

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA - PPGQ**

**Giovani Lindolfo da Silva**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
LEISHMANICIDA DE COMPLEXOS DE Ru(III), Pt(II) e Cu(II) COM  
TRIMETOPRIMA**

**Alfenas/MG**

**2020**

**Giovani Lindolfo da Silva**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE  
LEISHMANICIDA DE COMPLEXOS DE Ru(III), Pt(II) e Cu(II) COM  
TRIMETOPRIMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto

Coorientadora: Dra. Marília Imaculada Frazão Barbosa

**Alfenas/MG**

**2020**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central – Campus Sede

Silva, Giovani Lindolfo da  
S586s Síntese, caracterização e avaliação da atividade leishmanicida  
de complexos de Ru(III), Pt(II) e Cu(II) com trimetoprima / Giovani  
Lindolfo da Silva – Alfenas, MG, 2020.  
77 f.: il. –

Orientador: Antônio Carlos Doriguetto.  
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de  
Alfenas, 2020.  
Bibliografia.

1. Trimetoprima. 2. Rutênio (III). 3. Cobre (II). 4. Platina (II).  
5. Doriguetto, Antônio Carlos. II. Título.

CDD- 546

Ficha Catalográfica elaborada por Marlom Cesar da Silva  
Bibliotecário-Documentalista CRB6/2735

## GIOVANI LINDOLFO SILVA

“SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA DE COMPLEXOS DE Ru(III), Pt(II) e Cu(II) COM TRIMETOPRIMA”

A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovado em: 11/02/2020

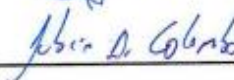
Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto - UNIFAL

Assinatura:



Prof. Dr. Fabio Antônio Colombo - UNIFAL

Assinatura:



Profa. Dra. Maria Vanda Marinho - UNIFAL

Assinatura:



Dedico a Deus, meu Criador, à minha família, em especial meus pais, Divina e Osvaldo e meus amigos por todo apoio e suporte em todos os momentos desta caminhada.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pois somente por sua vontade e permissão consegui alcançar mais esta vitória.

Aos meus queridos pais, Osvaldo e Divina. Obrigado por todo o cuidado e dedicação, por fazerem, indiretamente, meus sonhos se realizarem. Obrigado por todo carinho, amor e companheirismo. Vocês foram responsáveis por eu chegar até aqui e eu agradeço de todo coração. Amo muito vocês!

Aos meus amigos que sempre estiveram presentes, por todo companheirismo e amizade durante este tempo. Obrigado pela força e por estarem presentes em toda esta caminhada. Em especial, a minha amiga Maria Eduarda Souza pelo convívio, companheirismo e incentivo.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto pela oportunidade de realização deste trabalho, confiança, orientação e paciência.

À minha querida coorientadora Dra. Marília I. Frazão Barbosa pela amizade e dedicação em todo este tempo. Obrigado por me ensinar os caminhos da pesquisa e por contribuir para meu aprendizado.

Aos meus amigos do grupo de pesquisa, por toda ajuda, carinho e convívio nesses quase três anos. Em especial a Júlia Scaff e Henrique Vieira, por todo o apoio, auxílio e paciência, obrigado amigos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

A todos aqueles que torceram por mim e de alguma forma tornaram possível a realização deste trabalho

*“Seja Ele o motivo do seu louvor, pois Ele é o seu Deus, que por vocês fez aquelas grandes e temíveis maravilhas que vocês viram com os próprios olhos.” Deuteronômio 10:21.*

## RESUMO

A leishmaniose é uma doença parasitária causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que tem opções de tratamento muito limitadas e afeta populações pobres e subdesenvolvidas. O tratamento atual é atormentado por muitas complicações, como alta toxicidade, alto custo e resistência a parasitas; portanto, novos agentes terapêuticos são urgentemente necessários. Aqui, a síntese, caracterização e potencial leishmanicida in vitro de novos complexos com a fórmula geral  $[\text{RuCl}_3(\text{TMP})(\text{dppb})]$  (1),  $[\text{PtCl}(\text{TMP})(\text{PPh}_3)_2]\text{PF}_6$  (2) e  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2(\text{TMP})_2] \cdot \text{DMF}$  (3) (dppb = 1,4-bis(diphenylphosphino)butano,  $\text{PPh}_3$  = triphenylphosphine e TMP = trimetoprim) foram avaliados. Os complexos foram caracterizados por infravermelho, UV-vis, voltametria cíclica, medições de condução molar, análise elementar e experimentos de RMN. Além disso, a geometria de (2) e (3) foram determinadas por difração de raios-X de monocristal. Apesar de ser menos potente contra a proliferação de promastigote *L. amazonensis* do que o medicamento de referência amphotericina B ( $\text{IC}_{50} = 0,09 \pm 0,02 \mu\text{M}$ ), o complexo (2) ( $\text{IC}_{50} = 3,6 \pm 1,5 \mu\text{M}$ ) foi várias vezes menos citotóxico ( $\text{CC}_{50} = 17,8 \mu\text{M}$ ,  $\text{SI} = 4,9$ ) em comparação com a amphotericina B ( $\text{CC}_{50} = 3,3 \mu\text{M}$ ,  $\text{SI} = 36,6$ ) e controle violeta gentio ( $\text{CC}_{50} = 0,8 \mu\text{M}$ ). Além disso, o complexo (2) inibiu a infecção por macrófagos J774 e o número de amastigotos por macrófagos ( $\text{IC}_{50} = 6,6$  e  $\text{SI} = 2,7$ ). Surpreendentemente, o complexo (2) demonstrou ser um candidato promissor para um novo agente terapêutico leishmanicida, considerando seu poder biológico combinado com baixa toxicidade.

**Palavras-Chave:** Trimetoprima. Rutênio (III). Cobre (II). Platina (II). Atividade Leishmanicida. Seletividade.

## ABSTRACT

Leishmaniasis is a parasitic disease caused by protozoa of the genus *Leishmania*, which has very limited treatment options and affects poor and underdeveloped populations. The current treatment is plagued by many complications, such as high toxicity, high cost and resistance to parasites; therefore, novel therapeutic agents are urgently needed. Herein, the synthesis, characterization and in vitro leishmanicidal potential of new complexes with the general formula  $[\text{RuCl}_3(\text{TMP})(\text{dppb})]$  (1),  $[\text{PtCl}(\text{TMP})(\text{PPh}_3)_2]\text{PF}_6$  (2) and  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2(\text{TMP})_2]\cdot\text{DMF}$  (3) (dppb = 1,4-bis(diphenylphosphino)butane,  $\text{PPh}_3$  = triphenylphosphine and TMP = trimethoprim) were evaluated. The complexes were characterized by infrared, UV-vis, cyclic voltammetry, molar conductance measurements, elemental analysis and NMR experiments. Also, the geometry of (2) and (3) were determined by single crystal X-ray diffraction. Despite being less potent against promastigote *L. amazonensis* proliferation than amphotericin B reference drug ( $\text{IC}_{50} = 0.09 \pm 0.02 \mu\text{M}$ ), complex (2) ( $\text{IC}_{50} = 3.6 \pm 1.5 \mu\text{M}$ ) was several times less cytotoxic ( $\text{CC}_{50} = 17.8 \mu\text{M}$ ,  $\text{SI} = 4.9$ ) in comparison with amphotericin B ( $\text{CC}_{50} = 3.3 \mu\text{M}$ ,  $\text{SI} = 36.6$ ) and gentian violet control ( $\text{CC}_{50} = 0.8 \mu\text{M}$ ). Additionally, complex (2) inhibited J774 macrophage infection and amastigote number by macrophages ( $\text{IC}_{50} = 6.6$  and  $\text{SI} = 2.7$ ). Outstandingly, complex (2) was shown to be a promising candidate for a new leishmanicidal therapeutic agent, considering its biological power combined with low toxicity.

**Keywords:** Trimethoprim. Ruthenium (III). Copper (II) and Platinum (II). Leishmanicidal activity. Selectivity

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Medicamentos utilizados no tratamento da malária: .....	19
<b>Figura 2</b> - Medicamentos antimaláricos .....	20
<b>Figura 3</b> - Mecanismo proposto para a formação da hemozoína. ....	21
<b>Figura 4</b> - Inibidores do ácido Fólico .....	22
<b>Figura 5</b> - Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose .....	23
<b>Figura 6</b> - Estruturas dos fármacos: a) Nifurtimox e b) Benzonidazol. ....	24
<b>Figura 7</b> - Complexos de rutênio (III) e ouro (I) testados como antimaláricos e valores de $IC_{50}$ na linhagem 3D7 <i>P. Falciparum</i> .....	26
<b>Figura 8</b> - Estruturas químicas dos complexos obtidos de Ru (III) e Ir (III) com a cloroquina.....	27
<b>Figura 9</b> - Estruturas: A) Ferroquina e B) Cloroquina. ....	27
<b>Figura 10</b> - Estruturas químicas da rutenoquina e ferroquina. ....	28
<b>Figura 11</b> - Representação da reação de Fenton.....	28
<b>Figura 12</b> - Estrutura proposta para o complexo de Cu(II) $Cu_2(\mu-7atp)4(H_2O)_2(NO_3)_4 \cdot H_2O$	29
<b>Figura 13</b> - Estrutura do ligante trimetoprima (TMP).....	30
<b>Figura 14</b> - (a) Trimetoprima coordenada pelos grupos $NH_2$ ( $M = Cu(II), Zn(II), Pt(II), Ru(III)$ e $Fe(III)$ ) (b) Trimetoprima coordenada pelo átomo de nitrogênio do anel pirimidínico.....	31
<b>Figura 15</b> - Estruturas propostas para os complexos $[RuCl_3(TMP)(dppb)]$ (1), $[PtCl(TMP)(PPh_3)_2]PF_6$ (2) e $[Cu(CH_3COO)_2(TMP)_2] \cdot DMF$ (3) .....	42
<b>Figura 16</b> - Espectro de infravermelho da TMP.....	44
<b>Figura 17</b> - Espectro de infravermelho do complexo (1). ....	45
<b>Figura 18</b> - Espectro de infravermelho do complexo (2). ....	46
<b>Figura 19</b> - Espectro de infravermelho do complexo (3). ....	47
<b>Figura 20</b> - Zoom dos Espectros de infravermelho (Figuras 16 e 19) na faixa espectral de $1900-800\text{ cm}^{-1}$ .....	48
<b>Figura 21</b> - Disco de cores. ....	49
<b>Figura 22</b> - Espectro de UV-vis do ligante TMP, em diclorometano. ....	50
<b>Figura 23</b> - Espectros de UV-vis dos complexos (1-3), em diclorometano. ....	50
<b>Figura 23</b> - Espectros de UV-vis dos complexos (1-3), em diclorometano .....	51
<b>Figura 24</b> - Espectro de RMN de $^{31}P\{^1H\}$ para o complexo (2) em $CH_2Cl_2$ .....	53
<b>Figura 25</b> - Espectro de RMN $^1H$ da TMP em DMSO-d <sub>6</sub> .....	54

<b>Figura 26</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da TMP em DMSO-d <sub>6</sub> .....	54
<b>Figura 27</b> - Espectro de RMN $^1\text{H}$ do complexo (2) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	55
<b>Figura 28</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo (2) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	55
<b>Figura 29</b> - Ligante trimetoprima. ....	56
<b>Figura 30</b> - Voltametria cíclica de ligante TMP.....	57
<b>Figura 31</b> - Voltametria cíclica dos complexos sintetizados.....	58
<b>Figura 32</b> - Representação elipsoide da estrutura de (2) com marcação arbitrária de átomos.	61
<b>Figura 33</b> - Representação elipsoide da estrutura do complexo (3) com marcação arbitrária de átomos.....	63
<b>Figura 34</b> - Empacotamento parcial de (3) mostrando a cadeia supramolecular ao longo da direção estabilizada por ligações de hidrogênio.....	64
<b>Figura 35</b> - Espectros UV-vis dos complexos (1) e (3) em DMEM (A) e DMSO (B), no intervalo de 0, 24 e 48 horas.....	66
<b>Figura 36</b> - RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos (2) em DMEM e DMSO, no intervalo de t= 0, 24 e 48 horas.....	67
<b>Figure 37</b> - Efeitos do complexo (2) e TMP nos amastigotas intracelulares de <i>L. amazonensis</i> .....	69

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Valores de IC <sub>50</sub> na linhagem 3D7 <i>P. falciparum</i> . .....	26
<b>Tabela 2</b> - Complexos reportados na literatura com a trimetoprima e derivados.....	32
<b>Tabela 3</b> - Ligantes utilizados .....	35
<b>Tabela 4</b> - Dados de análise elementar para os complexos (1-3). .....	43
<b>Tabela 5</b> - Erros porcentuais relativos às análises dos complexos (1-3). .....	43
<b>Tabela 6</b> - Principais bandas de IR (cm <sup>-1</sup> ) atribuídas a TMP e aos complexos 1-3.....	45
<b>Tabela 7</b> - Tentativas de atribuição e coeficiente de absorvidade molar dos complexos com o ligante TMT.....	52
<b>Tabela 8</b> - Deslocamentos químicos dos espectros de RMN <sup>1</sup> H da TMP e do complexo (2) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	56
<b>Tabela 9</b> - Deslocamentos químicos dos espectros de <sup>13</sup> C RMN da TMP e do complexo (2) em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	57
<b>Tabela 10</b> - Condutividade molar dos compostos (1-3). .....	59
<b>Tabela 11</b> - Principais informações cristalográficas dos complexos (2) e (3).....	60
<b>Tabela 12</b> - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para complexo (2).....	62
<b>Tabela 13</b> - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para complexo (3).....	63
<b>Tabela 14</b> - Ligações clássicas de hidrogênio para (3) (Å e °).....	64
<b>Tabela 15</b> - Citotoxicidade de células antiparasitárias e de células hospedeiras .....	68

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>d</b>	- Dupleto
<b>dppb</b>	- 1,4-bis(difenilfosfina)butano
<b>DMEM</b>	- Meio Eagle modificado por Dulbecco
<b>DMF</b>	- Dimetilformamida
<b>DRXM</b>	- Difração de raios X por monocristal
<b><math>E_{ox}</math></b>	- Potencial de oxidação ou anódico
<b><math>E_{red}</math></b>	- Potencial de redução ou catódico
<b>IV</b>	- Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
<b>J</b>	- Constante de acoplamento
<b>K</b>	- Kelvin
<b>PF<sub>6</sub></b>	- Hexafluorofosfato
<b>PPh<sub>3</sub></b>	- Trifenilfosfina
<b>PTBA</b>	- Perclorato de tetrabutilamônio
<b>RMN - <sup>13</sup>C</b>	- Ressonância magnética nuclear de carbono
<b>RMN - <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}</b>	- Ressonância magnética nuclear de fósforo desacoplado do hidrogênio
<b>RMN- <sup>1</sup>H</b>	- Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
<b>s</b>	- Singleto
<b>TCLM</b>	- Transição de carga ligante-metal
<b>TCML</b>	- Transição de carga metal-ligante
<b>TMP</b>	- Trimetoprima
<b>TMZ</b>	- Temozolomida
<b>UV-vis</b>	- Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível
<b>VC</b>	- Voltametria cíclica

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
2.1	MALÁRIA.....	18
2.2	LEISHMANIOSE.....	22
2.3	DOENÇA DE CHAGAS .....	24
2.4	COMPLEXOS METÁLICOS E DOENÇAS PARASITÁRIAS .....	25
2.5	TRIMETOPRIMA .....	30
<b>2.5.1</b>	<b>Complexos de trimetoprima</b> .....	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>33</b>
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>34</b>
4.1	OBTENÇÃO DA ATMOSFERA INERTE: ARGÔNIO.....	34
4.2	SOLVENTES, REAGENTES E LIGANTES .....	34
4.3	SÍNTESE DOS COMPLEXOS PRECURSORES E NOVOS DERIVADOS .....	35
<b>4.3.1</b>	<b>[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]</b> .....	<b>35</b>
<b>4.3.2</b>	<b>[Ru<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>(dppb)<sub>3</sub>]</b> .....	<b>36</b>
<b>4.3.3</b>	<b><i>mer</i>-[RuCl<sub>3</sub>(dppb) (H<sub>2</sub>O)]</b> .....	<b>36</b>
4.4	SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO, PLATINA E COBRE COM TRIMETOPRIMA .....	36
<b>4.4.1</b>	<b>[RuCl<sub>3</sub>(TMP)(dppb)]PF<sub>6</sub> (1)</b> .....	<b>36</b>
<b>4.4.2</b>	<b>[PtCl(TMP)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (2)</b> .....	<b>37</b>
<b>4.4.3</b>	<b>[Cu(CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>)<sub>2</sub>(TMP)<sub>2</sub>] (3)</b> .....	<b>37</b>
4.5	INSTRUMENTAÇÃO.....	37
<b>4.5.1</b>	<b>Análise elementar</b> .....	<b>37</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Difração de Raios X por monocristal (DRXM)</b> .....	<b>38</b>
<b>4.5.3</b>	<b>Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível</b> .....	<b>39</b>
<b>4.5.4</b>	<b>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho</b> .....	<b>39</b>
<b>4.5.5</b>	<b>Estudos de Condutividade</b> .....	<b>39</b>
<b>4.5.6</b>	<b>Ressonância Magnética Nuclear</b> .....	<b>39</b>
<b>4.5.7</b>	<b>Medidas Eletroquímicas</b> .....	<b>40</b>
4.6	TESTES BIOLÓGICOS .....	40
<b>4.6.1</b>	<b>Ensaio de viabilidade de promastigotas de Leishmania amazonenses</b> .....	<b>40</b>

<b>4.6.2</b>	<b>Ensaio da Citotoxicidade .....</b>	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
5.1	ANÁLISE ELEMENTAR.....	43
5.2	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	43
5.3	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL (UV-VIS) .....	48
5.4	ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ .....	53
5.5	VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC) .....	57
5.5	MEDIDAS DE CONDUTIVIDADE.....	59
5.6	DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR MONOCRISTAL (DRXM) .....	59
5.7	TESTES BIOLÓGICOS .....	65
<b>5.7.1</b>	<b>Estudo da Estabilidade.....</b>	<b>65</b>
<b>5.7.2</b>	<b>Atividade leishmanicida.....</b>	<b>67</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>70</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>71</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As Doenças tropicais negligenciadas (DTNs) consistem em um grupo de 17 doenças ocasionadas principalmente por parasitas que afetam mais de um bilhão de pessoas em 149 países em todo o mundo (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2016). Elas constituem um problema que atinge particularmente regiões tropicais e subtropicais, desencadeando um grande impacto social, econômico e sanitário (ANDREWS, *et al.*, 2014).

Muitos trabalhos científicos engajados na busca de novos fármacos para estas enfermidades são apresentados, porém destes resultados não conseguem se reverter em novas ferramentas terapêuticas acessíveis, uma vez que as pessoas atingidas por estas enfermidades apresentam baixo poder aquisitivo. Por outro lado, os governos dos países cujas populações têm sido afetadas, não têm sido sensibilizados para resolver, ou amenizar, o problema da população em questão (DNDI, 2014).

Os medicamentos para essas doenças proporcionam lucros econômicos muito baixos, por isso não atraem a pesquisa farmacêutica. De fato, estatísticas sobre a produção de medicamentos pela indústria farmacêutica mostram que algumas empresas estão instaladas em sua totalidade nos países desenvolvidos. Os maiores produtores mundiais de medicamentos são os países da América do Norte (50%), Europa (24%) e Japão (13%) (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2016). Toda a América Latina é responsável por apenas 5% dos medicamentos produzidos e comercializados no mundo. Ainda assim esta produção, em geral, é realizada com insumos importados (DNDI, 2014).

No entanto, devido ao fenômeno da mobilidade populacional, as doenças tropicais negligenciadas que eram predominantes em países de baixa renda passaram a se estender por países da América do Norte, fato que contribuiu para um melhor sistema de vigilância mundial, desencadeando também um crescimento significativo no financiamento para descoberta de novos medicamentos (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2016).

A maioria dos tratamentos disponíveis para estas doenças têm pelo menos 40 anos e são caracterizados por alta toxicidade e eficácia limitada compreendendo: antimoniais pentavalentes e trivalentes, anfotericina B ou pentamidina para leishmaniose e derivados azólicos ou nitro (benzonidazol ou nifurtimox) para doença de Chagas (FERREIRA, *et al.*, 2016). Além disso, o surgimento de cepas resistentes aos tratamentos atuais ilustra claramente a necessidade no desenvolvimento de medicamentos novos e eficazes para o tratamento de infecções por tripanossomatídeos (FERREIRA, *et al.*, 2003).

Uma das linhas de pesquisa mais interessantes no desenvolvimento de novos

medicamentos para o tratamento de infecções causadas por tripanossomatídeos é o uso de complexos metálicos. Diante do sucesso alcançado pela cisplatina no tratamento do câncer, muitos complexos metálicos estão sendo avaliados frente a uma gama de enfermidades, com grande destaque para aplicação dos mesmos frente as doenças negligenciadas, com intuito de se obter fármacos mais promissores, eficientes e menos tóxicos, fato este, que leva ao abandono do tratamento por muitos pacientes (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2016; MONZOTE, *et al.*, 2007).

Complexos com a trimetoprima tem sido objeto de interesse em novos estudos, devido ser um fármaco que possui atividade antimicrobiana de amplo espectro, bem como atividade antiparasitária (AJIBADE, IDEMUDIA, 2013; RASHID, *et al.*, 2016). Estudos sobre a interação do ligante trimetoprima com íons metálicos têm recebido atenção, como os complexos de Co (II), Cu (II), Rh (II) e Cd (II). No complexo  $[2NiCl_2 TMP]$  a coordenação ocorre entre Ni (II) e um dos grupos  $NH_2$  do anel pirimidínico, fato que contribui para altos potenciais como agentes quimioterápicos no manejo das doenças negligenciadas (AJIBADE *et al.*, 2006).

Motivado por esta área promissora da Química Inorgânica o presente trabalho teve como meta a síntese, a caracterização e a avaliação antiparasitária de complexos de rutênio (III), platina (II) e cobre (II) com a trimetoprima. Em específico, teve como objetivos a síntese e caracterização de complexos ativos inéditos, candidatos a fármacos para o tratamento de doenças negligenciadas como a Leishmaniose.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A revisão bibliográfica relata sobre as doenças negligenciadas malária, leishmaniose e doença de Chagas, bem como sobre o ligante trimetoprima. Também, ressalta a relevante Química de coordenação do rutênio (III), platina (II) e cobre (II) com a trimetoprima e o potencial uso de metalofármacos no tratamento de doenças negligenciadas.

### 2.1 MALÁRIA

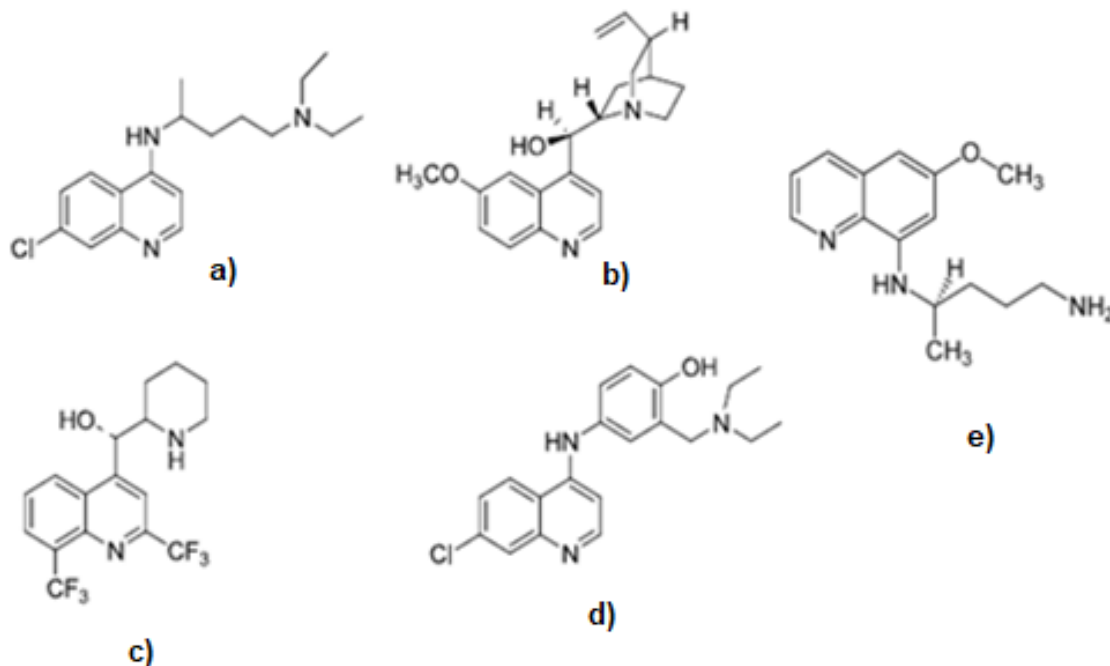
A malária é uma doença infecciosa que causa cerca de 216 milhões de casos clínicos e 445.000 mortes a cada ano em todo o mundo (OMS, 2016) e especialmente na África, com 63 milhões de casos de infecção e 665.000 a 1,2 milhões de mortes anualmente (OMS, 2016). A malária é causada por um protozoário do gênero *Plasmodium* e transmitida pela picada do mosquito fêmea do gênero *Anopheles*. Atualmente são conhecidas cerca de 150 espécies causadoras da malária em diferentes hospedeiros vertebrados, das quais apenas quatro parasitam o homem: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. vivax*. O *P. vivax* é o mais amplamente distribuído nas zonas tropicais e subtropicais do globo enquanto o *P. falciparum* causa maior morbidade e mortalidade, além de apresentar crescente resistência à cloroquinina e a outros fármacos (OMS, 2016).

Na década de 50 havia aproximadamente 250 milhões de casos de malária. A OMS decidiu lançar um programa de erradicação da malária nas regiões endêmicas, através do desenvolvimento de potentes inseticidas, como o diclorodifeniltricloetano (DDT), e / ou de fármacos antimaláricos sintéticos. Estes programas contribuíram para que em meados da década de 70, o risco da doença tivesse diminuído cerca de 50% em áreas de risco, aumentando a expectativa de vida média das populações afetadas (OMS, 2016).

No início da década de 80 a situação voltou a agravar-se, tendo o parasita ressurgido em zonas onde havia estado praticamente extinto, levando a um aumento progressivo no número de casos clínicos em quase todo o mundo, com exceção da Europa e América do Norte. Os motivos para o ressurgimento da doença foram inúmeros, entre as quais fatores econômicos que levaram à redução das medidas de controle adotadas e biológicos específicos, como o desenvolvimento de resistência pelo mosquito aos inseticidas e pelos plasmódios aos fármacos antimaláricos. Atualmente, a malária está presente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta (OMS, 2016).

Os medicamentos mais eficazes no tratamento e em contínuo uso nos dias de hoje são os que possuem em sua estrutura um grupo quinolínico, sendo: cloroquina, quinina, mefloquina, amodiaquina e primaquina (Figura 1) (MARQUES, *et al.*, 2001).

**Figura 1** - Medicamentos utilizados no tratamento da malária: a) cloroquina, b) quinina, c) mefloquina, d) amodiaquina e e) primaquina.

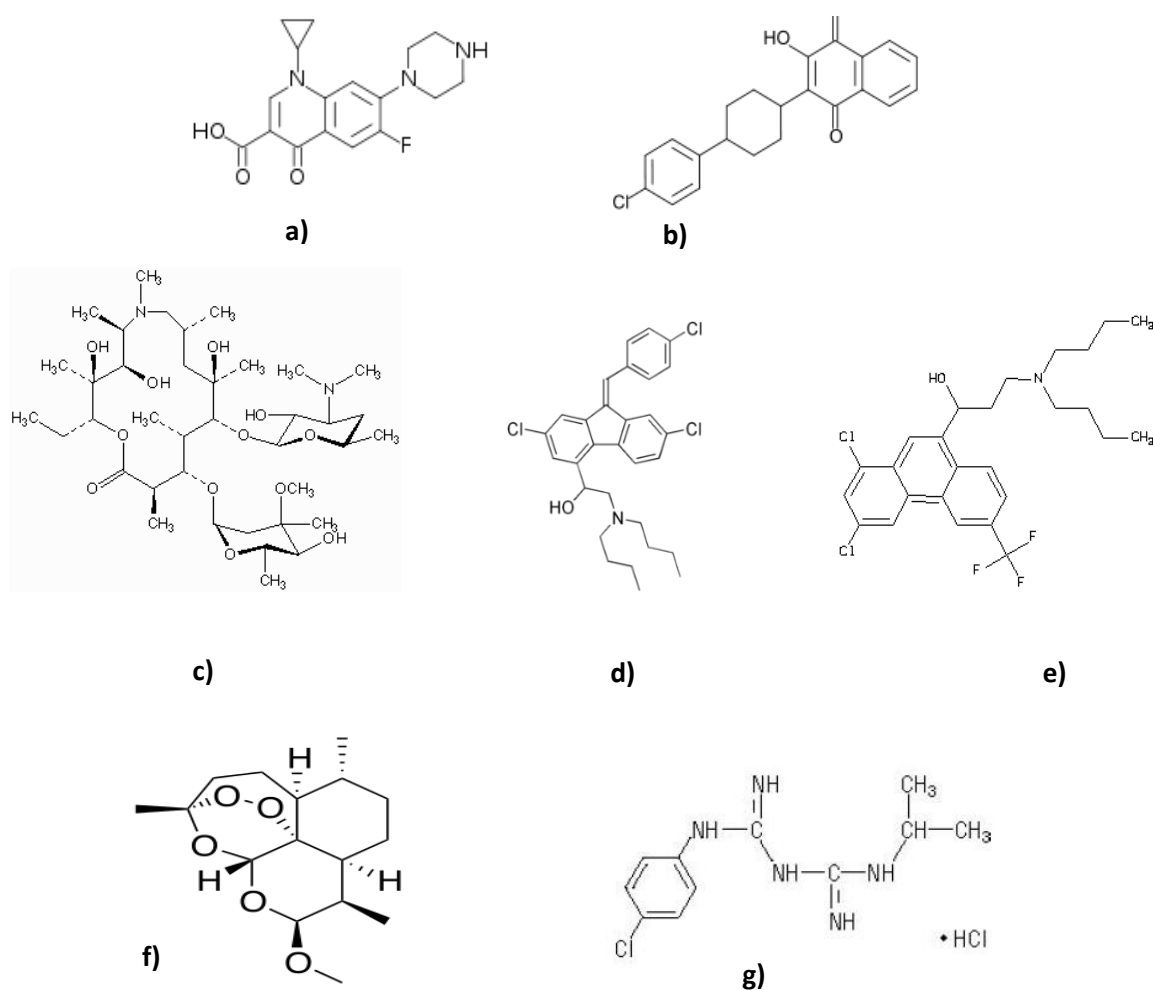


**Fonte:** Adaptação da referência (MARQUES, *et al.*, 2001)

O tratamento da malária é muito complexo, uma vez que dificilmente apenas um medicamento é utilizado. Desta maneira, há necessidade de novos medicamentos mais eficientes no tratamento da malária, pois é crescente o grau de resistência apresentado pelos parasitos aos medicamentos atualmente disponíveis. Na Figura 2 estão dispostos alguns medicamentos atualmente utilizados no tratamento da malária como as novas quinolonas e a azitromicina que são eficazes contra os parasitos.

A halofantrina, apesar de não utilizada no Brasil, tem se mostrado eficaz no tratamento da malária falcípara em algumas regiões do mundo. O lumefantrine é usado exclusivamente em combinação com o artemer, mas experiências realizadas com estes medicamentos são ainda limitadas. O atovaquone parece eficaz quando associado ao proguanil, entretanto além de não estarem disponíveis no Brasil, muitos desses medicamentos apresentam um custo bastante elevado (HENRY, *et al.*, 2006).

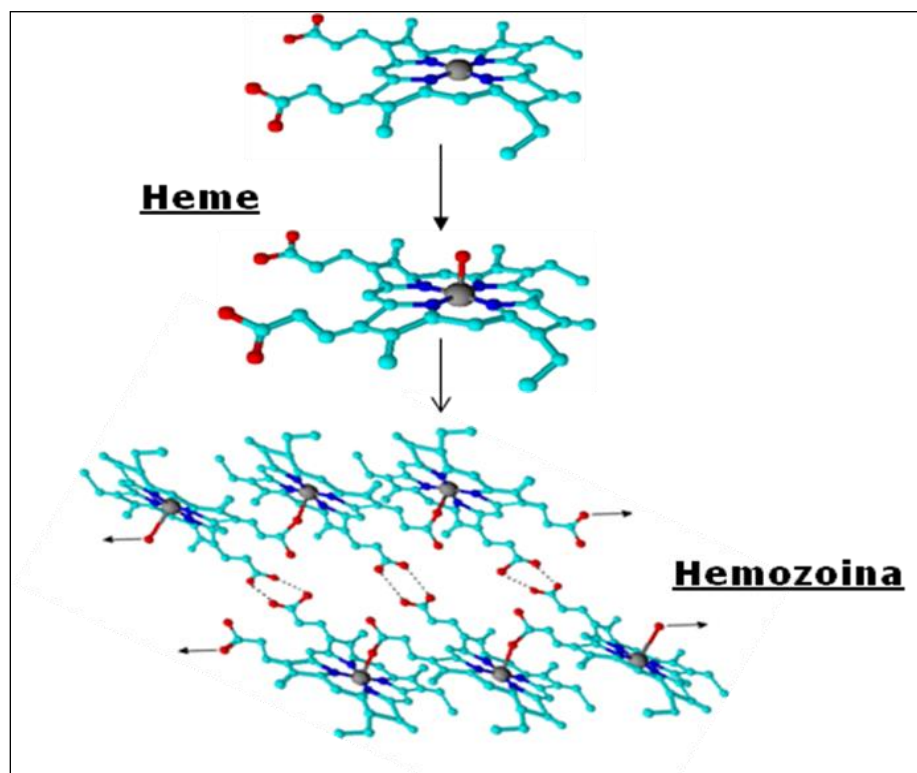
**Figura 2 - Medicamentos antimaláricos:** a) ciprofloxacina, b) atovaquone, c) azitromicina, d) halofantrina, e) lumefantrina, f) artemer e g) proguanil



**Fonte:** Adaptação da referência (HENRY, *et al.*, 2006)

Os fármacos em uso clínico atuam em diferentes etapas de replicação do parasita, porém a maioria age inibindo a produção da hemozoína ou inibindo a síntese do ácido fólico (RAYNES, 1999). É proposto que a alta atividade observada para estes compostos se deve a capacidade destes se acumularem no vacúolo digestivo do parasito (SULLIVAN, *et al.*, 1998). Vários experimentos *in vitro* estabeleceram que fármacos antimaláricos quinolônicos são capazes de agir por interferência na cristalização da hemozoína (SULLIVAN, *et al.*, 1998). Durante este processo, que ocorre dentro do vacúolo digestivo do parasita, ocorre a liberação do grupo heme ou ferriprotoporfirina IX Fe (III) que é tóxico ao parasita, devido à sua capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio. Para evitar sua toxicidade a ferriprotoporfirina é agregada pelo parasita em um pigmento cristalino, insolúvel e não tóxico, chamado hemozoína (Figura 3) (RAYNES, 1999).

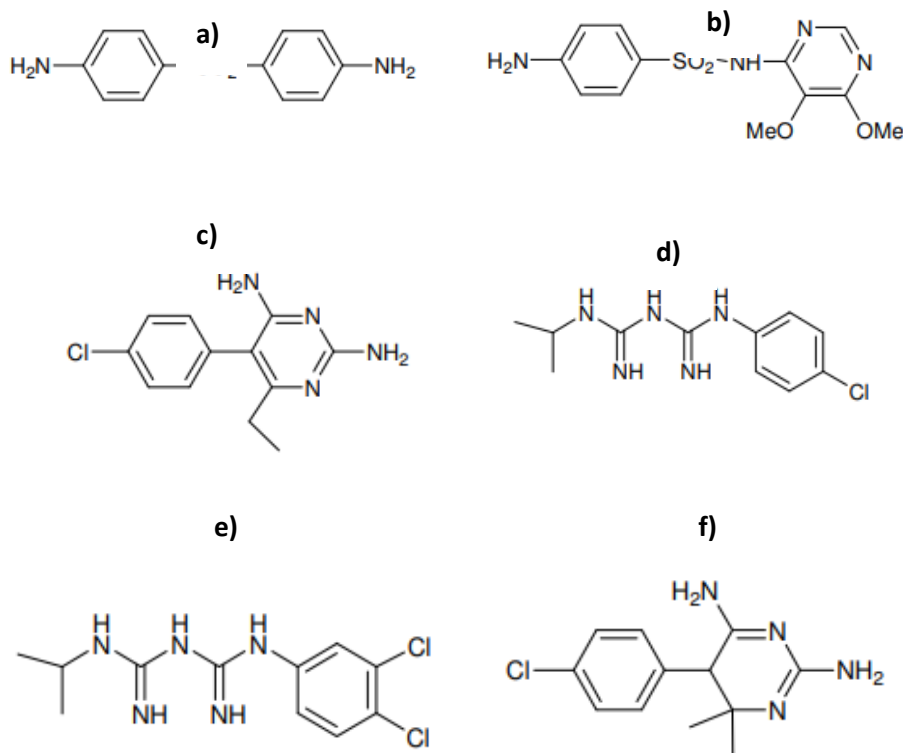
**Figura 3** - Mecanismo proposto para a formação da hemozoína.



**Fonte:** Adaptação da referência (RAYNES, 1999).

A inibição da síntese do ácido fólico é um alvo de grande interesse, uma vez que o ácido fólico é muito importante para o metabolismo do parasita. Derivados dos ácidos p-aminobenzóicos (PABA) são utilizados na etapa inicial da biossíntese do ácido fólico pela enzima diidropteroato sintase. Essa etapa é inibida pelos análogos estruturais dos PABA (Figura 4), como a Dapsona e a Sulfadoxina. A próxima etapa dessa síntese é catalisada pela enzima diidrofolato redutase. Na inibição dessa etapa atuam a Pirimetamina, o Proguanil, o Cloroproguanil e o Cicloproguanil (CUNICO, *et al.*, 2008).

**Figure 4** - Inibidores do ácido Fólico: a) Dapsona, b) Sulfadoxina, c) Pirimetamina, d) Proguanil, e) Cloroproguanil e f) Cicloproguanil.



**Fonte:** Adaptação da referência (CUNICO, *et al.*, 2008).

## 2.2 LEISHMANIOSE

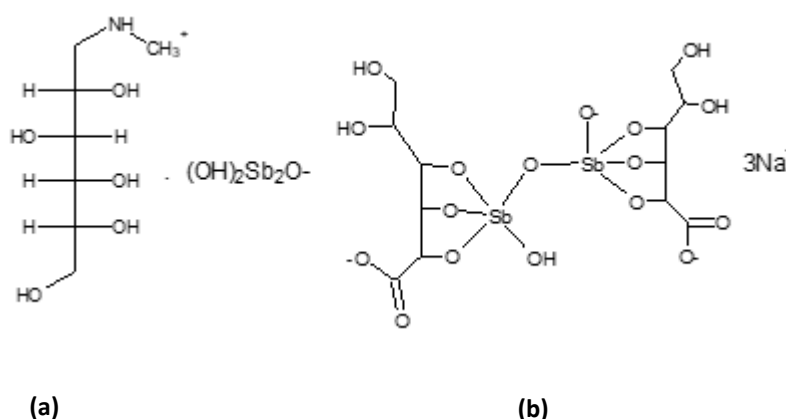
As leishmanioses compreendem um grupo de doenças com diferentes aspectos e severidades, apresentando uma vasta distribuição geográfica (OUAISSI, 2004). Esta protozoose é endêmica em 88 países, incluindo o Brasil, afetando cerca de 12 milhões de pessoas, estando cerca de 350 milhões de pessoas com risco de contraí-las (COSTA, *et al.*, 2017).

Dados da OMS (2016) mostram que 50-75% desses casos são de leishmaniose cutânea e 25-50% de leishmaniose visceral. Aproximadamente 90% dos casos de Leishmaniose Cutânea estão distribuídos no Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria e 90% dos casos de leishmaniose Visceral em Bangladesh, Índia, Nepal e Sudão (COSTA, *et al.*, 2017; DESJEUX, 2001). Dados recentes demonstram que 70.000 indivíduos, morrem anualmente em decorrência da doença (COSTA, *et al.*, 2017; DESJEUX, 2001).

As leishmanias são causadas por parasitos de diferentes espécies do gênero *leishmania*. Estes se alternam entre a forma promastigota flagelada, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e a forma amastigota intracelular, encontrada no hospedeiro vertebrado (WHO, 2018).

Os medicamentos utilizados no tratamento da leishmaniose, os antimoniais pentavalentes, foram introduzidos na clínica médica há mais de 60 anos. Com o passar do tempo novas substâncias têm sido avaliadas, porém atualmente o tratamento ainda é baseado nestes compostos (Figura 5).

**Figura 5** - Fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose: a) glucantime e b) pentostan



**Fonte:** Adaptação da referência (COSTA, et al., 2017)

O modo de ação dos antimoniais pentavalentes é ainda pouco compreendido (MURRAY, et al., 2005; RIJAL, *et al.*, 2010). Uma das principais sugestões para o mecanismo de ação destes compostos é baseada no mecanismo de oxirredução, sendo proposta a redução, *in vivo*, do complexo de Sb(V) para Sb(III), e a atividade é atribuída à toxicidade dos compostos de Sb(III) (FERREIRA, *et al.*, 2003). Outra proposta de mecanismo de ação destes medicamentos é que compostos de Sb(V) são capazes de formar complexos com nucleotídeos, interferindo no seu metabolismo e levando à inibição da topoisomerase do parasito (FRÉZARD; DEMICHELI; RIBEIRO, 2007).

Os antimoniais estão desaprovados pelo FDA (Food and Drugs Administration – nos Estados Unidos), entretanto, o pentostan é permitido pelo CDC (Center for Disease Control and Prevention – Atlanta) e é usado principalmente nos países de língua inglesa. Por outro lado, o glucantime, (Figura 5), tem sido utilizado no Brasil e em outros países da América latina (CROFT; COMBS, 2003).

Variações na resposta clínica ao tratamento com antimoniais pentavalentes tem sido um

problema persistente no tratamento das leishmanioses. O longo período do tratamento provoca um acúmulo do medicamento em tecidos como baço e fígado, além de causar mialgia, pancreatite, arritmia cardíaca e hepatite, que podem levar ao abandono do tratamento (CROFT, *et al.*, 1996; COSTA, *et al.*, 2017).

### 2.3 DOENÇA DE CHAGAS

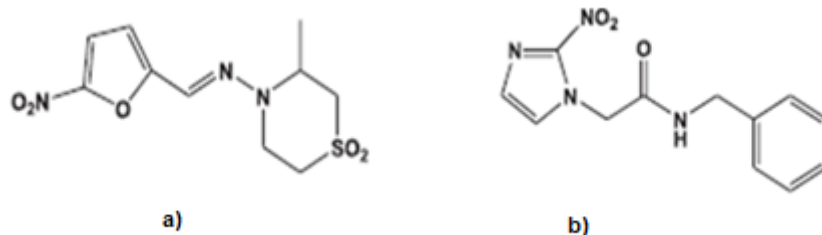
A doença de Chagas é uma enfermidade endêmica na América Latina, afetando em torno de 10 milhões de pessoas, onde se estima que 5% da população pode estar infectada pelo *T. cruzi* (LEY, *et al.*, 1998; MONGE-MAILLO; LÓPEZ-VÉLEZ, 2017).

A transmissão da doença pode ocorrer por diferentes formas: por meio do vetor triatomíneo, popularmente conhecido como barbeiro, o qual é responsável pela principal via de transmissão, transfusão sanguínea, via congênita, transplante de órgãos e acidentes laboratoriais (LEY, *et al.*, 1998).

O agente etiológico da doença, o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, apresenta em seu ciclo evolutivo alternância entre seus hospedeiros vertebrados e invertebrados. Nos insetos o parasito está presente nas formas epimastigota e tripomastigota metacíclica. Nos hospedeiros vertebrados, representados pelos mamíferos, incluindo o homem, este se apresenta nas formas tripomastigotas sanguíneas, percorrendo o sangue circulante e amastigota, esta última presente principalmente no interior das células (LEY, *et al.*, 1998; LEY, *et al.*, 1990).

Na década de 70 dois fármacos foram introduzidos no mercado para o tratamento da doença de Chagas: os nitroderivados (Nifurtimox) e Benzonidazol (Randinil ou Rochagan) (Figura 6) (; LEY, *et al.*, 1990; MONGE-MAILLO; LÓPEZ-VÉLEZ, 2017; PAULINO, *et al.* 2003).

**Figure 6** - Estruturas dos fármacos: a) Nifurtimox e b) Benzonidazol.



**Fonte:** Fonte do Autor.

O principal problema encontrado no tratamento da doença com estes medicamentos é que os resultados obtidos variam de acordo com a fase da doença, o período de tratamento e a dose, a idade e a origem geográfica dos pacientes (COURA; CASTRO, 2002; MONGE-MAILLO; LÓPEZ-VÉLEZ, 2017).

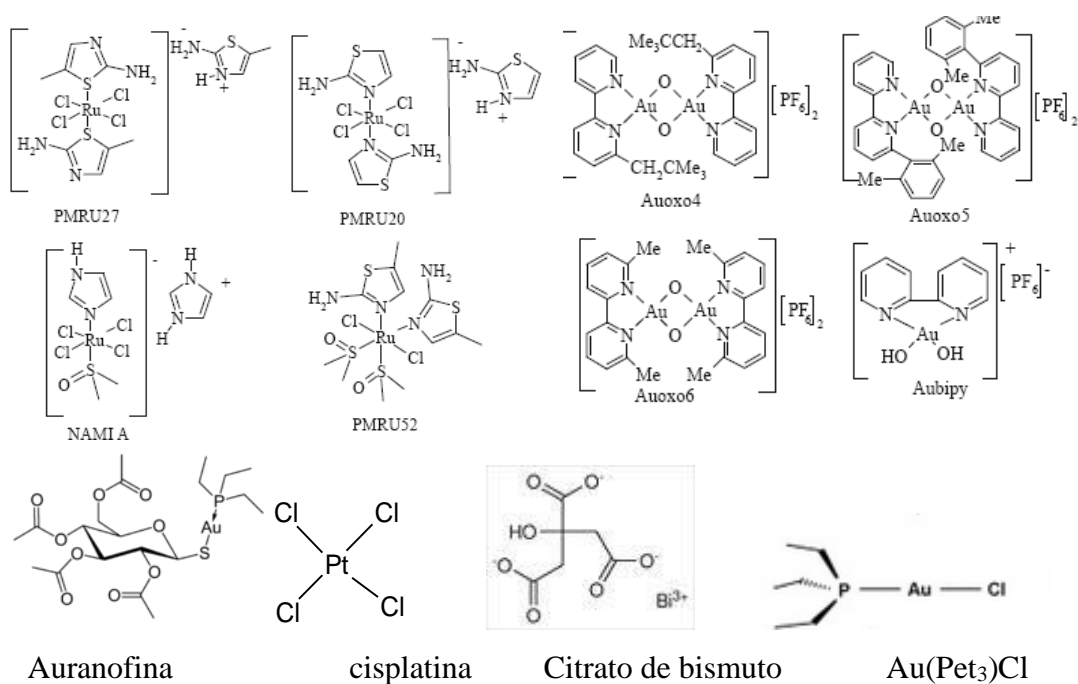
Em geral os resultados são bons em casos agudos e crônicos recentes, estimando um índice médio de cura parasitológica em torno de 60%. Por outro lado, na fase crônica tardia, os resultados têm sido pouco promissores, levando esta doença ser considerada até o momento como incurável. Adicionalmente, devido aos protocolos de tratamento empregando altas doses e longo tempo de uso, estes fármacos podem causar toxicidade sistêmica com sérios efeitos colaterais incluindo anorexia, perda de peso, vômito, náusea, dor de cabeça, entre outros, resultando em alguns casos no abandono do tratamento (MAYA, *et al.*, 2007; MÉNDEZ-ARRIAGA, 2018).

#### 2.4 COMPLEXOS METÁLICOS E DOENÇAS PARASITÁRIAS

Diante do sucesso alcançado pela cisplatina no tratamento do câncer, muitos complexos metálicos estão sendo avaliados frente a uma gama de enfermidades, com grande destaque para aplicação dos mesmos frente a doenças negligenciadas (BARBOSA, *et al.*, 2017; BENÍTEZ, *et al.*, 2009; FRICKER, *et al.*, 2008; MAYA, *et al.*, 2007; MISERACHS, *et al.*; 2015; PEREIRA, *et al.*, 2010; VIEITES, *et al.*, 2008). No tratamento destas utilizam-se fármacos desenvolvidos há bastante tempo, os quais apresentam grande toxicidade, levando muitas vezes a desistência dos pacientes ao tratamento, conforme mencionado anteriormente.

Vários complexos de rutênio (III), ouro (I) e platina (II) foram avaliados frente às doenças parasitárias, como pode ser observado na Tabela 1 (Figura 7). Dentre os complexos testados, o complexo NAMI-A, apresentou excelente atividade frente à linhagem 3D7, *Plasmodium falciparum*, com valor de IC<sub>50</sub> de 0,7 µM (MÉNDEZ-ARRIAGA, 2018). O IC<sub>50</sub> é a concentração que inibe em 50% o crescimento das células na presença dos compostos testes.

**Figure 7** - Complexos de rutênio (III) e ouro (I) testados como antimaláricos e valores de  $IC_{50}$  na linhagem 3D7 *P. falciparum*



**Fonte:** Figura adaptada da referência (SAVA; BERGAMO, 2000)

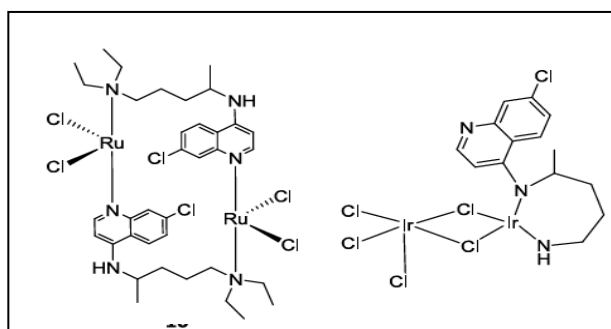
**Tabela 1** - Valores de  $IC_{50}$  na linhagem 3D7 *P. falciparum*.

Complexo	$IC_{50} \pm SD$ ( $\mu M$ )
Cisplatina	27,4 $\pm$ 1,8
Aubipy	12,0 $\pm$ 1,0
Auoxo4	7,7 $\pm$ 1,0
Auoxo5	4,2 $\pm$ 0,8
Auoxo6	2,3 $\pm$ 1,0
Auranofina	0,1 $\pm$ 0,003
Auciclam	439,0 $\pm$ 2,8
Au(Pet <sub>3</sub> )Cl	2,1 $\pm$ 1,2
Nami A	0,7 $\pm$ 0,002
PMRu20	20,7 $\pm$ 0,6
PMRU27	21,8 $\pm$ 0,8
PMRU52	48,9 $\pm$ 0,2
Citrato de bismuto	3,1 $\pm$ 0,2
SbCl <sub>3</sub>	0,2 $\pm$ 0,001
As <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	39,2 $\pm$ 1,9

**Fonte:** adaptada da referência (SAVA; BERGAMO, 2000)

Atividade bastante promissora também foi exibida quando a cloroquina (fármaco antimalárico) foi complexada a sais de rutênio (III) e irídio (III) dando origem a compostos mais ativos, *in vitro*, contra o *P. berghei* (Figura 8). Como mencionado, a incorporação de metais a compostos que são ativos ou mesmo os utilizados como medicamentos, levam na maioria das vezes, a compostos mais efetivos e muitas vezes menos tóxicos (FRANCISCO; VARGAS, 2010).

**Figura 8** - Estruturas químicas dos complexos obtidos de Ru (III) e Ir (III) com a cloroquina.

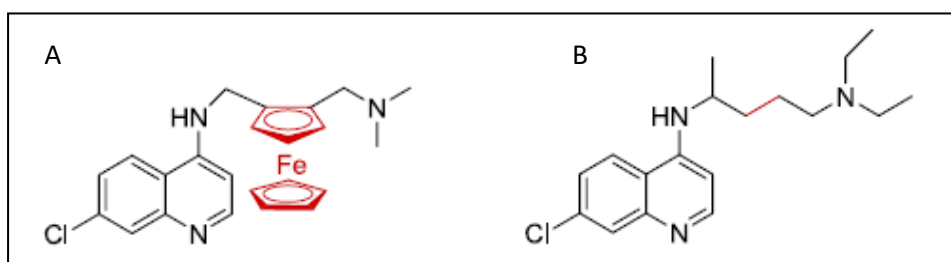


**Fonte:** Adaptada da referência (FRANCISCO; VARGAS, 2010).

Estes resultados apresentam grande importância, uma vez que já foram relatados casos de resistência do *P. falciparum* a todas as classes de fármacos, com exceção das artemisininas, sendo que esses compostos diminuem rapidamente a população de parasitos (*P. falciparum*), *in vitro e in vivo*, e apresentaram tempo de eliminação muito rápido. Também já existem cepas de *P. vivax* resistentes à cloroquina. Desta forma, o aumento dos casos de resistência, estimula o crescimento no desenvolvimento de novos fármacos (KREMSNER; KRISHNA, 2004; WANG; SUN, 2016).

Estudos revelam que um grupo ferroceno coordenado à cloroquina leva a uma grande melhoria na sua atividade antimalárica, sendo muito mais ativo que a cloroquina, contra as linhagens de *P. falciparum*, sensíveis e resistentes a este fármaco (BLACKIE, 2008; MÉNDEZ-ARRIAGA, *et al.*, 2018; WANG WANG; SUN, 2013; YEO *et al.*, 2017), (Figura 9).

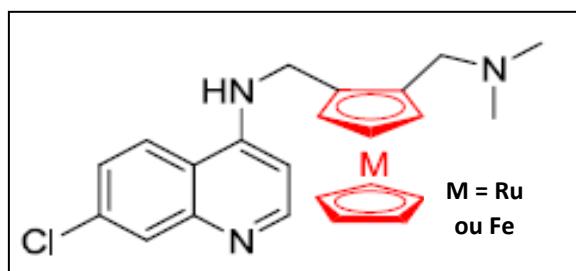
**Figura 9** - Estruturas: A) Ferroquina e B) Cloroquina.



**Fonte:** Adaptação da referência (BLACKIE, 2008).

Diante dos bons resultados observados para a ferroquina, sintetizou-se a rutenoquina (Figura 9), uma vez que estes centros metálicos possuem uma química bastante semelhante, como por exemplo, o estado de oxidação (BLACKIE, 2008). Os resultados obtidos frente a cepas de *P. falciparum* mostraram que não existe diferença significativa entre os compostos, onde os valores de IC<sub>50</sub> observados são 5,0 e 6,3 para a ferroquina e rutenoquina, respectivamente (Figura 10).

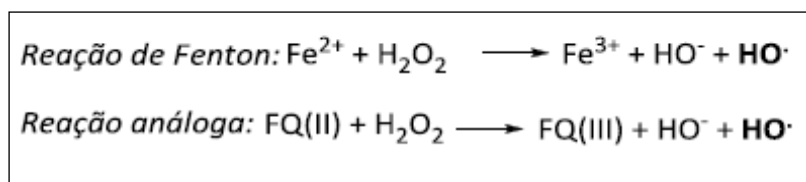
**Figura 10** - Estruturas químicas da rutenoquina e ferroquina.



**Fonte:** Adaptação da referência (BLACKIE, 2008)

Acredita-se que o mecanismo de ação destes organometálicos seja similar ao da cloroquina, inibindo a formação do pigmento malárico. A melhor atividade da ferroquina pode ser atribuída à maior lipofilicidade em relação à cloroquina, o qual poderia levar a uma localização preferencial no sítio de cristalização da hemozoína (CHAVAIN, *et al.*, 2008). Outro possível mecanismo é a geração de espécies reativas de oxigênio. É sabido que no meio biológico o grupo ferroceno pode atuar gerando radicais hidroxilas e que o mesmo é capaz de catalisar reações de Fenton (NAVARRO, *et al.*, 2000), conforme a Figura 11.

**Figura 11** - Representação da reação de Fenton



**Fonte:** Adaptação da referência (NAVARRO, *et al.*, 2000)

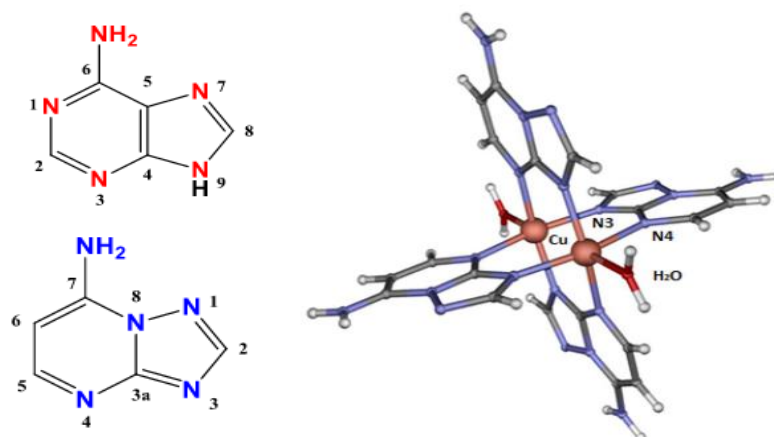
Estudos evidenciaram que no pH do vacúolo digestivo do parasito (pH = 5,0) radicais hidroxila são produzidos em concentrações da ordem de 15  $\mu\text{M}$ , quantidade esta suficiente para provocar danos ao parasito, devido à alta reatividade dessas espécies, (FRANCISCO; VARGAS, 2010).

Além dos complexos obtidos com a cloroquina, outros exemplos de utilização de ligantes que apresentam atividade ou que já são utilizados como fármacos são encontrados na literatura. Uma série interessante de complexos de rutênio (III) do tipo  $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_2\text{L}_2](\text{PF}_6)_2$ ,  $[\text{RuL}_2\text{Cl}_2]$ ,  $[\text{RuL}_3\text{Cl}_3]\cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$ ,  $[\text{RuL}_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}_3]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Ru}(\text{bpy})\text{L}_2](\text{PF}_6)_2$ , onde L = clotrimazol ou cetoconazol, foram avaliados quanto sua atividade antiparasitária, e de acordo com os autores estes complexos de rutênio podem inibir aproximadamente 70% da proliferação da forma amastigota, em cepas de *T. cruzi*, além destes apresentarem baixa toxicidade frente à células não infectadas (NAVARRO, *et al.*, 2010).

A obtenção de um complexo de rutênio com o benzonidazol, apresentou bons resultados tripanocidas, tanto para os testes *in vitro*, quanto *in vivo* (NOGUEIRA, *et al.*, 2008). Como pode ser visto a coordenação da cloroquina, benzonidazol e cetoconazol ao rutênio levaram a resultados muito interessantes e muito promissores. Desta forma a alternativa de complexar a metais substâncias já ativas vem despertando bastante interesse da comunidade científica

Mais recentemente complexos de fórmula geral  $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{diimina})]\text{PF}_6$ , [dppb = 1,4-bis(difenilfosfino)butano; diimina = 2,2'-bipiridina (bipy) ou 1,10-fenantrolina] foram obtidos, apresentando promissora atividade antiparasitária, a qual foi atribuída ao estresse oxidativo seguido de morte celular parasitária por necrose (BARBOSA, *et al.*, 2017) Méndez-Arriaga *et al* demonstraram a síntese de complexos de Cu(II) com ligantes triazopirimidina (Figura 12), mostrando promissora atividade frente a formas promastigotas *L. infantum* (MCAN/ES/2001/UCM-10), *L. braziliensis* (MHOM/BR/1975/M2904), *L. donovani* (LCRL133LRC) e *T. Cruzzi* (IRHOD/CO/2008/SN3). Além do mais, os complexos apresentaram seletividade superior ao fármaco de referência Glucantime e Benzonidazol.

**Figure 12** - Estrutura proposta para o complexo de Cu(II)  $\text{Cu}_2(\mu\text{-7atp})_4(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NO}_3)_4\cdot \text{H}_2\text{O}$



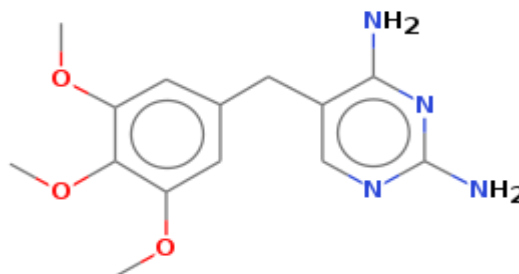
**Fonte:** Adaptada da referência; MÉNDEZ-ARRIAGA, *et al.*, 2018.

## 2.5 TRIMETOPRIMA

A descoberta de um potente grupo de pirimidinas com efeito antagonista do ácido fólico em culturas de lactobacilos levou a descoberta da Trimetoprima (Figura 13), que contém em sua estrutura o grupo 2-aminopirimidina (DEMIREZEN *et al.*, 2012). Este fármaco é uma droga bem conhecida que exibe atividades antibacterianas e antiprotozoárias usada em medicina. É usado como um agente antibacteriano e um inibidor em tratamento quimioterápico devido ao seu efeito antifolato pela interação com coenzimas diidrofolato e é comumente administrado em combinação com uma sulfonamida. Ambas as drogas bloqueiam o metabolismo do ácido fólico e produzem atividade antibacteriana sinérgica. (AJIBADE; IDEMUDIA, 2013; RASHID *et al.*, 2016).

Importante ressaltar que muitos compostos contendo em sua estrutura o anel pirimidínico apresentam propriedades terapêuticas, uma vez que este grupo está presente em diversas moléculas biológicas, como: ácidos nucleicos, coenzimas e vitaminas (DEMIREZEN *et al.*, 2012).

**Figure 13** - Estrutura do ligante trimetoprima (TMP).



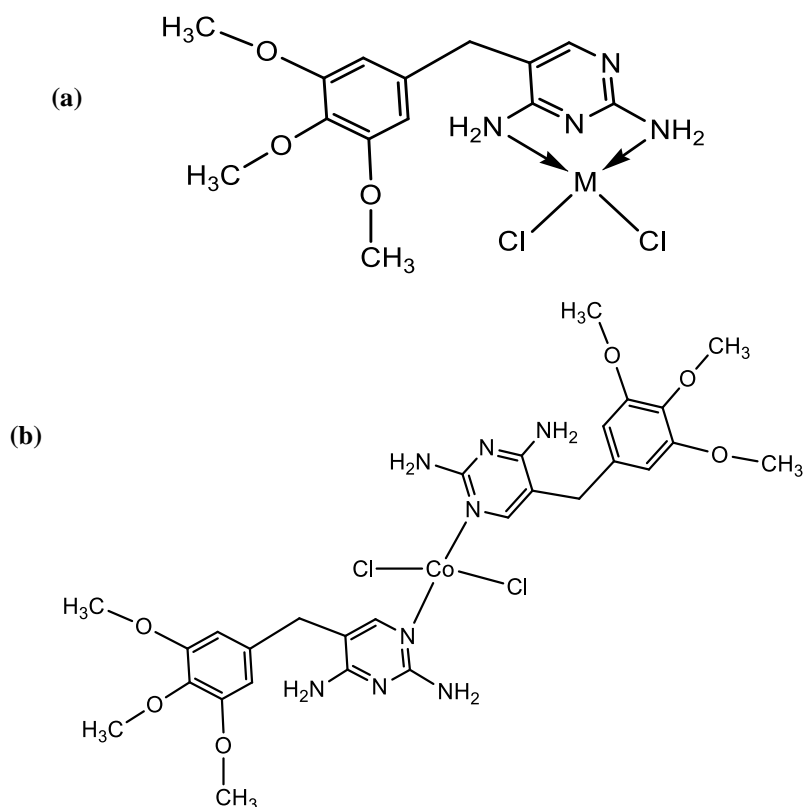
**Fonte:** Do autor

### 2.5.1 Complexos de trimetoprima

Diversos autores já estudaram a coordenação deste fármaco com íons metálicos, uma vez que a trimetoprima tem potenciais sítios de ligação. Alguns estudos demonstram a ligação com os átomos de nitrogênio dos grupos NH<sub>2</sub> (Figura 14 (a)) (HADJILIADIS; TSANGARIS, 1986; TSANGARIS; SOTIROPOULOS; GALINOS, 1978), entretanto outros trabalhos mostram que a coordenação ocorre através do nitrogênio do anel pirimidínico (Figura 14(b))

(DEMIREZEN *et al.*, 2012; HABIB *et al.*, 2009; MADHUPRIYA; ELANGO, 2014; SIMÓ *et al.*, 2000).

**Figure 14** - (a) Trimetoprima coordenada pelos grupos  $\text{NH}_2$  ( $\text{M} = \text{Cu(II)}$ ,  $\text{Zn(II)}$ ,  $\text{Pt(II)}$ ,  $\text{Ru(III)}$  e  $\text{Fe(III)}$ ) (b) Trimetoprima coordenada pelo átomo de nitrogênio do anel pirimidínico.

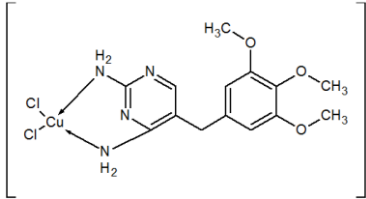
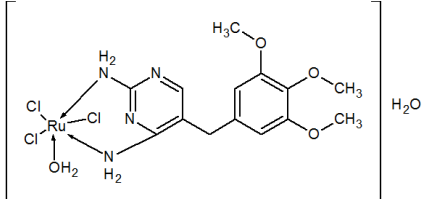
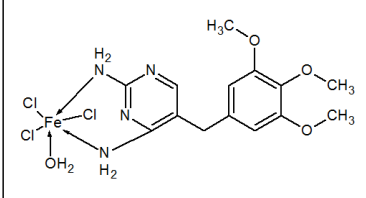
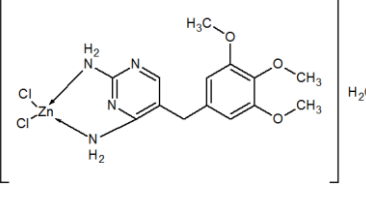
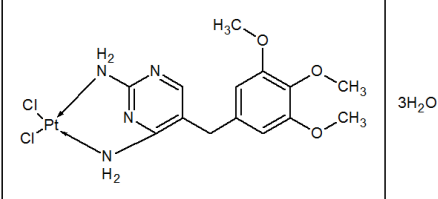
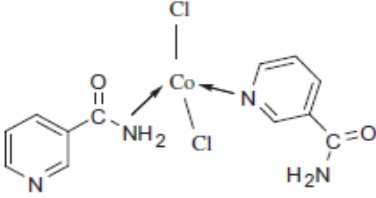
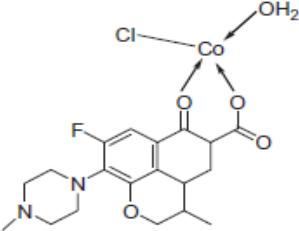


**Fonte:** Adaptação da referência (DEMIREZEN *et al.*, 2012; MADHUPRIYA; ELANGO, 2014)

A trimetoprima possui potenciais locais de ligação para íons metálicos, favorecendo o desenvolvimento de novos complexos metálicos. Na literatura, encontram-se reportados diversos complexos metálicos com a trimetoprima cujas estruturas encontram-se na Tabela 2 (ALAGHAZ *et al.*, 2013; DEMIREZEN *et al.*, 2012; HABIB *et al.*, 2009; MADHUPRIYA; ELANGO, 2014).

Mediante os aspectos abordados acima quanto a busca incessante de novos metalofármacos que sejam ativos no tratamento das doenças negligenciadas, proporcionando menores efeitos colaterais e alta seletividade, este trabalho vislumbra a coordenação da trimetoprima a íons metálicos de  $\text{Ru(III)}$ ,  $\text{Cu(II)}$  e  $\text{Pt(II)}$  na tentativa de desenvolver potenciais fármacos antiparasitários.

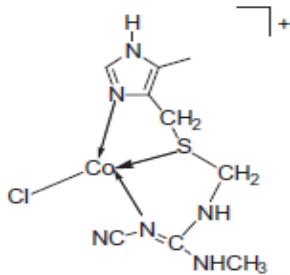
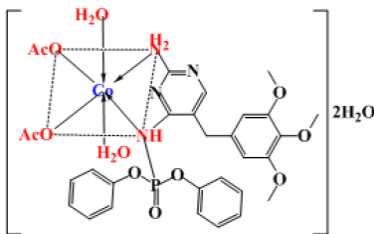
**Tabela 2** - Complexos reportados na literatura com a trimetoprime e derivados

Complexos	Fórmula Estrutural	Referências
[Cu(Cl) <sub>2</sub> (TMP)]		DEMIREZEN et al., 2012
[Ru(Cl) <sub>3</sub> (TMP)(H <sub>2</sub> O)].(H <sub>2</sub> O)		DEMIREZEN et al., 2012
[Fe(Cl) <sub>3</sub> (TMP)(H <sub>2</sub> O)]		DEMIREZEN et al., 2012
[Zn(Cl) <sub>2</sub> (TMP)(H <sub>2</sub> O)]		DEMIREZEN et al., 2012
[Pt(Cl) <sub>2</sub> (TMP)].3(H <sub>2</sub> O)		DEMIREZEN et al., 2012
[Co(NAM)Cl <sub>2</sub> ]		MADHUPRIYA; ELANGO, 2014
[Co(OFL)Cl(H <sub>2</sub> O)]		(MADHUPRIYA; ELANGO, 2014

Fonte: Do autor.

**Tabela 3** - Complexos reportados na literatura com a trimetoprima e derivados

(Continua)

Complexos	Fórmula Estrutural	Referências
[Co(CTD)Cl]Cl		(MADHUPRIYA; ELANGO, 2014)
[Co(DPTMEBPP)(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> (OAc) <sub>2</sub> ] <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O		ALAGHAZ et al., 2014)

Fonte: Do autor.

### 3 OBJETIVOS

Sintetizar, caracterizar e avaliar o potencial antiparasitário de complexos metálicos tendo como ligante o fármaco trimetoprima.

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os complexos [RuCl<sub>3</sub>(TMP)(dppb)]PF<sub>6</sub> (1), [PtCl(TMP)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (2) e [Cu(CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>)<sub>2</sub>(TMP)<sub>2</sub>].DMF (3), onde dppb = 1,4-bisdifenilfosfina butano, PPh<sub>3</sub> = trifenilfosfina, TMP = trimetoprima, PF<sub>6</sub> = Hexafluorofosfato, DMF = dimetilformamida;
- Caracterizar os compostos obtidos, utilizando-se as técnicas análise elementar, difração de raios X por monocristal, espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e infravermelho, ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}, <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} e voltametria cíclica;
- Avaliar a estabilidade dos complexos após solubilizá-los em DMSO e DMEM;
- Avaliar a atividade antiparasitária dos complexos frente à Leishmaniose.

## 4 METODOLOGIA

A seguir são relatados a metodologia, solventes e reagentes utilizados para a síntese de complexos de Ru (III), Cu (II) e Pt (II) com o ligante trimetoprima.

### 4.1 OBTENÇÃO DA ATMOSFERA INERTE: ARGÔNIO

Os complexos de platina (II) e rutênio (III) foram sintetizados sob atmosfera inerte e em condições anidras, através de um sistema de secagem de gás argônio montado no Laboratório de Cristalografia (E-109) campus Santa Clara da Unifal-MG. A atmosfera inerte foi obtida pela passagem de fluxo de argônio por uma coluna de purificação composta de camadas alternadas de anéis de vidro (0,5 cm de diâmetro x 0,5 cm de altura) e catalisador do tipo BTS - R - 3 - 11 (FlukaChemika), mantida à 60 °C para o catalisador permanecer ativado, seguindo então para colunas contendo sílica gel e cloreto de cálcio, respectivamente.

**Figura 14** - Sistema de secagem de gás argônio.

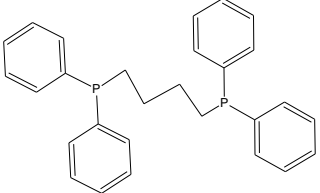
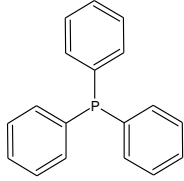
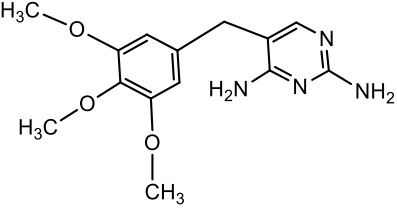


**Fonte:** Do autor

### 4.2 SOLVENTES, REAGENTES E LIGANTES

Os solventes e reagentes utilizados nas sínteses são de pureza analítica procedentes da Aldrich e Vetec e foram utilizados como recebidos, sem tratamento prévio (Tabela 3). Os principais solventes utilizados foram: diclorometano, éter etílico, hexano e metanol.

**Tabela 4** - Ligantes utilizados

Nome do Ligante	Fórmula Estrutural
1,4'- <i>bis</i> (difenilfosfina)butano (dppb)	
Trifenilfosfina (PPh <sub>3</sub> )	
Trimetoprima (TMP)	

Fonte: Do autor

### 4.3 SÍNTESE DOS COMPLEXOS PRECURSORES E NOVOS DERIVADOS

As sínteses dos complexos precursores de rutênio (III), cobre (II) e platina (II) com o ligante trimetoprima são relatadas a seguir.

#### 4.3.1 [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]

O precursor [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], foi obtido pela redução do tricloreto de rutênio com trifenil fosfina, a partir de modificações do procedimento descrito na literatura (STEPHENSON; WILKINSON, 1966), no qual, 1,00 g de RuCl<sub>3</sub>.xH<sub>2</sub>O (4,80 mmol) foi dissolvido em 200 mL de metanol previamente desairado, sob refluxo e atmosfera inerte, por aproximadamente 15 minutos. Em seguida 7,60 g de PPh<sub>3</sub> (28,9 mmol) foram adicionados. A solução permaneceu sob refluxo e atmosfera inerte por três horas. O precipitado marrom escuro formado foi filtrado a quente, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com metanol e hexano desairados, para a retirada de excesso de fosfina livre (PPh<sub>3</sub>), e seco a vácuo. Rendimento: 82,93% (3,8314g).

### 4.3.2 [Ru<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>(dppb)<sub>3</sub>]

O precursor [Ru<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>(dppb)<sub>3</sub>] foi preparado segundo procedimento descrito por (BREISSAN; RIGO, 1975). Adicionou-se [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] (3,70 g; 3,85mmol) e dppb (4,10 g; 3,84 mmol) em hexano (200 mL) previamente desairado. Deixou-se em refluxo por 6 horas. Posteriormente o precipitado verde formado na solução foi filtrado e lavado com metanol para a retirada de excesso de bifosfina livre e em seguida lavado com hexano, logo depois seco sob vácuo. Rendimento: 85% (0,42 g).

### 4.3.3 *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)]

O aqua complexo de rutênio (III) foi preparado dissolvendo-se o precursor binuclear [RuCl<sub>4</sub>(dppb)<sub>3</sub>] (0,100 g; 0,15 mmol) em metanol (4 mL). Nessa solução foi borbulhado gás cloro Cl<sub>2</sub>(g) até a obtenção de um precipitado vermelho intenso que foi filtrado e lavado com éter etílico previamente desairado, posteriormente seco a vácuo (DINELLI et al., 1999). Rendimento: 98% (0,090g).

## 4.4 SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO, PLATINA E COBRE COM TRIMETOPRIMA

As sínteses dos complexos de rutênio (III), cobre (II) e platina (II) com Trimetoprima foram realizadas utilizando-se uma proporção estequiométrica 1:1 (ligante/precursor).

### 4.4.1 [RuCl<sub>3</sub>(TMP)(dppb)]PF<sub>6</sub> (1)

Primeiramente 10 ml de solvente (5 mL de diclorometano e 5 mL de metanol) foram desairados em um schlenk sob temperatura ambiente. Em seguida adicionou-se (0,05 g; 1,53 mmol) de TMP e (0,100 g; 1,53 mmol) do precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)]. O sistema foi mantido sob agitação e temperatura ambiente por 6 horas, observando-se a mudança da coloração do vermelho para verde. Posteriormente, o volume reacional foi reduzido à aproximadamente 2 mL, e observou-se a formação de um precipitado verde escuro, o qual foi

filtrado em funil de placa porosa e lavado com éter etílico, e em seguida seco sob vácuo. Rendimento:  $\text{RuCl}_3(\text{TMT})(\text{dppb})\text{PF}_6 = 62\%$  (0,0243 g).

#### 4.4.2 $[\text{PtCl}(\text{TMP})(\text{PPh}_3)_2]\text{PF}_6$ (2)

10 mL de solvente (5 mL de diclorometano e 5 mL de metanol) foram desaerados em um schlenk sob temperatura ambiente. Em seguida adicionou-se (0,029 g; 0,0992 mmol) de TMP, (0,050 g; 0,995 mmol) do precursor  $[\text{PtCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$  e (1,0 mg; 0,06 mmol) do contra-íon  $\text{NH}_4\text{PF}_6$ . A solução foi deixada sob agitação e aquecimento por 24 horas. Após este período, o volume reacional foi reduzido e observou-se a formação de um precipitado branco, o qual foi filtrado em funil de placa porosa e lavado com éter etílico, em seguida seco sob vácuo. Rendimento: 83% (1,0328g).

#### 4.4.3 $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO}^-)_2(\text{TMP})_2]$ (3)

O complexo  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO}^-)_2(\text{TMP})_2]$  foi obtido usando-se 5 mL de diclorometano e 5 mL de metanol em um balão sob temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado (0,016 g; 0,275 mmol) de TMT e (0,050 g; 0,275 mmol) do precursor, o acetato de cobre (II). A solução foi mantida sob agitação durante 24 horas e observou-se a mudança da coloração de verde para azul. O volume desta foi reduzido utilizando-se um rotaevaporador e observou-se a formação de um precipitado verde, o qual foi filtrado em um funil de placa porosa e lavado com éter etílico, em seguida seco à pressão reduzida. Rendimento: 83% (massa 1,0312g).

### 4.5 INSTRUMENTAÇÃO

Para a caracterização dos complexos de rutênio (III), cobre (II) e platina (II) com trimetoprima foram utilizadas as técnicas citadas abaixo.

#### 4.5.1 Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados em triplicata em um Analisador Elementar da LECO Instruments - modelo TruSpec CHNS-O, disponível na Universidade Federal de Alfenas.

#### 4.5.2 Difração de Raios X por monocristal (DRXM)

Monocristais de tamanho e forma adequados foram obtidos para o experimento de difração de raios X, por meio da técnica de lenta evaporação do solvente (metanol + diclorometano 1:1) para (2) e dimetilformamida (DMF) para (3) das soluções contendo os complexos. As medidas de DRXM foram realizadas em um difratômetro de raios X por monocristal, da marca Agilent Technologies, Modelo SuperNova, instalado no Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os dados foram obtidos a 293 K utilizando a fonte de  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$ ). A rotina de coleta de dados, determinação de células unitárias, integração de dados de intensidade e correção de absorção de método de varredura múltipla foram realizadas com o software CrysAlisPro (CRYALIS, 2006). As estruturas foram resolvidas e refinadas usando o software Sir2014 (BURLA *et al.*, 2015) e SHELXL-2018/3 (SHELDRICK, 2015), respectivamente. Os átomos que não sejam hidrogênio foram claramente identificados e refinados por  $F^2$  de matriz completa de menores quadrados com parâmetros térmicos anisotrópicos. Os átomos de hidrogênio ligados a átomos de carbono/nitrogênio foram posicionados estereoquimicamente seguindo um modelo de equação com comprimentos fixos de ligação X-H de 0,86, 0,93, 0,96 e 0,97  $\text{\AA}$  para os grupos amina, aromático, metil e metileno, respectivamente. Os átomos de hidrogênio da molécula de água de (3) foram localizados a partir dos mapas de diferença de Fourier e depois restringidos durante refinamentos. Os parâmetros térmicos isotrópicos ( $U_{\text{iso}}$ ) de todos os hidrogênios dependiam dos deslocamentos térmicos isotrópicos equivalentes dos átomos ligados a eles [ $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}$  (N-amina, C-aromático e C-metileno) ou  $1,5 U_{\text{eq}}$  (C-metil e O-água).] Um dos átomos de carbono aromáticos (de C27 a C32) de uma das moléculas de trifenilfosfina em (3) é desordenado em duas posições com fatores refinados de ocupação de 0,69 (1) (parte A) e 0,31 (1) (parte B). Os fatores de ocupação foram atribuídos usando as variáveis gratuitas e restringindo sua soma para 1.000 (FVAR SHELXL-2018/3 instrução) (SHELDRICK, 2015). Um modelo desordenado de duas posições também foi aplicado aos átomos de oxigênio da água com fatores refinados de ocupação de 0,65 (1)/0,35(1). Os parâmetros de deslocamento dos átomos desordenados foram restritos a isotrópicos. Os programas de software WinGX (FARRUGIA, 2012) e MERCURY (versão 4.2.0) (MACRAE *et al.*, 2008) foram usados para análise cristalográfica e representados na Tabela 11.

#### 4.5.3 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível (UV/vis) foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-2550 disponível no Laboratório Interdisciplinar de Química da UNIFAL-MG. Os compostos foram dissolvidos em diclorometano, de modo a se obter soluções de concentração da ordem de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ , sendo posteriormente diluídas para concentrações desejadas. As medidas foram feitas utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm na região compreendida entre 190 e 800 nm.

#### 4.5.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram registrados no espectrofotômetro Thermo Scientific IS50 FT-IR, com contato direto da amostra sob o feixe de infravermelho com refletância total atenuada - ATR, disponível no Laboratório LACFarm da Universidade Federal de Alfenas. Os espectros foram registrados no modo de transmitância, na região entre  $4000$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$ , com resolução de  $8 \text{ cm}^{-1}$  e 32 scans.

#### 4.5.5 Estudos de Condutividade

As medidas de condutividade foram realizadas em um condutivímetro MS Tecnopon modelo mCA-100, equipado com cela de platina e constante igual a 1MICRONAL modelo B-330, equipado com cela de platina com constante igual a  $0,089 \text{ cm}^{-1}$  da Universidade Federal de Alfenas. Utilizou-se soluções de concentrações na ordem de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol. L}^{-1}$ .

#### 4.5.6 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  e  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  foram obtidos em um espectrômetro BRUKER DRX 300 MHz, disponível na Universidade Federal de Alfenas, campus Santa Clara. Os espectros de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  foram obtidos utilizando-se diclorometano e um capilar contendo  $\text{D}_2\text{O}$  foi introduzido no interior do tubo de RMN, com a finalidade de ser a referência externa para a frequência do deutério. Para os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foi utilizado o solvente deuterado  $\text{DMSO-d}_6$

#### 4.5.7 Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram obtidas em um potenciostato Autolab® PGSTAT 128N (Eco Chemie) da Unifal-MG, gentilmente disponibilizado pela Prof. Alzira Maria Serpa Lucho, e os dados foram processados utilizando o software GPES (General Purpose Electrochemical System). O sistema foi composto por uma célula eletroquímica de vidro, com capacidade para 10 mL e três eletrodos: um de referência Ag/AgCl e os eletrodos de trabalho e auxiliar, ambos de platina. Soluções eletrolíticas 0,1 mol·L<sup>-1</sup> de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) em diclorometano foram preparadas de modo a se obter concentrações dos complexos a serem analisados da ordem de 1,0 x 10<sup>-3</sup> mol·L<sup>-1</sup>.

#### 4.6 TESTES BIOLÓGICOS

A avaliação da atividade antiparasitária e citotóxica dos complexos foi realizada no Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia (LETI), Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ -BA) em colaboração com o Dr. Diogo Rodrigo de Magalhães Moreira.

##### 4.6.1 Ensaio de viabilidade de promastigotas de *Leishmania amazonensis*

Promastigotas de *L. amazonensis* em fase estacionária foram semeadas em uma placa de 96 poços a uma densidade de  $2 \times 10^6$  parasitas / mL em 200 µL de meio de inseto completo de Schneider. As células foram tratadas com o composto em concentrações variando de 0,25 a 20 µM durante 72 h. A anfotericina B foi utilizada como controle positivo (0,04 a 3 µM). A viabilidade dos promastigotas foi medida pelo método Alamar Blue (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e leituras colorimétricas foram realizadas a 570 e 600 nm. O branco utilizado neste ensaio foi o meio mais Alamar Blue sem parasitas. A concentração de IC<sub>50</sub> foi calculada com base na porcentagem de inibição do crescimento do parasito, relacionada aos controles negativos, e acessada através dos valores do logaritmo da concentração, seguido pelo ajuste da curva de regressão não linear. As análises foram realizadas usando o GraphPad Prism versão 5.01 (GraphPad Prism, San Diego, CA, EUA).

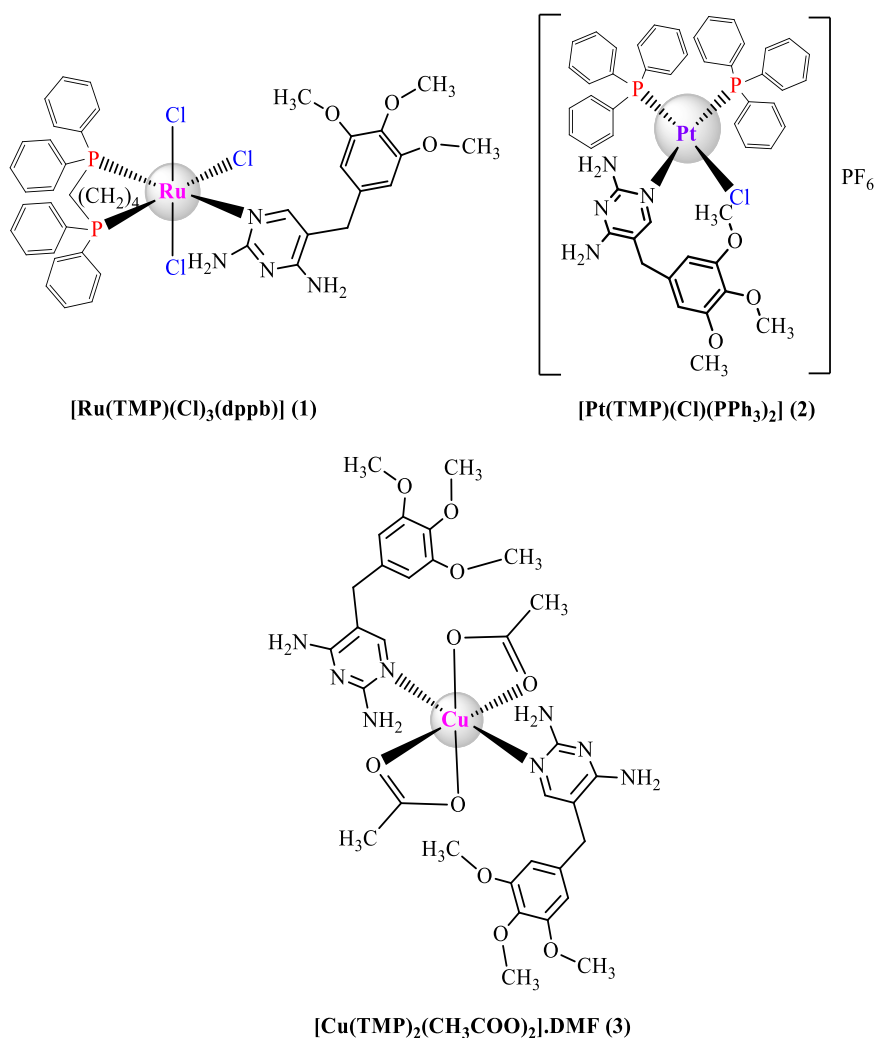
#### **4.6.2 Ensaio da Citotoxicidade**

Para o ensaio de citotoxicidade, cultivaram-se macrófagos J774 ( $5 \times 10^4$  por poços em 200 mL) em placas de 96 poços na presença de compostos a concentrado variando de 2,5 a 20 durante 48 h a 37 em CO<sub>2</sub> a 5%. As células foram incubadas com 20 µL de Alamar Blue por poço (Invitrogen) durante mais 24 h. As leituras de absorbância colorimétrica foram realizadas a 570 e 600 nm e usadas para calcular a percentagem de inibição do crescimento após o tratamento. O branco utilizado neste ensaio foi o meio mais Alamar Blue sem as células. A concentração citotóxica para 50% dos macrófagos (CC<sub>50</sub>) foi calculada através de regressão não linear usando o GraphPad Prism versão 5.01.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os complexos propostos  $[\text{RuCl}_3(\text{TMP})(\text{dppb})]$  (**1**),  $[\text{PtCl}(\text{TMP})(\text{PPh}_3)_2]\text{PF}_6$  (**2**) e  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO}^-)_2(\text{TMP})_2]\cdot\text{DMF}$  (**3**) foram obtidos e caracterizados pelas técnicas de espectroscopia de ressonância magnética nuclear, medidas de condutividade, difração de raios X por monocristal ((**2**) e (**3**)), espectroscopia eletrônica na região do IV, espectroscopia eletrônica na região do UV-vis e voltametria cíclica. As estruturas propostas para os complexos de (**1-3**) estão representadas na Figura 15.

**Figura 15** - Estruturas propostas para os complexos  $[\text{RuCl}_3(\text{TMP})(\text{dppb})]$  (**1**),  $[\text{PtCl}(\text{TMP})(\text{PPh}_3)_2]\text{PF}_6$  (**2**) e  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2(\text{TMP})_2]\cdot\text{DMF}$  (**3**)



Fonte: Do autor

## 5.1 ANÁLISE ELEMENTAR

O teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos complexos (1-3) foram determinados e estão de acordo com as composições esperadas (Tabela 4). Importante ressaltar que os resultados obtidos para os complexos (2) e (3) indicam a presença de solventes nas estruturas, 1 molécula de H<sub>2</sub>O para (2) e 1 molécula de DMF em (3).

**Tabela 5** - Dados de análise elementar para os complexos (1-3).

Complexos	Análise elementar		
	% C	% H	% N
[RuCl <sub>3</sub> (TMP)(dppb)] (1)	54,08 / (54,58)	4,91 / (5,02)	5,99 / (6,06)
[PtCl(TMP)(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> ·H <sub>2</sub> O (2)	50,01 / (50,45)	4,22 / (4,06)	4,65 / (4,71)
[Cu(CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> ) <sub>2</sub> (TMP) <sub>2</sub> ]DMF (3)	51,82 / (52,02)	6,51 / (6,32)	14,45 / (14,37)

**Fonte:** Do autor.

**Legenda:** \*Os resultados entre parênteses são teóricos.

**Tabela 6** - Erros percentuais relativos às análises dos complexos (1-3).

Complexos	Erros (%)		
	% C	% H	% N
[RuCl <sub>3</sub> (TMP)(dppb)] (1)	0,50	0,11	0,07
[PtCl(TMP)(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> ·H <sub>2</sub> O (2)	0,44	0,16	0,06
[Cu(CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> ) <sub>2</sub> (TMP) <sub>2</sub> ].DMF (3)	0,20	0,19	0,08

**Fonte:** Do autor

## 5.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Os espectros de absorção na região do IV dos complexos sintetizados apresentaram modos vibracionais consistentes com as estruturas propostas e foram obtidos na região entre 4000 - 400 cm<sup>-1</sup>. As atribuições foram feitas em comparação com os espectros dos precursores,

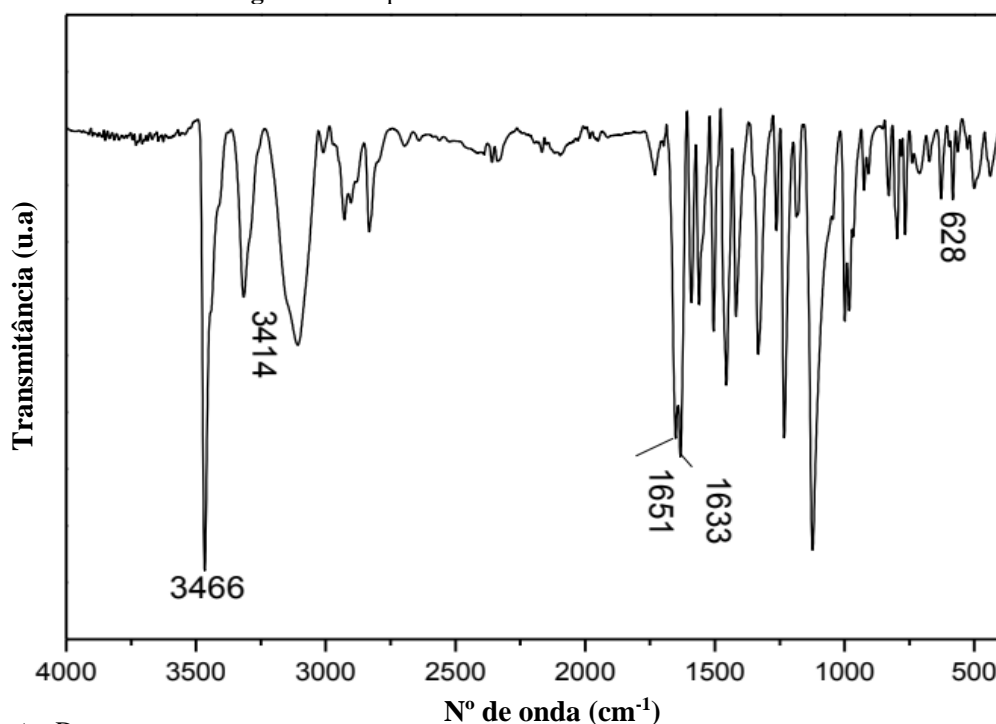
do ligante livre e dados da literatura.

A trimetoprima possui sete potenciais sítios doadores, sendo eles: três grupos metoxilas, dois átomos de nitrogênio e dois grupos  $\text{NH}_2$  no anel pirimidínico. O ligante livre apresenta bandas intensas (Figura 16) nas regiões de 3466 e 3414  $\text{cm}^{-1}$  (Tabela 6) correspondentes, respectivamente, aos estiramentos assimétrico e simétrico dos grupos  $\text{NH}_2$  do anel pirimidínico (AJIBADE *et al.*, 2007). Nos espectros dos complexos ocorrem pequenas alterações das bandas referentes aos grupos  $\text{NH}_2$  (Figuras 17-19), quando comparadas à trimetoprima livre. Estas alterações são oriundas de ligações de hidrogênio intra ou intermoleculares (KOETZLE; WILLIAMS, 1976), como demonstrado posteriormente pelos dados de raios X por monocristal (item 5.6).

A banda em 1633  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída à deformação angular do grupo (N-H), não mostrou mudanças significativas nos complexos, indicando que o grupo não está envolvido na coordenação com o íon metálico, fato que foi confirmado com as estruturas determinadas para (2) e (3) por difração de raios X.

A trimetoprima apresenta uma banda intensa em 1651  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento (C=N) do anel pirimidínico, a qual desloca-se para maior frequência em todos os complexos, como mostrado na Tabela 6. A coordenação através do átomo de nitrogênio é indicada também pelo surgimento de bandas em 510, 496 e 509  $\text{cm}^{-1}$  nos complexos 1, 2 e 3, respectivamente (MADHUPRIYA; ELANGO, 2014).

Figura 16 - Espectro de infravermelho da TMP.



Fonte: Do autor

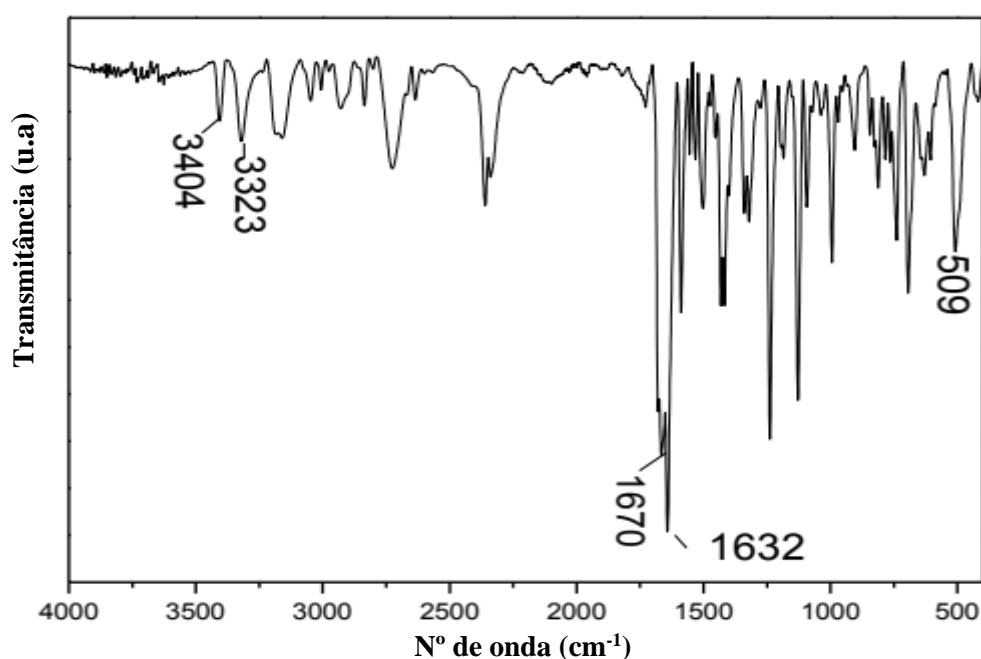
**Tabela 7** - Principais bandas de IR ( $\text{cm}^{-1}$ ) atribuídas a TMP e aos complexos **1-3**.

Modos Vibracionais	TMP	1	2	3
$\nu_{\text{as}}(\text{N-H})$	3466/3414	3404/3323	3407/3318	3404/3323
$\nu_{\text{s}}(\text{N-H})$	3308	3183	3374	3157
$\nu\text{CH}_2$	2932	2926	2927	2918
$\delta(\text{N-H})$	1633	1632	1638	1639
$\nu(\text{C=N})$	1651	1676	1684	1669
$\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2)$	-	-	-	1613
$\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2)$	-	-	-	1424
$\Delta$	-	-	-	189
$\nu(\text{M-N})$	-	509	496	509

Fonte: Do autor

O complexo (**1**) (Figura 18), apresentou deslocamento da banda atribuída ao  $\nu(\text{C=N})$  de  $1651 \text{ cm}^{-1}$  no ligante livre para  $1676 \text{ cm}^{-1}$  no complexo, demonstrando que a coordenação ocorreu pelo nitrogênio pirimidínico. As bandas observadas em  $3404$  e  $3323 \text{ cm}^{-1}$  correspondem respectivamente, aos estiramentos assimétrico e simétrico dos grupos  $\text{NH}_2$  do anel pirimidínico (AJIBADE *et al.*, 2007). O surgimento da banda em aproximadamente  $509 \text{ cm}^{-1}$  indica o estiramento da ligação Ru-N (VILLARREAL PEÑA, 2016).

**Figura 17** - Espectro de infravermelho do complexo (**1**).

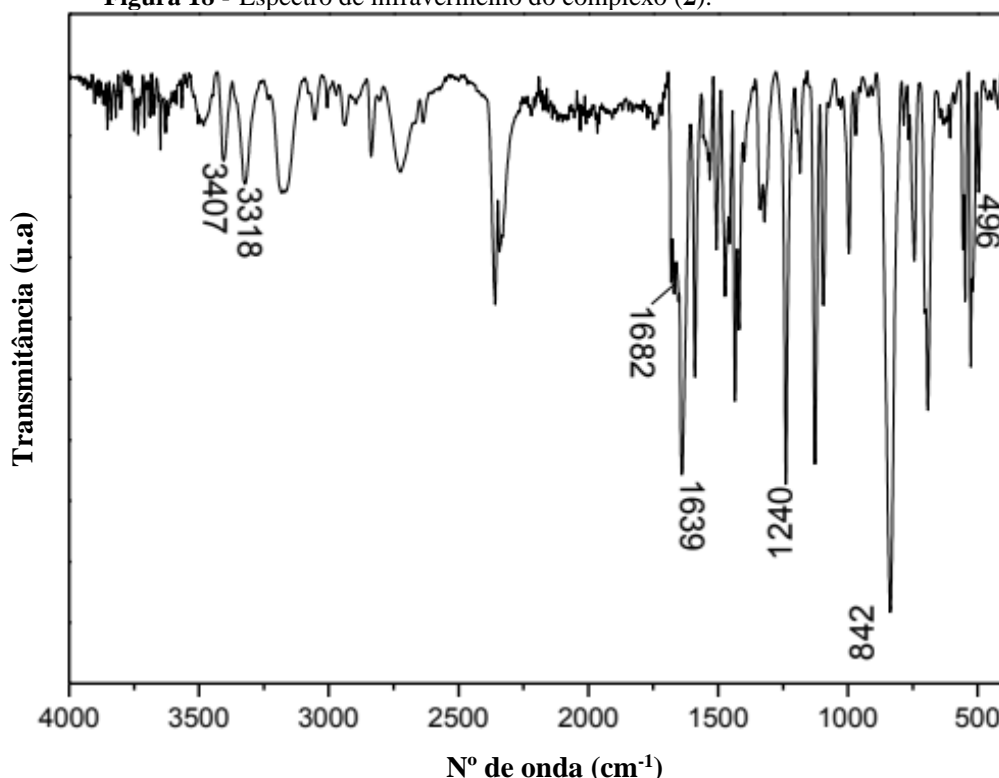


Fonte: Do autor

O espectro do complexo (2) (Figura 18) apresentou bandas que indicam estiramentos dos ligantes fosfínicos  $\nu(\text{P-C})$   $1100\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu(\text{Pt-P})$   $545\text{ cm}^{-1}$  e deformações angulares de Ph-P-Ph em  $695\text{ cm}^{-1}$ . As bandas observadas em  $3407$  e  $3318\text{ cm}^{-1}$  correspondem respectivamente, aos estiramentos assimétrico e simétrico dos grupos  $\text{NH}_2$  do anel pirimidínico. Entretanto, o fato de estarem em menores número de onda não se deve à coordenação ao metal por meio desse nitrogênio, mas sim pelas ligações de hidrogênio intermoleculares observadas quando a estrutura supramolecular do complexo é analisada (item 5.6) (AJIBADE *et al.*, 2007). As bandas em  $827$  e  $547\text{ cm}^{-1}$  são aos estiramentos  $\nu_{\text{as}}(\text{P-F})$  e  $\nu_{\text{s}}(\text{P-F})$  do contra íon  $\text{PF}_6^-$ .

Um maior deslocamento ocorreu para a banda referente ao estiramento ( $\nu\text{ C=N}$ ), o qual altera-se de  $1651\text{ cm}^{-1}$  para  $1684\text{ cm}^{-1}$ , indicando o fortalecimento da ligação e sugerindo a coordenação do metal por meio do nitrogênio pirimidínico (MADHUPRIYA; ELANGO, 2014). Diferentemente de (1) e (3), o complexo (2) apresentou a frequência de  $\nu(\text{C=N})$  deslocada para maiores números de onda em função de a platina ser um ácido mais macio do que o rutênio e o cobre.

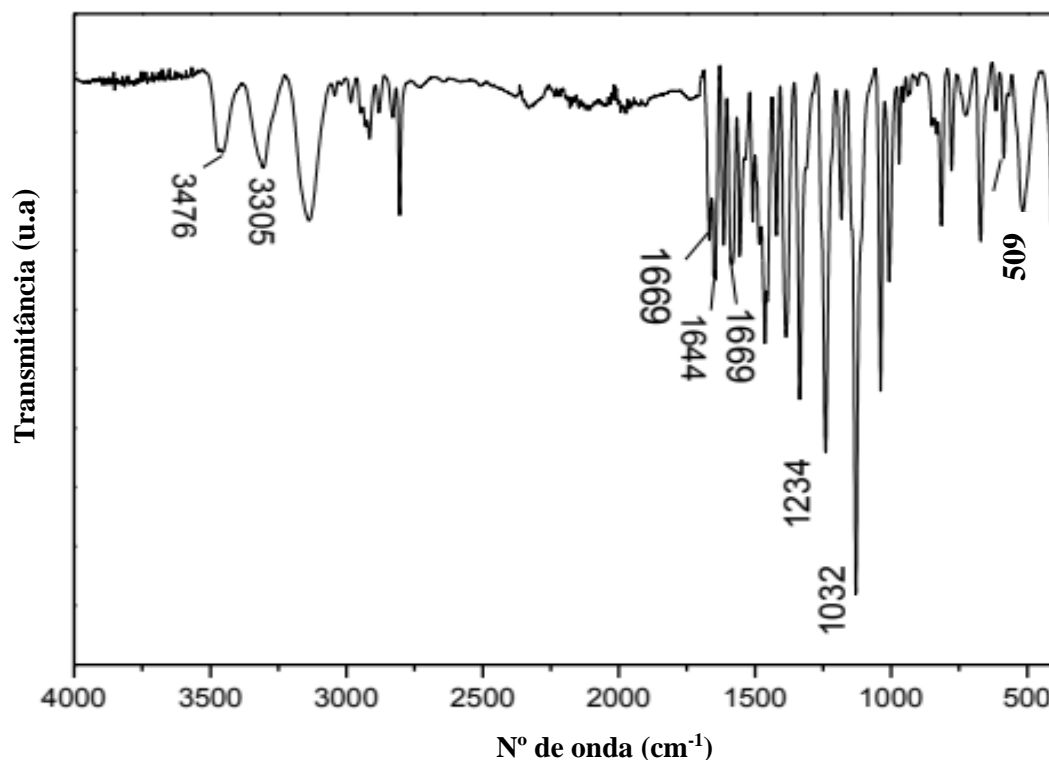
Figura 18 - Espectro de infravermelho do complexo (2).



Fonte: Do autor

No espectro do complexo **(3)** (Figura 19) observa-se bandas em 1613 e 1424  $\text{cm}^{-1}$  correspondentes aos respectivos  $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2)$  e  $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2)$  do precursor acetato (SIMÓ et al., 2000; DEMIREZEN, 2012), bem como a banda em 509  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao  $\nu(\text{Cu-N})$ .

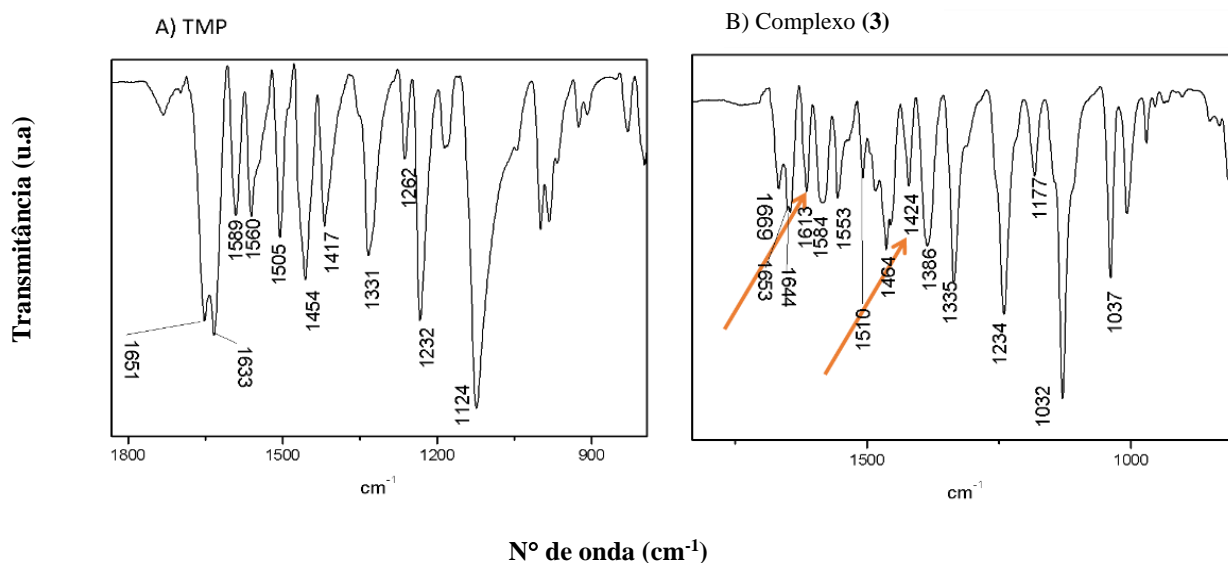
**Figura 19** - Espectro de infravermelho do complexo **(3)**.



**Fonte:** Do autor

É importante destacar que a espectroscopia de infravermelho pode fornecer informações úteis sobre o modo de coordenação do grupo carboxilato. Geralmente, a diferença ( $\Delta\nu(\text{R-CO}_2)$ ) entre as bandas  $\nu_{\text{asy}}(\text{R-CO}_2)$  e  $\nu_{\text{sy}}(\text{R-CO}_2)$  do grupo carboxilato é inferior a 200  $\text{cm}^{-1}$  quando esse está coordenado no modo bidentado e vice-versa no caso do modo monodentado (DEACON, 1980). Neste trabalho, o complexo **(3)** exhibe as bandas  $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2)$  e  $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2)$  em frequências mais baixas, fornecendo um valor de  $\Delta$  igual a 189  $\text{cm}^{-1}$ , que de acordo com um carboxilato mononuclear de cobre (II), está ligado em modo bidentado (Tabela 6) (Figura 20).

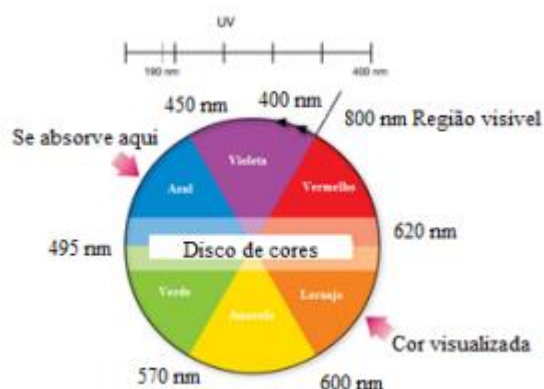
**Figura 20** - Zoom dos Espectros de infravermelho (Figuras 16 e 19) na faixa espectral de 1900-800  $\text{cm}^{-1}$ .



**Fonte:** Do autor

### 5.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL (UV-VIS)

A espectroscopia de absorção na região do ultravioleta apresenta-se como uma importante ferramenta aplicada na investigação das propriedades dos complexos inorgânicos (AGUILAR, 2008). As propriedades químicas dos metais e ligantes envolvidos determinam a energia dos orbitais d e afetam por consequência a quantidade de energia que será absorvida quando um elétron é promovido para um nível superior. Assim, as cores dos compostos de coordenação podem ser correlacionadas às cores complementares absorvidas nos espectros UV-Vis (Figura 21) (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014).

**Figura 21** - Disco de cores.

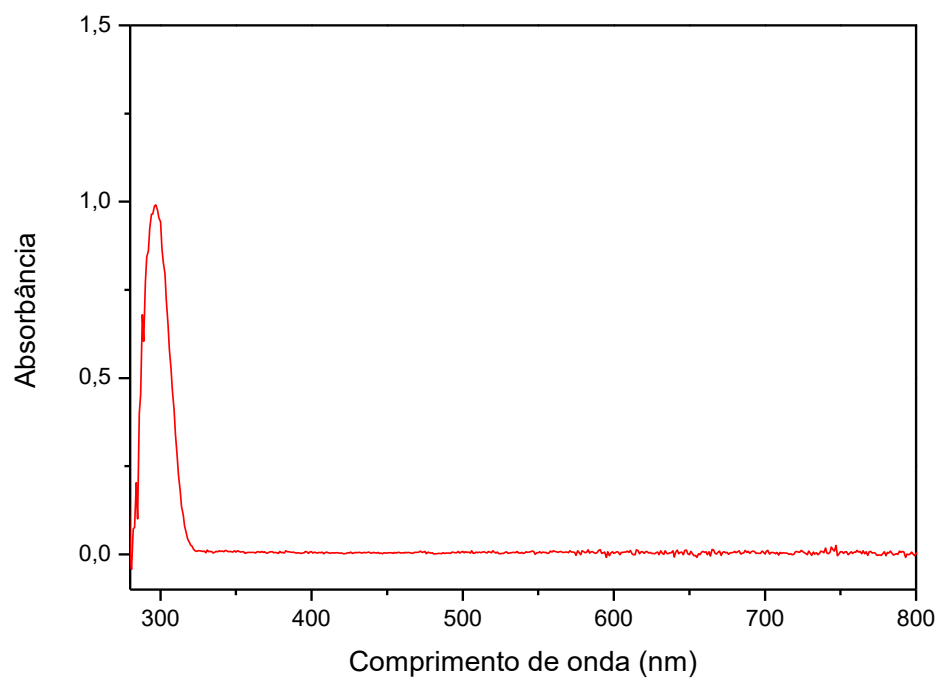
**Fonte:** (RSC, 2009). Tradução.

Vale ressaltar que não é sempre possível fazer uma previsão simples da cor de um complexo a partir do espectro de absorção, em grande parte porque muitos compostos de coordenação contêm duas ou mais bandas de absorção de diferentes energias e intensidades. A cor final observada será a cor predominante após as diversas absorções serem removidas da luz branca (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014).

Em geral, para cada novo complexo sintetizado, modificações no perfil espectral são esperadas, já que novas ligações químicas são formadas e conseqüentemente as diferenças de energia entre orbitais moleculares são modificadas, implicando em energias diferentes necessárias para promover as transições eletrônicas (AGUILAR, 2008).

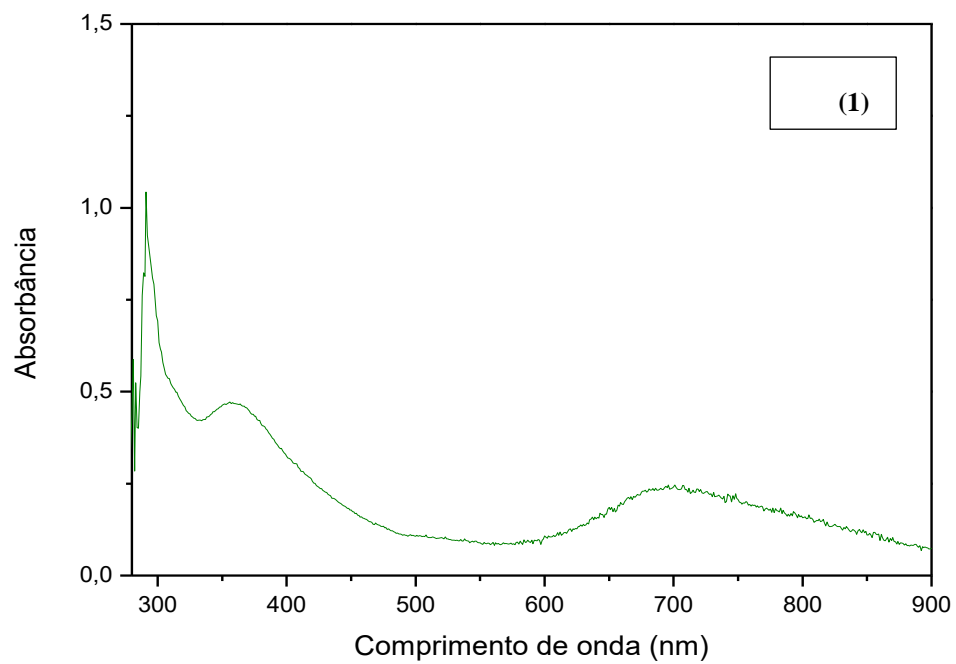
Os espectros de UV-vis obtidos para o ligante trimetopríma, bem como para os complexos (**1-3**) estão reunidos nas Figuras 22 e 23 e os valores de absorvidade molares calculados encontram-se sumarizados na Tabela 7.

**Figura 22** - Espectro de UV-vis do ligante TMP, em diclorometano.



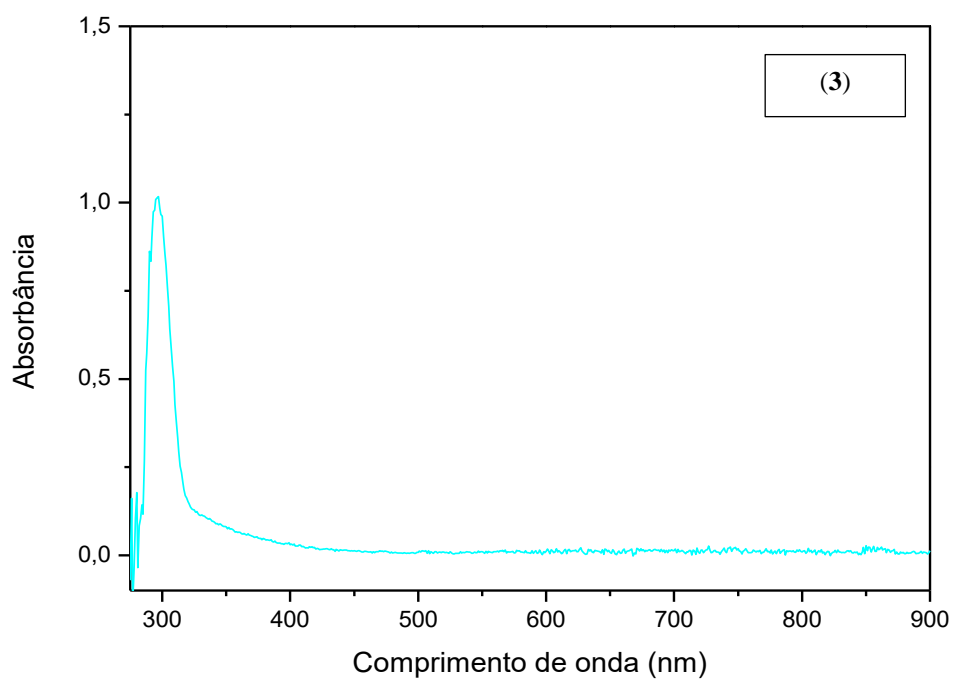
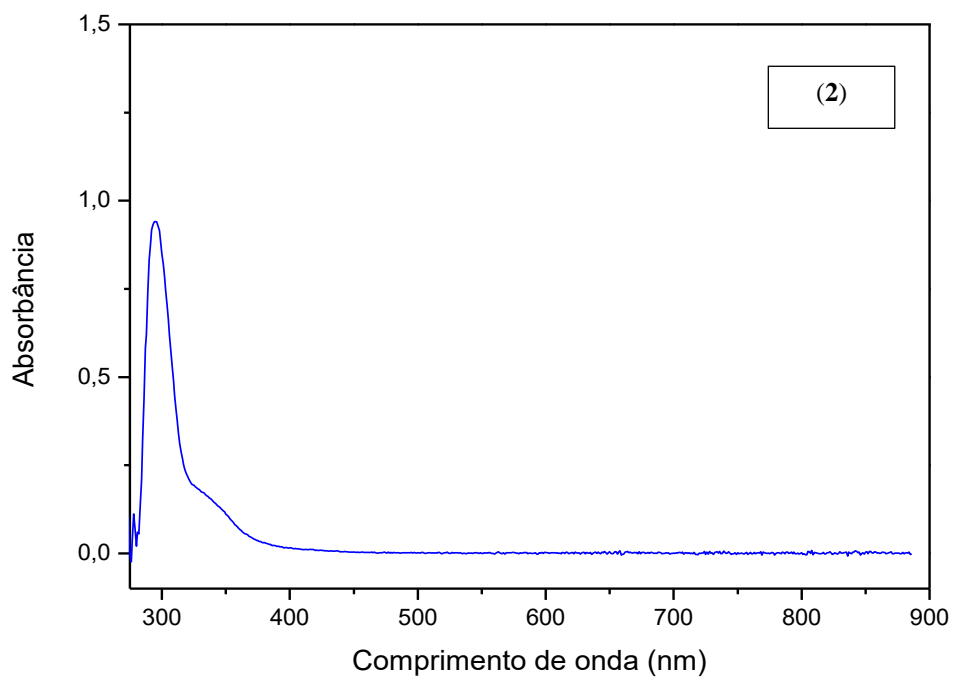
**Fonte:** Do autor

**Figura 23** - Espectros de UV-vis dos complexos (1-3), em diclorometano.



**Figura 24** - Espectros de UV-vis dos complexos (1-3), em diclorometano

(Continua)



Fonte: Do autor

**Tabela 8** - Tentativas de atribuição e coeficiente de absorptividade molar dos complexos com o ligante TMT.

Compostos	Transições	$\lambda$ (nm) (Absorbância) / $\epsilon$ ( $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )
TMP	(IL)	297 (1,01 / 10.080)
1	(TCLM) $\pi(\text{dppb}) \rightarrow d\pi(\text{Ru}^{\text{III}})$ (TCLM) $p\pi(\text{Cl}) \rightarrow d\pi(\text{Ru}^{\text{III}})$	352 (0,48) / 3.699 700 (0,25) / 1890
2	(IL)( $\text{PPh}_3$ ) e TMP (TCLM)	293 (0,94) / 11.145 333 (ombro)
4	(IL) (TMP) $\pi \rightarrow \pi^*$ (TMP) (TCLM)	289 (1,02) / 13.003 335 (ombro)

Fonte: Do autor.

No espectro eletrônico do complexo (1) foram observadas duas bandas, a primeira em 352 nm ( $\epsilon = 3699 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) atribuída à transição eletrônica de transferência de carga ligante metal (TCLM) que ocorre entre os orbitais  $\pi$  da dppb para o orbital  $d\pi$  do metal (BARBOSA *et al.*, 2014), e a segunda na região visível do espectro (700 nm) pode indicar a coordenação do átomo de nitrogênio da TMP com o rutênio, sugerindo uma segunda TCLM.

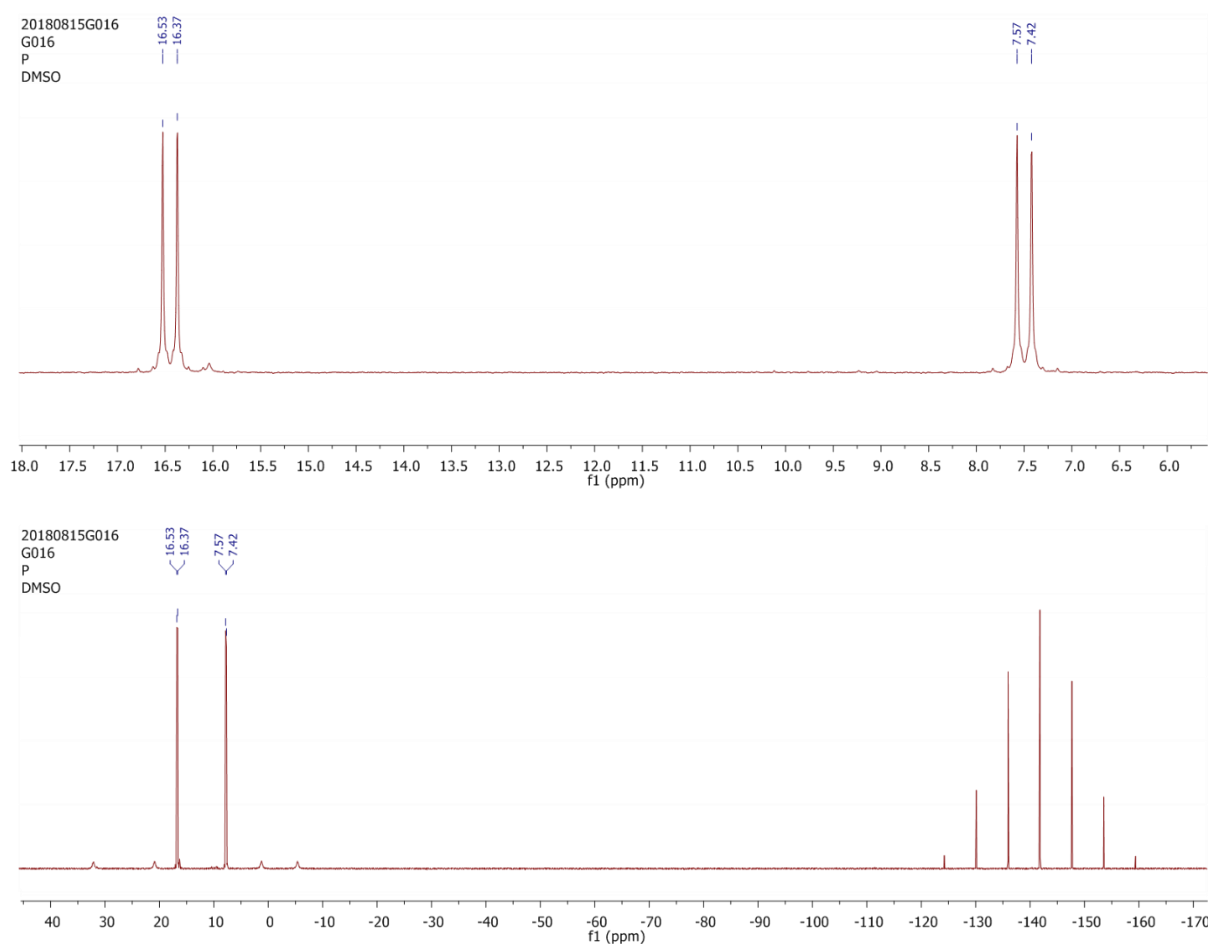
O complexo (2) apresentou uma banda de elevada absorptividade molar em 293 nm ( $\epsilon = 11.145 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) e outra de menor intensidade em 333 nm ( $\epsilon = 1719 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) atribuídas à transição intra-ligante dos orbitais da trifenilfosfina ( $\pi - \pi^*$ ) e TMP. Este tipo de transferência eletrônica é comum em estruturas que possuem anéis aromáticos ou cadeias insaturadas. Nota-se a presença de uma única banda no espectro, a qual é consequência da forma de preenchimento simétrico dos orbitais d (VILLARREAL PEÑA, 2016).

O complexo (3) apresentou um deslocamento sutil para maior energia ao comparar a banda característica do ligante isolado e do complexo, sugerindo assim a coordenação. A banda presente pode ser atribuída à transição intra-ligante dos orbitais  $\pi$  da trimetoprime em 289 nm ( $\epsilon = 13.003 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Também apresenta banda em 335 nm atribuído à carga  $L \rightarrow M$  de transições de transferência de carga (AJIBADE, IDEMUDIA, 2013), uma vez que os complexos de Cu (II) com trimetoprims não apresentam bandas de absorção na região visível de seus espectros eletrônicos.

#### 5.4 ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$

O espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo **(2)** (Figura 22) apresentou dois dubletos em  $\delta$  16,45 e 7,50 ppm e constante de acoplamento 21,7 Hz. O espectro do complexo **(2)** difere do precursor  $\text{PtCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ , o qual apresenta no RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  um singlete em  $\delta$  14,0 ppm, referente ao posicionamento dos dois átomos de fósforo *trans* aos cloretos, apresentando portanto o mesmo ambiente químico. É importante mencionar, que os deslocamentos químicos do complexo **(2)** quando comparados ao do precursor, apresentam-se em região mais desblindada, em função da troca de um cloreto pelo átomo de nitrogênio da trimetoprima. Na Figura 24 pode-se observar os sinais do contra-íon  $\text{PF}_6^-$ , assim como o acoplamento fósforo-platina como reportado por VILLARREAL PEÑA (2016).

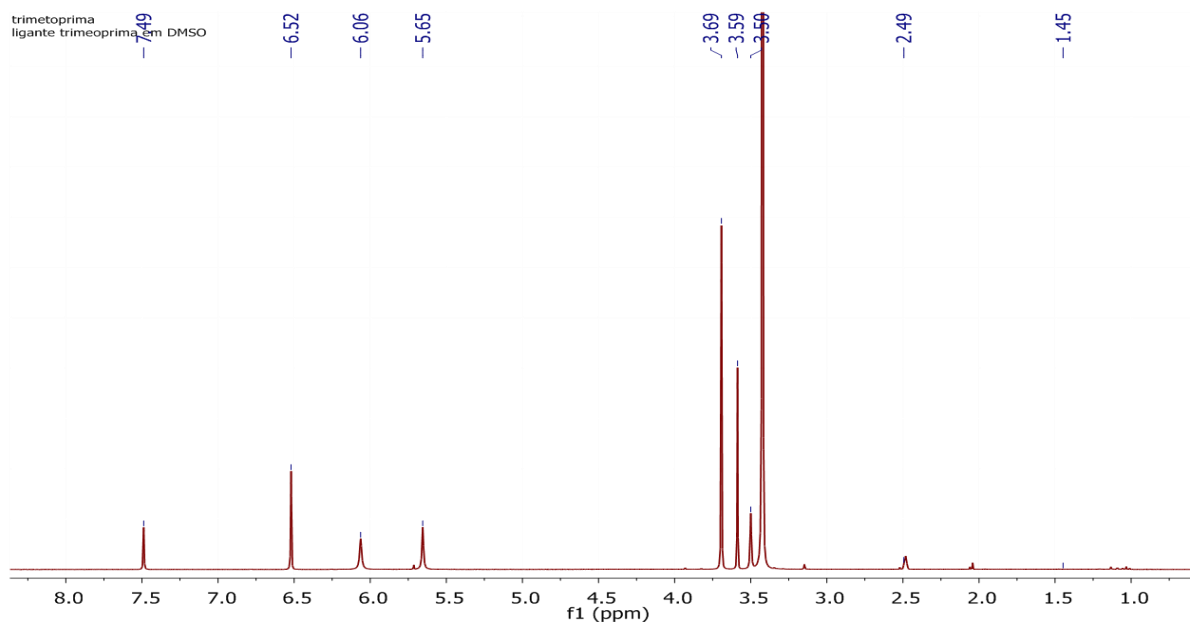
**Figura 25** - Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  para o complexo **(2)** em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$



Fonte: Do autor

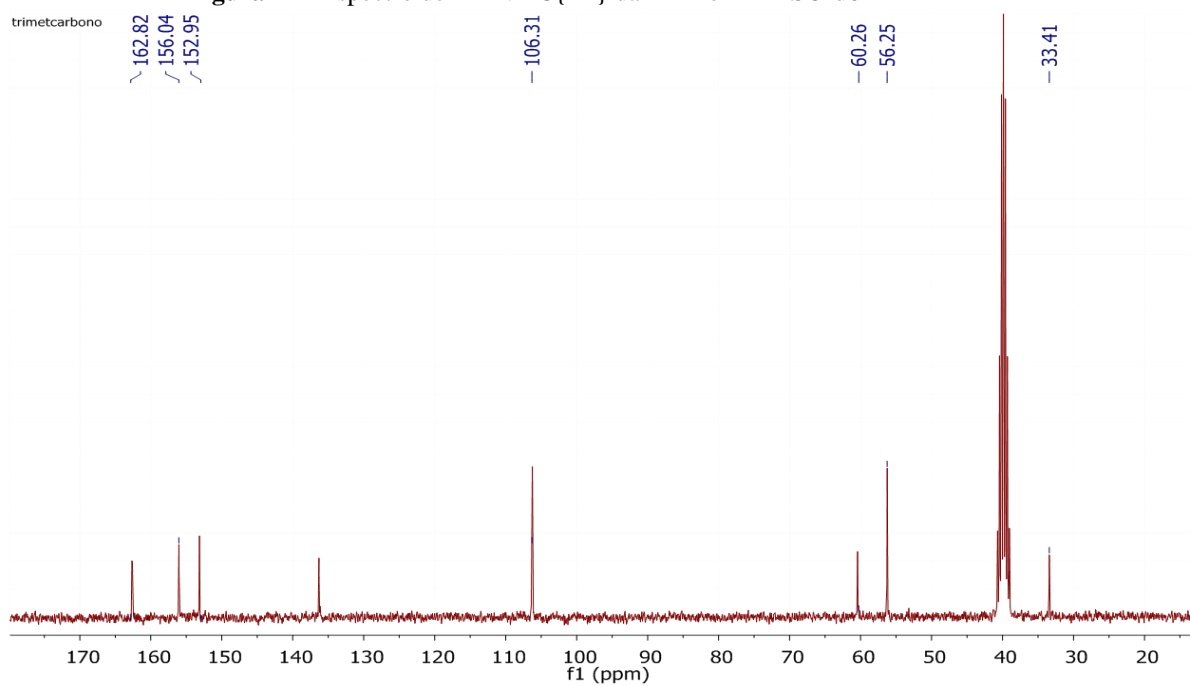
Os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  da trimetoprima (ligante livre) e do complexo (2) em  $\text{DMSO-d}_6$  estão dispostos nas Figuras 24-28.

**Figura 26** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da TMP em  $\text{DMSO-d}_6$



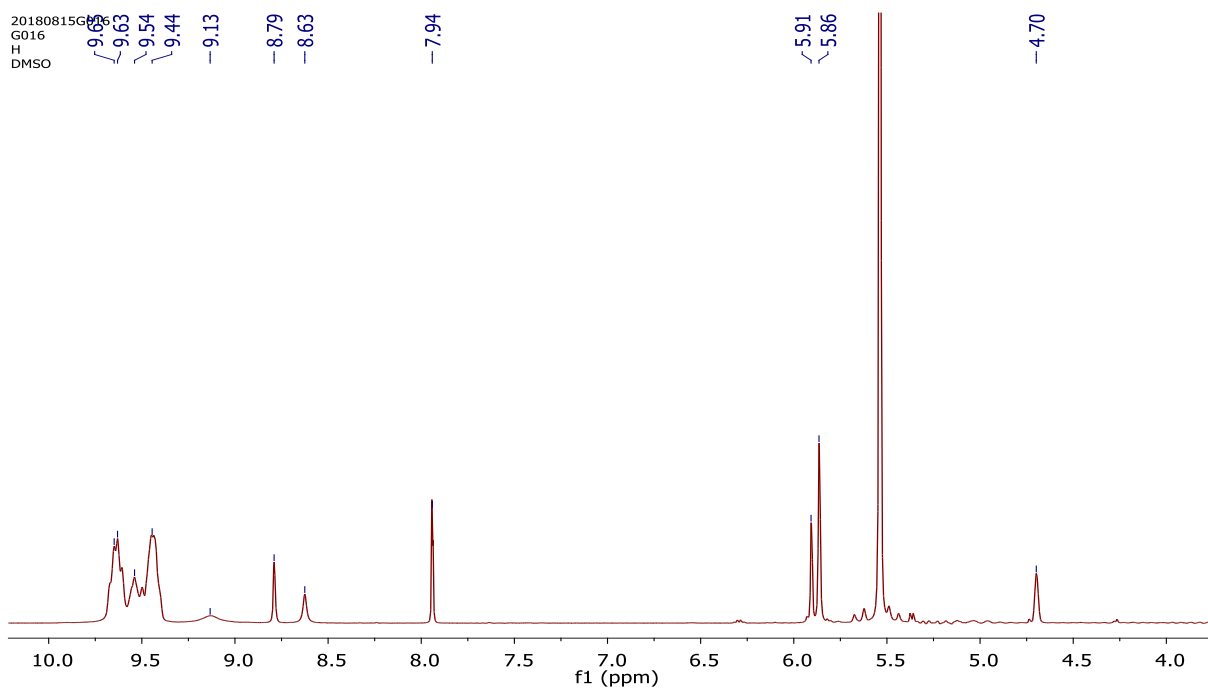
Fonte: Do autor

**Figura 27** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  da TMP em  $\text{DMSO-d}_6$



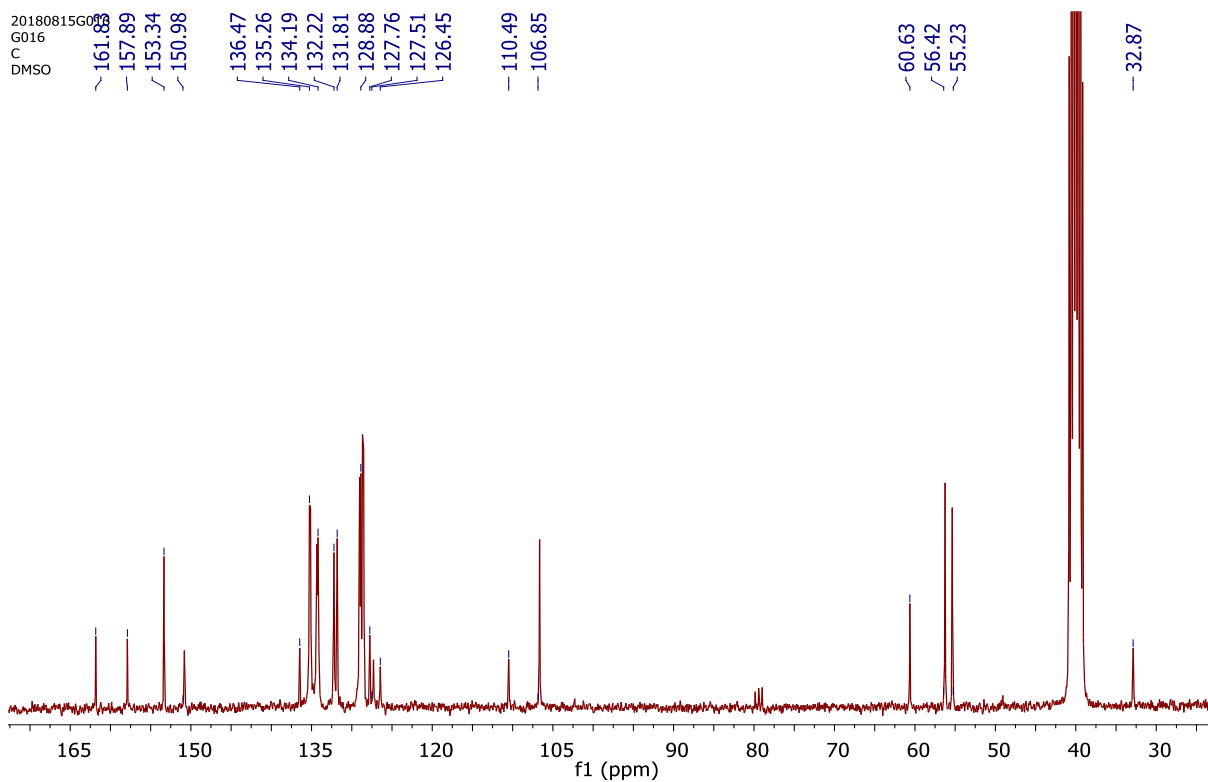
Fonte: Do autor

**Figura 28** - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo (2) em DMSO-d<sub>6</sub>



Fonte: Do autor.

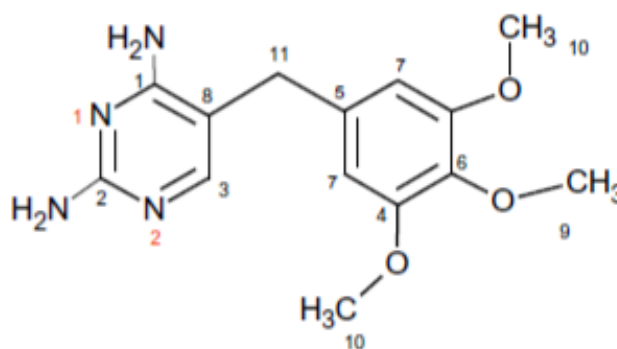
**Figura 29** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo (2) em DMSO-d<sub>6</sub>



Fonte: Do autor

Os deslocamentos químicos dos espectros de  $^1\text{H}$  da trimetoprima e do complexo (2) estão dispostos na Tabela 8, de acordo com a numeração na Figura 29. É possível observar que os deslocamentos químicos no espectro de  $^1\text{H}$  do ligante livre, quando comparados aos deslocamentos químicos do complexo (2), apresentam-se em região mais desblindada, sugerindo assim a coordenação da trimetoprima ao centro metálico. Na região  $\delta$  9,7 a 9,4 ppm são observados os hidrogênios aromáticos da trifenilfosfina, totalizando 30 hidrogênios, como esperado.

**Figura 30** - Ligante trimetoprima.



**Fonte:** Do autor

**Tabela 9** - Deslocamentos químicos dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  da TMP e do complexo (2) em DMSO-d<sub>6</sub>

	TMP	2
<b>-NH<sub>2</sub> - 12</b>	6,06 (s, 2H)	6,81 (s, 2H)
<b>-NH<sub>2</sub> - 13</b>	5,65 (s, 2H)	6,39 (s, 2H)
<b>H7</b>	7,49 (--, 2H)	6,81 (--, 2H)
<b>H3</b>	6,52 (s, 1H)	6,56(s, 2H)
<b>H11</b>	3,42 (s, 2H)	3,60 (s, 2H)
<b>-OCH<sub>3</sub></b>	3,59; 3,69 (s, 6H)	3,64; 3,71 (s, 6H)

**Fonte:** Do autor

Os espectros de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  da trimetoprima e do complexo (2) estão dispostos na Figura 26 e 28, assim como uma tentativa de atribuição na Tabela 9, de acordo com a numeração na Figura 29. Os maiores deslocamentos quando comparados ligante livre e complexo foram observados nos carbonos C8 e C11, uma vez que estes se encontram próximos ao nitrogênio pirimidínico, onde ocorreu a complexação. Ademais, os pequenos deslocamentos observados são consequência de a Pt(II) ser um ácido macio.

**Tabela 10** - Deslocamentos químicos dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN da TMP e do complexo (2) em DMSO-d<sub>6</sub>.

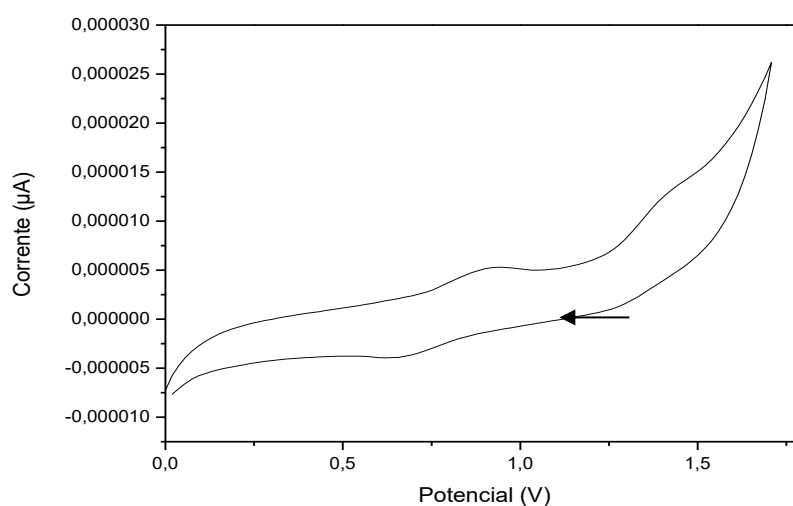
	TMP	2
<b>C1 / C2</b>	162,60	163,65
<b>C3</b>	156,04	161,83
<b>C4</b>	153,36	161,83
<b>C5</b>	136,32	136,47
<b>C6</b>	136,17	-----
<b>C7</b>	152,95	153,34
<b>C8</b>	106,31	106,51
<b>C9</b>	60,53	60,44
<b>C10</b>	56,02	56,31
<b>C11</b>	33,41	32,94

Fonte: Do autor

### 5.5 VOLTAMETRIA CÍCLICA (VC)

As análises de voltametria cíclica são importantes, pois permitem comparar a densidade eletrônica do centro metálico, em função da variação do ligante coordenado (CAVARZAN, 2010).

O voltamograma cíclico para o ligante Trimetoprima está representado na Figura 30, na qual se pode observar um processo, com uma onda anódica na região de 1,0 V e outro pouco definido em 0,6 V.

**Figura 31** - Voltametria cíclica de ligante TMP

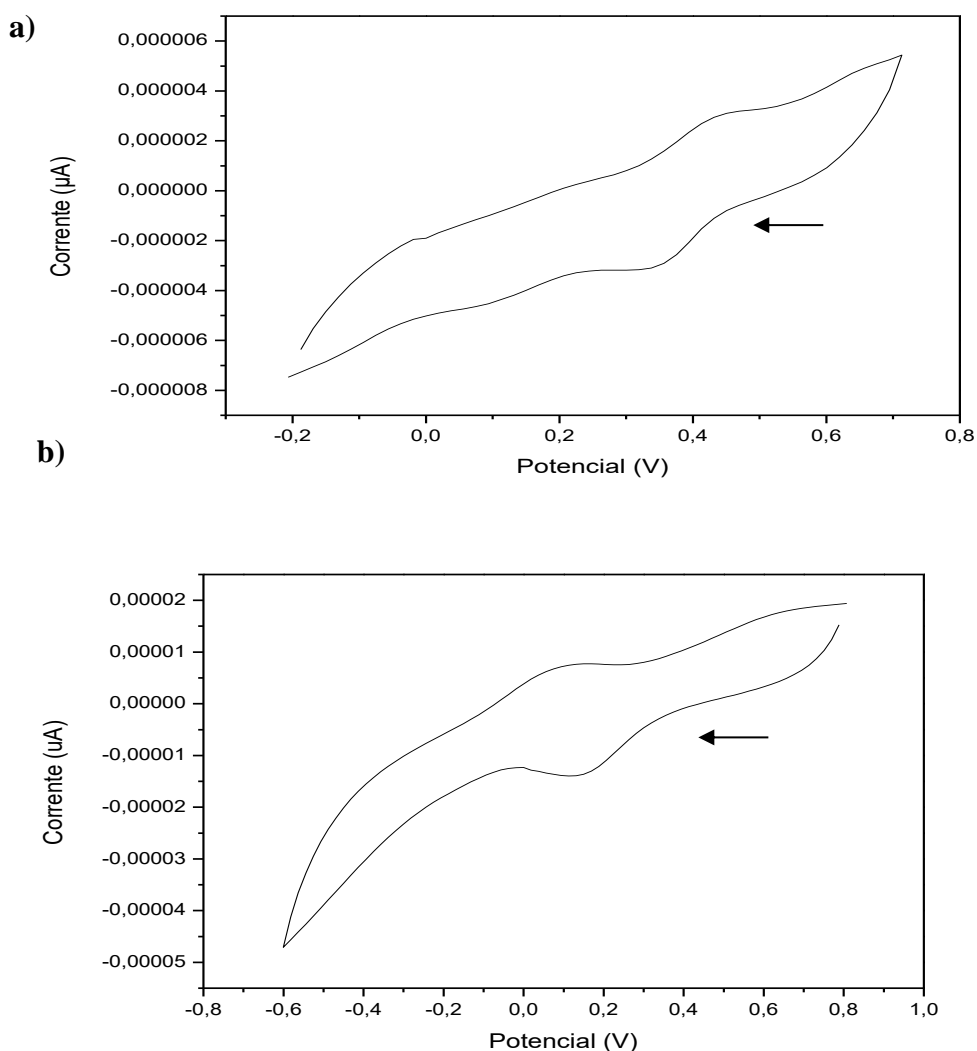
Fonte: Do autor

Legenda: Eletrólito PTBA 0,1 mol·L<sup>-1</sup> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vs Ag/AgCl.

Os voltamogramas dos complexos (1-3) são apresentados na Figura 31. Observa-se um processo irreversível em 0,30 V para o complexo (1) (Figura 31-a) correspondendo à redução  $\text{Ru}^{\text{III}} / \text{Ru}^{\text{II}}$ . Como esperado, o valor de  $E_{1/2}$  encontrado é consideravelmente mais anódico do que aquele observado para o precursor,  $\text{cis-}[\text{RuCl}_3(\text{H}_2\text{O})_2(\text{dppb})_2]$  (-0,07 V), indicando um centro de rutênio mais estabilizado no complexo sintetizado.

Nota-se no voltamograma do complexo (3) (Figura 31-b) um processo irreversível em 0,14 V atribuído à redução  $\text{Cu}(\text{II}) / \text{Cu}(\text{I})$  (DEMIREZEM, *et al.* 2012).

**Figura 32** - Voltametria cíclica dos complexos sintetizados.



**Fonte:** Do autor

**Legenda:** a) Complexo (1)

b) Complexo (3)

## 5.5 MEDIDAS DE CONDUTIVIDADE

A análise de condutividade molar dos complexos (1-3) foi efetuada utilizando-se concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  em diclorometano. Foi possível confirmar eletrólitos neutros para os complexos (1-3) e 1:1 para o composto (2) (Tabela 10).

Os valores foram comparados com os parâmetros de condutividade reportados por VELLHO *et al*, 2006, onde a condutividade em diclorometano abaixo de  $12 \text{ ohm}^{-1}.\text{cm}^2.\text{mol}^{-1}$  indica eletrólitos neutros e entre  $12-77 \text{ ohm}^{-1}.\text{cm}^2.\text{mol}^{-1}$  eletrólitos do tipo 1:1.

**Tabela 11** - Condutividade molar dos compostos (1-3).

Complexos	Condutividade em $\text{ohm}^{-1}.\text{cm}^2.\text{mol}^{-1}$ (T °C)
[RuCl <sub>3</sub> (TMP)(dppb)] (1)	3,41 (24,7)
[PtCl(TMP)(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> PF <sub>6</sub> ·H <sub>2</sub> O] (2)	25,23 (25,6)
[Cu(CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> ) <sub>2</sub> (TMP) <sub>2</sub> ·DMF] (3)	1,39 (24,7)

Fonte: Do autor.

## 5.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS X POR MONOCRISTAL (DRXM)

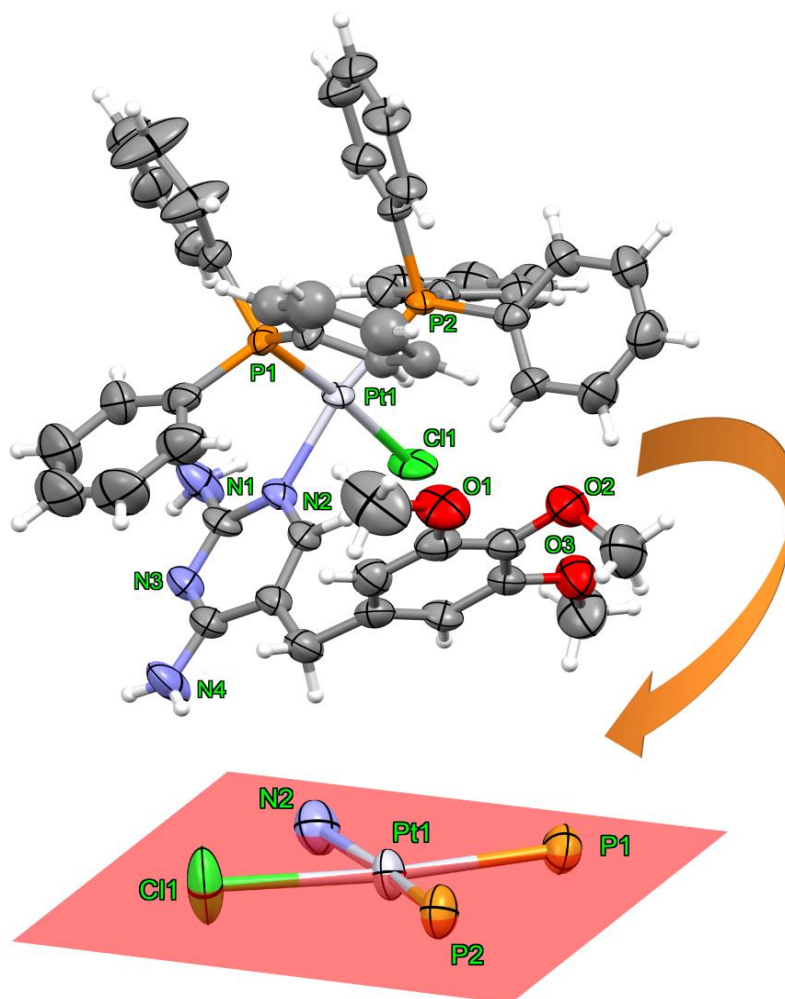
As principais informações e parâmetros das etapas coleta de dados e resolução e refinamento das estruturas de (2) e (3) são apresentadas na Tabela 11. A Figura 32 mostra que o cátion Pt (II) no complexo (2) está em um ambiente de coordenação com geometria quadrática planar formada por um ânion cloreto, duas trifenilfosfinas e uma molécula TMP coordenada de maneira monodentada pelo átomo de nitrogênio N2 da pirimidina, como observado em estruturas do complexo TMP previamente relatadas (AJIBADE; KOLAWOLE, 2008; DEMARTIN, *et al.* 1990; ZORODDU, *et al.* 1987; MUTHIAH; ROBERT, 1999; FLORKE, 2016). O cátion [PtCl(TMP)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> possui como contra íon um ânion hexafluorofosfato (PF<sub>6</sub><sup>-</sup>).

Tabela 12 - Principais informações cristalográficas dos complexos (2) e (3)

	(2)	(3)
<b>Fórmula Empírica</b>	C <sub>50</sub> H <sub>48</sub> ClF <sub>6</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> P <sub>3</sub> Pt	C <sub>38</sub> H <sub>56</sub> CuN <sub>10</sub> O <sub>12</sub>
<b>Peso Molecular</b>	1206,36	454,23
<b>Sistema Cristalino</b>	Monoclínico	Triclínico
<b>Grupo Espacial</b>	P2 <sub>1</sub> /c	P $\bar{1}$
<b>Dimensões da Célula Unitária (Å, °)</b>	a=15,9025(3) b=14,0036(3) c=23,7040(4) β= 104,047(2)	a=5,8144(3) b=12,3528(4) c=15,5477(5) α=79,268(3) β=87,117(3) γ=80,714(3)
<b>Volume (Å<sup>3</sup>)</b>	5120,9(2)	1082,55(8)
<b>Z, Z'</b>	4, 1	2, 0,5
<b>Densidade Calculada (Mg/m<sup>3</sup>)</b>	1,565	1,394
<b>Coef. de Absorção (mm<sup>-1</sup>)</b>	7,085	1,321
<b>F(000)</b>	2408	479
<b>Ângulo θ para aquisição (°)</b>	3,696 para 72,890.	3,686 para 72,917.
<b>Faixa de Índices</b>	-18 ≤ h ≤ 18, -16 ≤ k ≤ 16, -18 ≤ l ≤ 27.	-6 ≤ h ≤ 6, -15 ≤ k ≤ 15, -19 ≤ l ≤ 19.
<b>Reflexões Coletadas</b>	41151	19459
<b>Reflexões Independentes</b>	8138 [R(int) = 0,1048]	4217 [R(int) = 0,0858]
<b>Coletas de θ<sub>max</sub> (%)</b>	100,0	99,9
<b>Dados/restrições/parâmetros</b>	8138 / 1 / 583	4217 / 0 / 283
<b>Banda-de-ajuste em F<sup>2</sup></b>	1,076	1,048
<b>Índices R Final [I&gt;2σ(I)]</b>	R1 = 0,0666, wR2 = 0,1855	R1 = 0,0603, wR2 = 0,1666
<b>Índices R (todos os dados)</b>	R1 = 0,0674, wR2 = 0,1867	R1 = 0,0634, wR2 = 0,1727
<b>Maiores picos e valores de difração (e.Å<sup>-3</sup>)</b>	3,352 e -1,928	0,652 e -0,886

Fonte: Do autor.

**Figure 33** - Representação elipsoide da estrutura de (2) com marcação arbitrária de átomos. Os átomos de H são representados como esferas de raio arbitrário, e os elipsoides dos átomos não-H estão no nível de probabilidade de 50%.



**Fonte:** Do autor.

As distâncias de ligação de P1-Pt1 e P2-Pt1 (Tabela 11) refletem o forte caráter receptor de elétrons esperado das fosfinas (STACHOVÁ, 2007). Ou seja, os resultados confirmam a menor distância Pt–P esperada para a ligação trans ao íon cloreto, como consequência do seu maior caráter doador  $\pi$ , em comparação com o nitrogênio da TMP. Além disso, os átomos de fosfina na posição cis corroboram os resultados da ressonância magnética nuclear de  $^{31}\text{P}$ ( $^1\text{H}$ ). Os ângulos que envolvem a geometria quadrática planar ao redor do cátion de platina (Tabela 11) estão de acordo com a literatura para complexos quadráticos levemente distorcidos (AJIBADE, *et al.* 2006; HABIB, *et al.* 2009.)

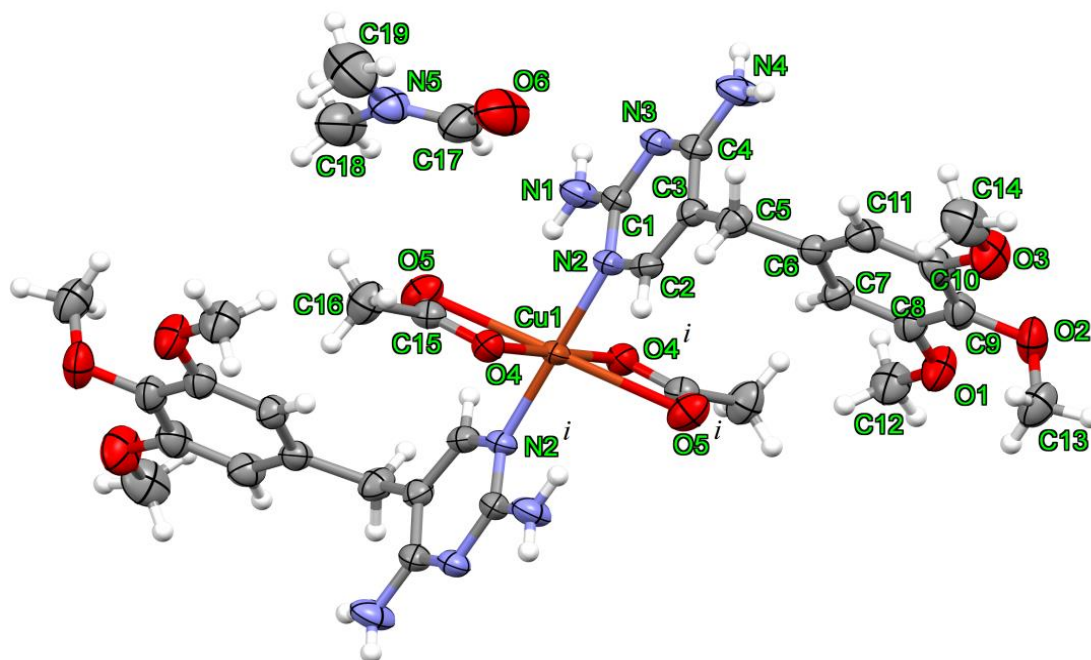
**Tabela 13** - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para complexo (2)

Ligação (Å)		Ângulo (°)	
N2—Pt1	2,085(2)	N2—Pt1—P1	89,9(2)
P1—Pt1	2,264(2)	N2—Pt1—P2	169,4(2)
P2—Pt1	2,280(2)	P1—Pt1—P2	98,93(6)
Cl1—Pt1	2,319(2)	N2—Pt1—Cl1	84,3(2)
		P1—Pt1—Cl1	173,40(7)
		P2—Pt1—Cl1	86,52(7)

**Fonte:** Do autor.

O complexo (3) cristaliza em um grupo espacial  $P\bar{1}$  triclinico com o cátion Cu (II) em seu centro de inversão (Figura 33). Portanto, os pares TMP ou acetato coordenados ao cátion Cu (II) estão relacionados por simetria de inversão. As unidades de TMP são coordenadas no modo monodentado pelo átomo de nitrogênio N2 da pirimidina até o íon Cu (II). O comprimento da ligação Cu-N2 (Tabela 12) está de acordo com os complexos conhecidos de cobre-TMP (AJIBADE, *et al.* 2008; CRYBALIS, 2006; DEMARTIN, *et al.* 1990; HABIB, *et al.* 2009; NALDINI *et al.* 1984; SILVA, *et al.* 2018). Completando a esfera de coordenação e resultando em um complexo neutro, existem duas moléculas de acetato coordenadas de modo bidentado tendo um dos átomos de oxigênio do carboxilato a uma distância normal [Cu1 – O4 = 1,988 (2) Å] e o outro a uma distância consideravelmente maior [Cu1 – O5 = 2,583 (2) Å] como consequência provável do efeito Jahn – Teller esperado para complexos hexacoordenados de Cu (II) (STACHOVÁ, *et al.* 2009; IQBAL, *et al.* 2018). O modo de coordenação quelante do grupo carboxilato em (3) é corroborado pela diferença entre  $\nu_s(\text{COO})$  e  $\nu_{as}(\text{COO})$  ( $\Delta\nu$ ) de 189  $\text{cm}^{-1}$  observado em seu espectro de IV (DEACON, *et al.* 1980; IQBAL, *et al.* 2018; MARINHO, *et al.* 2004). Consequentemente, (3) apresenta uma coordenação octaédrica altamente distorcida na qual os ângulos equatoriais de O-Cu-O têm desvio significativo da ortogonalidade (Tabela 12).

**Figura 34** - Representação elipsoidal da estrutura do complexo (**3**) com marcação arbitrária de átomos. Os átomos de H são representados como esferas de raio arbitrário, e os elipsoides dos átomos não-H estão no nível de probabilidade de 50%. Código de simetria:  $^i -x+2,-y,-z+1$ .



**Fonte:** Do autor.

**Tabela 14** - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para complexo (**3**)

Ligação (Å)		Ângulo (°)	
C15—O4	1,275(3)	N2—Cu1—O4	89,89(7)
C15—O5	1,244(3)	N2—Cu1—O4 <sup>i</sup>	90,11(7)
Cu1—N2	1,987(2)	N2—Cu1—O5	94,79(7)
Cu1—N2 <sup>i</sup>	1,987(2)	N2—Cu1—O5 <sup>i</sup>	85,21(7)
Cu1—O4	1,989(2)	O4—Cu1—O5	55,93(7)
Cu1—O4 <sup>i</sup>	1,989(2)	O4—Cu1—O5 <sup>i</sup>	124,07(7)
Cu1—O5	2,583(2)		
Cu1—O5 <sup>i</sup>	2,583(2)		

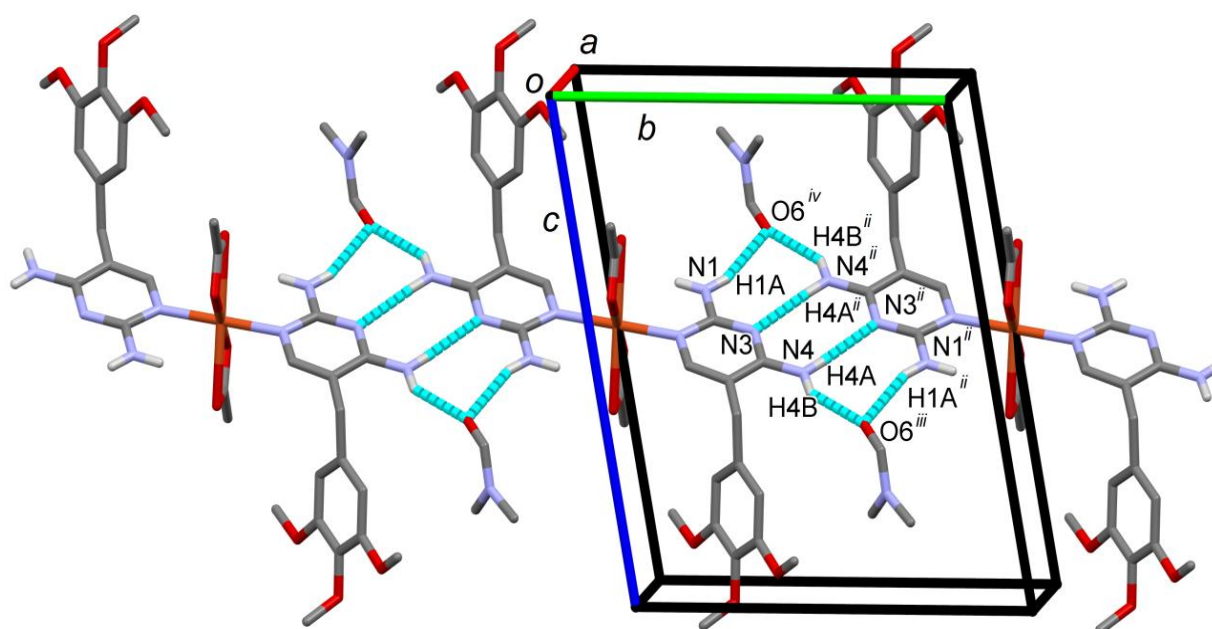
**Fonte:** Do autor.

**Legenda:** Código de simetria como na Figura 33:  $^i -x+2,-y,-z+1$ .

As unidades octaédricas estão conectadas por meio de ligações de hidrogênio ao longo da direção (BURCHALL, 1975), tendo o átomo de nitrogênio (N3) da pirimidina e o átomo nitrogênio de uma das aminas (N3) como receptores e doadores de ligações de hidrogênio,

respectivamente (Figura 33). A molécula de DMF também participa da estabilização da cadeia supramolecular por meio de seu átomo de oxigênio (O6) que é receptor bifurcado de ligação de hidrogênio para dois grupos amino (N1 e N4) de unidades octaédricas vizinhas (BURCHALL, 1975). A geometria das ligações de hidrogênios presentes em (3) são dadas na Tabela 13. A representação do empacotamento cristalino de (3) é dada na Figura 34.

**Figura 35** - Empacotamento parcial de (3) mostrando a cadeia supramolecular ao longo da direção estabilizada por ligações de hidrogênio. Os átomos de hidrogênio não envolvidos nas ligações de hidrogênio foram omitidos por uma questão de clareza.



**Fonte:** Do autor.

**Legenda:** Códigos de simetria: <sup>ii</sup>  $-x+2, -y+1, -z+1$ ; <sup>iii</sup>  $-x+1, -y+1, -z+1$ ; <sup>iv</sup>  $x+1, y, z$

**Tabela 15** - Ligações clássicas de hidrogênio para (3) (Å e °), onde D = doador e A = aceitador.

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(D-H-A)
N1 <sup>ii</sup> -H1a <sup>ii</sup> ...O6 <sup>iii</sup>	0,86	2,322	3,152(4)	162,2
N4-H4a...N3 <sup>ii</sup>	0,86	2,193	3,037(3)	166,9
N4-H4b...O6 <sup>iii</sup>	0,86	2,152	2,893(4)	144,2

**Fonte:** Do autor.

**Legenda:** *d* = distância; <(D-H-A) = ângulo. Códigos de simetria como na Figura 33: <sup>ii</sup>  $-x+2, -y+1, -z+1$ ; <sup>iii</sup>  $-x+1, -y+1, -z+1$ ;

## 5.7 TESTES BIOLÓGICOS

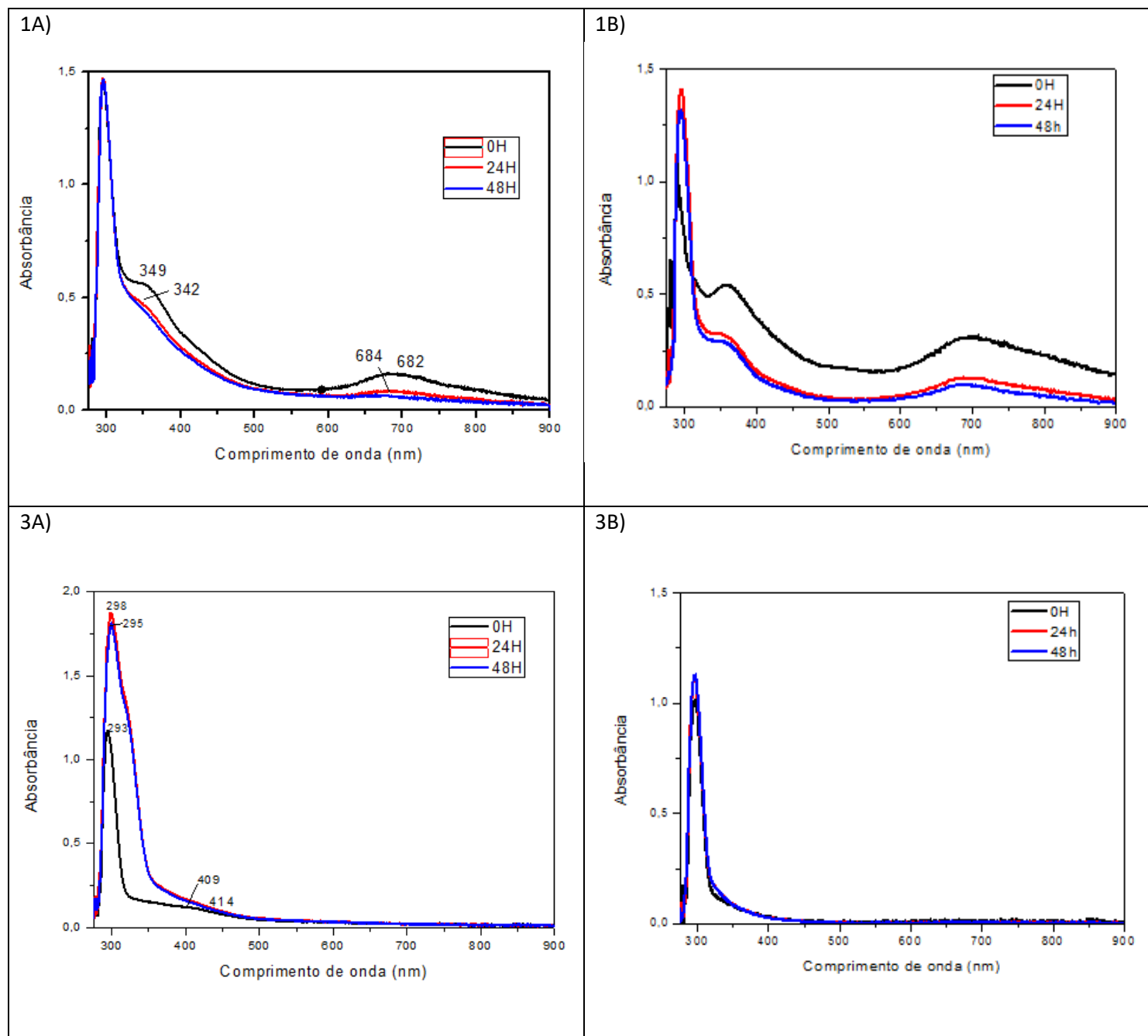
Os complexos sintetizados de rutênio (III), cobre (II) e platina (II) foram submetidos a estudo de estabilidade, da atividade antiparasitária e citotóxica conforme citadas abaixo.

### 5.7.1 Estudo da Estabilidade

Os complexos de Ru(III) e Cu(II), por serem paramagnéticos e conseqüentemente não gerarem sinal no espectro de RMN, tiveram suas estabilidades avaliadas por meio da técnica de espectroscopia de absorção na região do UV-vis. Primeiramente, 1,0 mg de cada complexo foi pesado e diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) em temperatura ambiente. O DMSO foi utilizado com o objetivo de reproduzir condições próximas dos ensaios *in vitro*, uma vez que os testes biológicos toleram porcentagem mínima desse solvente (0,5% do volume final) (TIMM *et al.*, 2013). Em seguida, registraram-se os espectros nos períodos de 0, 24 e 48 horas, com o objetivo de se avaliar qualquer mudança no perfil espectral.

Após adição do meio biológico (t = 0 horas) foi possível observar mudança no perfil espectral de todos complexos, repetindo o comportamento evidenciado em DMSO como deslocamentos e/ou desaparecimento de bandas. Porém este ocorreu mais claramente na presença do Meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM), devido a composição do meio, como sais, aminoácidos, tióis e vitaminas, possibilitando diversas reações. O complexo (2), por possuir o centro metálico de Pt(II), teve a sua estabilidade avaliada também por meio da técnica de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  (Figura 36). Pode-se perceber pelos espectros de RMN que durante todo período de estudo ocorreu a manutenção do sinal em aproximadamente 5,5 e 14,5 ppm, sem o surgimento de novos produtos, portanto, evidenciando a estabilidade do complexo (2).

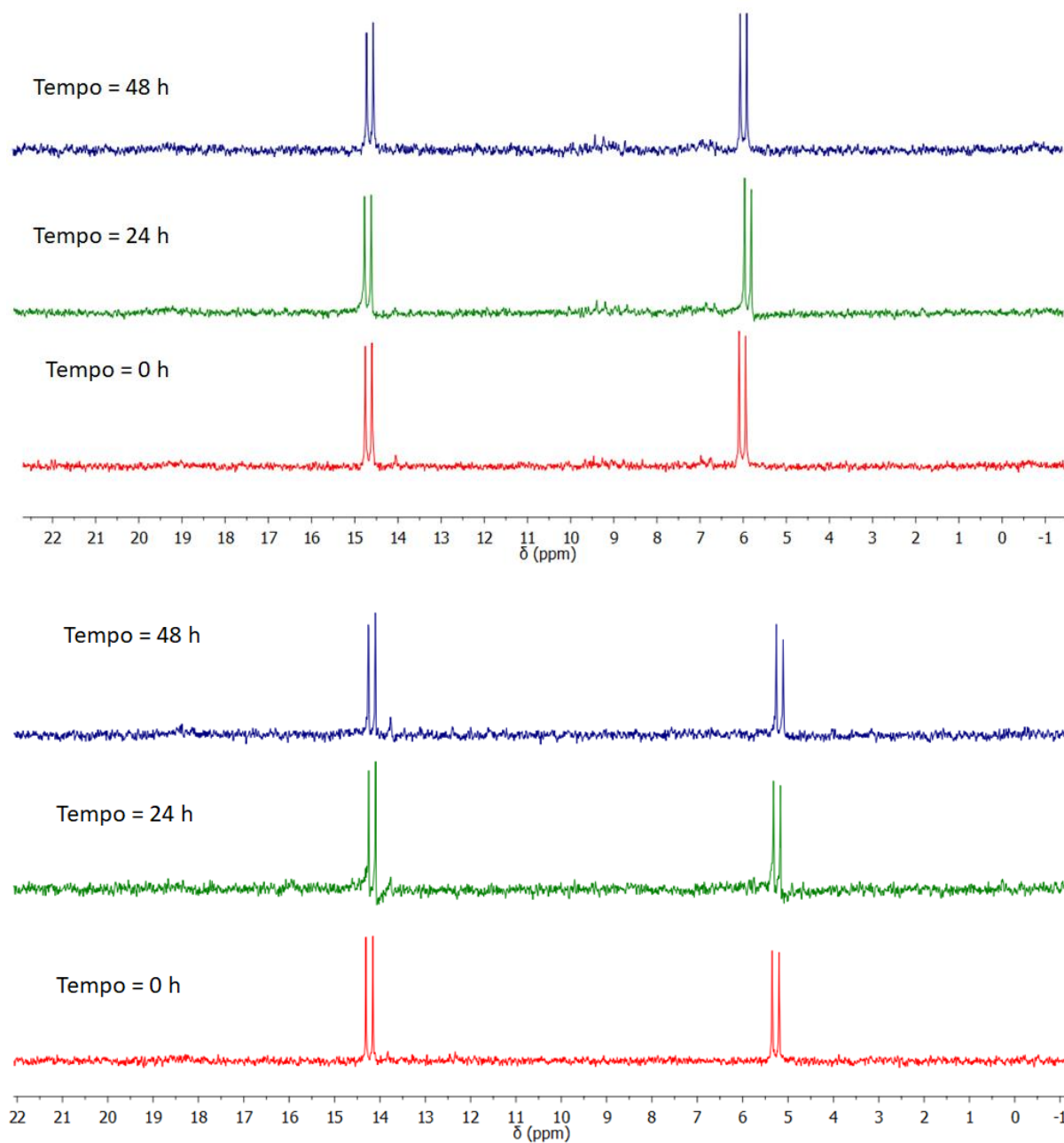
**Figura 36** - Espectros UV-vis dos complexos (1) e (3) em DMEM (A) e DMSO (B), no intervalo de 0, 24 e 48 horas



**Fonte:** Do autor

**Legenda:** 1A) Complexo em DMEM  
1B) Complexo em DMSO  
3A) Complexo em DMEM  
3B) Complexo em DMSO

**Figura 37** - RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  dos complexos (2) em DMEM e DMSO, no intervalo de  $t = 0, 24$  e 48 horas.



Fonte: Do Autor.

### 5.7.2 Atividade leishmanicida

Os complexos (1-3) foram avaliados quanto a capacidade de inibir a proliferação de promastigotas e formas parasitas intracelulares de *L. amazonensis*, de acordo com a metodologia padrão (ROCHA, *et al.*, 2013). Além disso, a citotoxicidade de células hospedeiras em macrófagos J774 foi determinada (DESJARDINS, *et al.* 1979; WANG, *et al.* 2010). Os

resultados foram expressos em termos de valores de IC<sub>50</sub> e CC<sub>50</sub>. A anfotericina B foi usada como droga de referência para *Leishmania*, enquanto a violeta de genciana foi usada como controle na citotoxicidade das células hospedeiras.

Após 72 h de tratamento, o complexo (2) inibiu a proliferação de promastigotas com um IC<sub>50</sub> de  $3,6 \pm 1,5 \mu\text{M}$  sendo menos potente que a anfotericina B que apresentou um IC<sub>50</sub> de  $0,09 \pm 0,02 \mu\text{M}$ . No entanto, o complexo (2) apresentou um valor de CC<sub>50</sub> de  $17,8 \mu\text{M}$ , sendo várias vezes menos citotóxico em comparação com a anfotericina B (CC<sub>50</sub> =  $3,3 \mu\text{M}$ ) e violeta de genciana (CC<sub>50</sub> =  $0,8 \mu\text{M}$ ). Em relação ao índice de seletividade (S.I.) celular, o complexo (2) exibiu uma seletividade de 4,9. Os complexos (1) e (3) foram inativos para inibir as formas promastigotas (Tabela 15) e, portanto, sua inibição contra parasitas intracelulares não foi testada. O complexo (2) inibiu a infecção por macrófagos e o número de amastigotas pelos macrófagos (IC<sub>50</sub> = 6,6 e S.I. = 2,7), especialmente na concentração de  $5 \mu\text{M}$  (Figura 37). O tratamento com TMP não mostrou atividade contra formas amastigotas (Figura 37)

**Tabela 16** - Citotoxicidade de células antiparasitárias e de células hospedeiras para compostos.

Complexos	CC <sub>50</sub> ± S.D. (μM)	<i>L. amazonensis</i>			
		Macrófagos J774		Amastigotas	
		IC <sub>50</sub> ± S.D. (μM)	S.I.	IC <sub>50</sub> ± S.D. (μM)	S.I.
(1)	$32,5 \pm 10,4$	> 20	N.D.	N.D.	N.D.
(2)	$17,8 \pm 3,7$	$3,6 \pm 1,5$	4,9	6,6	2,7
(3)	$62,8 \pm 8,7$	> 20	N.D.	N.D.	N.D.
<b>TMP</b>	> 100	> 20	N.D.	> 5	N.D.
<b>violeta de genciana</b>	$0,8 \pm 0,1$	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Anfotericina B	$3,3 \pm 0,5$	$0,09 \pm 0,02$	36,6	0,04	82,5

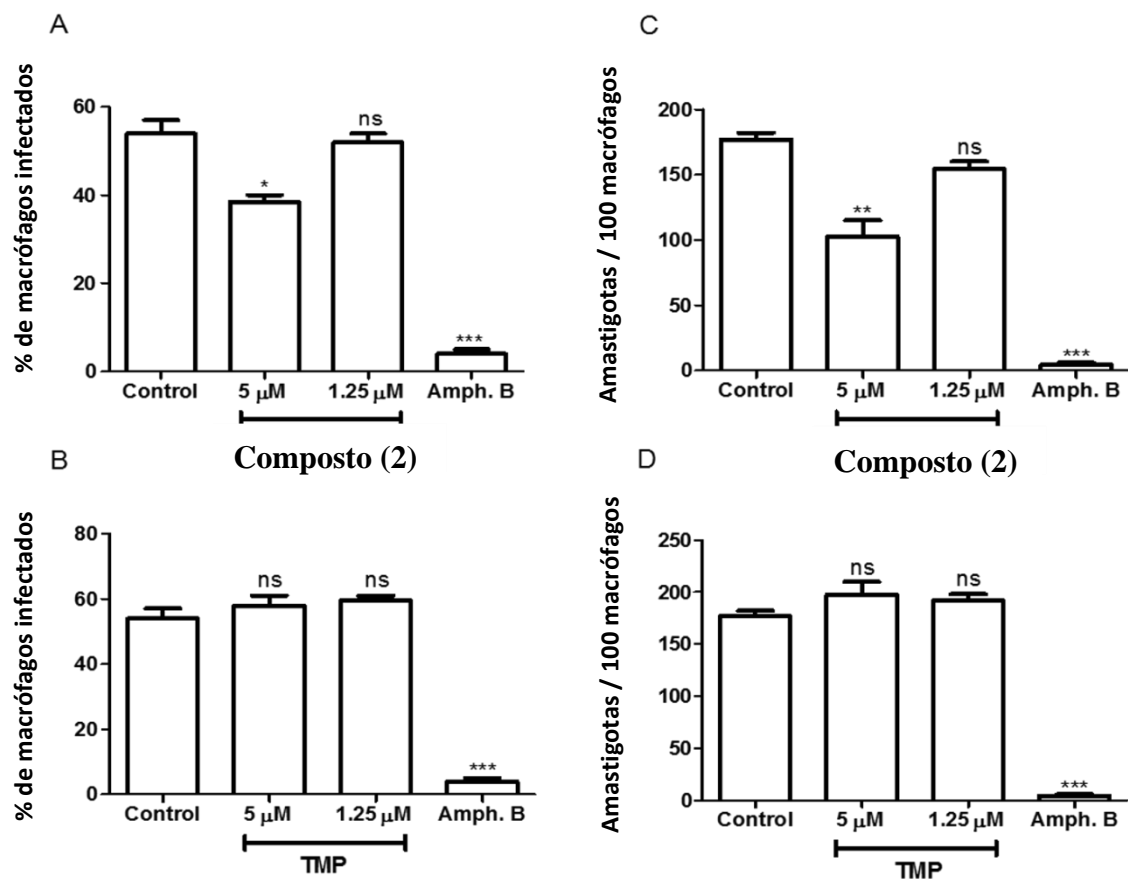
**Fonte:** Do Autor.

**Legenda:** N.D. = não determinado;

S.D. = Desvio padrão;

S.I. = índice de seletividade.

**Figure 38** - Efeitos do complexo (2) e TMP nos amastigotas intracelulares de *L. amazonensis*. Os macrófagos J774 foram infectados com promastigotas de *L. amazonensis* na fase estacionária (10: 1) e foram tratados com TMP e complexo (2) nas concentrações de 1,25 e 5,0  $\mu\text{M}$ . A porcentagem de infecção e o número de amastigotas / 100 macrófagos foram determinados após 24 horas de tratamento. A anfotericina B foi usada como controle positivo na concentração de 1,25  $\mu\text{M}$ . (A, C) Porcentagem de células infectadas e número de amastigotas / 100 macrófagos após tratamento com complexo (2). (B, D) Porcentagem de células infectadas e o número de amastigotas / 100 macrófagos após o tratamento com TMP. \*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ ;  $P < 0,05$ ; ns: não significativo



Fonte: Do autor

## 6 CONCLUSÃO

Em resumo, neste trabalho foram obtidos três novos complexos de diferentes metais, rutênio (III), platina (II) e cobre (II), tendo em comum o fármaco trimetoprima como um dos ligantes. A identidade dos complexos foi confirmada por espectroscopia vibracional na região do infravermelho e eletrônica UV-vis, voltametria cíclica, condutividade molar, análise elementar e RMN (complexo de Pt (II)).

A análise por difração de raios X de monocristal confirmou a obtenção dos complexos e o modo coordenação monodentado adotado pela trimetoprima. Os complexos de platina (II) (2) e cobre (II) (3) apresentam geometrias quadrática planar e octaédrica distorcida, respectivamente.

O complexo (2) inibiu a proliferação de promastigotas, sendo menos citotóxico em comparação com anfotericina B e violeta de genciana e apresentou seletividade de 4,9. O complexo (2) inibiu a infecção por macrófagos e o número de amastigotas pelos macrófagos ( $IC_{50} = 6,6$  e  $SI = 2,7$ ), especialmente na concentração de  $5 \mu M$  de tratamento com TMP, não mostrou atividade contra as formas amastigotas. Portanto, é um candidato promissor a agente terapêutico leishmanicida por demonstrar poder biológico e baixa toxicidade.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, P. D. *et al.* PHENIX: um sistema abrangente baseado em Python para solução de estrutura macromolecular. **Acta Crystallographica Seção D: Cristalografia Biológica**, v. 66, n. 2, p. 213-221, 2010.
- AGUILAR, C. M. **Aplicação de Metodologias Teóricas para o Estudo do Processo de Solvatação e Espectroscopia Eletrônica de Íons de Metais de Transição em Solução.** 2008. 92f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.
- AJIBADE, P. A.; IDEMUDIA, O. G. Synthesis, characterization, and antibacterial studies of Pd (II) and Pt (II) complexes of some diaminopyrimidine derivatives. **Bioinorganic chemistry and applications**, v.13, p. 1-8, 2013.
- AJIBADE, P. A. *et al.* Synthesis and characterization of Ni (II), Pd (II) and Pt (II) complexes of 2, 4-diamino-5-(3, 4, 5-trimethoxybenzyl) pyrimidine complexes. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 59, n. 14, p. 1621-1628, 2006.
- AJIBADE, P.A.; KOLAWOLE, G.A. Synthesis, characterization and in vitro antiprotozoal studies of iron(III) complexes of some antimalarial drugs, **J. Coord. Chem.** v. 61 p. 3367–3374, 2008.
- ALAGHAZ, A. N. M. A. *et al.* Synthesis and spectral characterization studies of new trimethoprim-diphenylphosphate metal complexes. **Int. Jour. Sci. Res**, v. 5, n. 1, p. 1220-1229, 2013
- ANDREWS, K. T.; FISHER, G.; SKINNER-ADAMS, T. S. Drug repurposing and human parasitic protozoan diseases. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 4, n. 2, p. 95–111, 2014.
- BARBOSA, M. I. F *et al.* Antiparasitic activities of novel ruthenium/lapachol complexes. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 136, p. 33-39, 2014.
- BARBOSA, M. *et al.* Structural isomerism of Ru (II)-carbonyl complexes: synthesis, characterization and their antitrypanosomal activities. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 4468-4477, 2017.
- BENÍTEZ, J. *et al.* “Design of vanadium mixed-ligand complexes as potential anti-protozoa agents”, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.103, p. 609–616, 2009.
- BLACKIE, M.; CHIBALE, K.; **Met. Based Drugs**, p. 495-123, 2008.
- BRESSAN, M.; RIGO, P. Five-coordinate complexes of ruthenium(II) with ditertiary phosphine. **Inorg.Chem.**, v.14, p. 2286, 1975.
- BURCHALL, J. J. Antibiotics III, first ed, Springer, **New York**, 1975.
- BURLA, M.C. *et al.* Crystal structure determination and refinement via SIR2014, **J. Appl. Crystallogr.** v. 48, p. 306–309, 2015.

- CARVALHO, P.; ARRIBAS, M.; FERREIRA, E. "Leishmanias. What do we about its chemotherapy?" **Braz. J. Pharmac. Scien.**, v. 36, p. 69-95, 2000.
- CAVARZAN, D. A. **Síntese, caracterização e atividade catalítica de complexos de rutênio (II) com carbonilos, fosfinas, aminas, iminas e hidretos**. 2010. 87f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- CHAVAIN, N. et al. Investigation of the redox behavior of ferroquine, a new antimalarial. **Molecular pharmaceuticals**, v. 5, n. 5, p. 710-716, 2008
- CROFT, S.; COMBS G. "Leishmaniasis-current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs". **Trends Parasitol**, v. 19, p. 502-8, 2003
- CROFT, S. *et al.* "The activities of four anticancer alkyllysophospholipids against leishmania donovani, Trypanosoma cruzi and trypanosome brucei". **J Antimicrob Chemother**, v. 38, p. 1041-47, 1996.
- CrysAlis CCD and CrysAlis Red, Version 171.32.6, Oxford Diffraction Poland, Wrocław, Poland, 2006.
- COSTA, M. S. *et al.* Anti-Leishmania activity of new ruthenium (II) complexes: Effect on parasite-host interaction. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 175, p. 225-231, 2017.
- COURA, J.; CASTRO, S. "A Critical review on Chagas Disease chemotherapy". **Inst. Oswaldo Cruz**, v. 97, p.3-24, 2002
- CUNICO, W. *et al.* Fármacos antimalariais-história e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, n. 1, p. 49-55, 2008.
- DEACON, G.B.; PHILLIPS, R.J. Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination, **Coord. Chem. Rev.** v. 33, p. 227-250, 1980.
- DEMARTIN, M. *et al.* Metal Complexes of 2,4-Diamino-5-(3',4',5'-trimethoxybenzyl)pyrimidine (trimethoprim) Part IV. Synthesis and X-ray Structure of [CuCl( $\mu$ -OCH<sub>3</sub>)(trimethoprim)]<sub>2</sub>, **Inorganica Chim. Acta**. v. 171, p. 229-233, 1990.
- DEMIREZEN, N. Synthesis of trimethoprim metal complexes: Spectral, electrochemical, thermal, DNA-binding and surface morphology studies. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 94, p. 243-255, 2012.
- DESJARDINS, R.E., *et al.* Quantitative assessment of antimalarial activity in vitro by a semiautomated microdilution technique, **Antimicrob. Agents Chemother.** p. 710-718, 1979.
- DESJEUX, P., "The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide". **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 95, p. 239-43, 2001
- DINELLI L.R. *et al.* "Synthesis and characterization of [RuCl<sub>3</sub>(P-P)H<sub>2</sub>O] complexes; P-P = achiral or chiral, chelating ditertiary phosphine ligands". **Inorg. Chem.**, v. 38, p. 5341, 1999.

- FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows- a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). **J. Appl. Crystallogr.**, v.30, p. 565, 1997.
- FARRUGIA, L. J. **J. Appl. Crystallogr.**, v.45, p. 849-854, 2012
- FERREIRA, S. C. *et al.* “Thiol-induced reduction of antimony(V) into antimony(III): a comparative study with trypanothione, cysteinyl-glycine, cysteine and glutathione”. **Biometals.**, v. 16, p. 441–446, 2003.
- FERREIRA, L. G.; ANDRICOPULO, A. D. Drug repositioning approaches to parasitic diseases: a medicinal chemistry perspective. **Drug discovery today**, v. 21, n. 10, p. 1699-1710, 2016.
- FRANCISCO, A. I. E; VARGAS, M. D. “Ferroquina: o antimalárico do futuro” **Rev. Virtual Quim.**, v. 2, p. 118-129, 2010.
- FRÉZARD, F.; DEMICHELI, C.; RIBEIRO, R. R. Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs. **Molecules**, v. 14, n. 7, p. 2317-2336, 2009.
- FRICKER, S. *et al.* “Metal compounds for the treatment of parasitic diseases”, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 1839–1845, 2008.
- FLORKE, U. CSD Communication. **Cambridge Structural Database: Cambridge, UK**, 2015.
- HABIB, U. *et al.* Synthesis and Structural Characterization of (2,4-Diamino-5-(3',4',5'-Trimethoxybenzyl) Pyrimidine Copper (II)) Complex. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 39, n. 10, p. 730–734, 2009.
- HADJILIADIS, N.; TSANGARIS, J. M. *Journal of the Less-Common Metals*, 115 (1986) 1 - 8. v. 115, p. 1–8, 1986.
- HADICKE, E. *et al.* **Chem. Ber. Recl**, v. 111, p. 3222-3232, 1978.
- HENRY, M. *et al.* “Chloroquine resistance reversal agents as promising antimalarial drugs”, **Curr Drug Targets**, v. 8, p. 935-948, 2006.
- IQBAL, M.; ALI, S.; TAHIR, M.N. Octahedral copper (II) carboxylate complex: synthesis, structural description, DNA-binding and anti-bacterial studies, **Journal of Coordination Chemistry**, v. 71, n. 7, p. 991-1002, 2018.
- KOETZLE, T. F.; WILLIAMS, G. J. B. The Crystal and Molecular Structure of the Antifolate Drug Trimethoprim (2,4-Diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidine). A Neutron Diffraction Study. **Journal of the American Chemical Society**, v. 98, n. 8, p. 2074–2078, 1976.
- KREMSNER, P.; KRISHNA, S. “Antimalarial combinatios”. *The Lancet*. v. 364, p. 285-94, 2004.

LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. Editora Blucher, 1999.

LEY, V. *et al.* “The exit of *Trypanosoma cruzi* from the phagosome is inhibited by raising the pH of acid compartments sustain an infective cycle in mammalian cells”. **J.Exp.Med.**, v. 168, p. 649-59, 1998

LEY, V. *et al.* “The exit of *Trypanosoma cruzi* from the phagosome is inhibited by raising the pH of acid compartments sustain”. **J.Exp.Med.**, v. 171, p. 171-401, 1990.

MACRAE, C.F. *et al.* Wood, Mercury CSD 2 .0 – new features for the visualization and investigation of crystal structures, **J. Appl. Cryst.** v. 41, p. 466–470, 2008.

MADHUPRIYA, S.; ELANGO, K. P. Synthesis, spectral characterization and catalytic activity of Co(II) complexes of drugs: Crystal structure of Co(II)-trimethoprim complex. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 118, p. 337–342, 2014.

MAYA, J. *et al.* “Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host”, **Comp Biochem Physiol A Mol. Integr Physiol**, v. 146, p. 601-20, 2007.

MARINHO, M.V, *et. al.* Synthesis, Crystal Structure, and Spectroscopic Characterization of trans-Bis[( $\mu$ -1,3-bis(4-pyridyl)propane)( $\mu$ -(3-thiopheneacetate-O))-(3-thiopheneacetate-O)]dicopper(II), {[Cu<sub>2</sub>(O<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>S)4 $\mu$ -(BPP)<sub>2</sub>]}<sub>n</sub>: From a Dinuclear Paddle-Wheel Copper(II) Unit to a 2-D Coordination Polymer Involving Monatomic Carboxylate Bridges, **Inorg. Chem.** v.43, 1539-1544, 2004.

MARQUES, A. C. *et al.* Manual de terapêutica da malária. 1996.

MÉNDEZ-ARRIAGA, J. M. *et al.* In vitro leishmanicidal and trypanocidal evaluation and magnetic properties of 7-amino-1, 2, 4-triazolo [1, 5-a] pyrimidine Cu (II) complexes. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 180, p. 26-32, 2018.

Miessler, G.L. *et al.* **Química Inorgânica**. 5º ed. Editora Pearson, p.337, 2014.

MISERACHS, H. G. *et al.* Antitumor and antiparasitic activity of novel ruthenium compounds with polycyclic aromatic ligands. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 150, p. 38-47, 2015.

MONGE-MAILLO, B.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. Challenges in the management of Chagas disease in Latin-American migrants in Europe. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 5, p. 290-295, 2017.

MONZOTE, L. *et al.* Efeito combinado do óleo de essência de *Chenopodium ambrosioides* e drogas anti-leishmaniose nos promastigotas de *Leishmania amazonenses*. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 49, n. 4, p. 257-260, 2007

MURRAY, H.W *et al.* Advances in leishmaniasis. **The Lancet**, v. 366, n. 9496, p. 1561-1577, 2005.

MUTHIAH, P.T, *et al.* Metal-pyrimidine interaction : synthesis and crystal structure of a cadmium complex of trimethoprim ( $[\text{CdBr}_2(\text{TMP})_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ , TMP= trimethoprim), **J. Chem. Crystallogr.**, v. 29, p. 223–226, 1999.

NALDINI, L. *et al.* Metal complexes of 2,4-diamino-5-(3',4',5'-trimethoxybenzyl)pyrimidine, (trimethoprim). Part II. Synthesis, magnetic characterization and X-ray structure of  $[\text{Cu}_2(\text{O}_2\text{CCH}_3)_4(\text{trimethoprim})_2] \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ , **Inor. Chim. Acta.** v. 88, p. 45–50, 1984.

NAVARRO, M. *et al.* Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases.: Part 5. Synthesis and characterization of new Ru (II) and Ru (III) clotrimazole and ketoconazole complexes and evaluation of their activity against *Trypanosoma cruzi*. **Polyhedron**, v. 19, n. 22-23, p. 2319-2325, 2000.

NAVARRO, M. *et al.* Metal-based drugs for malaria , trypanosomiasis and leishmaniasis : recent achievements and perspectives. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 23–24, p. 1070–1078, 2010.

NOGUEIRA, A. J. M. *et al.* Síntese, caracterização e estudo da atividade inibitória de novas dialquifosforilarilidrazonas sobre o crescimento de *Tripanossomatídeos*. **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1365-1369, 2011.

Organização Mundial da Saúde (2016) . **Relatório da OMS informa progressos sem precedentes contra doenças tropicais negligenciadas**. Acesso em 08 outubro 2019 Disponível

em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5401:relatorio-da-oms-informa-progressos-sem-precedentes-contradoencas-tropicais-negligenciadas&Itemid=812](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5401:relatorio-da-oms-informa-progressos-sem-precedentes-contradoencas-tropicais-negligenciadas&Itemid=812)

OUAISSI, A; OUAISSI, M. Molecular basis of *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* interaction with their host (s): exploitation of immune and defense mechanisms by the parasite leading to persistence and chronicity, features reminiscent of immune system evasion strategies in cancer diseases. **Archivum immunologiae et therapiae experimentalis**, v. 53, n. 2, p. 102-114, 2004.

RAYNES, K. INTERNATIONAL. **Journal for Parasitology**, v. 29, p. 7, 1999.

RASHID, U. *et al.* Design, synthesis, antibacterial activity and docking study of some new trimethoprim derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, n. 23, p. 5749–5753, 2016.

RIJAL, S. *et al.* Clinical risk factors for therapeutic failure in kala-azar patients treated with pentavalent antimonials in Nepal. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 3, p. 225-229, 2010.

ROCHA, V.P.C., *et al.* Activity of antimalarial drugs in vitro and in a murine model of cutaneous leishmaniasis, **J. Med. Microbiol.**, v. 62, p. 1001–1010, 2013.

PAULINO, M. *et al.* New uses for old complexes: The very first report on the trypanocidal activity of symmetric trinuclear ruthenium complexes. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 176, p. 156-158, 2017.

PEREIRA, J. *et al.* "Antileishmanial activity of ruthenium(II)tetraammine nitrosyl complexes", **European Journal of Medicinal Chemistry**., v. 45, p. 4180-4187, 2010

PRATA A; "Clinical and epidemiological aspects of chagas disease". **Lancet Infect Disease** v. 1, p. 92-100, 2001

SAVA, G; BERGAMO, A. "Ruthenium-based compounds and tumour growth control (Review)". **International Journal of Oncology**, v. 17, p. 353, 2000.

SIMÓ, B. *et al.* Interactions of metal ions with a 2,4-diaminopyrimidine derivative (trimethoprim). Antibacterial studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 81, n. 4, p. 275–283, 2000.

SHELDRICH, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallogr.**, A64, p.112-122, 2008.  
SILVA, H.V.R; *et. al.* Phosphine/diimine ruthenium complexes with  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  and pyridine ligands: Pro-apoptotic activity on triple-negative breast cancer cells and DNA/HSA interactions, **Polyhedron**., v. 144, p.55–65, 2018.

STACHOVÁ, P.; *et. al.* Synthesis, spectral and magnetical characterization of monomeric  $[\text{Cu}(2\text{-NO}_2\text{bz})_2(\text{nia})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$  and structural analysis of similar  $[\text{Cu}(\text{RCOO})_2(\text{L-N})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$  complexes, **Inorganica Chim. Acta**. v. 360, p. 1517–1522, 2007.

STEPHENSON, T. A.; WILKINSON, Gy. New complexes of ruthenium (II) and (III) with triphenylphosphine, triphenylarsine, trichlorostannate, pyridine and other ligands. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, v. 28, n. 4, p. 945-956, 1966

STOPPANI, A. "The chemotherapy of Chagas disease: overview". **Mini Reviews Med Chem.**, v. 5, p. 499-519, 2005.

SULLIVAN, D. J. *et al.* "A common mechanism for blockade of heme polymerization by antimalarial quinolines." **Journal of Biological Chemistry**., v. 273, n. 47, p. 31103-31107, 1998.

SUNDAR, S. *et al.* " Trial of oral miltefosine for visceral leishmaniasis". **Lancet**, v. 352, n. 9143, p. 1821-1823, 1998.

TIMM, M. *et al.* Considerations regarding use of solvents in in vitro cell based assays. **Cytotechnology**, v. 65, n. 5, p. 887–894, 2013.

TSANGARIS, J. M.; SOTIROPOULOS, D.; GALINOS, A. G. Complexes of trimethoprim with  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2$  and  $\text{CoCl}_2$ . **Inorganic and Nuclear Chemistry Letters**, v. 14, n. 11, p. 375-380, 1978.

VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico**. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

VERGEL, C.; PALACIOS, R.; CADENA, H. "Evidence for *Leishmania* (Viannia) parasites in the skin and blood of patients before and after treatment ". **J Infect Dis**, v. 194, p. 503-511, 2006.

VIEITES, M. *et al.* "Platinum(II) metal complexes as potential anti-*Trypanosoma cruzi* agents". **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 1033–1043, 2008

VILLARREAL PEÑA, *et al.* **Síntese e caracterização de complexos de platina (II) com ligandos fosfínicos e cloroquina: estudo de suas interações com o ADN e avaliação de suas atividades citotóxicas**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

WANG, C., *et al.* Hemolysis of human erythrocytes induced by melamine–cyanurate complex, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* v. 402, p. 773–777, 2010.

WANG, X.; SUN, H. Metal Complexes in the Treatment of Tropical Diseases: Malaria, Trypanosomiasis, and Leishmaniasis. **Comprehensive inorganic chemistry II: from elements to applications (2nd ed.)**, 2013.

WHO Informal Consultative Meeting for the Control of Cutaneous Leishmaniasis: why you neglecting me Geneva: **World Health Organization**, 1998.

WHO. First WHO report on neglected tropical diseases: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. **World Health Organization**, p. 1–184, 2018.

YEO, S. J. *et al.* Anti - malarial effect of novel chloroquine derivatives as agents for the treatment of malaria. **Malaria Journal**, v. 16, n. 1, p. 1–9, 2017

ZORODDU, M.A, *et al.* Metal Complexes of 2,4-Diamino-5-(3',4', 5'-trimethoxybenzyl)pyrimidine (Trimethoprim) and 2,4-Diamino-5-(p-chlorophenyl)-6-ethylpyrimidine (Pyrimethamine). Part III. Syntheses and X-ray Structures of  $[\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CCH}_3)_4(\text{Trimethoprim})_2] \cdot 2\text{C}_6\text{H}_6 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$  and  $[\text{Rh}_2(\text{O}_2\text{CCH}_3)_4(\text{Pyrimethamine})_2]$ , **Inorganica Chim. Acta**. v. 128, p. 179–183, 1987.