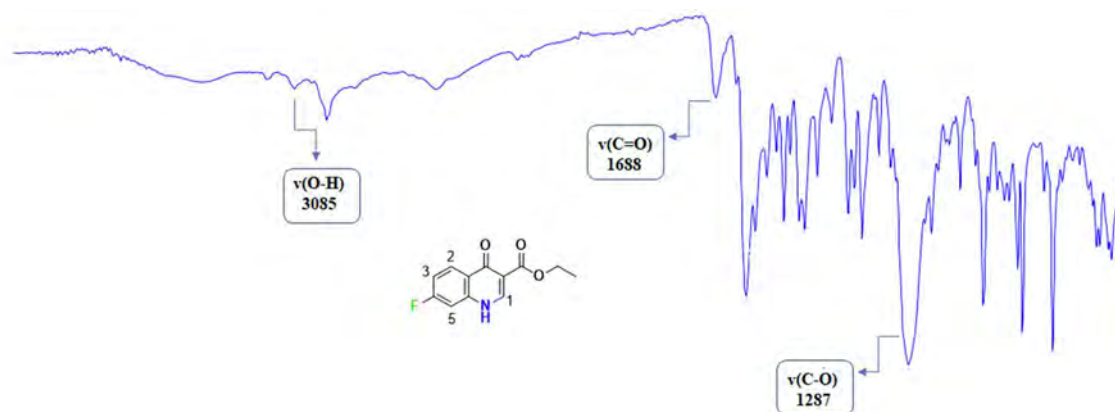


Figura 29: Espectro de infravermelho do HL8 na região MID.

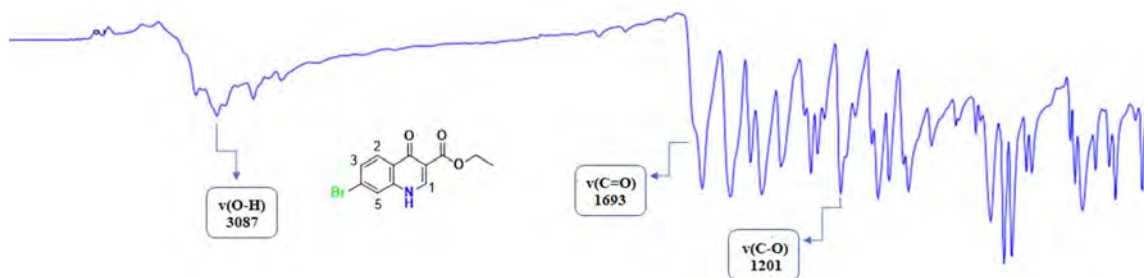


Figura 30: Espectro de infravermelho do HL9 na região MID.

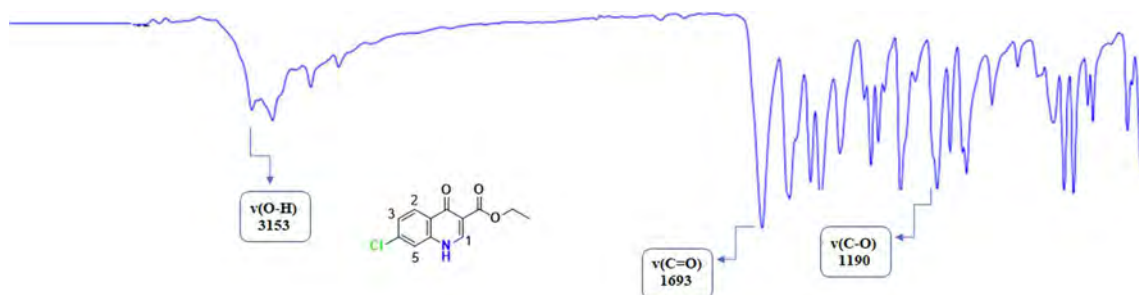


Figura 31: Espectro de infravermelho do HL10 na região MID.

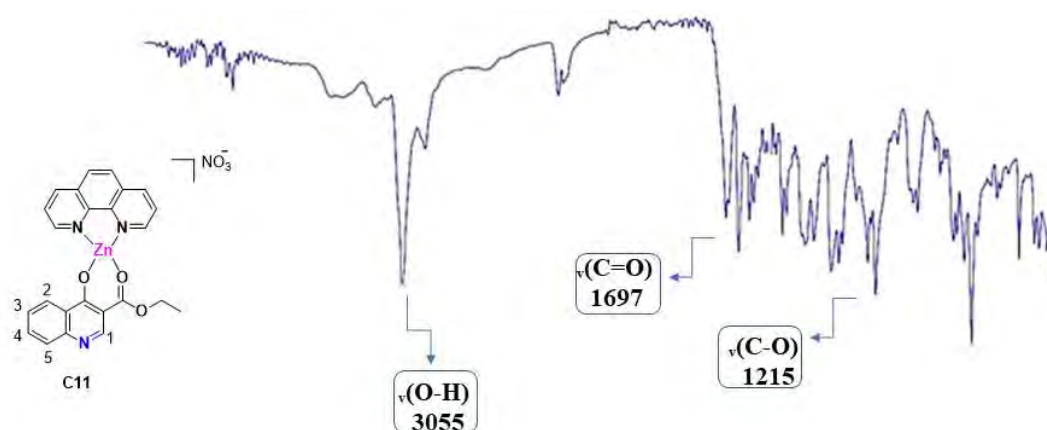


Figura 32: Espectro de infravermelho do C11 na região MID.

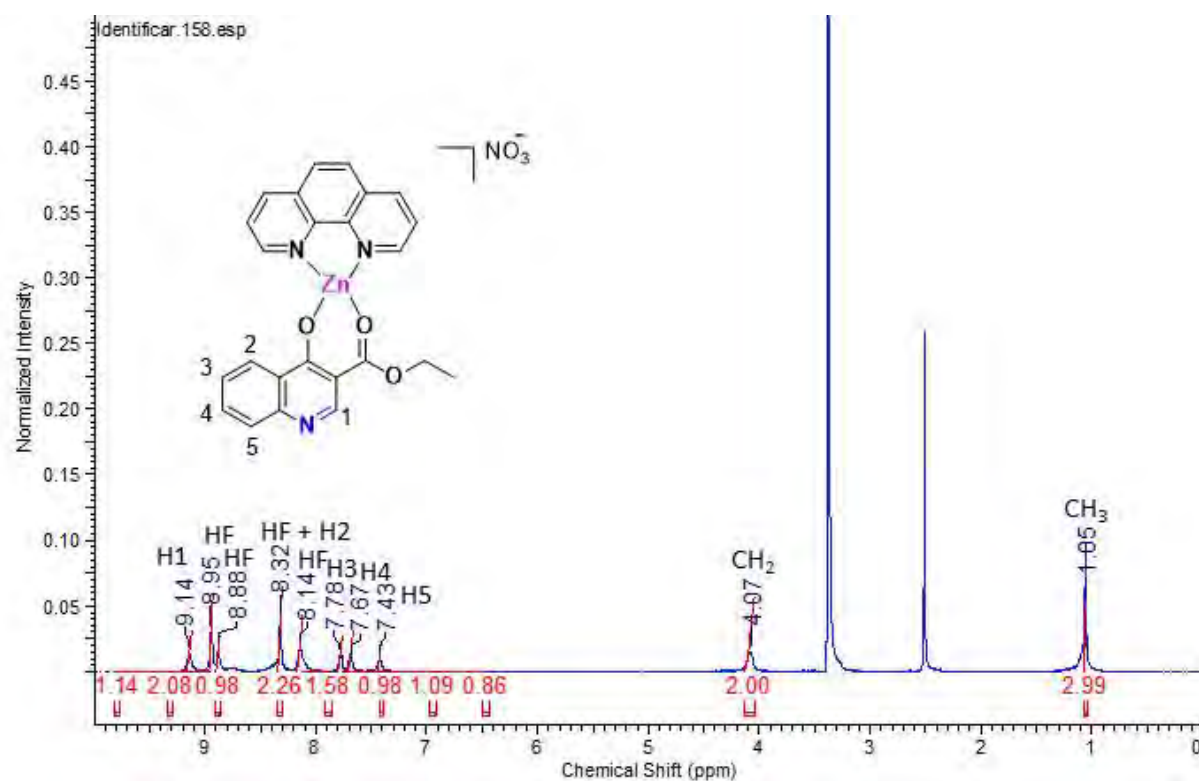


Figura 33: Espectro de RMN de ¹H de C11 em DMSO-d₆.

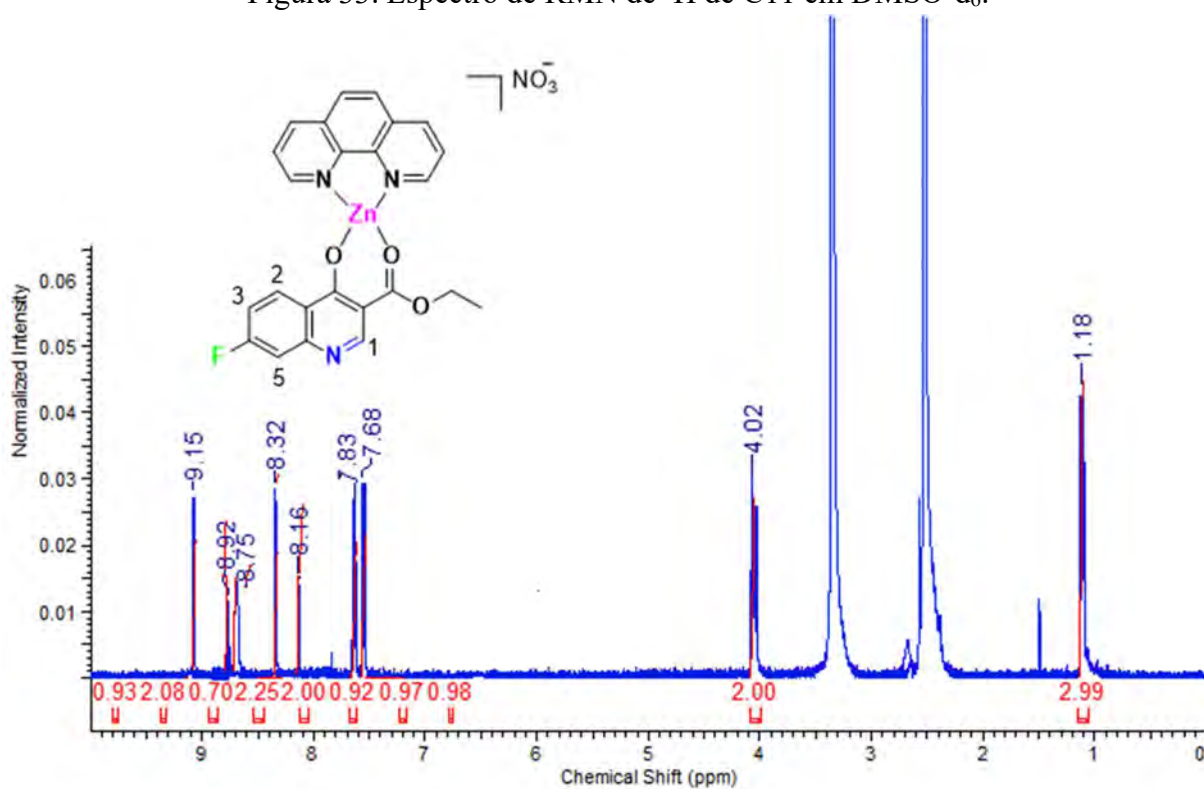


Figura 34: Espectro de RMN de ¹H de C12 em DMSO-d₆.

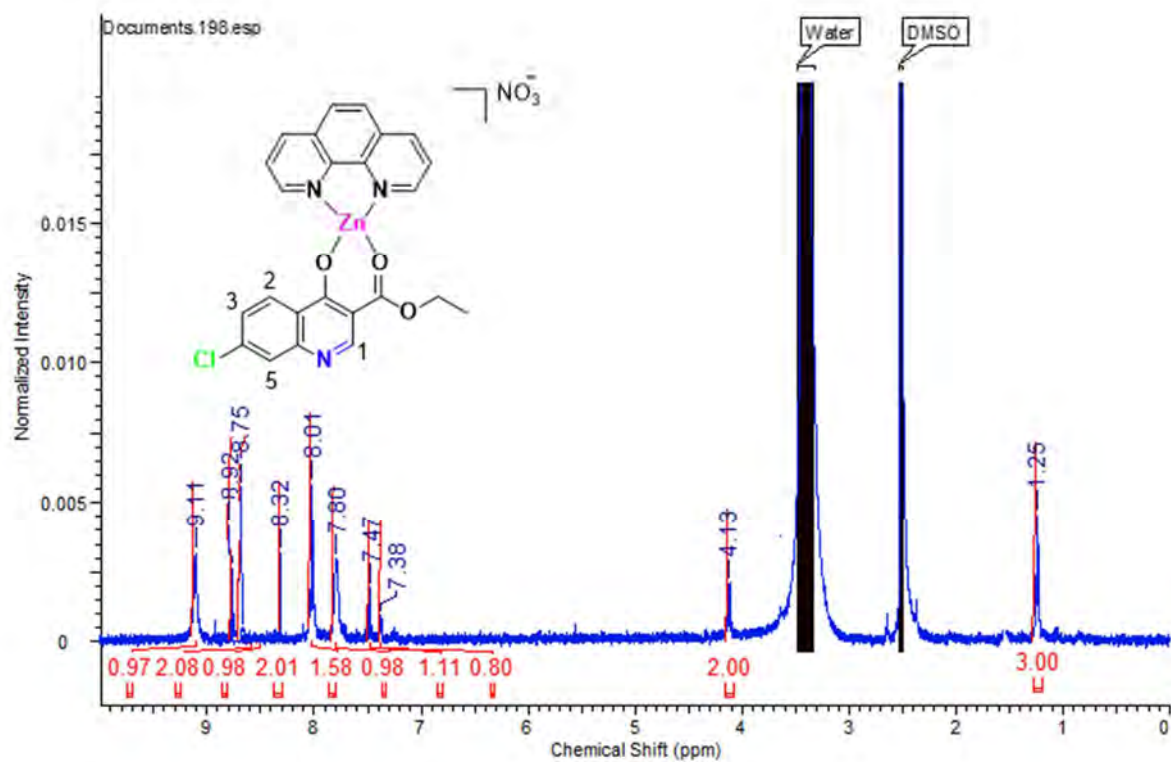


Figura 35: Espectro de RMN de ^1H de C13 em DMSO-d_6 .

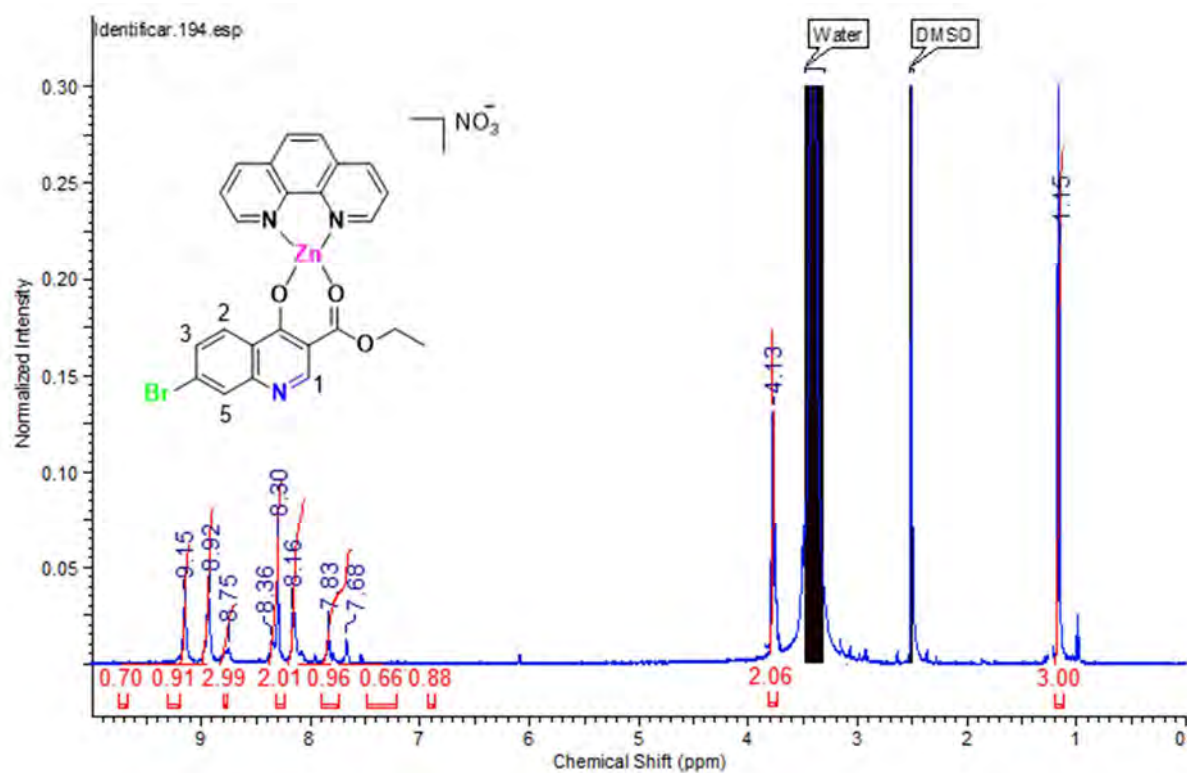


Figura 36: Espectro de RMN de ^1H de C14 em DMSO-d_6 .

I. Análise por Difração por Raios-X

Tabela A1: Parâmetros de refinamento e estrutura cristalina para C2 e C3

| | C2 | C3 |
|--|--|--|
| Fórmula química | C ₄₀ H ₃₂ C ₁₂ N ₄ O ₁₀ Zn. | C ₄₀ H ₃₂ C ₁₂ N ₄ O ₁₀ Zn. |
| Peso molecular | 864,99 | 864,99 |
| Sistema cristalino | triclinico | monoclínico |
| a/Å | 13.1168(8) | 16.3817(7) |
| b/Å | 13.5291(14) | 18.4244(5) |
| c/Å | 14.0321(2) | 14.2606(6) |
| α/° | 66.821(4) | 90 |
| β/° | 80.277(4) | 94.228(2) |
| γ/° | 65.734(4) | 90 |
| Volume de célula unitária/Å ³ | 2086.0(5) | 4225.2(2) |
| Temperatura/K | 150(2) | 273(2) |
| Grupo de espaço | P | P 2 ₁ /c |
| Unidades de fórmulas por célula, Z | 2 | 4 |
| Radiação | MoKα | MoKα |
| Coefficiente de absorção, mm ⁻¹ | 0.94 | 0.89 |
| Reflexões coletadas | 80679 | 35110 |
| Reflexões independentes | 12869 | 5823 |
| R _{int} | 0.097 | 0.056 |
| Valores finais de R _I (I>2σ(I)) | 0.049 | 0.035 |
| Valores finais de wR(F ²)(I>2σ(I)) | 0.112 | 0.078 |
| Valores finais de R _I (todos os dados) | 0.070 | 0.054 |
| Valores finais de wR(F ²) (todos os dados) | 0.123 | 0.087 |
| Qualidade de ajuste F ² | 1.02 | 1.03 |

Tabela A2: Comprimento das ligações (Å) para C2 e C3

| C2 | | C3 | |
|--------------|----------|---------------|-----------|
| O(1)-C(2) | 1.375(2) | Cl(1)-C(19) | 1.730(3) |
| O(1)-C(1) | 1.376(2) | N(1)-C(15) | 1.270(3) |
| O(2)-C(2) | 1.214(2) | N(1)-N(2) | 1.371(3) |
| O(3)-C(14) | 1.222(2) | N(2)-C(14) | 1.353(3) |
| N(1)-C(15) | 1.270(2) | N(2)-H(2) | 0.8600 |
| N(1)-N(2) | 1.376(2) | N(3)-C(7) | 1.364(4) |
| N(2)-C(14) | 1.351(2) | N(3)-C(12A) | 1.459(12) |
| N(2)-H(2) | 0.8600 | N(3)-C(10) | 1.467(4) |
| N(3)-C(7) | 1.357(2) | N(3)-C(12B) | 1.507(11) |
| N(3)-C(10) | 1.452(3) | O(2)-C(2) | 1.223(3) |
| N(3)-C(12) | 1.468(3) | O(1)-C(2) | 1.381(3) |
| C(19)-C(20) | 1.369(4) | O(1)-C(1) | 1.382(3) |
| C(19)-C(18) | 1.373(4) | C(9)-C(1) | 1.390(4) |
| C(19)-H(19) | 0.9300 | C(9)-C(5) | 1.405(4) |
| C(18)-C(17) | 1.376(3) | C(9)-C(4) | 1.411(4) |
| C(18)-H(18) | 0.9300 | C(5)-C(6) | 1.361(4) |
| C(17)-C(16) | 1.383(3) | C(5)-H(5) | 0.9300 |
| C(17)-H(17) | 0.9300 | C(19)-C(20) | 1.361(5) |
| C(16)-C(21) | 1.381(3) | C(19)-C(18) | 1.371(5) |
| C(16)-C(15) | 1.466(2) | C(18)-C(17) | 1.385(4) |
| C(15)-H(15) | 0.9300 | C(18)-H(18) | 0.9300 |
| C(14)-C(3) | 1.496(2) | C(17)-C(16) | 1.392(4) |
| C(3)-C(4) | 1.359(2) | C(17)-H(17) | 0.9300 |
| C(3)-C(2) | 1.441(2) | C(16)-C(21) | 1.380(4) |
| C(4)-C(9) | 1.404(2) | C(16)-C(15) | 1.464(4) |
| C(4)-H(4) | 0.9300 | C(15)-H(15) | 0.9300 |
| C(9)-C(1) | 1.391(2) | C(14)-O(3) | 1.219(3) |
| C(9)-C(5) | 1.407(3) | C(14)-C(3) | 1.487(4) |
| C(1)-C(8) | 1.368(3) | C(3)-C(4) | 1.361(4) |
| C(8)-C(7) | 1.413(3) | C(3)-C(2) | 1.439(4) |
| C(8)-H(8) | 0.9300 | C(1)-C(8) | 1.365(4) |
| C(7)-C(6) | 1.410(3) | C(8)-C(7) | 1.402(4) |
| C(10)-C(11) | 1.503(4) | C(8)-H(8) | 0.9300 |
| C(10)-H(10A) | 0.9700 | C(7)-C(6) | 1.417(4) |
| C(10)-H(10B) | 0.9700 | C(4)-H(4) | 0.9300 |
| C(11)-H(11A) | 0.9600 | C(6)-H(6) | 0.9300 |
| C(11)-H(11B) | 0.9600 | C(21)-C(20) | 1.386(4) |
| C(11)-H(11C) | 0.9600 | C(21)-H(21) | 0.9300 |
| C(13)-C(12) | 1.441(5) | C(20)-H(20) | 0.9300 |
| C(13)-H(13C) | 0.9600 | C(10)-C(11) | 1.464(6) |
| C(13)-H(13B) | 0.9600 | C(10)-H(10B) | 0.9700 |
| C(13)-H(13A) | 0.9600 | C(10)-H(10A) | 0.9700 |
| C(12)-H(12B) | 0.9700 | C(11)-H(11B) | 0.9600 |
| C(12)-H(12A) | 0.9700 | C(11)-H(11C) | 0.9600 |
| C(5)-C(6) | 1.358(3) | C(11)-H(11A) | 0.9600 |
| C(5)-H(5) | 0.9300 | C(12A)-C(13A) | 1.452(17) |
| C(6)-H(6) | 0.9300 | C(12A)-H(12A) | 0.9700 |
| C(20)-C(21) | 1.388(3) | C(12A)-H(12B) | 0.9700 |
| C(20)-H(20) | 0.9300 | C(13A)-H(13A) | 0.9600 |
| C(21)-H(21) | 0.9300 | C(13A)-H(13B) | 0.9600 |
| | | C(13A)-H(13C) | 0.9600 |
| | | C(12B)-C(13B) | 1.58(2) |
| | | C(12B)-H(12C) | 0.9700 |
| | | C(12B)-H(12D) | 0.9700 |
| | | C(13B)-H(13D) | 0.9600 |
| | | C(13B)-H(13E) | 0.9600 |
| | | C(13B)-H(13F) | 0.9600 |

Tabela A3: Ângulos das ligações (°) para **C2** e **C3**

| C2 | | C3 | |
|---------------------|------------|-------------------|----------|
| C(7)-N(3)-C(12) | 121.80(18) | C(15)-N(1)-N(2) | 116.8(2) |
| C(10)-N(3)-C(12) | 115.27(18) | C(14)-N(2)-N(1) | 119.0(2) |
| C(20)-C(19)-C(18) | 119.9(2) | C(14)-N(2)-H(2) | 120.5 |
| C(20)-C(19)-H(19) | 120.1 | N(1)-N(2)-H(2) | 120.5 |
| C(18)-C(19)-H(19) | 120.1 | C(7)-N(3)-C(12A) | 120.5(4) |
| C(19)-C(18)-C(17) | 120.3(3) | C(7)-N(3)-C(10) | 121.8(3) |
| C(19)-C(18)-H(18) | 119.8 | C(12A)-N(3)-C(10) | 114.3(4) |
| C(17)-C(18)-H(18) | 119.8 | C(7)-N(3)-C(12B) | 119.6(5) |
| C(18)-C(17)-C(16) | 120.4(2) | C(10)-N(3)-C(12B) | 115.6(5) |
| C(18)-C(17)-H(17) | 119.8 | C(2)-O(1)-C(1) | 123.0(2) |
| C(16)-C(17)-H(17) | 119.8 | C(1)-C(9)-C(5) | 116.4(3) |
| C(21)-C(16)-C(17) | 119.08(19) | C(1)-C(9)-C(4) | 118.6(2) |
| C(21)-C(16)-C(15) | 119.72(19) | C(5)-C(9)-C(4) | 125.0(3) |
| C(17)-C(16)-C(15) | 121.19(19) | C(6)-C(5)-C(9) | 121.7(3) |
| N(1)-C(15)-C(16) | 120.57(18) | C(6)-C(5)-H(5) | 119.2 |
| N(1)-C(15)-H(15) | 119.7 | C(9)-C(5)-H(5) | 119.2 |
| C(16)-C(15)-H(15) | 119.7 | C(20)-C(19)-C(18) | 120.9(3) |
| O(3)-C(14)-N(2) | 123.66(16) | C(20)-C(19)-Cl(1) | 119.8(3) |
| O(3)-C(14)-C(3) | 121.10(17) | C(18)-C(19)-Cl(1) | 119.3(3) |
| N(2)-C(14)-C(3) | 115.23(15) | C(19)-C(18)-C(17) | 120.0(3) |
| C(4)-C(3)-C(2) | 119.14(15) | C(19)-C(18)-H(18) | 120.0 |
| C(4)-C(3)-C(14) | 118.25(15) | C(17)-C(18)-H(18) | 120.0 |
| C(2)-C(3)-C(14) | 122.61(16) | C(18)-C(17)-C(16) | 119.7(3) |
| C(3)-C(4)-C(9) | 122.26(16) | C(18)-C(17)-H(17) | 120.1 |
| C(3)-C(4)-H(4) | 118.9 | C(16)-C(17)-H(17) | 120.1 |
| C(9)-C(4)-H(4) | 118.9 | C(21)-C(16)-C(17) | 119.1(3) |
| C(1)-C(9)-C(4) | 118.44(16) | C(21)-C(16)-C(15) | 120.0(3) |
| C(1)-C(9)-C(5) | 116.13(16) | C(17)-C(16)-C(15) | 120.9(3) |
| C(4)-C(9)-C(5) | 125.44(16) | N(1)-C(15)-C(16) | 120.2(3) |
| C(8)-C(1)-O(1) | 116.82(15) | N(1)-C(15)-H(15) | 119.9 |
| C(8)-C(1)-C(9) | 123.55(16) | C(16)-C(15)-H(15) | 119.9 |
| O(1)-C(1)-C(9) | 119.63(15) | O(3)-C(14)-N(2) | 122.5(3) |
| C(1)-C(8)-C(7) | 119.80(17) | O(3)-C(14)-C(3) | 120.7(2) |
| C(1)-C(8)-H(8) | 120.1 | N(2)-C(14)-C(3) | 116.7(2) |
| C(7)-C(8)-H(8) | 120.1 | C(4)-C(3)-C(2) | 119.6(2) |
| N(3)-C(7)-C(6) | 121.48(17) | C(4)-C(3)-C(14) | 117.8(2) |
| N(3)-C(7)-C(8) | 121.46(18) | C(2)-C(3)-C(14) | 122.6(2) |
| C(6)-C(7)-C(8) | 117.03(17) | O(2)-C(2)-O(1) | 114.8(2) |
| N(3)-C(10)-C(11) | 114.7(2) | O(2)-C(2)-C(3) | 127.9(3) |
| N(3)-C(10)-H(10A) | 108.6 | O(1)-C(2)-C(3) | 117.3(2) |
| C(11)-C(10)-H(10A) | 108.6 | C(8)-C(1)-O(1) | 117.1(2) |
| N(3)-C(10)-H(10B) | 108.6 | C(8)-C(1)-C(9) | 123.4(3) |
| C(11)-C(10)-H(10B) | 108.6 | O(1)-C(1)-C(9) | 119.5(2) |
| H(10A)-C(10)-H(10B) | 107.6 | C(1)-C(8)-C(7) | 119.8(3) |
| C(10)-C(11)-H(11A) | 109.5 | C(1)-C(8)-H(8) | 120.1 |
| C(10)-C(11)-H(11B) | 109.5 | C(7)-C(8)-H(8) | 120.1 |
| H(11A)-C(11)-H(11B) | 109.5 | N(3)-C(7)-C(8) | 120.9(3) |
| C(10)-C(11)-H(11C) | 109.5 | N(3)-C(7)-C(6) | 121.5(3) |
| H(11A)-C(11)-H(11C) | 109.5 | C(8)-C(7)-C(6) | 117.7(3) |
| H(11B)-C(11)-H(11C) | 109.5 | C(3)-C(4)-C(9) | 122.0(3) |
| C(12)-C(13)-H(13C) | 109.5 | C(3)-C(4)-H(4) | 119.0 |
| C(12)-C(13)-H(13B) | 109.5 | C(9)-C(4)-H(4) | 119.0 |
| H(13C)-C(13)-H(13B) | 109.5 | C(5)-C(6)-C(7) | 121.0(3) |
| C(12)-C(13)-H(13A) | 109.5 | C(5)-C(6)-H(6) | 119.5 |
| H(13C)-C(13)-H(13A) | 109.5 | C(7)-C(6)-H(6) | 119.5 |

| | | | |
|---------------------|------------|----------------------|-----------|
| H(13B)-C(13)-H(13A) | 109.5 | C(16)-C(21)-C(20) | 120.6(3) |
| C(13)-C(12)-N(3) | 112.3(3) | C(16)-C(21)-H(21) | 119.7 |
| C(13)-C(12)-H(12B) | 109.1 | C(20)-C(21)-H(21) | 119.7 |
| N(3)-C(12)-H(12B) | 109.1 | C(19)-C(20)-C(21) | 119.6(3) |
| C(13)-C(12)-H(12A) | 109.1 | C(19)-C(20)-H(20) | 120.2 |
| N(3)-C(12)-H(12A) | 109.1 | C(21)-C(20)-H(20) | 120.2 |
| H(12B)-C(12)-H(12A) | 107.9 | C(11)-C(10)-N(3) | 111.6(4) |
| C(6)-C(5)-C(9) | 121.69(18) | C(11)-C(10)-H(10B) | 109.3 |
| C(6)-C(5)-H(5) | 119.2 | N(3)-C(10)-H(10B) | 109.3 |
| C(9)-C(5)-H(5) | 119.2 | C(11)-C(10)-H(10A) | 109.3 |
| C(5)-C(6)-C(7) | 121.78(17) | N(3)-C(10)-H(10A) | 109.3 |
| C(5)-C(6)-H(6) | 119.1 | H(10B)-C(10)-H(10A) | 108.0 |
| C(7)-C(6)-H(6) | 119.1 | C(10)-C(11)-H(11B) | 109.5 |
| O(2)-C(2)-O(1) | 114.71(15) | C(10)-C(11)-H(11C) | 109.5 |
| O(2)-C(2)-C(3) | 127.68(16) | H(11B)-C(11)-H(11C) | 109.5 |
| O(1)-C(2)-C(3) | 117.60(15) | C(10)-C(11)-H(11A) | 109.5 |
| C(19)-C(20)-C(21) | 120.2(3) | H(11B)-C(11)-H(11A) | 109.5 |
| C(19)-C(20)-H(20) | 119.9 | H(11C)-C(11)-H(11A) | 109.5 |
| C(21)-C(20)-H(20) | 119.9 | C(13A)-C(12A)-N(3) | 103.5(9) |
| C(16)-C(21)-C(20) | 120.1(2) | C(13A)-C(12A)-H(12A) | 111.1 |
| C(16)-C(21)-H(21) | 119.9 | N(3)-C(12A)-H(12A) | 111.1 |
| C(20)-C(21)-H(21) | 119.9 | C(13A)-C(12A)-H(12B) | 111.1 |
| | | N(3)-C(12A)-H(12B) | 111.1 |
| | | H(12A)-C(12A)-H(12B) | 109.0 |
| | | C(12A)-C(13A)-H(13A) | 109.5 |
| | | C(12A)-C(13A)-H(13B) | 109.5 |
| | | H(13A)-C(13A)-H(13B) | 109.5 |
| | | C(12A)-C(13A)-H(13C) | 109.5 |
| | | H(13A)-C(13A)-H(13C) | 109.5 |
| | | H(13B)-C(13A)-H(13C) | 109.5 |
| | | N(3)-C(12B)-C(13B) | 110.6(11) |
| | | N(3)-C(12B)-H(12C) | 109.5 |
| | | C(13B)-C(12B)-H(12C) | 109.5 |
| | | N(3)-C(12B)-H(12D) | 109.5 |
| | | C(13B)-C(12B)-H(12D) | 109.5 |
| | | H(12C)-C(12B)-H(12D) | 108.1 |
| | | C(12B)-C(13B)-H(13D) | 109.5 |
| | | C(12B)-C(13B)-H(13E) | 109.5 |
| | | H(13D)-C(13B)-H(13E) | 109.5 |
| | | C(12B)-C(13B)-H(13F) | 109.5 |
| | | H(13D)-C(13B)-H(13F) | 109.5 |
| | | H(13E)-C(13B)-H(13F) | 109.5 |

Tabela A4: Ângulos de torção (°) para **C2** e **C3**

| C2 | | C3 | |
|-------------------------|-------------|-------------------------|-----------|
| C(15)-N(1)-N(2)-C(14) | -175.27(16) | C(15)-N(1)-N(2)-C(14) | 178.5(2) |
| C(20)-C(19)-C(18)-C(17) | 0.0(4) | C(1)-C(9)-C(5)-C(6) | 0.8(4) |
| C(19)-C(18)-C(17)-C(16) | 0.6(4) | C(4)-C(9)-C(5)-C(6) | -179.0(3) |
| C(18)-C(17)-C(16)-C(21) | -0.3(3) | C(20)-C(19)-C(18)-C(17) | 1.7(5) |
| C(18)-C(17)-C(16)-C(15) | -179.9(2) | Cl(1)-C(19)-C(18)-C(17) | -179.0(2) |
| N(2)-N(1)-C(15)-C(16) | -179.59(15) | C(19)-C(18)-C(17)-C(16) | 0.4(5) |
| C(21)-C(16)-C(15)-N(1) | -167.70(18) | C(18)-C(17)-C(16)-C(21) | -1.9(4) |
| C(17)-C(16)-C(15)-N(1) | 11.9(3) | C(18)-C(17)-C(16)-C(15) | 177.2(3) |
| N(1)-N(2)-C(14)-O(3) | -2.8(3) | N(2)-N(1)-C(15)-C(16) | -179.6(2) |
| N(1)-N(2)-C(14)-C(3) | 176.55(14) | C(21)-C(16)-C(15)-N(1) | 176.2(3) |
| O(3)-C(14)-C(3)-C(4) | 0.8(3) | C(17)-C(16)-C(15)-N(1) | -3.0(4) |
| N(2)-C(14)-C(3)-C(4) | -178.58(15) | N(1)-N(2)-C(14)-O(3) | -0.7(4) |

| | | | |
|-------------------------|-------------|--------------------------|-----------|
| O(3)-C(14)-C(3)-C(2) | -179.68(17) | N(1)-N(2)-C(14)-C(3) | 178.7(2) |
| N(2)-C(14)-C(3)-C(2) | 1.0(2) | O(3)-C(14)-C(3)-C(4) | 3.3(4) |
| C(2)-C(3)-C(4)-C(9) | -1.6(3) | N(2)-C(14)-C(3)-C(4) | -176.0(2) |
| C(14)-C(3)-C(4)-C(9) | 177.99(15) | O(3)-C(14)-C(3)-C(2) | -178.2(3) |
| C(3)-C(4)-C(9)-C(1) | 0.5(3) | N(2)-C(14)-C(3)-C(2) | 2.5(4) |
| C(3)-C(4)-C(9)-C(5) | -178.93(17) | C(1)-O(1)-C(2)-O(2) | -178.9(2) |
| C(2)-O(1)-C(1)-C(8) | 179.09(17) | C(1)-O(1)-C(2)-C(3) | 0.4(4) |
| C(2)-O(1)-C(1)-C(9) | -0.2(3) | C(4)-C(3)-C(2)-O(2) | 177.5(3) |
| C(4)-C(9)-C(1)-C(8) | -178.85(18) | C(14)-C(3)-C(2)-O(2) | -1.0(5) |
| C(5)-C(9)-C(1)-C(8) | 0.7(3) | C(4)-C(3)-C(2)-O(1) | -1.7(4) |
| C(4)-C(9)-C(1)-O(1) | 0.4(3) | C(14)-C(3)-C(2)-O(1) | 179.8(2) |
| C(5)-C(9)-C(1)-O(1) | 179.89(16) | C(2)-O(1)-C(1)-C(8) | -179.6(3) |
| O(1)-C(1)-C(8)-C(7) | -179.89(17) | C(2)-O(1)-C(1)-C(9) | 1.4(4) |
| C(9)-C(1)-C(8)-C(7) | -0.6(3) | C(5)-C(9)-C(1)-C(8) | -0.6(4) |
| C(10)-N(3)-C(7)-C(6) | 7.4(3) | C(4)-C(9)-C(1)-C(8) | 179.2(3) |
| C(12)-N(3)-C(7)-C(6) | 179.4(2) | C(5)-C(9)-C(1)-O(1) | 178.4(2) |
| C(10)-N(3)-C(7)-C(8) | -174.6(2) | C(4)-C(9)-C(1)-O(1) | -1.9(4) |
| C(12)-N(3)-C(7)-C(8) | -2.5(3) | O(1)-C(1)-C(8)-C(7) | -179.0(3) |
| C(1)-C(8)-C(7)-N(3) | -177.25(19) | C(9)-C(1)-C(8)-C(7) | 0.0(5) |
| C(1)-C(8)-C(7)-C(6) | 0.9(3) | C(12A)-N(3)-C(7)-C(8) | 19.5(7) |
| C(7)-N(3)-C(10)-C(11) | 79.7(3) | C(10)-N(3)-C(7)-C(8) | 177.8(3) |
| C(12)-N(3)-C(10)-C(11) | -92.8(3) | C(12B)-N(3)-C(7)-C(8) | -22.4(9) |
| C(7)-N(3)-C(12)-C(13) | -81.6(3) | C(12A)-N(3)-C(7)-C(6) | -161.2(5) |
| C(10)-N(3)-C(12)-C(13) | 90.9(3) | C(10)-N(3)-C(7)-C(6) | -2.9(5) |
| C(1)-C(9)-C(5)-C(6) | -1.0(3) | C(12B)-N(3)-C(7)-C(6) | 156.8(8) |
| C(4)-C(9)-C(5)-C(6) | 178.45(18) | C(1)-C(8)-C(7)-N(3) | 179.7(3) |
| C(9)-C(5)-C(6)-C(7) | 1.4(3) | C(1)-C(8)-C(7)-C(6) | 0.4(5) |
| N(3)-C(7)-C(6)-C(5) | 176.9(2) | C(2)-C(3)-C(4)-C(9) | 1.2(4) |
| C(8)-C(7)-C(6)-C(5) | -1.3(3) | C(14)-C(3)-C(4)-C(9) | 179.8(2) |
| C(1)-O(1)-C(2)-O(2) | 179.65(16) | C(1)-C(9)-C(4)-C(3) | 0.6(4) |
| C(1)-O(1)-C(2)-C(3) | -0.8(3) | C(5)-C(9)-C(4)-C(3) | -179.7(3) |
| C(4)-C(3)-C(2)-O(2) | -178.87(19) | C(9)-C(5)-C(6)-C(7) | -0.4(5) |
| C(14)-C(3)-C(2)-O(2) | 1.6(3) | N(3)-C(7)-C(6)-C(5) | -179.5(3) |
| C(4)-C(3)-C(2)-O(1) | 1.7(2) | C(8)-C(7)-C(6)-C(5) | -0.3(5) |
| C(14)-C(3)-C(2)-O(1) | -177.85(15) | C(17)-C(16)-C(21)-C(20) | 1.4(5) |
| C(18)-C(19)-C(20)-C(21) | -0.8(4) | C(15)-C(16)-C(21)-C(20) | -177.8(3) |
| C(17)-C(16)-C(21)-C(20) | -0.5(3) | C(18)-C(19)-C(20)-C(21) | -2.2(5) |
| C(15)-C(16)-C(21)-C(20) | 179.1(2) | Cl(1)-C(19)-C(20)-C(21) | 178.4(2) |
| C(19)-C(20)-C(21)-C(16) | 1.0(4) | C(16)-C(21)-C(20)-C(19) | 0.7(5) |
| | | C(7)-N(3)-C(10)-C(11) | 86.6(5) |
| | | C(12A)-N(3)-C(10)-C(11) | -113.8(6) |
| | | C(12B)-N(3)-C(10)-C(11) | -73.9(8) |
| | | C(7)-N(3)-C(12A)-C(13A) | -93.4(7) |
| | | C(10)-N(3)-C(12A)-C(13A) | 106.7(7) |
| | | C(7)-N(3)-C(12B)-C(13B) | 99.1(8) |
| | | C(10)-N(3)-C(12B)-C(13B) | -100.0(8) |

Tabela A5: Geometria das ligações de hidrogênio (Å, °) para C2 e C3

| | <i>D—H...A</i> | <i>D—H</i> | <i>H...A</i> | <i>D...A</i> | <i>D—H...A</i> |
|------------|---------------------------------|------------|--------------|--------------|----------------|
| HL2 | N(2)-H(2)...O(2) | 0.86 | 1.99 | 2.690(19) | 137.3 |
| HL3 | N(2)-H(2)...O(2) | 0.86 | 2.04 | 2.721(3) | 134.9 |
| | C(15)-H(15)...O(2) ⁱ | 0.93 | 2.64 | 3.446(4) | 145 |

Códigos de simetria: (i) $-x+2, -y+2, -z+2$

Tabela A6: Comprimento das ligações (Å) para C2

| | | | | | |
|---------------|------------|---------------|------------|---------------|------------|
| Zn(1A)-O(3A) | 2.111(3) | ZN(1A)-N(1A) | 2.125(4) | Zn(1A)-S(1A) | 2.2196(13) |
| Zn(1A)-S(2A) | 2.2496(11) | Zn(1A)-Cl(2A) | 2.3810(12) | Zn(1A)-Cl(1A) | 2.3963(12) |
| Zn(1B)-O(3B) | 2.111(3) | Zn(1B)-N(1B) | 2.123(3) | Zn(1B)-S(2B) | 2.2237(11) |
| Zn(1B)-S(1B) | 2.2459(11) | Zn(1B)-Cl(2B) | 2.3767(12) | Zn(1B)-Cl(1B) | 2.4117(12) |
| O(1W)-H(1W) | 0.75(7) | O(1W)-H(2W) | 0.92(7) | O(3A)-C(14A) | 1.257(5) |
| O(1A)-C(2A) | 1.374(5) | O(1A)-C(1A) | 1.379(5) | O(2A)-C(2A) | 1.225(5) |
| O(3B)-C(14B) | 1.245(5) | O(2B)-C(2B) | 1.218(5) | O(1B)-C(2B) | 1.376(5) |
| O(1B)-C(1B) | 1.383(5) | N(3A)-C(7A) | 1.348(6) | N(3A)-C(10A) | 1.463(6) |
| N(3A)-C(12A) | 1.475(6) | N(2A)-C(14A) | 1.343(6) | N(2A)-N(1A) | 1.392(5) |
| N(2A)-H(2A) | 0.8800 | N(3B)-C(6B) | 1.353(6) | N(3B)-C(10B) | 1.456(6) |
| N(3B)-C(12B) | 1.465(6) | N(2B)-C(14B) | 1.347(5) | N(2B)-N(1B) | 1.394(5) |
| N(2B)-H(2B) | 0.8800 | N(1B)-C(15B) | 1.283(5) | C(23A)-H(23A) | 0.9800 |
| C(23A)-H(23B) | 0.9800 | C(23A)-H(23C) | 0.9800 | C(22A)-H(22A) | 0.9800 |
| C(22A)-H(22B) | 0.9800 | C(22A)-H(22C) | 0.9800 | C(14A)-C(3A) | 1.454(6) |
| C(3A)-C(4A) | 1.375(6) | C(3A)-C(2A) | 1.441(6) | C(1A)-C(8A) | 1.358(6) |
| C(1A)-C(9A) | 1.412(6) | C(9A)-C(4A) | 1.389(6) | C(9A)-C(5A) | 1.425(6) |
| C(4A)-H(4A) | 0.9500 | C(5A)-C(6A) | 1.348(7) | C(5A)-H(5A) | 0.9500 |
| C(6A)-C(7A) | 1.431(6) | C(6A)-H(6A) | 0.9500 | C(7A)-C(8A) | 1.410(6) |
| C(10A)-C(11A) | 1.517(7) | C(10A)-H(10A) | 0.9900 | C(10A)-H(10B) | 0.9900 |
| C(11A)-H(11A) | 0.9800 | C(11A)-H(11B) | 0.9800 | C(11A)-H(11C) | 0.9800 |
| C(12A)-C(13A) | 1.508(8) | C(12A)-H(12A) | 0.9900 | C(12A)-H(12B) | 0.9900 |
| C(13A)-H(13A) | 0.9800 | C(13A)-H(13B) | 0.9800 | C(13A)-H(13C) | 0.9800 |
| C(8A)-H(8A) | 0.9500 | N(1A)-C(15A) | 1.286(6) | C(15A)-C(16A) | 1.473(6) |
| C(15A)-H(15A) | 0.9500 | C(16A)-C(17A) | 1.389(7) | C(16A)-C(21A) | 1.393(7) |
| C(21A)-C(20A) | 1.391(7) | C(21A)-H(21A) | 0.9500 | C(20A)-C(19A) | 1.362(9) |
| C(20A)-H(20A) | 0.9500 | C(19A)-C(18A) | 1.387(10) | C(19A)-H(19A) | 0.9500 |
| C(18A)-C(17A) | 1.378(8) | C(18A)-H(18A) | 0.9500 | C(17A)-H(17A) | 0.9500 |
| C(25A)-H(25A) | 0.9800 | C(25A)-H(25B) | 0.9800 | C(25A)-H(25C) | 0.9800 |
| C(24A)-H(24A) | 0.9800 | C(24A)-H(24B) | 0.9800 | C(24A)-H(24C) | 0.9800 |
| C(14B)-C(3B) | 1.466(6) | C(3B)-C(4B) | 1.376(6) | C(3B)-C(2B) | 1.440(6) |
| C(1B)-C(5B) | 1.365(6) | C(1B)-C(9B) | 1.408(6) | C(5B)-C(6B) | 1.416(6) |
| C(5B)-H(5B) | 0.9500 | C(6B)-C(7B) | 1.439(6) | C(7B)-C(8B) | 1.358(6) |
| C(7B)-H(7B) | 0.9500 | C(8B)-C(9B) | 1.416(6) | C(8B)-H(8B) | 0.9500 |
| C(9B)-C(4B) | 1.394(6) | C(4B)-H(4B) | 0.9500 | C(12B)-C(13B) | 1.515(8) |
| C(12B)-H(12C) | 0.9900 | C(12B)-H(12D) | 0.9900 | C(13B)-H(13D) | 0.9800 |
| C(13B)-H(13E) | 0.9800 | C(13B)-H(13F) | 0.9800 | C(10B)-C(38) | 1.506(8) |
| C(10B)-H(10C) | 0.9900 | C(10B)-H(10D) | 0.9900 | C(38)-H(38A) | 0.9800 |
| C(38)-H(38B) | 0.9800 | C(38)-H(38C) | 0.9800 | C(15B)-C(16B) | 1.472(6) |
| C(15B)-H(15B) | 0.9500 | C(16B)-C(21B) | 1.395(7) | C(16B)-C(17B) | 1.400(7) |
| C(17B)-C(18B) | 1.397(7) | C(17B)-H(17B) | 0.9500 | C(18B)-C(19B) | 1.373(8) |
| C(18B)-H(18B) | 0.9500 | C(19B)-C(20B) | 1.373(8) | C(19B)-H(19B) | 0.9500 |
| C(20B)-C(21B) | 1.380(7) | C(20B)-H(20B) | 0.9500 | C(21B)-H(21B) | 0.9500 |
| C(25B)-H(25D) | 0.9800 | C(25B)-H(25E) | 0.9800 | C(25B)-H(25F) | 0.9800 |
| C(24B)-H(24D) | 0.9800 | C(24B)-H(24E) | 0.9800 | C(24B)-H(24F) | 0.9800 |
| C(22B)-H(22D) | 0.9800 | C(22B)-H(22E) | 0.9800 | C(22B)-H(22F) | 0.9800 |
| C(23B)-H(23D) | 0.9800 | C(23B)-H(23E) | 0.9800 | C(23B)-H(23F) | 0.9800 |
| Cl(4)-C(1) | 1.714(11) | Cl(3)-C(1) | 1.610(12) | | |
| C(1)-H(1B) | 0.9900 | C(1)-H(1A) | 0.9900 | | |