



Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Unidade Universitária de Dourados
Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais

**Síntese, Caracterização e Estudos de Aplicação de Um Novo
Composto de Coordenação Contendo Naftoquinona Natural e Íon
Magnésio(II)**

Leandro de Oliveira Biscoli

Dourados – MS
Março/2018



**Síntese, Caracterização e Estudos de Aplicação de Um Novo
Composto de Coordenação Contendo Naftoquinona Natural e Íon
Magnésio(II)**

Leandro de Oliveira Biscoli
Orientador: Prof. Dr. Ademir dos Anjos

“Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais, área de concentração em Recursos Naturais, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais”.

Dourados – MS
Março/2018

FICHA CATALOGRÁFICA

B526s Biscoli, Leandro de Oliveira

Síntese, caracterização e estudos de aplicação de um novo composto de coordenação contendo naftoquinona natural e íon magnésio(ii)/ Leandro de Oliveira Biscoli. – Dourados, MS: UEMS, 2018.

89p.

Dissertação (Mestrado) – Recursos Naturais -
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Ademir dos Anjos.

1. Bioinorgânica 2. Naftoquinona 3. Magnésio(II) 4.
Caracterização estrutural 5. Atividade biológica. I. Anjos,
Ademir dos II. Título

CDD 23. ed. - 669.723



EPÍGRAFE

*“Conhecimento não é aquilo que você
sabe, mas o que você faz com aquilo
que você sabe.”*

(Adouls Huxley)



DEDICATÓRIA

“Aos meus familiares, por todo incentivo.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por nunca ter me desamparado, por todas as demonstrações de que estava ao meu lado a todo o momento.

Aos meus pais, Vitorino Biscoli (*in memoriam*) e Emiliana Pires de Oliveira por todo incentivo, por me ensinar a nunca desistir e o valor que a vida tem, por sempre estarem ao meu lado e me apoiarem nas minhas decisões e por sempre acreditar em mim. A minha irmã Mariana Kauana de Oliveira Biscoli por sempre estar ao meu lado.

A minha esposa, Michele Macedo da Cruz, por estar ao meu lado sempre que eu precisei, desde o início dessa trajetória, pelo incentivo, pelas cobranças, pois elas me fizeram melhor, por todo amor e tempo dedicado a mim. Certamente ter você ao meu lado tornou tudo mais fácil.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ademir dos Anjos, por toda a inspiração, por demonstrar e ensinar a ter amor pela química, por todo conhecimento repassado e tempo dedicado ao meu crescimento profissional.

A todos aqueles que puderam de alguma forma me dar suporte para que eu chegasse até aqui. Aos meus amigos, que fizeram ou fazem parte do Grupo de Bioinorgânica e Biotecnologia (GBBTEQ), Bento Junior, Alice Gonçalves, Natália Cabeza, Tamires Oliveira, Janaina Facco, Lis Regiane, Natali Faganello, Jaqueline Sotto, Vanessa Favero, Estefane Isis e Amanda Caroline.

Aos professores que colaboraram com a disponibilização da aparelhagem para realização das análises, Prof. Dr. Gleison Antonio Casagrande da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS/Campo Grande), Prof. Dr. Antonio Rogério Fiorucci da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS/Dourados), Prof. Dr. Davi Fernando Back da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM/Santa Maria), Profa. Dra. Ana Lúcia Tasca Gois Ruiz da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP/Campinas), Prof. Dr. Lincon Carlos Silva de Oliveira da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS/Campo Grande) e Prof. Dr. Eriton Rodrigo Botero da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD/Dourados).



Aos professores Dra. Daiane Roman (UFGD/Dourados), Dr. Sandro Marcio Lima (UEMS/Dourados), Dr. Eliandro Faoro (UFGD/Dourados) e Euclésio Simionatto (UEMS/Naviraí) por aceitarem participar da banca examinadora.

A todos os professores e funcionários do programa de pós-graduação em Recursos Naturais (PGRN) da UEMS, unidade de Dourados e Naviraí e ao Centro de Desenvolvimento de Tecnologias Químicas (CDTEQ) de Naviraí que possibilitaram a conclusão deste período de estudos.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pelo auxílio financeiro no desenvolvimento deste projeto.

RESUMO

A utilização de compostos naturais como agentes terapêuticos tem ganhado cada vez mais espaço na medicina moderna, devido a descoberta das mais variadas atividades. O lapachol é uma naftoquinona natural reconhecido por suas diversas atividades biológicas. Estudos demonstram que a coordenação desta quinona a íons metálicos pode potencializar suas atividades. O presente trabalho descreve a síntese de um novo complexo metálico lapacholato-Mg^{II}, posteriormente a caracterização via técnicas de ponto de fusão, teste de solubilidade, espectroscopias (IV e UV-Vis), análise termogravimétrica (TG/DTG e DSC), eletroquímica e difratometria de raios X em monocristal, bem como os estudos das propriedades fluorescentes, antimicrobianas (CIM e CBM) e antitumorais (TGI). A partir dos resultados obtidos via ponto de fusão, teste de solubilidade e análises térmicas e espectroscópicas, conclui-se que houve a formação do complexo metálico. A estrutura do complexo foi elucidada, a partir de um monocristal de coloração magenta, pertencente ao sistema tetragonal e grupo espacial P₄₃₂₁₂, o qual possui uma fórmula empírica MgC₃₀H₂₆O₆ com massa molecular de 506,82 g mol⁻¹, confirmando a estequiometria 2:1 (ligante:metal). A estrutura do composto se apresenta na forma de uma rede polimérica, na qual o íon Mg^{II} está coordenado a duas moléculas de lapachol pelos oxigênios carbonílico (O3) e fenólico (O1), e a outras duas moléculas de lapachol pelo oxigênio carbonílico (O2), formando um ambiente de coordenação octaédrico distorcido. Esta estrutura pode ser considerada um polímero de coordenação ou MOF (metal organic framework). No perfil eletroquímico foi possível observar a influência da coordenação do íon metálico nos processos apresentados pelo ligante “livre”. A absorvidade molar do complexo foi consideravelmente superior a do ligante em todas as bandas apresentadas. Os estudos de fluorescência demonstraram uma ótima potencialização no perfil de emissão quando se compara o complexo com o ligante, sendo caracterizado como efeito CHEF. Para os ensaios antimicrobianos, pode-se observar uma otimização no perfil bactericida após a coordenação do lapachol ao íon Mg^{II}, para bactérias do tipo Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*. O complexo ainda apresenta uma razão CBM/CIM de 2,0 para *S. aureus* e *B. cereus*, e 1,0 para *E. faecalis*, podendo, desta forma, ser classificado como bactericida. A CIM pode ser considerada boa tanto para o lapachol quanto para o complexo, pois, os valores ficaram abaixo de 100 µg mL⁻¹. Para o teste antiproliferativo (TGI) o complexo foi mais ativo que o lapachol frente a quatro linhagens tumorais estudadas (UACC-62, melanoma; NCI-H460, pulmão; PC-3, próstata; e K562, leucemia), sendo também menos tóxico frente a célula não tumoral (HaCaT, queranócito). O perfil de emissão fluorescente mostrou que o composto pode ser detectável por técnicas de imagem, característica importante, tanto para um fármaco, quanto para um nanotransportador. As atividades antimicrobianas e antitumorais mostraram que a coordenação do ligante ao íon Mg^{II} potencializou suas atividades, revelando potencial farmacológico. Além dessas características, este composto de coordenação que possui uma rede polimérica (MOF) pode atuar como um transportador de fármacos.

Palavras-chave: Lapachol, magnésio(II), caracterização estrutural, atividades biológicas, antitumoral.

ABSTRACT

The use of natural compounds as therapeutic agents gains more space in modern medicine, due to the discovery of the most varied activities. Lapachol is a natural naphthoquinone recognized for its many biological activities. Studies have shown that the coordination of this quinone to metallic ions can improve its activities. The present work describes the synthesis of a new lapacholate-Mg^{II} metal complex and the characterization through melting point, solubility test, spectroscopies (IR and UV-Vis), thermogravimetric analysis (TG/DTG and DSC), electrochemistry and monocrystal XRD, as well as fluorescence, antimicrobial (MIC and MBC) and antitumor (TGI) studies. From the results obtained by the melting point, solubility test and thermal and spectroscopic analyzes, it was concluded that the metal complex was formed. The structure of the complex was elucidated from a magenta-colored monocrystal with the tetragonal system and spatial group P4₃2₁2, which has an empirical formula MgC₃₀H₂₆O₆ and molecular weight of 506.82 g mol⁻¹, confirming the stoichiometry 2:1 (ligand:metal). The structure of the compound is presented as a polymer network in which the Mg^{II} ion is coordinated to two lapachol molecules by carbonyl (O3) and phenolic (O1) oxygens and to two another lapachol molecules by carbonyl oxygen (O2), forming a distorted octahedral coordination environment. This structure can be considered as a coordination polymer or MOF (metal organic framework). In the electrochemical measurement it was possible to observe the influence of the coordination of the metallic ion through processes presented by the "free" ligand. The complex molar absorptivity was considerably higher than ligand for all bands. Fluorescence studies demonstrated a potentiation in the emission profile when comparing the complex with the ligand, being characterized as CHEF effect. For the antimicrobial assays, an optimization was observed in the bactericidal profile after the coordination of lapachol to the Mg^{II} ion, for Gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Bacillus cereus*. The complex still has a MBC/MIC ratio of 2.0 for *S. aureus* and *B. cereus*, and 1.0 for *E. faecalis*, which can be classified as bactericidal. MIC can be considered good for both, lapachol and complex, because the values were below 100 µg mL⁻¹. For the antiproliferative test (TGI) the complex was more active than lapachol against four tumor lines studied (UACC-62, melanoma, NCI-H460, lung, PC-3, prostate, and K562, leukemia) besides being less toxic to the non-tumor cell (HaCaT, keranocyte). The fluorescence profile showed that the compound can be detectable by imaging techniques, an important feature for both a drug and a nanotransporter. The antimicrobial and antitumor activities showed that the coordination of the ligand to the Mg^{II} ion potentiated its activities, revealing pharmacological potential. In addition to these characteristics, this coordination compound having a polymer network (MOF) can act as a drug delivery.

Keywords: Lapachol, magnesium(II), structural characterization, biological activities antitumor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação estrutural da vitamina B12.....	5
Figura 2. Representação estrutural das diferentes classes de quinonas.....	7
Figura 3. Representação esquemática do lapachol.	9
Figura 4. Representação estrutural da clorofila.	10
Figura 5. Representação estrutural de quimioterápicos: (a) Cisplatina; (b) Heptaplatina; (c) Carboplatina; (d) Nedaplatina; (e) Oxaliplatina; (f) Lobaplatina.	13
Figura 6. Rota de síntese do complexo $[Mg^{II}(\text{lapachol})_2]_n$	17
Figura 7. Voltamograma via onda quadrada do padrão interno ferroceno em DMSO (grau espectroscópico).	21
Figura 8. Microplaca de 96 poços utilizada para realização da CIM.	24
Figura 9. Espectro vibracional comparativo entre o ligante (preto) e o complexo (vermelho).	29
Figura 10. Ampliação da faixa de $1700\text{-}400\text{ cm}^{-1}$: ligante (preto) e complexo (vermelho).	29
Figura 11. Termograma em atmosfera de ar sintético do lapachol.	31
Figura 12. Termograma em atmosfera de ar sintético do complexo $[Mg^{II}(\text{Lapachol})_2]_n$	32
Figura 13. Curvas de DSC em atmosfera de ar sintético do lapachol.	33
Figura 14. Curvas de DSC em atmosfera de ar sintético do complexo $[Mg^{II}(\text{Lapachol})_2]_n$	34
Figura 15. Projeção DIAMONT da estrutura molecular do complexo polimérico $[Mg^{II}(\text{Lapachol})_2]_n$; átomos de hidrogênio omitidos para melhor clareza.....	36
Figura 16. Projeção ORTEP da unidade assimétrica cristalográfica de $[Mg^{II}(\text{Lapachol})_2]_n$	36
Figura 17. Desenho esquemático da estrutura do complexo polimérico $[Mg^{II}(\text{Lapachol})_2]_n$	37
Figura 18. Espectro eletrônico comparativo lapachol (preto) e complexo (vermelho) na concentração de $6,0 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ em DMSO (grau espectroscópico).	41

Figura 19. Espectro eletrônico comparativo lapachol (preto) e complexo (vermelho) na concentração de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em álcool metílico (grau espectroscópico).	42
Figura 20. Espectro eletrônico do lapachol em álcool metílico (grau espectroscópico) em concentrações seriadas de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Inserção: gráfico de concentração <i>versus</i> absorvância mostrando a regressão linear (R^2 : 0,9967 (Banda I), 0,9979 (Banda II), 0,9976 (Banda III), 0,9976 (Banda IV) e 0,9817 (Banda V)); Desvio Padrão: $\pm 0,01$ (Banda I), $\pm 0,01$ (Banda II), $\pm 0,01$ (Banda III), $\pm 0,003$ (Banda IV) e $\pm 0,0008$ (Banda V); Equação da reta: $y = a + bx$	44
Figura 21. Espectro eletrônico do complexo em álcool metílico (grau espectroscópico) em concentrações seriadas de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Inserção: gráfico de concentração <i>versus</i> absorvância mostrando a regressão linear (R^2 : 0,9986 (Banda I), 0,9992 (Banda II), 0,9961 (Banda III), 0,9997 (Banda IV) e 0,9995 (Banda V)); Desvio Padrão: $\pm 0,03$ (Banda I), $\pm 0,02$ (Banda II), $\pm 0,06$ (Banda III), $\pm 0,004$ (Banda IV) e $\pm 0,007$ (Banda V); Equação da reta: $y = a + bx$	45
Figura 22. Representação estrutural das formas redox das quinonas.	46
Figura 23. Voltamograma via onda quadrada do ligante. Análise realizada tendo DMSO (grau espectroscópico) como solvente.	47
Figura 24. Voltamograma via onda quadrada do complexo de Mg^{II} . Análise realizada tendo DMSO (grau espectroscópico) como solvente.	48
Figura 25. Mapa de contorno 3D do lapachol (esquerda) e do complexo (direita).....	49
Figura 26. Espectros de emissão comparativos, lapachol em vermelho e complexo em preto na concentração $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	50
Figura 27. Espectros de emissão comparativos, lapachol em vermelho e complexo em preto no estado sólido.	51
Figura 28. Correlação entre a porcentagem de crescimento celular e a concentração para o padrão doxorrubicina.	55
Figura 29. Correlação entre a porcentagem de crescimento celular e a concentração para o lapachol.....	56
Figura 30. Correlação entre a porcentagem de crescimento celular e a concentração para o complexo.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Quantidade média dos principais íons metálicos presentes no corpo de um humano adulto normal de 70 Kg.	6
Tabela 2. Cepas bacterianas utilizadas na avaliação da atividade antimicrobiana.	23
Tabela 3. Perfil de solubilidade do ligante e complexo.....	27
Tabela 4. Principais bandas e atribuições, em cm^{-1} , dos espectros no infravermelho para o ligante e complexo.....	30
Tabela 5. Dados termodinâmicos da análise das curvas de DSC do ligante e complexo.	34
Tabela 6. Parâmetros cristalográficos e de refinamento da estrutura do complexo $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$	37
Tabela 7. Principais comprimentos (Å) e ângulos ($^\circ$) de ligação para o complexo $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$	38
Tabela 8. Valores de absorvidade molar para o ligante e complexo ($\epsilon = \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).	43
Tabela 9. Valores da CIM em $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o ligante e complexo.	52
Tabela 10. Valores da CBM em $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o ligante e complexo.	52
Tabela 11. Valores de TGI expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$	58
Tabela 12. Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e equivalente isotrópico ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para o complexo (Ueq é definido como 1/3 do traço do tensor ortogonalizado U_{ij}).	70
Tabela 13. Comprimentos (Å) e ângulos ($^\circ$) de ligação para o complexo.....	70
Tabela 14. Parâmetros de deslocamento anisotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$).	72
Tabela 15. Coordenadas dos átomos de hidrogênio ($\times 10^4$) e seus respectivos parâmetros de deslocamento isotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$) no complexo.	73



LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- Å – Ângstrons ($1 \text{ \AA} = 10^{-8} \text{ cm}$)
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ATCC – American Type Culture Collection
- B. cereus* – *Bacillus cereus*
- CBM – Concentração bactericida mínima
- CHEF – Fluorescência melhorada por quelação
- CHEQ – Supressão da fluorescência causada por quelação
- CIM – Concentração inibitória mínima
- CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- DSC - Calorimetria exploratória diferencial
- DTG – Termogravimetria Derivada
- E. coli* – *Escherichia coli*
- E. faecalis* – *Enterococcus faecalis*
- $E_{1/2}$ – Potencial Redox
- Fc/Fc⁺ – Par Redox Ferroceno/Ferrocínio
- IV – Espectroscopia na Região do Infravermelho
- MM – Massa Molecular
- P. aeruginosa* – *Pseudomonas aeruginosa*
- P.A. – Solvente de grau padrão analítico
- PF – Ponto de Fusão
- S. aureus* – *Staphylococcus aureus*
- TCLM – Transferência de Carga Ligante → Metal
- T_f – Temperatura final
- TG – Termogravimetria
- TGI – Inibição total do crescimento
- T_i – Temperatura inicial
- TSA – Teste de sensibilidade a antimicrobiano
- UFC – Unidades formadoras de colônia



UV-Vis – Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta Visível

Δ – Aquecimento

δ – Deformação angular (IV)

ΔT – Variação de temperatura

λ – Comprimento de onda (nm)

ν – Estiramento (IV)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivos Gerais.....	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1. A Química Bioinorgânica.....	4
3.2. Ligantes Naturais e as Quinonas.....	6
3.3. A Química Biológica do Íon Magnésio(II).....	9
3.4. As Ações Farmacológicas de Complexos Metálicos.....	11
3.5. Metal Organic Framework – MOF.....	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
4.1. Reagentes e Solventes.....	16
4.2. Métodos e Instrumentação.....	16
4.2.1. Extração do Lapachol.....	16
4.2.2. Síntese do Complexo.....	17
4.2.3. Ponto de Fusão.....	17
4.2.4. Teste de Solubilidade.....	18
4.2.5. Espectroscopia no Infravermelho.....	18
4.2.6. Análise Térmica (TG/DTG).....	18
4.2.7. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	19
4.2.8. Difractometria de Raios X em Monocristais.....	19
4.2.9. Espectroscopia Eletrônica de Absorção no UV-Vis.....	19
4.2.10. Estudos Eletroquímicos.....	20
4.2.11. Espectroscopia de Fluorescência.....	21
4.2.12. Ensaio Antimicrobianos.....	22
4.2.13. Ensaio Antitumoral.....	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	27
5.1. Ponto de Fusão e Teste de Solubilidade.....	27
5.2. Espectroscopia no Infravermelho.....	27
5.3. Análise Térmica.....	30
5.3.1. Termogravimetria e Termogravimetria Derivada (TG/DTG).....	30
5.3.2. Calorimetria Exploratória Diferencial.....	32
5.4. Difractometria de raios X em monocristal.....	35



5.5. Espectroscopia Eletrônica de Absorção no UV-Vis	40
5.5.1. Absortividade Molar (ϵ).....	42
5.6. Estudos Eletroquímicos.....	45
5.7. Espectroscopia de Fluorescência.....	48
5.7.1. Espectroscopia de Fluorescência em Solução	48
5.7.2. Espectroscopia de Fluorescência em Estado Sólido	50
5.8. Bioensaios Antimicrobianos	51
5.9. Bioensaios Antitumorais	53
6. CONCLUSÃO.....	59
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
8. APÊNDICES	69
APÊNDICE A	69

1. INTRODUÇÃO

A química bioinorgânica é uma área do conhecimento que estuda as funções, metabolismo e aplicações de íons inorgânicos e seus complexos em sistemas biológicos, relacionando as atividades biológicas apresentadas pelos compostos com suas características estruturais e eletrônicas, sendo que seus objetivos principais são: o estudo de elementos inorgânicos de ocorrência natural em sistemas biológicos e a introdução de metalofármacos nestes sistemas (BENITE, MACHADO & BARREIRO, 2007).

Algumas das transformações mais notáveis em sistemas biológicos estão diretamente relacionadas à presença de íons metálicos, e, a importância do reconhecimento de participação de inorgânicos na medicina pode ser identificada nas origens da biologia e da química. Embora a química bioinorgânica tenha suas raízes em descobertas de vários séculos, um real aumento nas pesquisas decorre de estudos realizados entre o meio e o final do século XX quando identificaram metaloproteínas e metaloenzimas com íons de metais de transição em seus sítios ativos (LIPPARD, 2006).

O magnésio, encontrado no organismo na forma iônica Mg^{II} , é um íon predominantemente intra-celular, participando como cofator em mais de 300 reações enzimáticas (LIMA, et al., 2005). Tem suma importância biológica, muito conhecido por estar presente na clorofila, sendo que também apresenta-se coordenado a diversos ligantes biologicamente importantes, incluindo a ATP (trifosfato de adenosina) (SHRIVER & ATKINS, 2008). Atualmente, considera-se que em alguns anos será necessária, para a população em geral, uma suplementação de magnésio incorporada à dieta, visto que, sua abundância e consumo são menores do que para outros minerais essenciais como sódio, cálcio e potássio (BARAN, 2004).

As quinonas são um grupo de substâncias naturais geralmente coloridas presentes em uma vasta gama de plantas e que são pertencentes a classe dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos oxigenados. A estrutura das quinonas apresenta dois grupamentos carbonílicos em um anel benzênico localizados nas posições *orto* e *para*. Utilizando-se o sistema aromático como critério, podem ser classificadas em benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas, entre outras. Esses compostos se destacam, pois, apresentam atividades toxicológicas e farmacológicas relevantes. Por possuir uma variada biodinamicidade, podem participar em

processos bioquímicos vitais, realizando ainda atividades como as microbiscidas e anticancerígenas (SOUSA, LOPES & ANDRADE, 2016).

Dentre as quinonas destaca-se o lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona), uma naftoquinona de origem natural, que pode ser extraída de diversas plantas, mas em maior quantidade do ipê roxo (*Handroanthus impetiginosus*) (BARBOSA & NETO, 2013). Esse composto é reconhecido em inúmeros trabalhos, devido a suas atividades biológicas, tais como: bactericida, antisséptico, anti-inflamatório, antimalárico, antitumoral, antiviral, fungicida, esquistossomicida, tripanossomicida e leishmanicida (HUSSAIN, et al., 2007; OLIVEIRA, et al., 2011). Estudos ainda relatam a atividade desse composto como fitopatogênico, inseticida e herbicida (SOUZA, et al., 2008).

O lapachol se mostra muito útil para a química de coordenação devido à presença de dois potenciais átomos coordenantes, que são os oxigênios da função ceto-enólica. Entretanto, alguns estudos demonstraram a coordenação pelo segundo oxigênio carbonílico, podendo assim formar polímeros de coordenação. A coordenação ao lapachol de íons metálicos biologicamente ativos, se mostra uma boa alternativa para potencializar suas atividades biológicas e diminuir a sua toxicidade ao corpo humano (SAWHNEY et al., 1982; CARUSO, et al., 2009).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Extrair o ligante lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona) a partir da serragem do ipê roxo (*Handroanthus impetiginosus*), e, coordená-lo ao íon metálico magnésio(II). Promover a caracterização do complexo metálico e comparar os dados obtidos aos do ligante, além de avaliar o potencial de suas atividades biológicas e tecnológicas.

2.2. Objetivos Específicos

1. Realizar a extração do lapachol partindo da serragem do ipê roxo.
2. Sintetizar um novo complexo de Mg^{II} coordenando-o ao ligante lapachol.
3. Pré-caracterizar o composto de coordenação via determinação do ponto de fusão e teste de solubilidade.
4. Caracterizar o complexo a partir de técnicas espectroscópicas (infravermelho e UV-Vis) e térmicas (TG/DTG e DSC).
5. Resolução da estrutura do complexo via análise de monocristal pelo método de difratometria de raios X.
6. Avaliar as propriedades antimicrobianas (CIM/CBM), antitumorais (TGI), eletroquímicas e espectroscópicas (absortividade molar, fluorescência).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

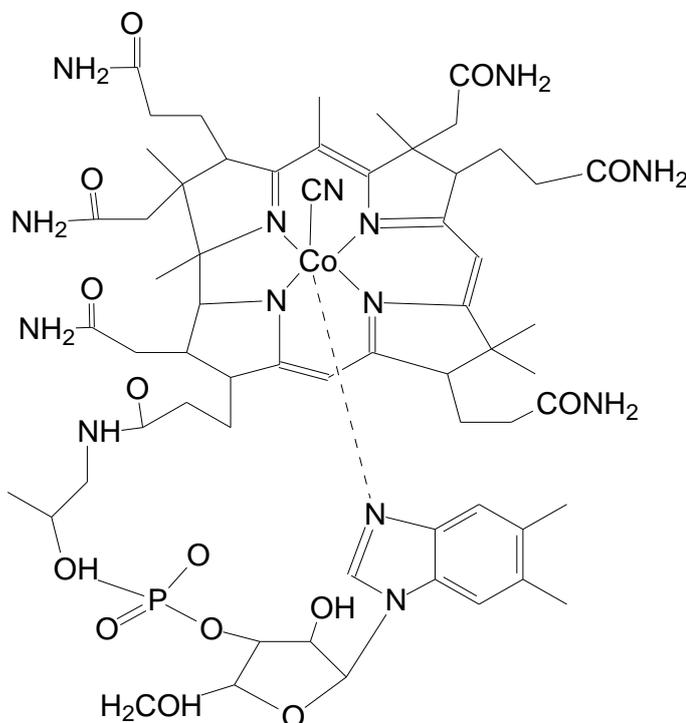
3.1. A Química Bioinorgânica

A química bioinorgânica é um campo de estudos que engloba a intersecção entre a química inorgânica e a bioquímica. É um campo interdisciplinar que se mostra como uma das áreas mais relevantes da ciência dos dias atuais (JASTRZAB & TYLKOWSKI, 2017). As moléculas inorgânicas são de total importância para a vida de muitos organismos seja para o transporte de diversas moléculas, ou, um componente chave para ativação de diversas enzimas. Os íons metálicos podem estar presentes em uma grande gama de compostos presentes no corpo humano, tais como metaloenzimas, metaloproteínas, coenzimas ou vitaminas, ácidos nucleicos e hormônios (HOSMANE, 2017).

Embora atualmente os íons metálicos sejam reconhecidos em sistemas biológicos e essenciais para o crescimento e metabolismo, o reconhecimento da importância desses compostos só começou com o início da década de 1960, mesmo que já houvesse o conhecimento da presença de alguns íons metálicos desde a década de 1930, como na hemoglobina, nos citocromos e na uréase de enzimas cristalizadas. Historicamente o conhecimento do ferro como crucial já fora conhecido há séculos, entretanto outros elementos como iodo, cobalto, cobre, manganês, magnésio, cálcio e zinco só vieram a ser conhecidos no último século (REEDIJK, 2013; GÓMEZ, et al., 2015). Mesmo com o avanço dos estudos nas últimas décadas, somente recentemente tem aumentado o número de pesquisas com foco nos mecanismos através dos quais os sítios ativos das metaloproteínas são formados (KUCCHAR & HAUSINGER, 2004).

Um bom exemplo de uma biomolécula que possui em seu centro um íon metálico é a cobalamina (Figura 1), conhecida como vitamina B12. Este composto contém um grupo de moléculas corrinóide, que é estruturado por um sistema cíclico formado por quatro anéis pirrole, muito semelhante a molécula de porfirina. No centro dessa molécula está coordenado um íon Co^{III} . Esta molécula é um cofator importante para diversas reações biológicas, como na formação de hemácias (HOSMANE, 2017).

Figura 1. Representação estrutural da vitamina B12.



FONTE: BISCOLI, 2018.

Com o entendimento das funções dos íons metálicos nos sistemas biológicos ficou evidente a necessidade de um controle da concentração desses elementos no organismo (Tabela 1). Ter o equilíbrio nas quantidades de cada elemento, leva a um desenvolvimento otimizado dos processos metabólicos e fisiológicos do corpo. Atualmente já são conhecidas diversas doenças correlacionadas à deficiência ou excesso de certos íons metálicos (BARAN, 2004), como a hipocalcemia causada pela falta de cálcio (ARIOLI & CORRÊA, 1999) ou a hemocromatose causada pelo excesso de ferro (AYMORE, et al., 2003). No caso de uma sobrecarga de um metal essencial ou uma intoxicação gerada pelo excesso de um metal tóxico, foram desenvolvidos agentes quelantes e drogas para eliminar esses excessos. Caso haja deficiência de um elemento essencial propõe-se diferentes formas de suplementação para normalizar os níveis bioquímicos normais (BARAN, 2004).

Tabela 1. Quantidade média dos principais íons metálicos presentes no corpo de um humano adulto normal de 70 Kg.

	Elementos	g/70Kg
Elementos majoritários	Ca	1050
	K	140
	Na	105
	Mg	35
Elementos traço	Fe	4,2
	Zn	2,3
	Cu	0,1
Elementos micro-traço	V, Mn, Ni, Cr, Co, Mo	---

FONTE: Adaptado de BARAN, 2004.

--- não determinado.

3.2. Ligantes Naturais e as Quinonas

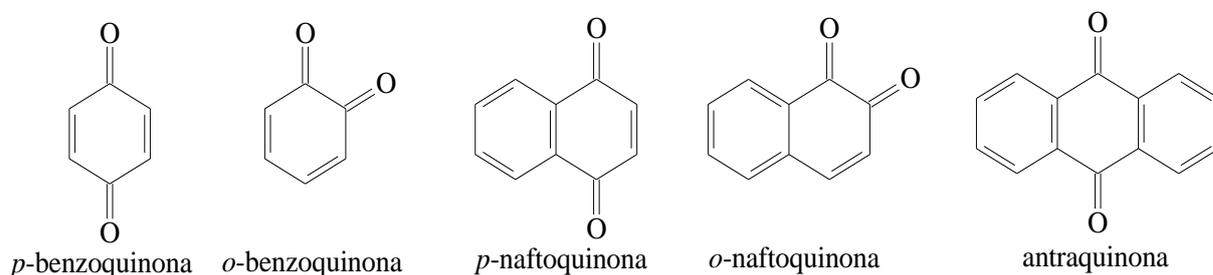
A descoberta de drogas ativas contra diversas doenças necessita de um esforço interdisciplinar. Existe uma infinidade de produtos químicos que podem ser preparados para ações biológicas específicas. Neste sentido surgem os produtos naturais, muitas reações químicas necessárias para produção desses medicamentos já são feitas pela natureza. Atualmente muitos fármacos são produtos naturais ou derivações (CHATZILONSTANTINO, et al., 2018). Um bom exemplo é a área do tratamento do câncer, onde mais de 49% dos produtos aprovados como drogas são produtos naturais ou diretamente derivados deles (NEWMAN & CRAGG, 2016). Quando ampliado para outras áreas, a terapia utilizando-se produtos naturais ou similares chega a ser superior a dois terços das drogas encontradas no mercado (GOMES, et al., 2018).

O uso de produtos naturais para tratamento das mais diversas enfermidades data dos primórdios da humanidade, quando ervas eram consumidas para alívio dos sintomas dessas doenças. Mesmo nos dias atuais é bastante comum em algumas comunidades utilizarem apenas folhas e ervas para produção de chás ou óleos que possam ser utilizados como medicamento. Um dos maiores marcos da utilização de produtos naturais para fins medicinais foi o ópio, preparado dos bulbos de papoula (*Papaver somniferum*), utilizada a mais de 4000 anos a/C, pois essa planta tem alto poder analgésico e narcótico. Atualmente são extraídos

desta planta vários metabólicos, entre eles a morfina (potente analgésico), a codeína (antitussígeno), a narcotina (antitussígeno e espasmolítico) e a papaverina (espasmolítico) (VIEGAS Jr, BOLZANI & BARREIRO, 2006).

As quinonas são uma classe de produtos naturais que tem despertado o interesse há muito tempo devido as suas atividades biológicas. Estes compostos são metabólitos secundários presentes em diversas plantas, fungos, líquens e células animais. Devido a sua biodinamicidade, e, por possuir diversas propriedades biológicas, podem ser usadas na farmacologia e na medicina, se destacando suas atividades antibióticas e antitumorais (SACAU et al., 2003; ROYO et al., 2013). Quimicamente elas podem ser classificadas em três principais classes (Figura 2), de acordo com o sistema aromático que sustenta o anel quinonoídico: benzoquinonas (um anel aromático), naftoquinonas (dois anéis aromáticos) e antraquinonas (três anéis aromáticos) (AHMED & KHAN, 2013; SILVA et al., 2014).

Figura 2. Representação estrutural das diferentes classes de quinonas.



FONTE: BISCOLI, 2018.

Dentre as quinonas, as naftoquinonas têm grande destaque devido a sua fórmula estrutural privilegiada. Esses compostos apresentam diversas atividades biológicas como viruscidas, antitumoral, anti-inflamatório, leishmanicida, antimicrobiana (SACAU et al., 2003). Algumas naftoquinonas mais conhecidas são as diversas variáveis da vitamina K, componente essencial para o sistema bioquímico humano, que pode ser encontrada em diversas hortaliças, leguminosas e em menor quantidade em alguns animais (KAMAQ, et al., 2007).

Outra naftoquinona muito estudada é o lapachol (2-hidroxi-3(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona) (Figura 3), de fórmula estrutural $C_{15}H_{14}O_3$ e massa molecular $242,26 \text{ g mol}^{-1}$, descrito pela primeira vez por Paternò, em 1821, tendo sua estrutura química estabelecida desde 1896, por Hooker (MORRISON, et al., 1970; MOLINA, et al., 2007; CARUSO, et al.,

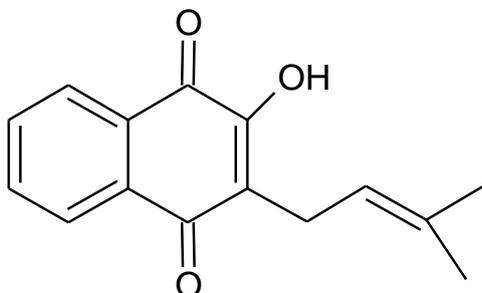
2009; GAWALI, et al., 2017). Este composto pode ser extraído de diversas plantas das famílias Leguminosae, Malvaceae, Plumbaginaceae, Lamiaceae, Arecaceae, Scrophulariaceae, Verbenaceae, Celastraceae, Avicenniaceae, Caesalpiniaceae, Rubiaceae e Proteaceae, mas as principais fontes para extração desta naftoquinona são as plantas da família Bignoneaceae, especialmente da *Handroanthus impetiginosus* (Ipê roxo) (EPIFANO, et al., 2014; NGAMENI et al., 2000)

A *Handroanthus impetiginosus* e outras subespécies são muito cultivadas como plantas ornamentais devido a sua beleza, podem ser encontradas em partes da América Central e do Sul, estando presente em boa parte do território brasileiro. Existem relatos do uso destas plantas há séculos pelos povos incas e astecas como plantas de poder curativo. São tratadas ainda pelos xamãs da floresta amazônica como plantas mestras para serem utilizadas para o tratamento de diversas doenças. Alguns povos utilizam, nos dias atuais, da casca do Ipê roxo para tratamentos alternativos ou complementares aos tratamentos convencionais de doenças neoplásicas (JANUÁRIO & LOPES, 2014).

Muitas dessas atividades apresentadas pelas plantas da família Binoneaceae podem estar diretamente atreladas ao lapachol, visto que este composto possui um amplo espectro de atividades terapêuticas comprovadas, tais como bactericida, antisséptico, anti-inflamatório, antimalárico, antitumoral, antiviral, fungicida, esquistossomicida, tripanossomicida e leishmanicida (HUSSAIN, et al., 2007; OLIVEIRA, et al., 2011).

O lapachol representa-se de forma muito interessante para a química de coordenação devido a presença de dois potenciais átomos coordenantes, que são os oxigênios carbonílico e fenólico na posição *orto* (nos carbonos 1 e 2), possuindo a capacidade de se ligar a íons metálicos formando quelatos com a função ceto-enólica. Entretanto outros estudos demonstraram a coordenação também via oxigênio carbonílico do carbono 4. A coordenação de íons metálicos biologicamente ativos ao lapachol apresenta-se como uma boa alternativa para potencializar suas atividades, e, diminuir a sua toxicidade ao corpo humano (SAWHNEY et al., 1982; CARUSO, et al., 2009).

Figura 3. Representação esquemática do lapachol.



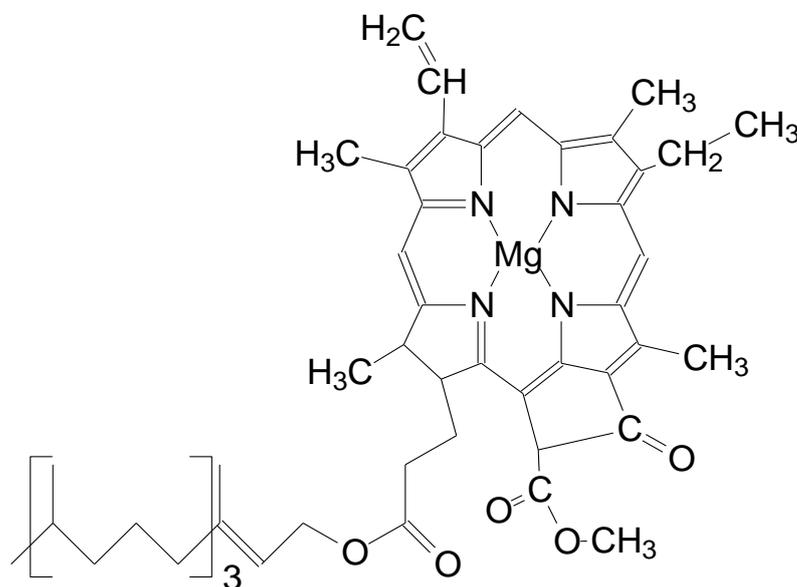
FONTE: BISCOLI, 2018.

3.3. A Química Biológica do Íon Magnésio(II)

O magnésio em sua forma metálica tem a cor prata esbranquiçada, é um metal pouco denso e quando puro é muito mole. Porém, as ligas que contêm esse metal geralmente apresentam alta resistência e leveza, o que as tornam essenciais para a aviação, onde essas duas características são importantes, mas também poderiam ser muito úteis para automóveis em geral se não fosse seu custo elevado. É o oitavo elemento mais abundante na crosta terrestre, podendo ser encontrado na forma de variados minerais, sendo ainda o terceiro elemento mais comum na água do mar, onde em um litro de água pode ser encontrado mais de 1 g de íons de magnésio (SHRIVER & ATKINS, 2008; ATKINS & JONES, 2006).

Sabendo-se da importância e das possíveis aplicações do magnésio em ligas metálicas, é na sua forma do cátion Mg^{II} onde ele mais se destaca, sendo um dos elementos mais importantes para a vida no planeta terra, pois, ele está presente no sítio ativo da clorofila (Figura 4), permitindo a realização da fotossíntese para diversos organismos (ATKINS & JONES, 2006).

Figura 4. Representação estrutural da clorofila.



FONTES: BISCOLI, 2018.

No corpo humano o magnésio atua como cofator em mais de 300 reações metabólicas, apresentando atuação fundamental no metabolismo da glicose, na homeostase insulínica, homeostase glicêmica, na síntese de adenosina trifosfato (ATP), em proteínas e ácidos nucleicos (LIMA, et al., 2005). Ainda tem papel importante na estabilidade da membrana neuromuscular e cardiovascular, na manutenção do tônus vasomotor e como regulador fisiológico da função hormonal e imunológica (ELIN, 2010; SEVERO, et al., 2015).

Quando regulado em quantidades adequadas o Mg^{2+} é o quarto cátion mais abundante presente no organismo de um humano, ficando atrás apenas do Ca^{2+} , K^{1+} e Na^{1+} (WOLF & CITTADINI, 2003) e o segundo no meio intracelular (BARBAGALLO, et al., 2003). Bioquimicamente o magnésio, assim como demais metais alcalinos e alcalinos terrosos, foi negligenciado a favor de estudos com metais de transição. No entanto, atualmente é visto como um elemento essencial para a manutenção da vida, tal é sua abundância e importância, podendo ser caracterizado como elemento majoritário no corpo humano. A ingestão diária desse elemento pode ser de aproximadamente 0,5 g por dia, o que resulta em um armazenamento em estado estacionário cerca de 25 g. O magnésio é encontrado majoritariamente mineralizado nos ossos com 65% aproximadamente, outros 32% é encontrado complexado com ácidos nucleicos e proteínas e o restante (3%) pode ser

encontrado no plasma e outras formas menores de armazenamento (WOLF & CITTADINI, 2003).

A absorção do magnésio pelo organismo ocorre principalmente no intestino delgado, podendo absorver até 65% do total ingerido. Sua circulação é feita pela interação com a albumina. Os rins são reguladores eficientes da quantidade de magnésio no organismo, quando a ingestão é baixa ele armazena, e, quando a ingestão for excessiva ele é capaz de eliminar 100% do magnésio filtrado (BARBAGALLO, et al., 2003; BASSO, UBBINK & DELPORT, 2000).

Vários estudos indicam que o déficit de magnésio pode levar a diversas doenças, principalmente cardiovascular, e, tratamentos pela ingestão de magnésio podem reverter, ou, melhorarem o quadro dessas doenças. A infusão de magnésio no pré-operatório pode prevenir a disfunção endotelial (BARBAGALLO, et al., 2003). A falta do magnésio pode produzir a deterioração hemodinâmica e arritmias ventriculares, o que pode levar a um quadro de cardiopatia isquêmica e levar a pessoa a ter um infarto agudo do miocárdio. Em alguns pacientes a administração de doses suplementares de magnésio reverteu os efeitos adversos destas complicações (RAMIREZ, 2016). O magnésio pode diminuir as arritmias e regular o ritmo cardíaco (REINHARD, 1991). A insuficiência cardíaca congestiva esta diretamente relacionada a queda do magnésio sérico e eritrocitário (GOTTLIEB, 1990). A carência de magnésio pode estar ligada ao prolapso da válvula mitral (RAMIREZ, 2016). O magnésio pode ser associado ao tratamento da hipertensão (HATZISTAVRI, 2009).

3.4. As Ações Farmacológicas de Complexos Metálicos

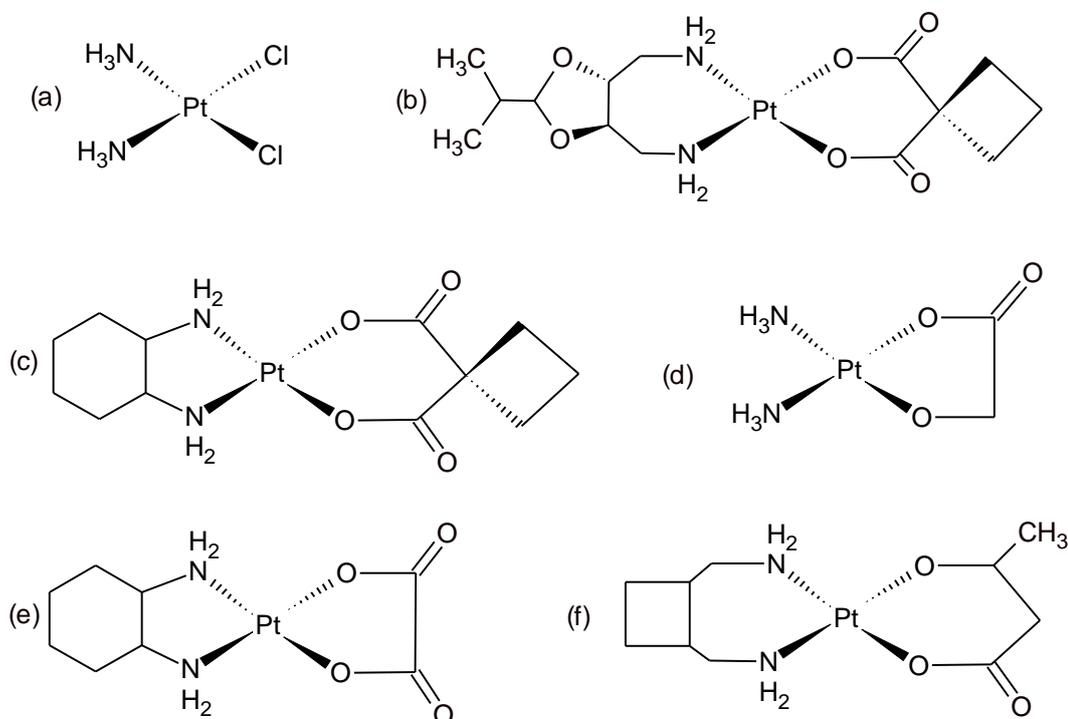
Um dos maiores desafios da medicina moderna é o de encontrar drogas que possam ser utilizadas de forma satisfatória contra doenças em estágio avançado ou que não podem ser completamente curadas. A resistência de diversas patologias tem se tornado cada vez mais um problema mundial, pois, o ritmo do advento de novas drogas desacelerou, enquanto o uso de fármacos rotineiros tem aumentado constantemente (FUTYRA, et al., 2017).

Vários centros metálicos são carregados positivamente, portanto, tem facilidade para se ligar a biomoléculas carregadas negativamente, sendo que esta característica é inerente aos constituintes de proteínas e ácidos nucleicos, os quais oferecem ligantes excelentes para

interação a íons metálicos. Desta forma, uma ampla gama de aplicações medicinais de complexos metálicos tem sido investigada tanto para diagnóstico como para tratamento clínico. Estes complexos exibem uma variedade de propriedades distintas, que os tornam alternativas viáveis às moléculas orgânicas isoladas como agentes terapêuticos. Entretanto, o desenvolvimento de drogas baseadas em complexos metálicos não é uma tarefa fácil, pois a acumulação de íons metálicos no corpo pode levar a efeitos deletérios. A biodistribuição, a depuração do complexo nos tecidos, a especificidade farmacológica, as respostas fisiológicas e a compreensão do mecanismo de ação são algumas das características que devem ser consideradas na concepção de um fármaco a partir de um complexo metálico (ZHANG & LIPPARD, 2003; LEUNG, et al., 2016).

Embora compostos inorgânicos sejam utilizados para o tratamento de diversas doenças, o marco histórico para a química inorgânica medicinal foi a descoberta da *cisplatina* em 1965 [$\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$] por Rosenberg e colaboradores (NAJJAR, 1992). Após a descoberta da ação antitumoral da *cisplatina* e de sua introdução no mercado em 1978, diversos compostos contendo platina foram largamente sintetizados e estudados com a intensão de melhorar as atividades antitumorais do composto original, principalmente frente a tumores resistentes a este composto, bem como diminuir a sua toxicidade frente ao corpo humano. Estes estudos levaram ao advento de ao menos cinco novos quimioterápicos, que já estão em uso, sendo dois deles utilizados globalmente, a carboplatina (combatendo principalmente câncer de pulmão e ovário) e a oxaliplatina (no tratamento do câncer de colon retal); outros três foram aprovados para usos em apenas alguns países, a nedaplatina (usada no Japão para tratamento de câncer de pulmão, cabeça, pescoço e esôfago), a lobaplatina (usada na China para tratamento de câncer de mama metastático, leucemia mielogênica e pulmão) e a heptaplatina (usada na Coreia do Sul para tratamento de câncer gástrico) (Figura 5) (BAI, et al., 2017; RODRIGUES, RUGGIERO & GUERRA, 2009; JOHNSTONE, SUNTHARALINGAM & LIPPARD, 2016; WANI, et al., 2016).

Figura 5. Representação estrutural de quimioterápicos: (a) Cisplatina; (b) Heptaplatina; (c) Carboplatina; (d) Nedaplatina; (e) Oxaliplatina; (f) Lobaplatina.



FONTES: BISCOLI, 2018.

Diversos outros fármacos a base de metais já são utilizados na medicina moderna, em variados campos, sendo que alguns dos mais conhecidos são: complexo de gadolínio(III) (Dotarem[®]), o qual é utilizado como agente de contraste em exames de ressonância magnética (CARAVAN, et al., 1999); o isótopo de ^{99m}Tecnécio (Cardiolite[®]), que é empregado para obtenção de imagens cardiovasculares (JURISSON & LYDON, 1999); a auranofina (complexo de ouro), usada no tratamento de artrite reumatoide (OTT, 2009); salicilato de bismuto, uso para tratamento de úlceras pépticas (BAXTER, 1994); o nitroprussiato de sódio (complexo de ferro), utilizado para o tratamento da hipertensão (CLARK & GAUL, 1993); sal de lantânio (Fosforenol[®]), disponibilizado para pacientes com falência renal crônica (RODRIGUES, RUGGIERO & GUERRA, 2009); a sulfadiazina de prata, complexo que combina as propriedades bactericidas do antibiótico sulfadiazina com a prata, produzindo um novo antibiótico ainda mais potente (ROCHA, et al., 2011); o sulfato de bário, utilizado como agente de contraste em procedimentos de raios-X; o carbonato de lítio, usado no tratamento da perturbação bipolar; carbonato de cálcio e hidróxido de magnésio, empregados como antiácidos (RODRIGUES, RUGGIERO & GUERRA, 2009), entre outros.

Além de todos os complexos já reconhecidos, e, comprovados com eficácia no tratamento clínico, existem muitos outros compostos que ainda estão sendo investigados. Entre alguns dos agentes tumorais mais promissores estão os complexos de rutênio, gálio, ouro, titânio e platina (LEUNG, et al., 2016; SHARMA, 2016; ZHANG & LIPPARD, 2003), enquanto, complexos de vanádio estão relacionados com o tratamento de diabetes (SAKURAI et al., 2002) e complexos de paládio avaliados como agentes antimicrobianos (GAROUFIS, HADJIKAKOU & HADJILIADIS, 2009).

3.5. Rede Metalorgânica ou MOF

Uma nova área da química de coordenação que vem chamando a atenção de vários grupos de pesquisa é a síntese e o estudo da estrutura e propriedades de polímeros de coordenação, que são os compostos formados por extensas redes de íons ou agrupamentos metálicos coordenados a moléculas orgânicas multidentadas, chamadas rede metalorgânicas ou então metal organic framework (MOF) (LI, et al., 1999; YAGHI, et al., 2003; CORMA, GARCIA & XAMENA, 2010). Estes híbridos orgânico-inorgânico podem ter topologia estrutural unidimensional, bidimensional ou tridimensional (1D, 2D ou 3D) (LIU, et al., 2016). Desde a década 90 essa área de estudos vem crescendo de forma exponencial, fatos esses que ficam evidenciados não apenas pelo aumento nas quantidades de trabalhos e pesquisas publicadas, mas também pelo alcance crescente das pesquisas (ZHOU, LONG & YAGHI, 2012).

Estes polímeros de coordenação podem combinar funcionalidade e seletividade com diversas propriedades provenientes dos organometálicos, apresentando três características bem definidas: cristalinidade, alta porosidade e existência de forte interação ligante-metal. Pequenas modificações nos ligantes podem alterar os tamanhos dos poros, enquanto a escolha de íons metálicos adequados, podem mudar drasticamente as funcionalidades eletrônicas dos sítios ativos, fatores os quais tornam esses compostos de total interesse para a indústria, especialmente para a química fina (RAMOS, TANASE & TOTHEBERG, 2014; PAZ & ROCHA, 2014).

Quando comparados com zeólitos (grupo de minerais que possuem estrutura porosa), os MOFs apresentam uma maior versatilidade química, podendo ter formas e tamanhos de poros diferenciadas, muitas vezes flexíveis, as quais permite a adaptação reversível do

adsorvente (FÈRREY & SERRE, 2009; KITAGAWA, KITAURA & NORO, 2004). A funcionalização do ligante orgânico também representa uma vantagem aos MOFs, podendo o mesmo sofrer alterações durante ou após a síntese, o que altera suas propriedades físico-químicas (HORCAJADA, et al., 2012).

Quando se pensa em utilizar esses compostos em aplicações farmacológicas são necessárias algumas precauções, pois ainda são escassos os resultados relacionados a toxicidade dos MOFs. Para se levar em consideração a aplicação dessas moléculas em biomedicina é necessário avaliar diversos parâmetros, como a aplicação, o equilíbrio entre o risco e o benefício, a cinética de degradação, a biodistribuição, a acumulação em tecidos ou órgãos e a excreção do corpo. Com base nesses parâmetros, estudos com todos os íons metálicos podem ser considerados, dependendo de aplicações e doses de interesse, porém, acredita-se que os metais mais adequados são o cálcio, magnésio, zinco, ferro, titânio e zircônio, pois a toxicidade desses íons é relativamente baixa frente ao corpo humano (HORCAJADA, et al., 2012). Outro ponto relevante na escolha de um ligante é a presença de grupos funcionais que possam interagir com biomoléculas, podendo melhorar o seu transporte e o destino de ação (HUXFORD, ROCCA & LIN, 2010).

Ao considerar os MOFs como um material nanotransportador é necessário que contemple alguns requisitos para garantir uma terapia de alta eficiência: 1° aprisionar com eficiência drogas com cargas elevadas; 2° controlar a liberação e evitar o “efeito de ruptura” (liberação excessiva nos primeiros minutos); 3° degradação da matriz de controle; 4° oferecer a possibilidade de conduzir facilmente *in vivo* o destino do composto e; 5° ser facilmente detectável por técnicas de imagem, como a ressonância magnética ou tomografia computadorizada. Um novo passo para a medicina molecular pretende utilizar-se dos nanotransportadores para poder fazer uma associação terapêutica e diagnóstica, tornando o tratamento personalizado; para tal funcionalidade é necessário que o nanotransportador seja eficiente ao transportar a droga desejada, e, possa vir a ser um eficiente agente de diagnóstico podendo avaliar a distribuição do medicamento e a eficiência do tratamento (HORCAJADA, et al., 2009).

Se for bem-sucedida a encapsulação em nanoescala, estes compostos poderão oferecer inúmeras vantagens, como o aumento da acumulação de fármacos no local de destino, redução da toxicidade sistêmica e capacidade de funcionalização das superfícies com segmentação ou moléculas com propriedades adicionais (NOVIO, et al., 2012).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Reagentes e Solventes

Os reagentes e solventes utilizados na extração do ligante, síntese do complexo e nas análises são de fonte comercial e foram utilizados sem purificação prévia: acetato de magnésio II (Aldrich), acetona (P.A. – Vetec), acetonitrila (grau espectroscópico e P.A. – Dinâmica), água destilada, álcool etílico (P.A. – Dinâmica), álcool isopropílico (P.A. – Cinética), álcool metílico (grau espectroscópico e P.A. – Vetec), cepas bacterianas (*Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* – BAC-FAR), cloreto de sódio (P.A. – Dinâmica), clorofórmio (P.A. – Dinâmica), diclorometano (P.A. – Vetec), dimetilformamida (P.A. – Vetec), dimetilsulfóxido (P.A. – Vetec), éter etílico (P.A. – Vetec), ferroceno (P.A. – Aldrich), hexafluorofosfato de tetrabutilamônio 98% (Fluka), hexano (P.A. – Vetec), hidróxido de amônio (Dinâmica), meio de cultura Luria-Bertani (Kasv), meio de cultura Mueller-Hinton Agar (Kasv), nitrato de prata (P.A. – Synth), sulfato de sódio anidro (P.A. – Cinética), trietilamina (P.A. – Dinâmica).

4.2. Métodos e Instrumentação

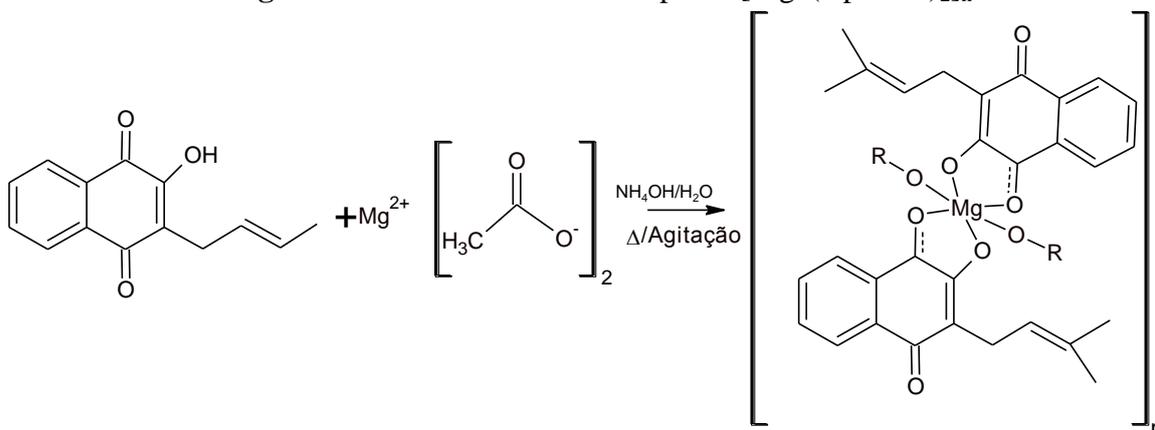
4.2.1. Extração do Lapachol

A extração da naftoquinona natural lapachol foi realizada partindo-se de 100 g de serragem de ipê roxo (*Handroanthus impetiginosus*) em béquer contendo diclorometano (quantidade suficiente para cobrir a serragem), mantendo-se em constante agitação e aquecimento por 30 minutos. Após o término da primeira etapa, utilizando-se um funil de büchner, filtrou-se a serragem em sistema de vácuo, sendo que a solução resultante da filtragem foi evaporada em um evaporador rotativo. Recristalizou-se o extrato obtido em etanol repetidamente para purificação, e, para induzir a precipitação, adicionou-se água destilada (FÁRFAN, et al., 2012).

4.2.2. Síntese do Complexo

O composto de coordenação foi obtido adicionando-se o ligante (lapachol: 0,242 g, 1,0 mmol) em hidróxido de amônio, sendo a solução a mistura agitada, sob leve aquecimento, até a total solubilização do composto; paralelamente, o sal acetato de magnésio ($\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$: 0,072 g, 0,5 mmol) foi previamente solubilizado em água e posteriormente adicionado a solução contendo o ligante. A reação foi realizada sob agitação e aquecimento (70°C) por 40 minutos (Figura 6). Da solução resultante, forma-se um precipitado de coloração púrpura, microcristalino, o qual foi filtrado e lavado com éter etílico gelado. O complexo foi recristalizado em uma solução de metanol e éter etílico, obtendo-se cristais adequados à resolução da estrutura por difratometria de raios X. O sólido foi seco e armazenado. Obteve-se um rendimento de 80% (0,203 g), baseado no ligante.

Figura 6. Rota de síntese do complexo $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{lapachol})_2]_n$.



FONTE: BISCOLI, 2018.

4.2.3. Ponto de Fusão

O ponto de fusão foi determinado em um aparelho Tecnopon modelo PFM-II, com capacidade de três amostras simultâneas por aquecimento a seco, utilizando-se capilar de vidro fechado e termômetro com máximo de temperatura em 360°C , sendo o procedimento realizado no Centro de Desenvolvimento de Tecnologias Químicas da Unidade Universitária de Naviraí/UEMS (CDTEQ/UEMS).

4.2.4. Teste de Solubilidade

A avaliação foi realizada pesando-se 1,0 mg de amostra (ligante e complexo) e adicionando 2,0 mL de solvente. Utilizou-se água destilada e solventes (P.A.) de diferentes polaridades (acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, etanol, éter etílico, hexano, isopropanol e metanol), sendo os procedimentos desenvolvidos no CDTEQ/UEMS.

4.2.5. Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros na região do infravermelho das amostras foram obtidos em um espectrofotômetro FTIR Perkin Elmer, modelo Frontier. As amostras foram preparadas por dispersão em KBr de grau espectroscópico e prensadas (aproximadamente 8 toneladas). Os espectros foram adquiridos na região de 4000-450 cm^{-1} com resolução de 4,0 cm^{-1} e 64 scans. As análises foram realizadas no Instituto de Química (INQUI) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campus de Campo Grande, em colaboração com o professor Dr. Gleison Antônio Casagrande.

4.2.6. Análise Térmica (TG/DTG)

As curvas de TG/DTG foram obtidas em equipamento TGA Q50 da TA Instrument, em razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, partindo da temperatura ambiente (aproximadamente 25 $^{\circ}\text{C}$) até 900 $^{\circ}\text{C}$, em atmosfera oxidante de ar sintético com fluxo de 60 mL min^{-1} , utilizando cadinho de alumínio como suporte (massa inicial das amostras: 6 mg). O software Universal Analysis 2000, versão 4,5 A (TA Instrument) foi utilizado para determinar as curvas de DTG. As análises foram realizadas no Instituto de Química (INQUI) da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), com a colaboração do professor Dr. Lincoln Carlos Silva de Oliveira.

4.2.7. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas em equipamento DSD Q20 da TA Instrument, em razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, partindo da temperatura ambiente (aproximadamente $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) até $500\text{ }^{\circ}\text{C}$, em atmosfera oxidante de ar sintético com fluxo de 60 mL min^{-1} , utilizando cadinho de alumínio padrão (T_{zero}) como suporte (massa inicial das amostras: 6 mg). O software Universal Analysis foi utilizado para determinar a pureza da amostra. As análises foram realizadas no Instituto de Química da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, com a colaboração do professor Dr. Lincoln Carlos Silva de Oliveira.

4.2.8. Difractometria de Raios X em Monocristais

Coletaram-se os dados de raios X por meio de um aparelho Bruker D8 Venture Photon 100 equipado com uma microfonte de alto brilho $K\alpha$ Mo, sendo que empregou-se a radiação monocromática de Mo, com $K\alpha$ de $0,71073\text{ \AA}$, obtida por meio de um monocromador de grafite na temperatura de 296 K .

A estrutura foi solucionada empregando-se métodos diretos utilizando o programa SHELXS-2014, e os refinamentos foram realizados com o pacote de programas SHELXL-2014 através do método de matriz completa/mínimos quadrados dos fatores estruturais F^2 , com os parâmetros de deslocamento térmico anisotrópico para todos os átomos não hidrogenóides. Os átomos não hidrogenóides foram localizados através de sucessivas diferenças de Fourier e refinamentos com parâmetros anisotrópicos. Já os átomos de hidrogênio foram refinados isotropicamente na forma de grupos vinculados geometricamente aos respectivos átomos não hidrogenóides. As projeções gráficas das estruturas cristalinas foram executadas através dos programas DIAMOND e ORTEP. A coleta de dados e a resolução das estruturas foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria, em colaboração com o Prof. Dr. Davi Fernando Back.

4.2.9. Espectroscopia Eletrônica de Absorção no UV-Vis

Os espectros eletrônicos de absorção nas regiões do ultravioleta e visível (200 a 800 nm) foram obtidos em um espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50, no CDTEQ/UEMS. As análises foram realizadas em uma concentração de $5,0 \times 10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$ (ligante e complexo)

utilizando-se como solventes metanol e DMSO (grau espectroscópico) em celas de quartzo com capacidade para 4,0 mL com 1,0 cm de caminho óptico.

4.2.9.1. Absortividade Molar (ϵ)

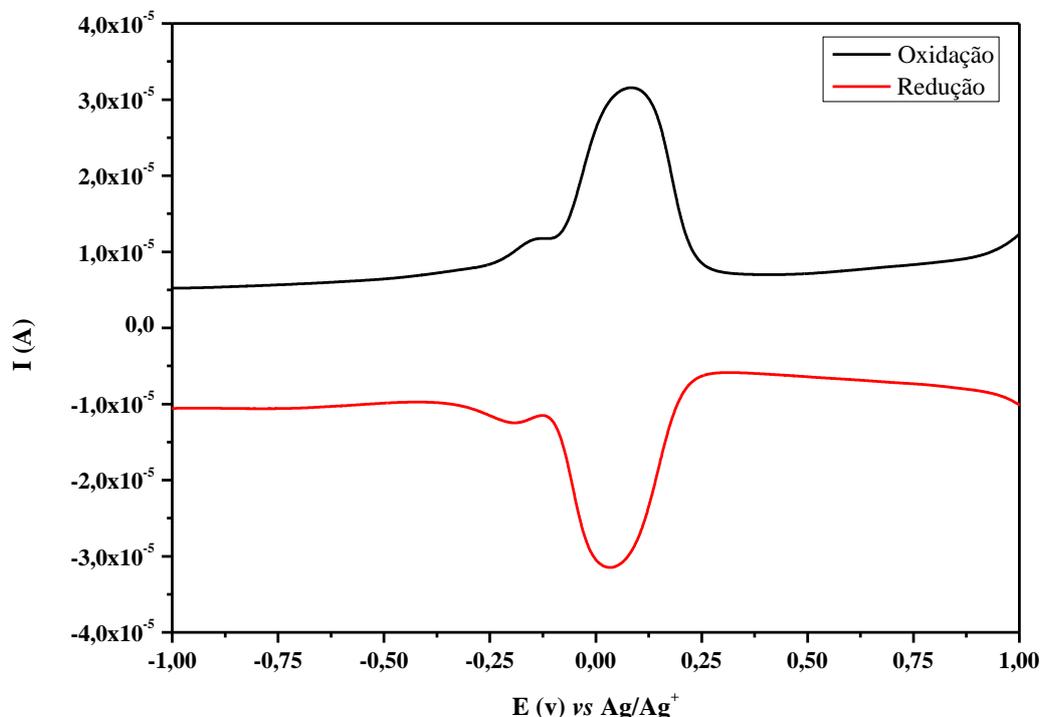
A análise foi realizada com o preparo das amostras, ligante e complexo, a uma concentração de $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e diluídas em série de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e $6,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, em metanol (grau espectroscópico). Posteriormente, fez-se a leitura das amostras em cela de quartzo com capacidade para 4,0 mL e 1,0 cm de caminho óptico no espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50, na região do UV-Vis (200 a 800 nm), sendo os procedimentos realizados no CDTEQ/UEMS.

4.2.10. Estudos Eletroquímicos

O comportamento redox do complexo foi investigado via voltametria de onda quadrada em um potenciostato/galvanostato Metrohm Autolab, modelo PGSTAT 302, interfaceado a um microcomputador e gerenciado pelo software GPES (Versão 4.9) para aquisição dos dados. O solvente empregado na análise foi DMSO (grau espectroscópico), sendo que as leituras foram feitas em atmosfera ambiente no Laboratório de Química Ambiental do CINAN/UEMS, Unidade de Dourados, em colaboração com o Prof. Dr. Antonio Rogério Fiorucci.

Usou-se um sistema convencional de três eletrodos: eletrodo de trabalho de carbono vítreo (diâmetro de 2,0 mm), eletrodo de Ag/Ag⁺ como referência e um fio de platina usado como eletrodo auxiliar (contra-eletrodo). O eletrodo de trabalho foi cuidadosamente polido antes de cada medida com alumina, lavado com água destilada e posteriormente seco. Neste sistema, uma célula convencional com capacidade máxima de 20,0 mL foi usada nas medidas. Uma solução de hexafluorofosfato de tetrabutilamônio ($0,1$ mol L⁻¹) foi utilizada como eletrólito suporte. Para calibrar o eletrodo de referência utilizou-se o par redox ferroceno/ferrocínio (Fc/Fc⁺) (Figura 7) como padrão interno, com $E_{1/2} = 0,168$ V *versus* Ag/Ag⁺ (GAGNÉ, KOVAL & LISENSKY, 1980).

Figura 7. Voltamograma via onda quadrada do padrão interno ferroceno em DMSO (grau espectroscópico).



FONTE: BISCOLI, 2018.

4.2.11. Espectroscopia de Fluorescência

4.2.11.1. Espectroscopia de Fluorescência em Solução

As medidas de fluorescência foram realizadas em um espectrofotômetro Cary Eclipse (Varian). O espectrofluorímetro possui: como fonte de excitação uma lâmpada pulsada de Xenônio (80 Hz), com a largura a meia altura do pulso de aproximadamente 2 μ s e potência de pico equivalente a 75 KW; dois monocromadores, um para a seleção do comprimento de onda de excitação e outro para a seleção do comprimento de onda emitido pela amostra. A detecção da fluorescência é feita por um tubo fotomultiplicador (R928). Todas as medidas foram realizadas à temperatura controlada, utilizando-se cubeta de quartzo com quatro faces polidas (caminho óptico de 10 mm) e volume de 3,5 mL. As análises foram realizadas utilizando-se dimetilsufóxido (grau espectroscópico) tanto para o ligante quanto para o complexo, nas concentrações de $6,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. As análises foram realizadas na

Universidade Federal da Grande Dourados em parceria com o Prof. Dr. Eriton Rodrigo Botero.

4.2.11.2. Espectroscopia de Fluorescência em Estado Sólido

As medidas de fluorescência no estado sólido foram obtidas utilizando-se o mesmo equipamento descrito no item anterior, entretanto com algumas modificações nos procedimentos. Os espectros foram obtidos a partir de uma camada fina e uniforme dos compostos sólidos (lapachol e complexo $[Mg^{II}(\text{lapachol})_2]_n$) em cubetas de quartzo, utilizando-se para a medida uma fibra óptica tipo Y com uma janela espectral de 200-800 nm, As análises foram realizadas na Universidade Federal da Grande Dourados em parceria com o Prof. Dr. Eriton Rodrigo Botero.

4.2.12. Ensaio Antimicrobianos

4.2.12.1. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para a realização dos ensaios microbiológicos foram utilizados os seguintes aparelhos: Autoclave vertical (Primatec, modelo CS); Banho-maria (Warmnest, modelo HH-S₁₀) para preparação e solubilização dos meios de cultura; Estufa para secagem e esterilização (MARCONI, modelo MA 033); Estufa de cultura bacteriológica (Deleo); Agitador de tubos tipo vortex (PHOENIX, modelo AP56); Refrigerador vertical (CONSUL, modelo biplex CRM45 frost free); Capela de fluxo laminar (BSTECH). Todos os procedimentos foram realizados no CDTEQ/UEMS.

Utilizou-se cinco cepas bacterianas diferentes para realização da análise, sendo três delas do tipo Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*) e duas do tipo Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) (Tabela 2). Para uso nos bioensaios as bactérias liofilizadas foram replicadas em água salina estéril (0,8% de NaCl), semeadas em placas de Petri contendo meio de cultura Mueller-Hinton Agar (36%) e incubadas a 36°C por 24 horas.

Tabela 2. Cepas bacterianas utilizadas na avaliação da atividade antimicrobiana.

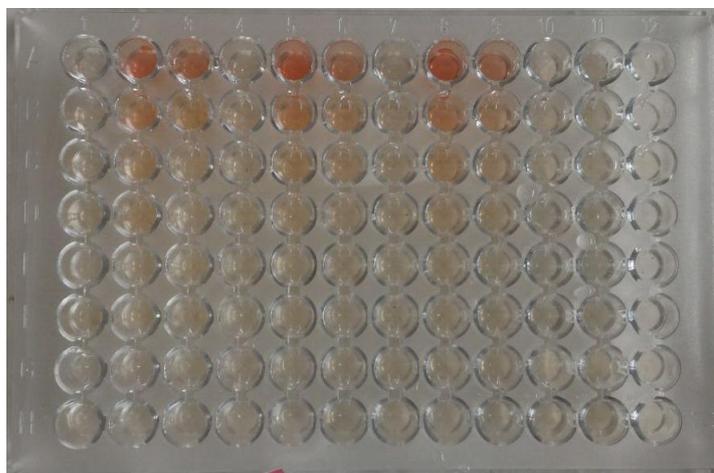
CEPA BACTERIANA	CÓDIGO	MARCA / LOTE
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC SP 238.651	BAC-FAR (CCCD-S007) / BF-H 341 Ago/2020
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC SP 224.150	BAC-FAR (CCCD-E006) / BF-G 934 Jul/2018
<i>Escherichia coli</i>	ATCC SP 224.360	BAC-FAR (CCCD-E009) / BF-A 275 Jan/2020
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC SP 235.451	BAC-FAR (CCCD-P003) / BF-I 146 Set/2018
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC SP 11.778	BAC-FAR (CCCD-B001) / BF-J 835 Ago/2019

As cepas bacterianas foram replicadas conforme o fabricante, sendo utilizadas nos bioensaios após a terceira incubação, de acordo com a norma M7-A7 da CLSI (2006).

FONTE: BISCOLI, 2018.

Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) utilizou-se o método de microdiluição em caldo utilizando-se de microplacas de 96 poços em formatos de “U” (Figura 8), seguindo a metodologia determinada pela ANVISA para Teste de Suscetibilidade aos Antimicrobianos (TSA) e descrita segundo a norma M7-A6 do Manual 38 *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2006). Para efeito comparativo, os testes foram realizados para o complexo, ligante e com um antibiótico reconhecido de amplo espectro – o cloranfenicol. Em todos os poços, para microdiluição, foram adicionados 100 µL do meio de cultura Luria-Bertani. Os compostos foram solubilizados em DMSO em concentração de 100 µg mL⁻¹ e posteriormente diluídos nos poços. No primeiro poço (linha A da placa) adicionou-se 100 µL dos compostos na concentração inicial, seguidamente foram retirados 100 µL do primeiro poço e passado para o segundo poço, sendo que as diluições foram feitas repetidamente até chegar a linha H da placa chegando a uma concentração final de 0,39 µg/mL. Nas últimas três colunas da placa foram realizados os controles negativo (para averiguar possível contaminação no meio) positivo (para ter certeza do crescimento bacteriano) e controle do solvente (para investigar se o solvente está influenciando na análise).

Figura 8. Microplaca de 96 poços utilizada para realização da CIM.



FONTE: BISCOLI, 2018.

O inóculo produzido foi ajustado, em água salina, à solução padrão de 0,5 McFarland, que corresponde ao padrão de turvação da bactéria *Escherichia coli* a uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹. Quando o inóculo não alcançava a turvação padrão eram acrescentadas colônias bacterianas, e quando superava a escala nefelométrica era adicionada água salina. Esta solução foi então diluída em caldo Luria-Bertani para obter um inóculo com concentração de 5×10^5 UFC mL⁻¹.

Do inóculo ajustado (5×10^5 UFC mL⁻¹), retirou-se 10 µL e adicionados em cada um dos poços para investigação, excluindo-se o controle negativo. Posteriormente as microplacas foram levadas para estufa bacteriológica por 20 horas a uma temperatura de 36° C.

4.2.12.2. Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Em continuação aos procedimentos para determinação da CIM, foram iniciados as análises para determinação da CBM pelo método de plaqueamento em meio de cultura, adaptado de SANTOS *et al.* (2014).

Após o período de incubação para determinação da CIM foi retirada uma alíquota de 100 µL de cada poço, inclusive do controle positivo, negativo e solvente. Os inóculos foram distribuídos sobre a superfície do meio de cultura Mueller-Hinton Agar em placas de Petri, com o auxílio de uma alça de drigalski em cabine de segurança biológica.

As placas de Petri inoculadas foram incubadas a temperatura de 36°C por 20 horas. Após este período observou-se se houve o crescimento de colônias bacterianas em cada placa. A CBM foi determinada como sendo a menor concentração do composto capaz de impedir o crescimento microbiano em meio de cultura (formação de colônias bacterianas).

4.2.13. Ensaio Antitumoral

Para análise antitumoral *in vitro* utilizou-se o método de TGI (Total Growth Inhibition) que é a concentração necessária para que ocorra 0% de crescimento celular.

Foram utilizadas 10 linhagens tumorais humanas sendo elas: U251 (glioma); UACC-62 (melanoma); MCF-7 (mama); NCI-ADR/RES (ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos); 786-O (rim); NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); PC-03 (próstata); OVCAR-03 (ovário); HT-29 (cólon); K562 (leucemia). E uma linhagem não tumoral humana: HaCaT (queratinócito, não tumoral). Todas as linhagens foram mantidas em laboratório de cultura de células em frascos de 25 cm³ (Nunc[®]), com 5 mL de meio RPMI 1640 (Gibco[®]) suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB) (Gibco[®]) e incubadas a 37 °C em atmosfera úmida com 5% de CO₂.

As células inoculadas 100 µL/compartimento, em placas de 96 compartimentos (Nunc[®]), de cada suspensão celular, em meio RPMI/5% SFB, acrescido de penicilina: estreptomicina (1000 U mL⁻¹; 1000 µg mL⁻¹; 1,0 mL L⁻¹ RPMI). Após 24h de incubação, a 37 °C em atmosfera úmida com 5% de CO₂, foram adicionados 100µL/compartimento da amostra a ser testada em quatro concentrações distintas (0,25; 2,5; 25 e 250 µg mL⁻¹).

Para preparação das amostras, uma alíquota de 10 mg de cada amostra foi dissolvida em 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). Em seguida, 50 µL dessa solução mãe foram dispersos em 950 µL de meio RPMI/5% SFB, para preparação da solução de trabalho. Esta foi então diluída sucessivamente, em meio de cultura, para preparação das concentrações finais de 0,25; 2,5; 25 e 250 µg mL⁻¹. A concentração final de DMSO não interfere no crescimento celular.

Como controle positivo utilizou-se o quimioterápico doxorrubicina, nas concentrações de 0,025; 0,25; 2,5 e 25 µg mL⁻¹. No momento da adição das amostras, foi realizada a fixação, com ácido tricloroacético (TCA) a 50%, da placa controle chamada T0, o que permitiu determinar qual a quantidade de células no momento da adição das amostras.

Ao final de 48h de incubação, as células foram fixadas com 50µL/compartimento de TCA a 50% e as placas incubadas por 1h a 4 °C; a seguir, as placas foram lavadas quatro vezes consecutivas com água destilada para remoção de resíduos de TCA, meio, SFB e metabólitos secundários. Depois de secas completamente, à temperatura ambiente, as células foram coradas com 50µL/compartimento de SRB 0,4% (p/v), dissolvido em ácido acético 1%, e, mantidas por 20 min a temperatura ambiente; em seguida, lavadas quatro vezes com ácido acético 1% e secas à temperatura ambiente. Finalmente o corante ligado às proteínas celulares foi solubilizado com Trizma Base (Sigma[®]), 10 mM e pH 10,5. A leitura espectrofotométrica da absorbância foi realizada em 540 nm em leitor de microplacas.

Com os valores médios de absorbância para cada concentração de cada amostra, o crescimento celular expresso em porcentagem foi calculado segundo as seguintes fórmulas:

Se $T > T1 \rightarrow$ estímulo de crescimento celular;

Se $T1 > T \geq T0 \rightarrow$ atividade citostática: $\%C = 100 \times [(T-T0)/(T1-T0)]$;

Se $T < T0 \rightarrow$ atividade citocida: $\%C = 100 \times [(T-T0)/T0]$.

Onde:

T = média da absorbância da célula tratada – absorbância amostra sem célula;

T1 = absorbância do branco de células;

T0 = absorbância do controle de células na placa T0.

Foram gerados gráficos de porcentagem de crescimento em função da concentração da amostra testada, para cada uma das linhagens testadas. Uma concentração efetiva denominada TGI (do inglês *total growth inhibition*, concentração necessária para que ocorra 0% de crescimento celular) foi calculada em função do tipo de gráfico obtido, por regressão não linear, tipo sigmoidal, utilizando-se software Origin, versão 8.0. Os testes de capacidade antiproliferativa foram realizados na FCF/UNICAMP, sob a supervisão da prof. Dra. Ana Lucia Tasca Gois Ruiz.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Ponto de Fusão e Teste de Solubilidade

O ponto de fusão determinado para o lapachol livre é de 140°C valor que está de acordo com a literatura (ARAÚJO et al., 2002), demonstrando que o processo de extração foi realizado com êxito, enquanto o ponto de fusão do complexo $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$ está acima de 360°C, sendo que este significativo aumento da temperatura de fusão do complexo já era esperado, e, está diretamente relacionado ao processo de coordenação do íon metálico ao lapachol.

Na análise de solubilidade há grandes distinções entre o perfil do ligante e do complexo, com o ligante apresentando solubilidade na maioria das solventes, excetuando-se a água; já o complexo se mostrou insolúvel na maioria dos solventes testados, sendo completamente solúvel apenas em dimetilsulfóxido, dimetilformamida e metanol, e parcialmente solúvel em etanol e água, como pode ser observado na Tabela 3. Tais mudanças reforçaram a formação do novo composto de coordenação.

Tabela 3. Perfil de solubilidade do ligante e complexo.

Solventes	Lapachol	Complexo
Acetona	Solúvel	Insolúvel
Acetonitrila	Solúvel	Insolúvel
Água	Insolúvel	Parcialmente
Clorofórmio	Solúvel	Insolúvel
Diclorometano	Solúvel	Insolúvel
Dimetilformamida	Solúvel	Solúvel
Dimetilsulfóxido	Solúvel	Solúvel
Etanol	Solúvel	Parcialmente
Éter etílico	Solúvel	Insolúvel
Hexano	Solúvel	Insolúvel
Isopropanol	Solúvel	Insolúvel
Metanol	Solúvel	Solúvel

FONTE: BISCOLI, 2018.

5.2. Espectroscopia no Infravermelho

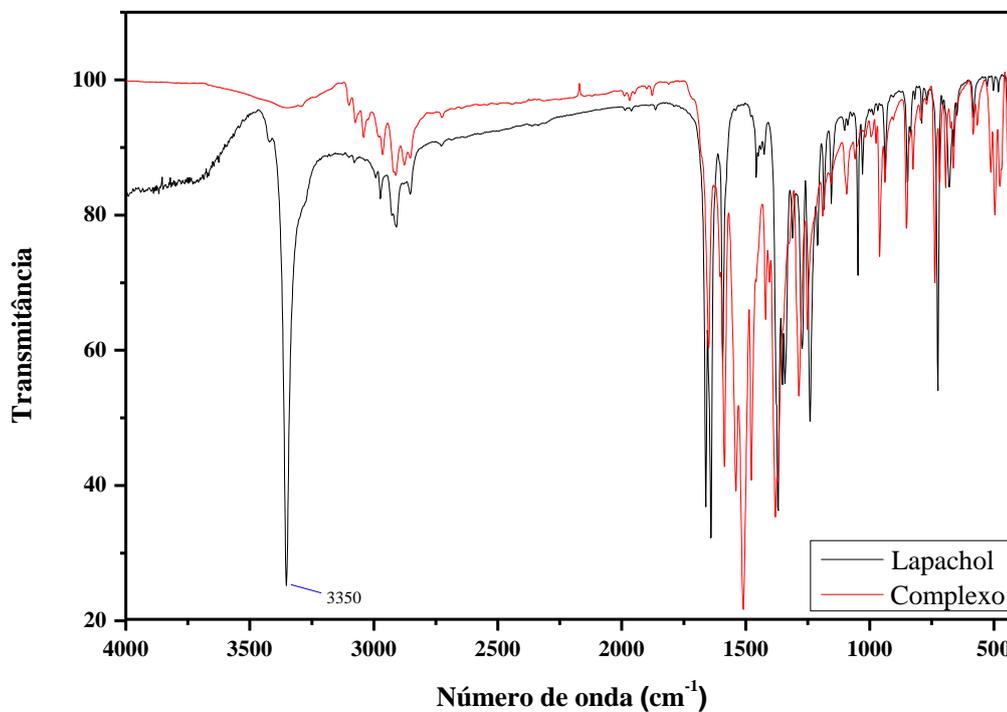
O espectro vibracional do complexo quando comparado ao do ligante “livre” (Figura 9) apresenta visíveis distinções entre ambos (ligante e complexo). A principal diferença entre

eles é o desaparecimento de uma intensa banda em 3353 cm^{-1} , presente no ligante e referente ao grupamento OH de fenol. Este fato, que já era esperado, permite prever que o íon metálico se coordenou via oxigênio fenólico, assim como encontrado em outros complexos descritos na literatura $[\text{Ni}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2(\text{DMF})(\text{H}_2\text{O})]$, $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2(\text{DMF})_2]$, $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2(\text{DMF})_2]$, $[\text{Zn}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2(\text{EtOH})_2]$ e $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ (FARFÁN et al., 2009; FARFÁN, et al., 2012, MARTÍNEZ, et al., 2003; CARUSO, et al., 2009).

Outros indicativos da complexação são observados em menor número de onda, o que pode ser melhor visualizado no espectro ampliado na Figura 10 e com valores expostos na Tabela 4.

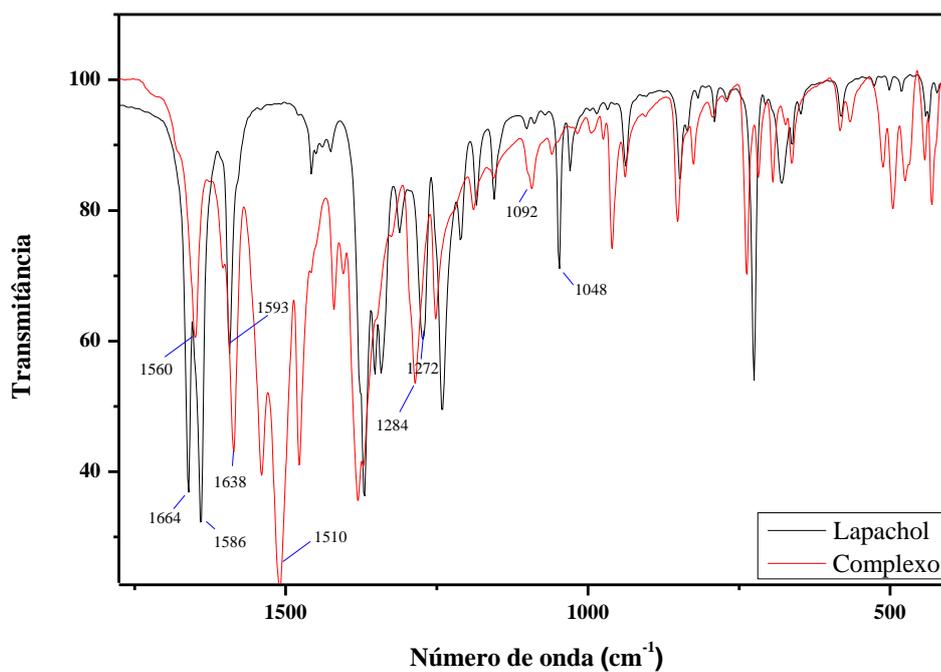
O deslocamento da banda em 1664 cm^{-1} (ligante) para 1650 cm^{-1} (complexo) referente ao estiramento C=O do C10, indica outra posição de coordenação, sendo que esta alteração para menor número de onda está de acordo com o apresentado para um complexo de $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ (1660 cm^{-1} para 1639 cm^{-1}) (CARUSO, et al., 2009). Outro importante deslocamento está relacionado ao estiramento da carbonila do C3, cuja banda observada em 1638 cm^{-1} (ligante) passa para 1586 cm^{-1} (complexo); posteriormente, com a realização da análise por difratometria de raios X, provou-se que este deslocamento está relacionado à formação de um polímero, pois, ocorre a coordenação desta carbonila a outro íon de Mg^{II} , presente na estrutura; esta alteração para menor número de onda também é encontrado em outro complexo polimérico $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ (1646 cm^{-1} para 1583 cm^{-1}) (CARUSO, et al., 2009; FARFÁN, et al., 2015). Também é possível observar outros deslocamentos: de 1048 cm^{-1} (ligante) para 1092 cm^{-1} (complexo), atribuído ao estiramento da ligação C-O de fenol e; 1272 cm^{-1} (ligante) para 1284 cm^{-1} (complexo) referente à deformação angular da ligação C=C-O de fenol. Uma grande diferenciação ainda pode ser observada na região de $1600\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$, onde aparece apenas uma banda para o lapachol (1593 cm^{-1}) e três bandas para o complexo, sendo a mais intensa em 1510 cm^{-1} . Esta região é comum para deformações nas ligações do tipo C-C dos anéis aromáticos, sendo que a modificação espectral pode estar relacionada à formação da rede polimérica, informação esta que é confirmada por mudanças similares ocorridas em outros complexos descritos na literatura, como $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2(\text{DMF})_2]$ e $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2(\text{DMF})_2]$ com bandas em 1542 cm^{-1} e 1545 cm^{-1} , respectivamente (FARFÁN, et al., 2012). No complexo polimérico $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ a semelhança é ainda maior, pois o mesmo também apresenta três bandas nessa região (1530 cm^{-1} , 1505 cm^{-1} e 1475 cm^{-1}) (CARUSO, et al., 2009).

Figura 9. Espectro vibracional comparativo entre o ligante (preto) e o complexo (vermelho).



FONTE: BISCOLI, 2018.

Figura 10. Ampliação da faixa de 1700-400 cm⁻¹: ligante (preto) e complexo (vermelho).



FONTE: BISCOLI, 2018.

Tabela 4. Principais bandas e atribuições, em cm^{-1} , dos espectros no infravermelho para o ligante e complexo.

Atribuições	Ligante	Complexo
$\nu(\text{O-H fenol})$	3353	---
$\nu(\text{C=O})$	1664	1650
$\nu(\text{C=O})$	1638	1586
$\nu(\text{C=C/C-C})$	1593	1510
$\delta(\text{C=C-O fenol})$	1272	1284
$\nu(\text{C-O fenol})$	1048	1092

--- Não atribuído.

FONTE: BISCOLI, 2018.

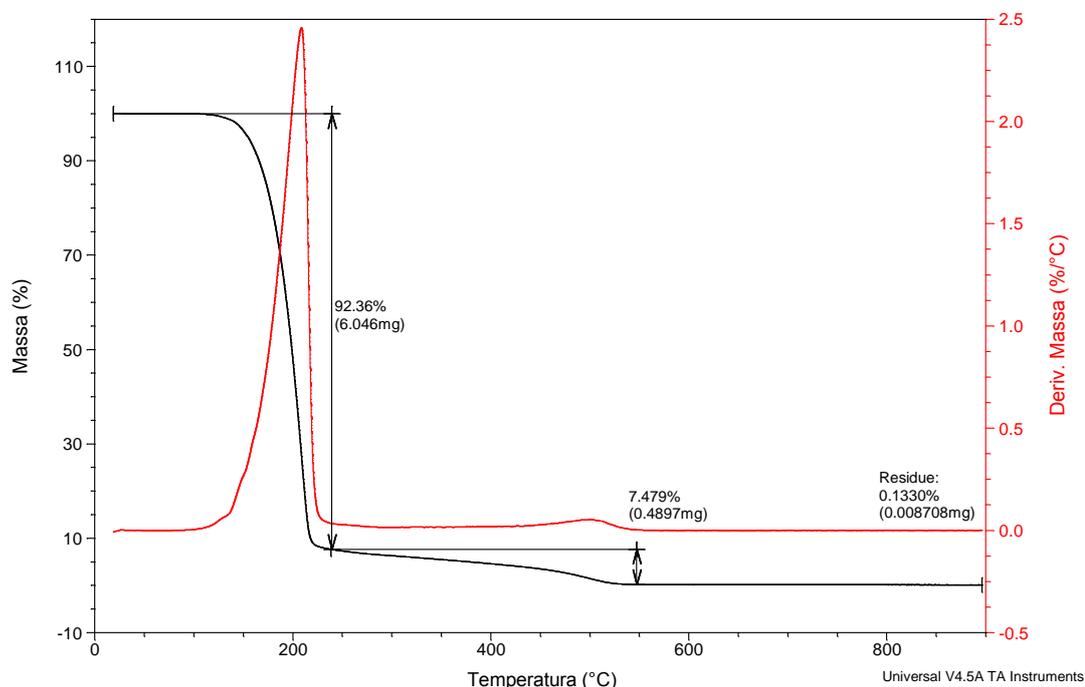
5.3. Análise Térmica

5.3.1. Termogravimetria e Termogravimetria Derivada (TG/DTG)

Para as análises dos perfis de termo decomposição do ligante (lapachol) e do complexo metálico $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ utilizou-se, como um dos métodos, a termogravimetria (TG). As curvas TG/DTG obtidas a partir das análises são apresentadas nas Figuras 11 e 12, revelando a quantidade real de eventos e perdas de massa, onde nota-se que ambos os compostos apresentam consideráveis distinções nas temperaturas de decomposição.

Os resultados obtidos para o ligante lapachol ocorrem em duas etapas principais: a primeira começa em $137\text{ }^\circ\text{C}$ e vai até $230\text{ }^\circ\text{C}$, com uma perda de massa de 92,36%, enquanto a segunda se iniciando em $230\text{ }^\circ\text{C}$ e indo até $520\text{ }^\circ\text{C}$, com uma perda de 7,48%, temperatura na qual o composto orgânico é totalmente carbonizado. O baixo resíduo final (0,13%) demonstra que o composto foi isolado com alta pureza. O resultado encontrado para decomposição do lapachol está de acordo com dados da literatura (KATAWATE, et al., 2014; FARFÁN et al., 2009).

Figura 11. Termograma em atmosfera de ar sintético do lapachol.

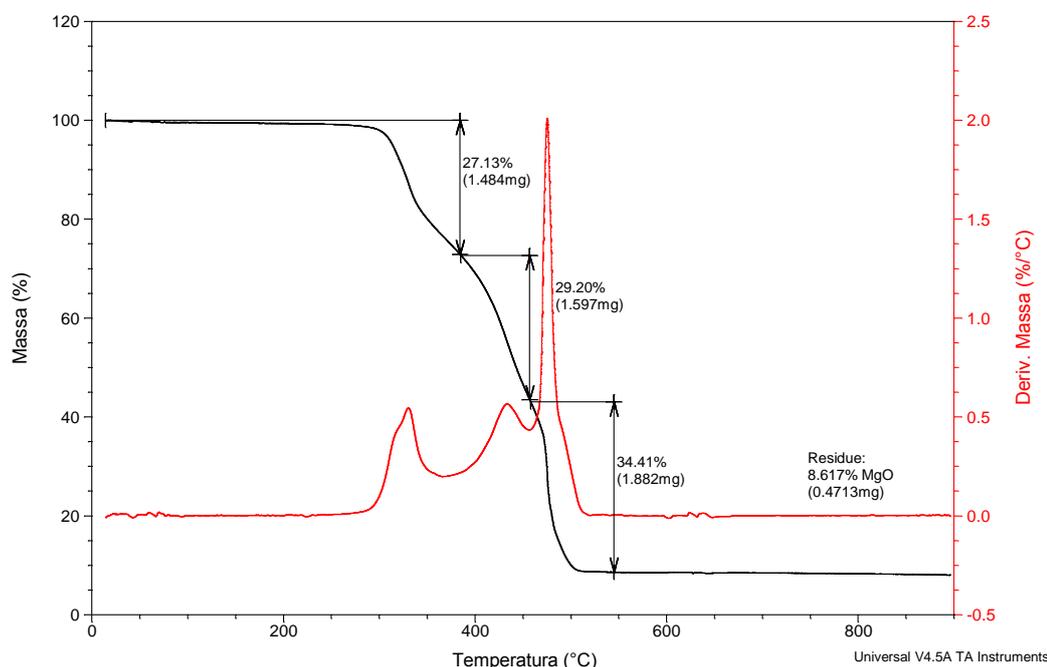


FONTE: BISCOLI, 2018.

A decomposição térmica do complexo ocorre em três etapas principais, todas relacionadas à perda de massa do ligante orgânico. Todos os processos podem ser observados com maior clareza quando comparados à derivada do mesmo. Tendo a primeira perda de massa em um intervalo de temperatura de 255 a 385°C, e com um valor experimental de 27,13% e um valor teórico de 27,28%, esta perda de massa, possivelmente, está relacionada à decomposição do grupamento 3-metil-2-butenil. A segunda perda tem um intervalo de temperatura de 385 a 455°C, e com um valor experimental de 29,20% e um valor teórico de 30,03%, referente à perda do primeiro anel de 6 membros do ligante. A terceira perda tem um intervalo de temperatura de 455 a 545°C, com um valor experimental de 34,41% e um valor teórico de 34,74% relacionada ao restante do ligante (C₄O₃). O resíduo experimental encontrado representa 8,6%, enquanto o teórico é de 7,7%, sendo referente à formação de óxido de magnésio (MgO). Os valores de decomposição do envoltório orgânico são semelhantes aos de outros complexos de lapachol, [Zn^{II}(Lapachol)₂(DMF)(H₂O)], [Mn^{II}(Lapachol)₂]_n e [Cd^{II}(Lapachol)₂]_n, respectivamente, com total de perda de massa de 87,11%, 78,42% e 85,31%; entretanto, estes compostos iniciam a decomposição entre 290 e 310°C (FÁRFAN, et al., 2015).

Os resultados encontrados foram satisfatórios, visto que os valores experimentais estão próximos aos valores teóricos, o que demonstra um alto grau de pureza do composto isolado. A técnica também confirma a estequiometria de reação, na qual se previa a formação do complexo contendo duas moléculas de lapachol para um íon metálico Mg^{II} , corroborando as demais técnicas empregadas neste trabalho.

Figura 12. Termograma em atmosfera de ar sintético do complexo $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$.



FONTE: BISCOLI, 2018.

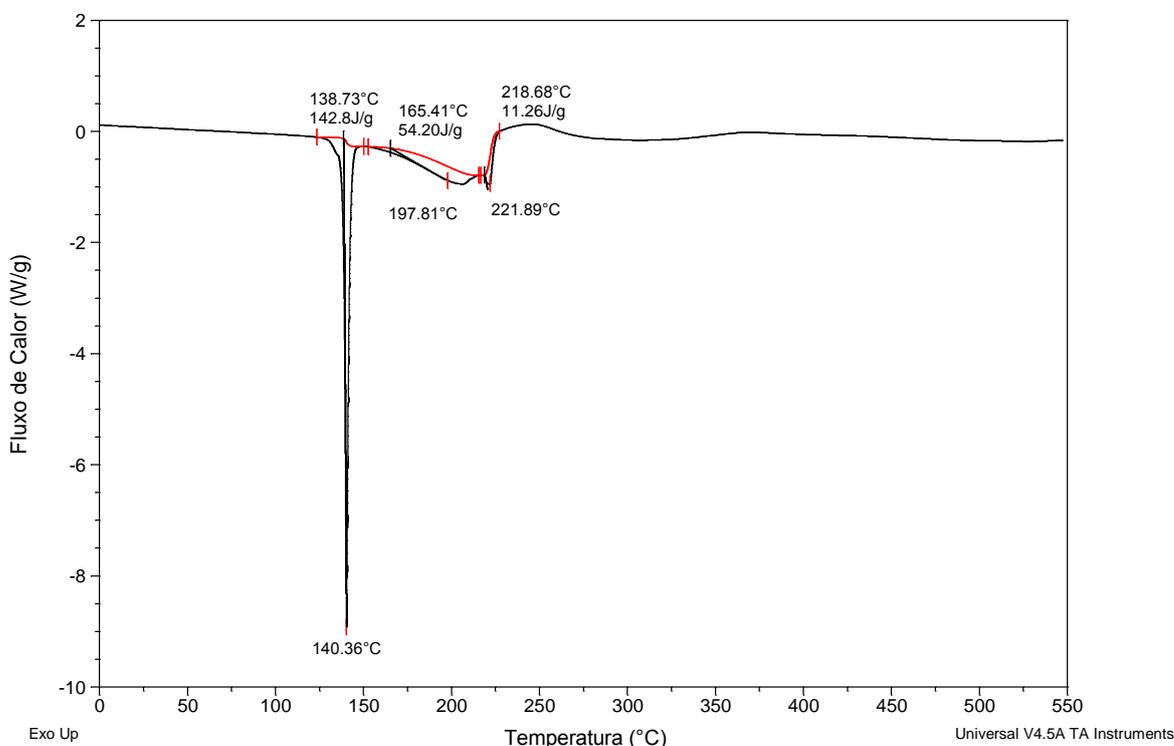
5.3.2. Calorimetria Exploratória Diferencial

Os termogramas contendo as curvas de DSC para o ligante e complexo estão apresentados nas Figuras 13 e 14, assim como os principais dados obtidos estão expostos na Tabela 5, os quais evidenciam uma grande distinção entre o perfil de decomposição de ambos os compostos.

Ao se analisar os fenômenos físico-químicos envolvidos na decomposição do ligante e apresentados na curva de DSC (Figura 13), observam-se três processos endotérmicos. O primeiro evento endotérmico apresenta uma temperatura onset (T_{onset}) de 138,73 °C, que é a temperatura inicial extrapolada do evento, tendo um valor para ΔH de 142,8 J g⁻¹, o qual é relacionado a uma temperatura pico (T_{pico}) de 140,36 °C, constituindo o máximo consumo de

energia no perfil do ligante; esta temperatura está diretamente relacionada ao ponto de fusão encontrado para o ligante, que é de 140 °C, o que também está em concordância ao que é descrito na literatura (ARAÚJO et al., 2002). Os outros dois processos endotérmicos observados apresentam os seguintes parâmetros: T_{onset} de 165,41 °C (com ΔH de 54,20 J g⁻¹ e T_{pico} de 197,81 °C) e T_{onset} de 218,68 °C (com ΔH de 11,26 J g⁻¹ e T_{pico} de 221,89 °C), os quais estão relacionados a decomposição final do ligante. Os dados encontrados para DSC corroboram com valores encontrados para a TG/DTG.

Figura 13. Curva de DSC do lapachol em atmosfera de ar sintético.

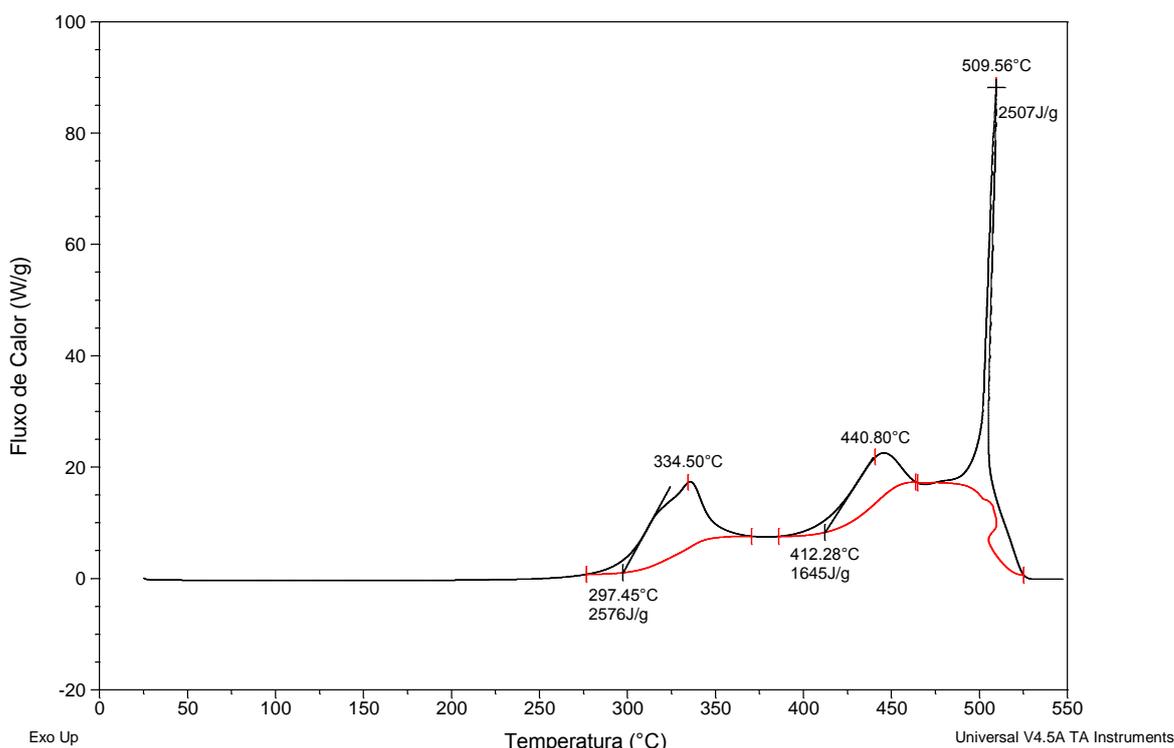


FONTE: BISCOLI, 2018.

O perfil da curva de DSC do complexo é completamente diferente do ligante, uma vez que todos os processos que ocorrem são de natureza exotérmica, apresentando valores de entalpia muito maiores. O primeiro fenômeno exotérmico foi o maior encontrado para a decomposição do complexo, apresentando uma T_{onset} de 297,45 °C, o qual libera uma grande quantidade de energia (ΔH de -2576 J g⁻¹) com uma T_{pico} de 334,50 °C. O segundo processo é observado em uma T_{onset} de 412,28 °C, apresentando uma variação de entalpia de -1645 J g⁻¹ e T_{pico} de 440,80 °C. O último processo também apresenta uma elevada liberação energética ($\Delta H = -2507$ J g⁻¹), com T_{onset} de 500,95 °C e T_{pico} de 509,56 °C. Os três processos estão

relacionados a combustão do lapachol coordenado ao íon metálico, ocorrendo com grande perda de energia, o que mostra que o complexo é mais estável termodinamicamente que o ligante livre. Os dados ainda estão de acordo com os encontrados para TG/DTG, o que reafirma a formação e estequiometria do complexo.

Figura 14. Curva de DSC do complexo $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$ em atmosfera de ar sintético.



FONTE: BISCOLI, 2018.

Tabela 5. Dados termodinâmicos obtidos a partir da análise das curvas de DSC do ligante e complexo.

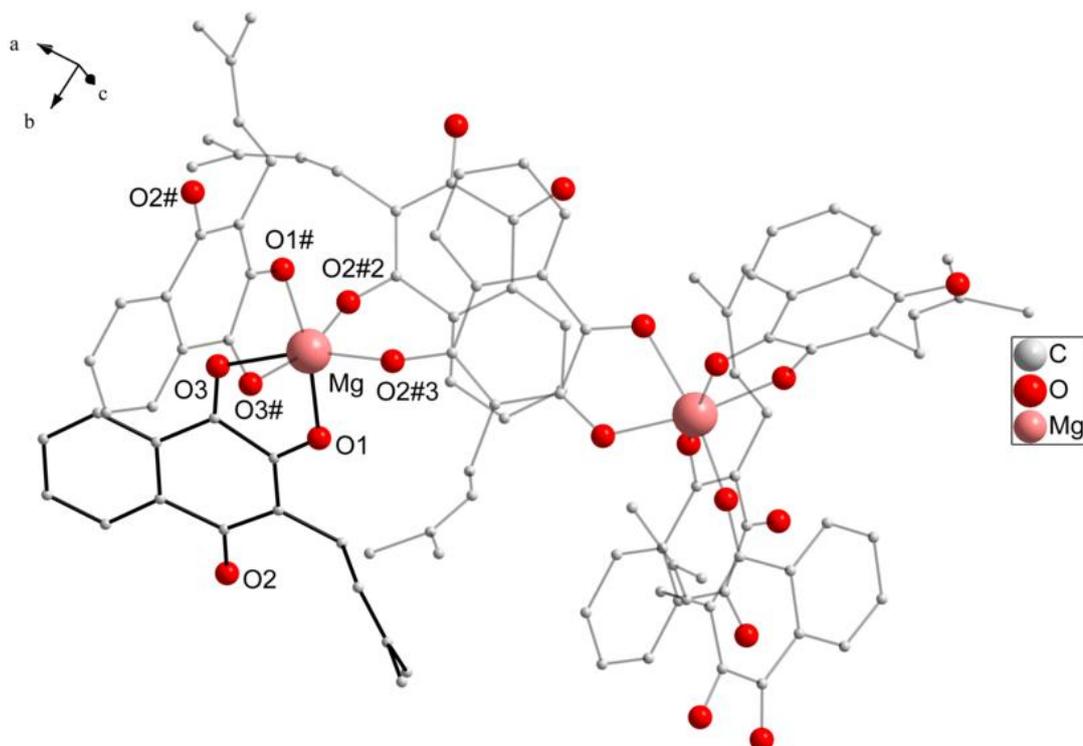
Composto	Processos	Temperatura °C		Entalpia J g ⁻¹
		T _{onset}	T _{pico}	
Ligante	Endotérmico	138,73	140,36	142,8
	Endotérmico	165,41	197,81	54,20
	Endotérmico	218,68	221,89	11,26
Complexo	Exotérmico	297,45	334,50	-2576
	Exotérmico	412,28	440,80	-1645
	Exotérmico	500,95	509,56	-2507

FONTE: BISCOLI, 2018.

5.4. Difractometria de raios X em monocristal

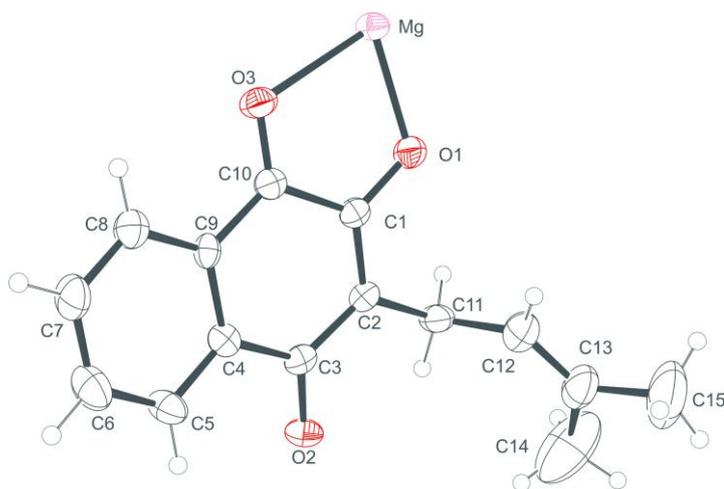
A estrutura do complexo foi obtida a partir de monocristais de coloração magenta, pertencentes ao sistema cristalino tetragonal e grupo espacial $P4_32_12$. Os dados revelam que o complexo se organizou na forma de uma rede polimérica, na qual o monômero é formado por unidades $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$. A projeção do complexo pode ser observada na Figura 15, enquanto a unidade assimétrica e um desenho esquemático do ambiente de coordenação, podem ser visualizados nas Figura 16 e Figura 17, respectivamente. Os dados cristalográficos e principais comprimentos e ângulos de ligação estão listados nas Tabelas 6 e 7, respectivamente. Os demais dados cristalográficos (coordenadas atômicas e equivalentes isotrópicos, todos os comprimentos e ângulos de ligação, parâmetros de deslocamento térmicos anisotrópicos, coordenadas dos átomos de hidrogênio e seus respectivos parâmetros de deslocamento isotrópicos) estão descritos nos anexos deste trabalho.

Figura 15. Projeção DIAMONT da estrutura molecular do complexo polimérico $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$; átomos de hidrogênio omitidos para melhor clareza.



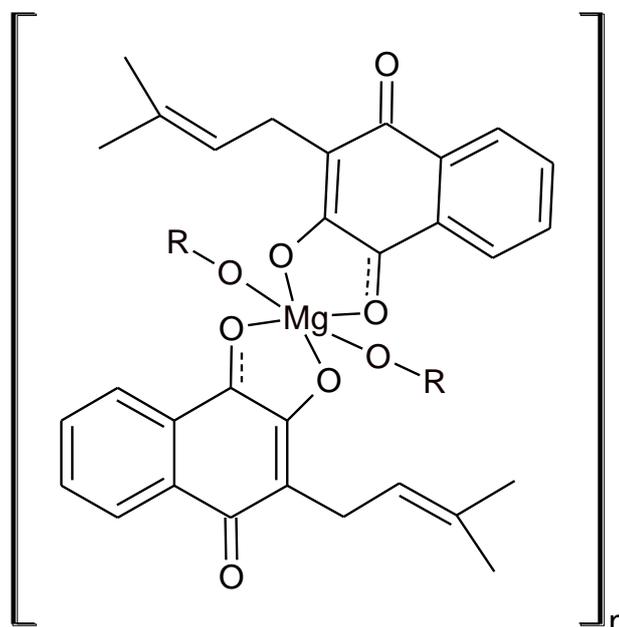
FONTE: BISCOLI, 2018.

Figura 16. Projeção ORTEP da unidade assimétrica cristalográfica de $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$.



FONTE: BISCOLI, 2018.

Figura 17. Desenho esquemático da estrutura do complexo polimérico $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$.



FONTE: BISCOLI, 2018.

Tabela 6. Parâmetros cristalográficos e de refinamento da estrutura do complexo $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$.

Fórmula molecular	$MgC_{30}H_{26}O_6$
Massa molar ($g\ mol^{-1}$)	506,82
λ (Å)	0,71073
Sistema cristalino	Tetragonal
Grupo espacial	$P4_32_12$
Dimensões da cela unitária	$a = 13,077(3)\ \text{Å}$
	$b = 13,077(3)\ \text{Å}$
	$c = 14,965(3)\ \text{Å}$
	$\alpha = 90^\circ$ $\beta = 90^\circ$ $\gamma = 90^\circ$
Volume (Å^3)	2559,3(4)
$Z / \rho_{calc.}$ ($Mg\ m^3$)	4 / 1,315
μ (mm^{-1})	0,113
$F(000)$	1064
Dimensão do cristal (mm)	0,179 x 0,113 x 0,045
Intervalo de θ ($^\circ$)	2,20-26,39
Intervalo dos índices h, k, l	$-15 \leq h \leq 16$

	-13 ≤ k ≤ 16
	-18 ≤ l ≤ 18
Reflexões coletadas / únicas	18661 / 2625 [R _{int} = 0,2060]
Transm. (Máx./Min.)	0,9054 e 0,8399
Método de refinamento	Quadrados mínimos de matriz completa em F ²
Restrições / Parâmetros	0 / 168
GOOF (F ²)	0,986
Índice final de R[I > 2σ(I)]	R = 0,0681, R _w = 0,1016
Índice de R (todos os dados)	R = 0,1964, R _w = 0,1324
Densidade eletrônica residual (e.Å ³)	0,226 e -0,218

FONTES: BISCOLI, 2018.

Tabela 7. Principais comprimentos (Å) e ângulos (°) de ligação para o complexo [Mg^{II}(Lapachol)₂]_n.

Mg-O(2)#2	2,021(3)	Mg-O(3)	2,189(3)
Mg-O(2)#3	2,021(3)	O(3)-C(10)	1,239(5)
Mg-O(1)#	2,037(3)	O(2)-C(3)	1,256(4)
Mg-O(1)	2,037(3)	O(1)-C(1)	1,278(5)
Mg-O(3)#	2,189(3)		
O(2)#2-Mg-O(2)#3	94,27(17)	O(1)-Mg-O(3)#	95,79(12)
O(2)#2-Mg-O(1)#	95,47(12)	O(2)#2-Mg-O(3)	165,71(12)
O(2)#3-Mg-O(1)#	91,58(12)	O(2)#3-Mg-O(3)	94,18(11)
O(2)#2-Mg-O(1)	91,58(12)	O(1)#-Mg-O(3)	95,79(12)
O(2)#3-Mg-O(1)	95,47(12)	O(1)-Mg-O(3)	76,15(11)
O(1)#-Mg-O(1)	169,63(19)	O(3)#-Mg-O(3)	80,05(16)
O(2)#2-Mg-O(3)#	94,18(11)	C(3)-O(2)-Mg#4	149,8(3)
O(2)#3-Mg-O(3)#	165,71(12)	C(1)-O(1)-Mg	118,2(3)
O(1)#-Mg-O(3)#	76,15(11)	C(10)-O(3)-Mg	113,3(3)

FONTES: BISCOLI, 2018.

Para melhor clareza os oxigênios do segundo lapachol foram rotulados como O1#, O2# e O3#, enquanto o terceiro e quarto lapachol presentes no primeiro ambiente de coordenação são rotulados como O2#2 e O2#3, respectivamente. O complexo $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ apresenta uma geometria octaédrica distorcida ao redor do íon Mg^{II} , havendo grande similaridade ao complexo isomorfo apresentado por Caruso e colaboradores (2009), $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$, complexo que também apresenta uma rede polimérica formada pelo ligante lapachol, porém, como centro metálico têm-se o íon metálico Mn^{II} .

O íon Mg^{II} esta ligado ao ligante lapachol via dois oxigênios carbonílicos do C10 (O3 e O3#, do primeiro e segundo lapachol, respectivamente, nas posições equatoriais e *cis* entre si), dois oxigênios carbonílicos do C3 (O2#2 e O2#3, do terceiro e quarto lapachol, respectivamente, nas posições equatoriais e *cis* entre si) e dois oxigênios fenólicos (O1 e O1# nas posições axiais e *trans* entre si).

Ao comparar os comprimentos de ligações entre o complexo estudado e o complexo $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ verifica-se que as distâncias das ligações Mg-O3 e Mg-O3# (2,189(3) Å) são menores que as ligações entre Mn-O3 e MnO3# (2,321(12) Å), da mesma forma que as ligações entre Mg-O1 e Mg-O1# (2,037(3) Å) são menores que as ligações entre Mn-O1 e MnO1# (2,106 (10) Å); as ligações entre Mg-O2#2 e Mg-O2#3 (2,021(3) Å) também são menores do que as ligações entre Mn-O2#2 e MnO2#3 (2,113(11) Å) (CARUSO, et al., 2009). Esses menores comprimentos de ligações estão diretamente relacionados com os diferentes tamanhos dos íons metálicos envolvidos (Mg^{II} e Mn^{II}).

Quando se faz um comparativo entre todas as ligações carbono-oxigênio, a ligação C10-O3 tem o comprimento de ligação mais curto (1,239(5) Å frente a C1-O1 (1,278(5) Å) e C3-O2 (1,256(4) Å), sugerindo um caráter de dupla ligação mais forte e com uma doação eletrônica mais fraca ao metal. Este dado ganha maior consistência quando associado o comprimento da ligação Mg-O3 (2,189(3) Å), que é maior do que os das ligações Mg-O1 (2,037(3) Å) e Mg-O2 (2,021(3) Å). Essas características são as mesmas demonstradas pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ que apresenta o comprimento da ligação entre C10-O3 (1,224 (17) Å) mais curto que para as ligações C1-O1 (1,273 (18) Å) e C3-O2 (1,256 (16) Å), enquanto o comprimento da ligação entre Mn-O3 (2,321 (12) Å) é maior do que para Mn-O1 (2,106 (10) Å) e Mn-O2 (2,113 (11) Å) (CARUSO, et al., 2009).

Na estrutura do complexo $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ formam-se dois anéis quelatos de cinco membros, sendo um com o primeiro lapachol e o outro com o segundo lapachol, envolvendo

os seguintes átomos: Mg-O1-C1-C10-O3. O complexo ainda apresenta ainda o ângulos *trans* envolvendo os átomos O1#-Mg-O1, O2#3-Mg-O3# e O2#2-Mg-O3 com valor médio $167,02(14)^\circ$, valor que difere de um ângulo de 180° de um octaedro perfeito, tendo um maior desvio de linearidade para O2#3-Mg-O3# e O2#2-Mg-O3 ($165,71(12)^\circ$). Os ângulos *cis* formados nos dois anéis quelatos (O1-Mg-O3 e O1#-MgO3#) formam um ângulo de $76,15(11)^\circ$ sendo esse o menor ângulo presente na esfera de coordenação. Entre os dois anéis formam-se um ângulo de $80,05(16)^\circ$ (O3#-Mg-O3) e outros dois ângulos de $95,79(12)^\circ$ (O1-Mg-O3# e O1#-Mg-O3), sendo este último o maior valor de ângulo *cis* presente no complexo. Por fim o complexo tem um ângulo entre os oxigênios carbonílicos do terceiro e quarto lapachol (O2#2-Mg-O2#3) de $94,27(17)^\circ$.

Por meio da estrutura cristalina do complexo, comprova-se que o mesmo se forma como um MOF, de tal forma que cada ligante orgânico se liga a dois centros metálicos diferentes, e cada centro metálico está diretamente ligado a quatro ligantes diferentes, formando assim uma rede polimérica, onde cada monômero é formado por um centro metálico de magnésio e duas moléculas de lapachol.

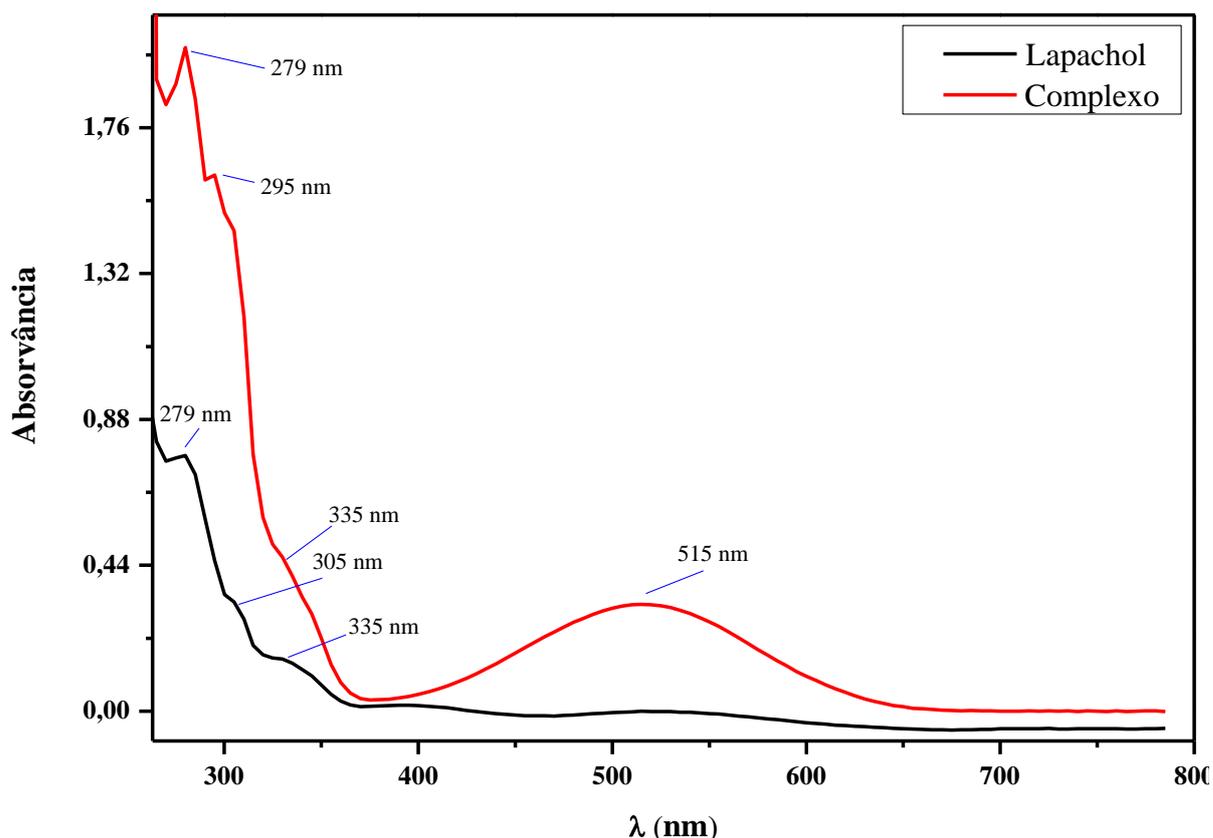
5.5. Espectroscopia Eletrônica de Absorção no UV-Vis

No comparativo dos espectros eletrônicos de absorção do lapachol e complexo metálico na região do ultravioleta visível em DMSO (Figura 18) e metanol (Figura 19) é possível notar uma grande distinção no perfil espectral.

Para o espectro em DMSO do ligante é possível observar uma primeira banda com máximo de absorção em 279 nm, a qual pode estar relacionada a transições intraligantes do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos, sendo que essa banda aparece no mesmo comprimento de onda para o complexo, porém com maior intensidade de absorção. No ligante observam-se também duas bandas na forma de “ombro” centradas em 305 e 335 nm, as quais possivelmente estão relacionadas a transições intraligantes do tipo $n \rightarrow \pi^*$ das carbonilas das quinonas, sendo que ambas aparecem no complexo centradas em 295 e 335 nm. Uma banda larga ainda pode ser observada no espectro do complexo, na região do visível com máximo de absorção em 515 nm, a qual pode ser relacionada à cor do complexo (magenta em solução de

DMSO) e ao sistema mesomérico conjugado: $O1=C1-C2=C3-O2 \leftrightarrow O1-C1=C2-C3=O2$ (BODINI & ARANCIBIA, 1989; MARTINEZ, et al., 2003; FARFÁN, et al., 2012).

Figura 18. Espectros eletrônicos do lapachol (preto) e complexo (vermelho) nas concentrações de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em DMSO (grau espectroscópico).

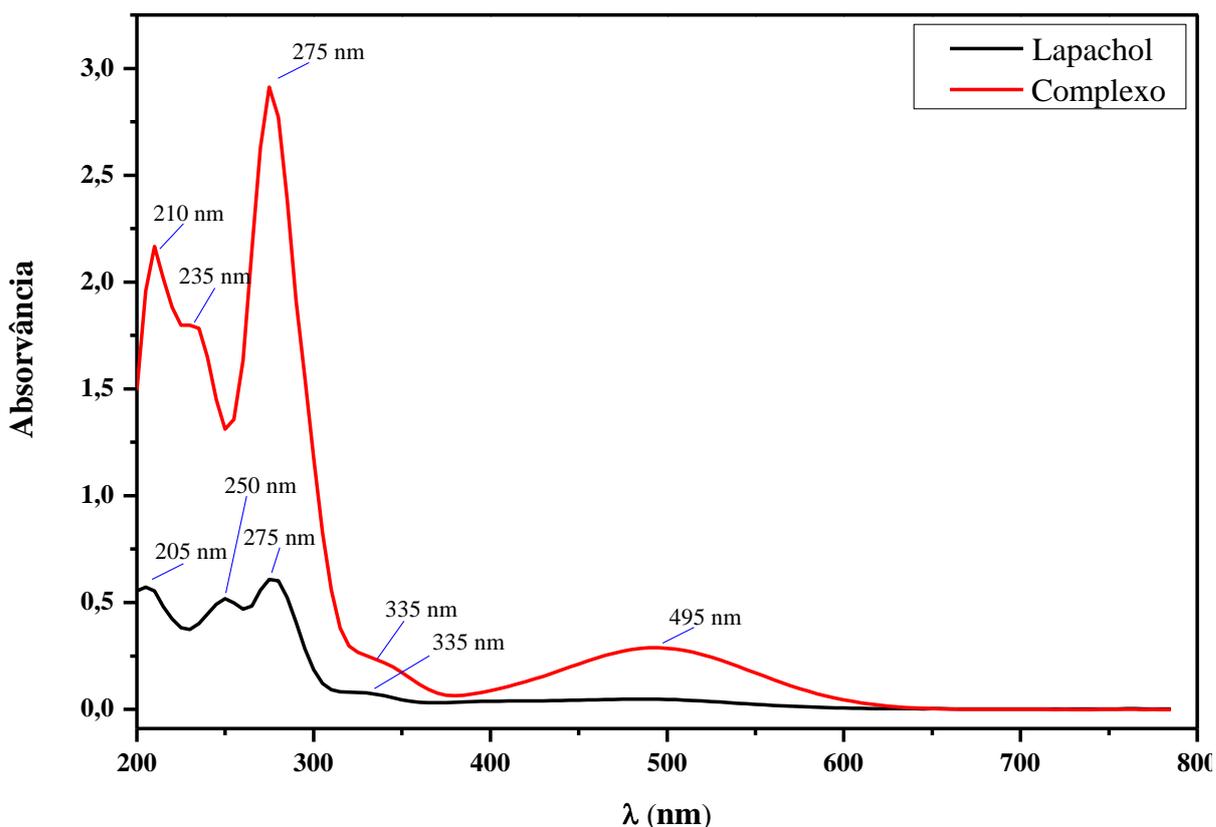


FONTE: BISCOLI, 2018.

No comparativo espectral entre o lapachol e o complexo, em álcool metílico, é possível observar uma primeira banda presente no espectro do ligante em 205 nm, que se desloca batocromicamente para 210 nm no espectro do complexo. Uma segunda banda presente no espectro do ligante é observada em 250 nm, deslocando-se hipsocromicamente para 235 nm no complexo. A terceira banda presente no ligante tem máximo de intensidade em 275 nm, sendo que é observada no mesmo comprimento de onda para o complexo. Estas três primeiras bandas estão relacionadas a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos. Uma quarta banda na forma de “ombro”, presente tanto no ligante quanto no complexo, é centrada em 335 nm, e possivelmente está relacionada a transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ das carbonilas. Uma quinta banda larga é encontrada no complexo em 495 nm, sendo que pode

estar relacionada à cor do complexo (vermelho em metanol) e ao sistema mesomérico conjugado: $O1=C1-C2=C3-O2 \leftrightarrow O1-C1=C2-C3=O2$ (CARUSO, et al., 2009; MARTINEZ, et al., 2003; FARFÁN, et al., 2012).

Figura 19. Espectros eletrônicos do lapachol (preto) e complexo (vermelho) nas concentrações de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em álcool metílico (grau espectroscópico).



FONTE: BISCOLI, 2018.

5.5.1. Absortividade Molar (ϵ)

A absortividade molar (ϵ) é uma grandeza característica da espécie absorvente, cuja magnitude depende do comprimento de onda da radiação incidente e do tipo de transição eletrônica envolvida (ROCHA & TEIXEIRA, 2004), sendo ela calculada a partir da equação de Lambert-Beer (equação 1):

$$\epsilon = \frac{A}{b \cdot c} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde ϵ é a absorvidade molar ($L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), A a absorbância, b a concentração molar da amostra (mol L^{-1}) e c o caminho óptico (cm^{-1}).

Para tanto, realizou-se experimentos para calcular o valor desta grandeza para o lapachol (Figura 20) e o complexo (Figura 21), com o intuito de confirmar as diferenças na intensidade de absorção e por consequência demonstrar a efetividade do processo de coordenação do íon metálico ao ligante. Os resultados estão descritos na Tabela 8. Utilizou-se como solvente álcool metílico (grau espectroscópico).

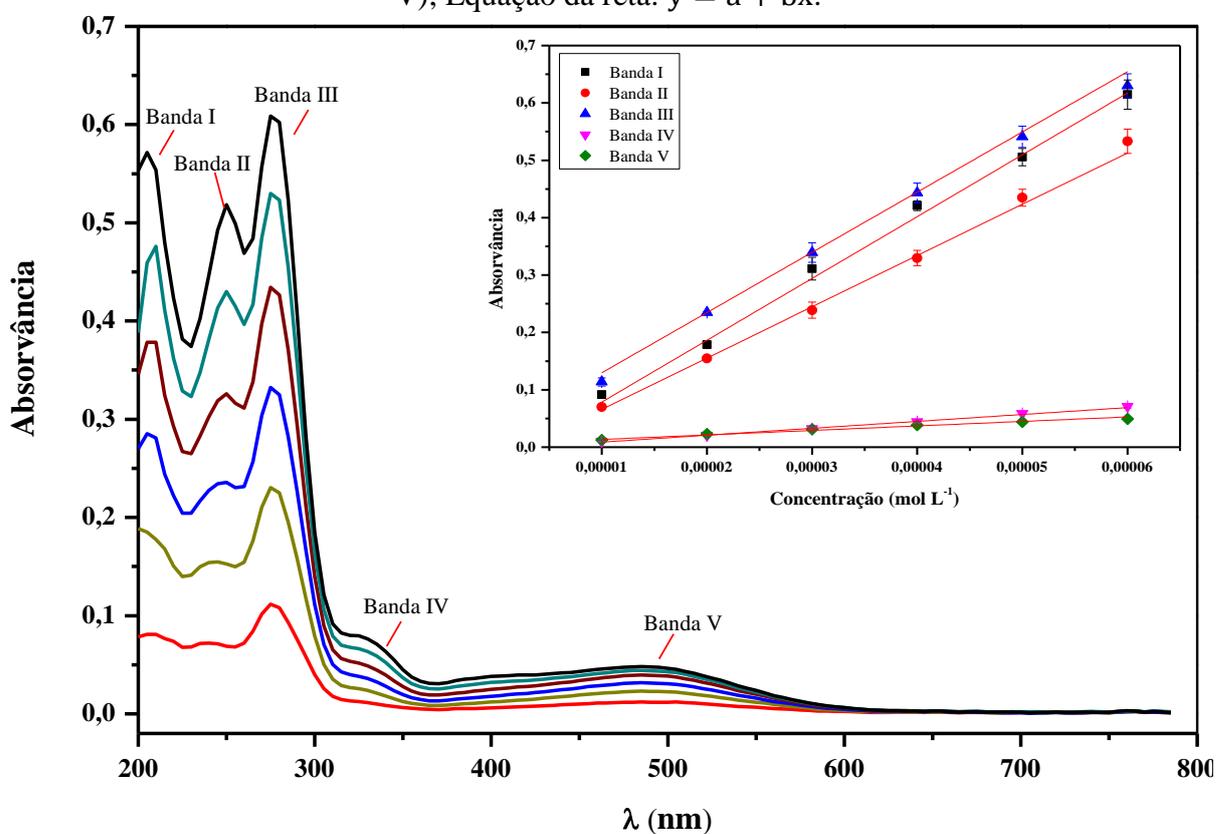
Tabela 8. Valores de absorvidade molar para o ligante e complexo ($\epsilon = L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

	Banda I	Banda II	Banda III	Banda IV	Banda V
Lapachol	9.892	8.087	11.114	1.095	1.014
Complexo	38.039	29.837	49.088	3.848	4.754

FONTE: BISCOLI, 2018.

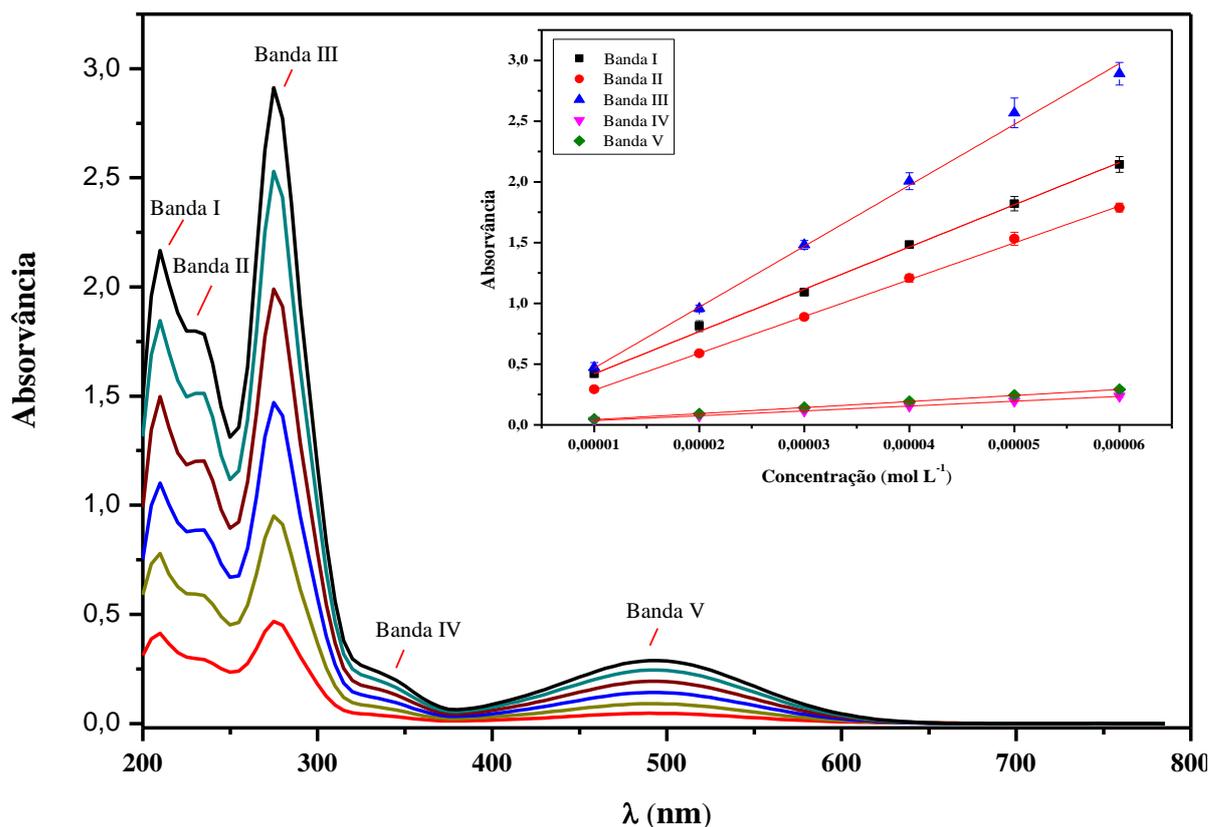
Com base nos valores de absorvidade molar expressos na Tabela 8, pode-se confirmar os resultados já demonstrados nos espectros eletrônicos comparativos entre ligante e complexo (Figuras 18 e 19), de que a complexação potencializou de forma significativa a intensidade de absorção apresentada pelo ligante, o que reflete nas alterações da estrutura eletrônica do lapachol. Todas as bandas presentes no lapachol (Bandas I, II, III, IV e V) podem ser observadas no complexo com aumento de suas absorbâncias, de forma que este efeito é conhecido como hiperacrômico. Outro dado relevante, é que a banda V, observada no ligante (Figura 20), possivelmente está relacionada a tautomerização da função ceto-enólica do lapachol, enquanto a banda do complexo, na mesma região, provavelmente está relacionada ao efeito da mesomerização (MARTINEZ, et al., 2003; FARFÁN, et al., 2012; SINGH, et al., 1968).

Figura 20. Espectros eletrônicos do lapachol em álcool metílico (grau espectral) em concentrações seriadas de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0x10⁻⁵ mol L⁻¹. Inserção: gráfico de concentração *versus* absorvância mostrando a regressão linear (R²: 0,9967 (Banda I), 0,9979 (Banda II), 0,9976 (Banda III), 0,9976 (Banda IV) e 0,9817 (Banda V)); Desvio Padrão: ± 0,01 (Banda I), ± 0,01 (Banda II), ± 0,01 (Banda III), ± 0,003 (Banda IV) e ± 0,0008 (Banda V); Equação da reta: $y = a + bx$.



FONTE: BISCOLI, 2018.

Figura 21. Espectros eletrônicos do complexo em álcool metílico (grau espectroscópico) em concentrações seriadas de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 e 6,0x10⁻⁵ mol L⁻¹. Inserção: gráfico de concentração *versus* absorvância mostrando a regressão linear (R²: 0,9986 (Banda I), 0,9992 (Banda II), 0,9961 (Banda III), 0,9997 (Banda IV) e 0,9995 (Banda V)); Desvio Padrão: ± 0,03 (Banda I), ± 0,02 (Banda II), ± 0,06 (Banda III), ± 0,004 (Banda IV) e ± 0,007 (Banda V); Equação da reta: $y = a + bx$.



FONTE: BISCOLI, 2018.

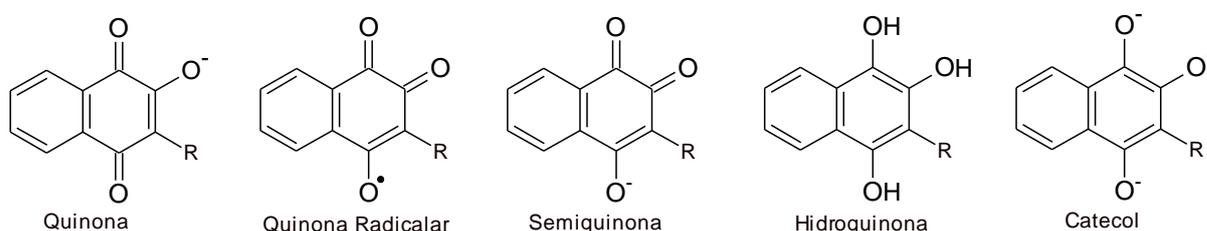
5.6. Estudos Eletroquímicos

Para a análise eletroquímica, via voltametria de onda quadrada, os valores dos potenciais foram referenciados *vs.* Fc/Fc⁺, onde $E_{1/2}(Fc/Fc^+) = 0,168 \text{ V vs. Ag/Ag}^+$ (GAGNÉ et al., 1980).

Diversas formas redox das quinonas são amplamente reconhecidas (Figura 22), entretanto, ainda há muita controvérsia na literatura quanto a correta atribuição dos processos eletroquímicos obtidos por esses compostos, visto que variados fatores, tais como a tautomerização, protonação/desprotonação, formação de ligações de hidrogênio, formação de espécies radiculares, entre outros, podem influenciar no seu mecanismo de oxirredução, originando espécies simultâneas, que conseqüentemente dificultam a interpretação. Ao

considerar-se apenas o ponto de vista redutivo, ocorre primeiramente uma etapa de transferência eletrônica, seguida por uma etapa de protonação, formando como produto uma semiquinona radicalar (Q-OH/Q-OH[•]). Esta espécie radicalar tem alta reatividade, influenciando de forma considerável na formação de várias outras espécies, dentre elas, propõe-se a formação de ânions radicalares (Q-OH[•]/Q-O⁻, Q-OH[•]/QO²⁻), que seguidamente auxiliam na constituição de formas catecolatos (-O-Q-O⁻); a partir dos catecolatos é possível a formação das formas hidroquinonas (HO-Q-OH), obtidas por mais de um ganho eletrônico e protonação. Simultaneamente, podem estar ocorrendo equilíbrios ceto-enólicos com a formação de uma estrutura dimérica da quinona, bem com a formação de bases conjugadas 2-hidroxi-naftoquinonas, entre outras (LUCAS, FERREIRA & FERREIRA 2015; KATHAWATE, et al., 2013; BUSTAMANTE, et al., 2012; GUIN & MANDAL, 2011; KATHAWATE, et al., 2014).

Figura 22. Representação estrutural de algumas formas redox das quinonas.

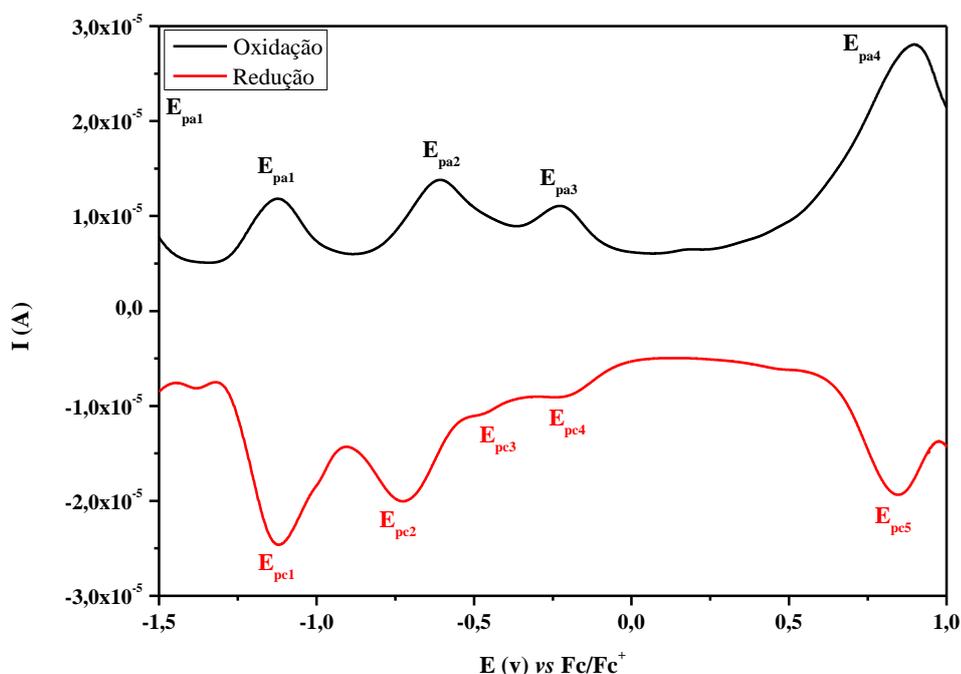


FONTE: BISCOLI, 2018.

No intervalo de potencial de -1,5 à 1,0 V vs. Fc⁺/Fc, o voltamograma de onda quadrada do ligante lapachol (Figura 23) mostra um par quase-reversível ($E_{pa1} = -1,123$ V vs. Fc/Fc⁺; $E_{pc1} = -1,120$ V vs. Fc/Fc⁺) que possivelmente está relacionado ao equilíbrio envolvendo as formas hidroquinonoídicas. O par ($E_{pa2} = -0,606$ V vs. Fc/Fc⁺; $E_{pc2} = -0,725$ V vs. Fc/Fc⁺) pode ser atribuído à formação das espécies catecolatos, enquanto o par quase-reversível ($E_{pa4} = 0,897$ V vs. Fc/Fc⁺; $E_{pc5} = 0,843$ V vs. Fc/Fc⁺) pode ser relacionado à formação da semiquinona radicalar, que devido à sua alta reatividade, formam outras espécies reativas, as quais podem ser responsáveis pelas pequenas respostas redutivas irreversíveis encontradas em -0,477 (E_{pc3}) e -0,212 (E_{pc4}) V vs. Fc/Fc⁺. Outro processo que pode ser verificado em $E_{pa3} = -0,227$ V vs. Fc/Fc⁺, é de difícil atribuição, devido a diversas reações

químicas acopladas, que geram simultaneamente diferentes espécies, dentre as quais algumas citadas anteriormente (KATHAWATE, et al., 2013).

Figura 23. Voltamograma via onda quadrada do ligante. Análise realizada tendo DMSO (grau espectroscópico) como solvente.

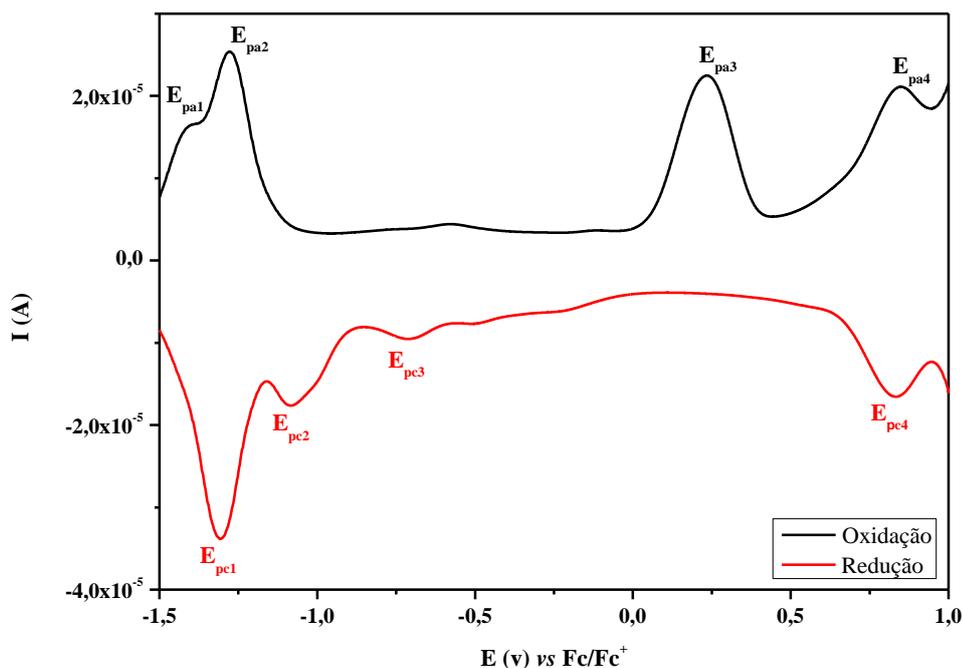


FONTES: BISCOLI, 2018.

No voltamograma do complexo (Figura 24) é possível observar significativas diferenças nos valores dos potenciais quando comparados aos do lapachol, sendo que estas alterações estão relacionadas à ligação do centro metálico ao composto orgânico, a qual influencia na disponibilidade eletrônica. Diferentemente do lapachol, que apresenta quatro processos anódicos e cinco processos catódicos, o complexo apresenta quatro processos anódicos e quatro processos catódicos, porém com grande deslocamento. Ocorrem as seguintes alterações nos valores dos potenciais anódicos: $E_{pa1} = -1,123$ V vs. Fc/Fc^+ (lapachol) para $-1,400$ V vs. Fc/Fc^+ (complexo); $E_{pa2} = -0,606$ V vs. Fc/Fc^+ (lapachol) para $-1,278$ V vs. Fc/Fc^+ (complexo); $E_{pa3} = -0,227$ V vs. Fc/Fc^+ (lapachol) para $0,233$ V vs. Fc/Fc^+ (complexo); e $E_{pa4} = 0,897$ V vs. Fc/Fc^+ (lapachol) para $0,846$ V vs. Fc/Fc^+ (complexo). Já para os processos catódicos: $E_{pc1} = -1,120$ V vs. Fc/Fc^+ no lapachol para $-1,306$ V vs. Fc/Fc^+ no complexo; $E_{pc2} = -0,725$ V vs. Fc/Fc^+ no lapachol para $-1,085$ V no complexo; $E_{pc3} = -0,477$ no lapachol para $-0,713$ V vs. Fc/Fc^+ no complexo; e, por fim, $E_{pc5} = 0,843$ V vs. Fc/Fc^+ no lapachol e $E_{pc4} = 0,830$ V vs. Fc/Fc^+ no complexo. Vale ressaltar que todos os processos estão

relacionados ao lapachol, sob influência do íon metálico Mg^{2+} , o qual, particularmente, não apresentou processos redox nas condições utilizadas neste estudo.

Figura 24. Voltamograma via onda quadrada do complexo de Mg^{II} . Análise realizada tendo DMSO (grau espectroscópico) como solvente.



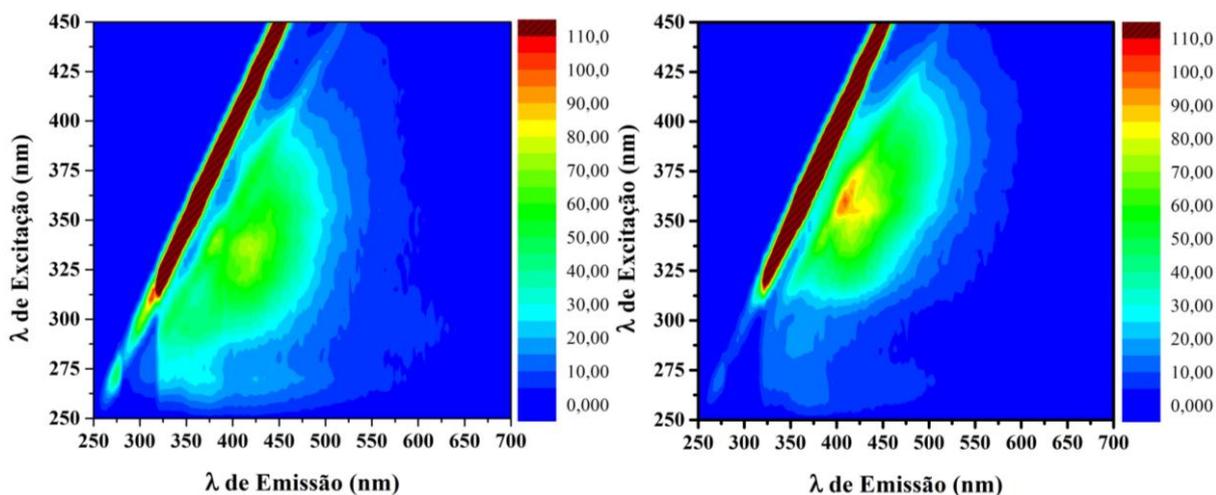
FONTES: BISCOLI, 2018.

5.7. Espectroscopia de Fluorescência

5.7.1. Espectroscopia de Fluorescência em Solução

Para avaliação do perfil de luminescência realizou-se, inicialmente, um mapa de contorno 3D do ligante livre e do complexo $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$ (Figura 25), para efeito de comparação, e, observar a região de maior intensidade de luminescência de ambos. As análises foram realizadas em DMSO (grau espectroscópico) na concentração de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Investigou-se também as possíveis propriedades luminescentes do solvente DMSO, estudo o qual indicou que o mesmo não apresenta perfil de emissão que possa interferir nas análises realizadas.

Figura 25. Mapa de contorno 3D do lapachol (esquerda) e do complexo (direita)

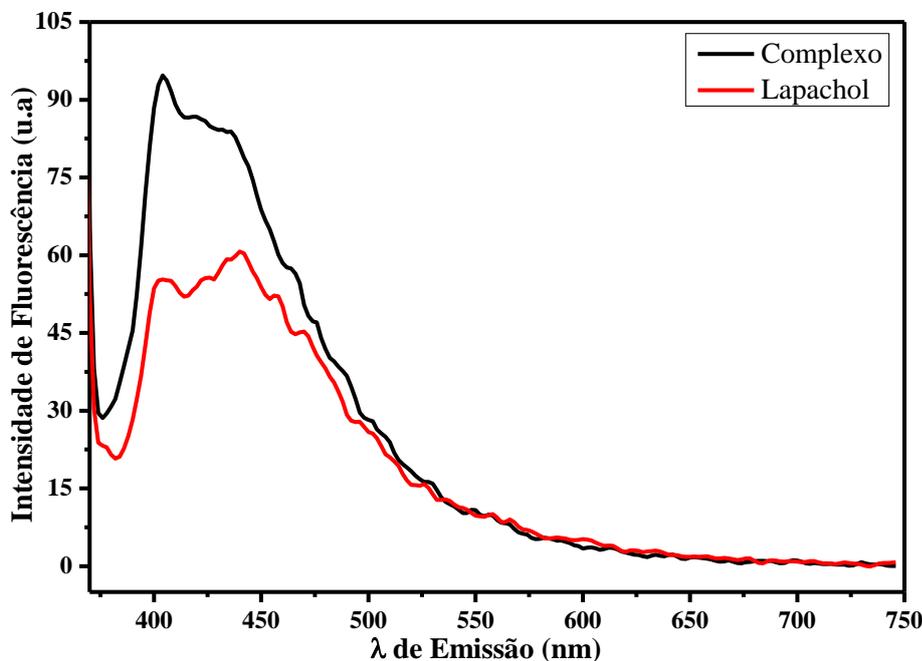


FONTE: BISCOLI, 2018.

Para a escolha do comprimento de excitação a ser utilizado para o lapachol ($\lambda = 360$ nm), baseou-se no perfil do mapa de contorno 3D obtido para o complexo metálico, sendo que nesse comprimento obteve-se uma maior emissão de luminescência para o mesmo. Ao comparar ambos os compostos nesse comprimento de onda, é possível uma melhor comparação dos resultados alcançados.

O efeito de luminescência do lapachol pode estar atrelado tanto às transições intraligantes $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos quanto às transições intraligantes $n \rightarrow \pi^*$ das carbonilas do anel quinonoídico. Ao comparar os espectros de emissão do complexo e do ligante (Figura 26) é possível observar que não há o surgimento de novas bandas, porém, há uma clara influência do íon Mg^{II} nas bandas que são referentes ao ligante “livre”, de forma que houve uma clara potencialização do efeito de fluorescência no complexo, sendo que esse efeito de aumento é denominado CHEF (Chelation Enhanced Fluorescence) (FORMICA, et al., 2012; WANG, et al., 2014).

Figura 26. Espectros de emissão do lapachol (em vermelho) e do complexo (em preto) nas concentrações de $6,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (DMSO grau espectroscópico)



FONTE: BISCOLI, 2018.

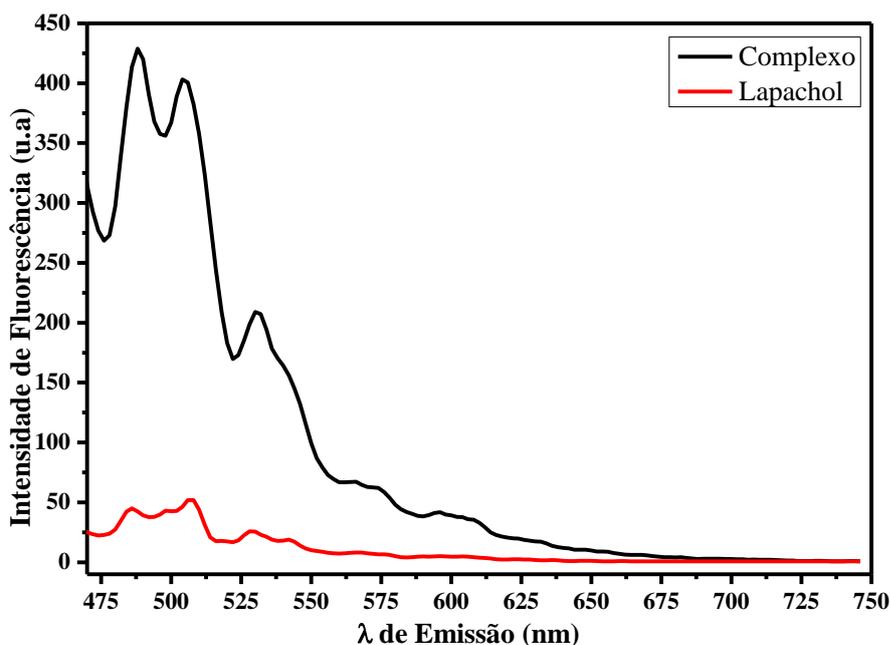
5.7.2. Espectroscopia de Fluorescência em Estado Sólido

Para uma melhor avaliação dos resultados também foram realizados os estudos de luminescência em estado sólido, com o intuito de averiguar uma possível influência do solvente nos dados finais. Os resultados para o ligante e complexo estão expressos na Figura 27, sendo que ambos foram excitados no mesmo comprimento de onda (360 nm) empregado para gerar os espectros de emissão em solução.

Nos espectros em estado sólido, notam-se melhoras nas resoluções espectrais, sendo que no espectro do lapachol é possível observar três bandas distintas: a primeira apresenta um máximo de emissão em 486 nm, sendo relacionada a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos; a segunda, com emissão em 507 nm, pode ser atribuída a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do sistema quinonoídico; a terceira banda com máximo em 529 nm, possivelmente correlaciona-se com as transições $n \rightarrow \pi^*$ das carbonilas. Já para o complexo, o espectro apresenta cinco bandas, sendo três delas já presentes no ligante, entretanto, com pequenos deslocamentos (bandas com máximos de emissão em 488, 505 e 530 nm, respectivamente). Podem ser visualizadas ainda, uma quarta banda, com $\lambda_{\text{máximo}}$ em 565 nm (provavelmente sobreposta no ligante), e uma quinta banda com emissão máxima em 595 nm, a qual pode ser relacionada a mesomeria apresentada pelo

composto. As alterações nos espectros de ambos os compostos em estado sólido indicam uma possível influência do solvente dimetilsulfóxido.

Figura 27. Espectros de emissão no estado sólido do lapachol (em vermelho) e do complexo (em preto).



FONTE: BISCOLI, 2018.

5.8. Bioensaios Antimicrobianos

A avaliação das atividades antimicrobianas do lapachol e do complexo metálico, foi realizada frente cinco cepas bacterianas, sendo três do tipo Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*) e duas do tipo Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), utilizando-se como solvente o DMSO. Nesta avaliação também foi utilizado, para fins de comparação e como padrão, o antibiótico reconhecido de amplo espectro cloranfenicol.

Os resultados encontrados para concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) estão expressos nas Tabelas 9 e 10, respectivamente.

Tabela 9. Valores da CIM, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, para o ligante e complexo.

Composto	Gram-positivas			Gram-negativas	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Lapachol	50	50	50	>100	>100
[Mg^{II}(Lapachol)₂]_n	25	12,5	25	>100	>100
Cloranfenicol	6,25	3,12	6,25	---	---

--- Não atribuído.

FONTE: BISCOLI, 2018.

Tabela 10. Valores da CBM, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, para o ligante e complexo.

Composto	Gram-positivas			Gram-negativas	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Lapachol	100	50	100	>100	>100
[Mg^{II}(Lapachol)₂]_n	50	25	25	>100	>100
Cloranfenicol	6,25	6,25	12,5	---	---

--- Não atribuído.

FONTE: BISCOLI, 2018.

Os resultados dos testes antimicrobianos se mostraram satisfatórios, visto que o complexo foi mais ativo que o ligante livre frente às bactérias do tipo Gram-positivas, sendo uma CIM quatro vezes mais ativa frente a bactéria *Enterococcus faecalis* (ligante $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e complexo $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) e duas vezes mais ativa frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (ligante $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e complexo $25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *Bacillus cereus* (ligante $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e complexo $25 \mu\text{g mL}^{-1}$). Já a CBM do complexo se mostrou quatro vezes mais ativa frente a bactéria *Bacillus cereus* (ligante $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e complexo $25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e duas vezes mais ativa frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (ligante $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e complexo $50 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *Enterococcus faecalis* (ligante $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e complexo $25 \mu\text{g mL}^{-1}$). Esta potencialização nas atividades microbiológicas está diretamente ligada à coordenação do ligante lapachol ao íon metálico Mg^{II}. Entretanto, ambos os compostos (ligante e complexo) se mostraram inativos, nas concentrações estudadas, frente às bactérias *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Quando comparado ao antibiótico padrão cloranfenicol, o complexo demonstrou ser menos ativo diante das bactérias estudadas tanto para a CIM quanto para a CBM. Quanto a CIM o complexo foi quatro vezes menos ativo frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (complexo $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ e cloranfenicol $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$), *Enterococcus faecalis* (complexo $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e cloranfenicol $3,12 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *Bacillus cereus* (complexo $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ e cloranfenicol $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$). Já para a CBM apresentou-se oito vezes menos ativo para bactéria *Staphylococcus aureus* (ligante $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ e complexo $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$), quatro vezes

menos ativo para bactéria *Enterococcus faecalis* (complexo $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ e cloranfenicol $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e duas vezes menos ativo frente a bactéria *Bacillus cereus* (ligante $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ e complexo $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$), sendo esse último resultado para CBM, o mais expressivo, quando comparado ao antibiótico.

Contudo, diante dos resultados encontrados, pode-se afirmar que, tanto o complexo quanto o ligante, apresentaram uma concentração inibitória mínima (CIM) boa, considerando-se que ambos expressaram uma atividade abaixo de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, visto que quando os resultados encontrados ficam entre $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados como moderados e quando são superiores a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ são considerados como inativos (HOLETZ, et al., 2002; DALMARCO, 2010).

Os compostos estudados (lapachol e complexo) ainda podem ser caracterizados como bactericidas, visto que a razão CBM/CIM apresentada para o lapachol foi igual a 2,0 para as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* e 1,0 para a bactéria *Enterococcus faecalis*; já para o complexo foi de 2,0 para as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* e 1,0 para bactéria *Bacillus cereus*. Vale ressaltar que quando a razão CBM/CIM é ≤ 4 , o composto em avaliação, pode ser considerado como bactericida, porém quando o valor é >4 é categorizado como bacteriostático (ABOU, et al., 2013; SANTOS, et al., 2014).

5.9. Bioensaios Antitumorais

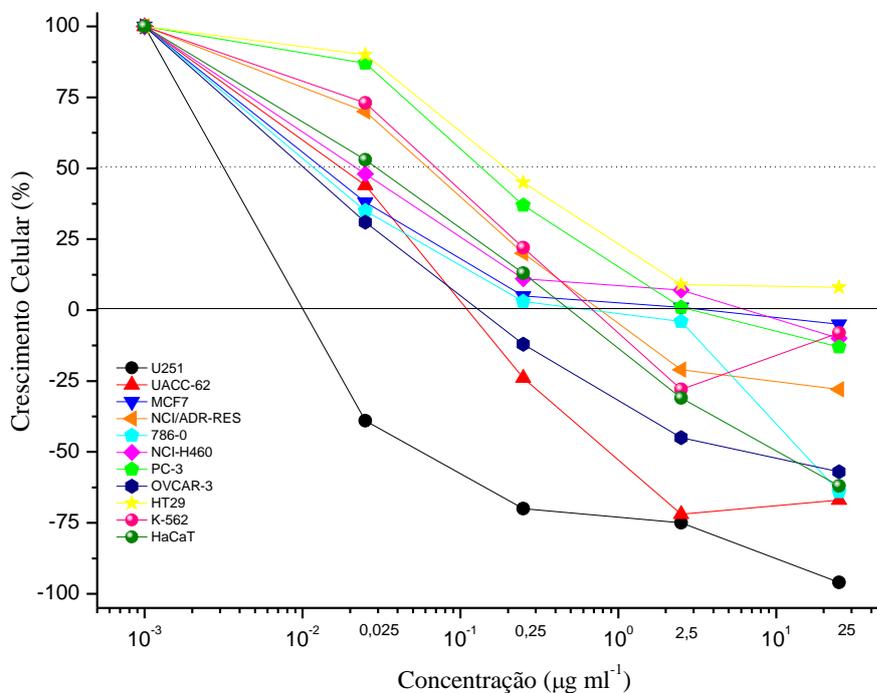
Os estudos de atividade antitumoral foram realizados comparativamente entre o lapachol e o complexo metálico, utilizando-se como quimioterápico de referência a doxorrubicina. Foram utilizadas dez linhagens tumorais humanas (U251, glioma; UACC-62, melanoma; MCF-7, mama; NCI-ADR/RES, ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos; 786-O, rim; NCI-H460, pulmão, do tipo não pequenas células; PC-03, próstata; OVCAR-03, ovário; HT-29, cólon; K562, leucemia) e uma não tumoral humana HaCaT, queratinócito). Para tal análise utilizou-se o método de TGI (Total Growth Inhibition) que é a concentração necessária para que ocorra 0% de crescimento celular.

O perfil das atividades antiproliferativas em distintas culturas celulares para os diferentes compostos, após 48 horas de tratamento, estão representadas nas seguintes figuras: Figura 28 para doxorrubicina, Figura 29 para lapachol e Figura 30 para o complexo. Nestas figuras são representados gráficos que correlacionam às porcentagens de crescimento celular

com as concentrações dos compostos testados. É possível notar nos gráficos os valores de mais destaque, sendo eles: o do controle negativo (CN), representado pelo valor de 100% de crescimento ao final do experimento, quando as células não haviam sido expostas aos compostos estudados, parâmetro este que permite afirmar que não houve interferência do meio no resultado final; o ponto de 50% (GI_{50}), que mostra a concentração dos compostos necessária para que ocorra a inibição da metade do crescimento celular; e o tempo zero (T_0), que é apresentado em 0%, o qual representa a concentração necessária para a inibição total do crescimento celular (FALGREEN, 2014). Os valores de TGI são sumarizados na Tabela 11.

Os resultados encontrados para o TGI do padrão quimioterápico mostraram que o mesmo apresenta uma potente atividade na inibição do crescimento celular, sendo que o mesmo se mostrou ativo frente a todas as culturas celulares estudadas. Verifica-se que os valores mais relevantes, no qual o composto foi mais ativo, são frente as células U251 (glioma) com total inibição em $<0,025 \mu\text{g mL}^{-1}$, UACC-62 (melanoma) com total inibição em $0,12 \mu\text{g mL}^{-1}$ e OVCAR-03 (ovário) com total inibição em $0,21 \mu\text{g mL}^{-1}$. A linhagem menos ativa foi a HT-29 (cólon) com um valor de inibição de $16,1 \mu\text{g mL}^{-1}$, sendo que acima dessa concentração o quimioterápico foi citocida em todas as linhagens estudadas. Entretanto, nota-se que a doxorrubicina é também muito ativa contra a célula não tumoral (HaCaT, queranócito) usada nos testes, apresentando um valor para TGI de $0,54 \mu\text{g mL}^{-1}$, sendo que este valor é superior ao encontrado para as linhagens tumorais U251, UACC-62 e OVCAR-03. Esta informação é relevante, pois mostra que o composto atua sobre as linhagens imortalizadas (não tumorais) de forma mais significativa que as demais células tumorais estudadas, com exceção das três linhagens citadas anteriormente.

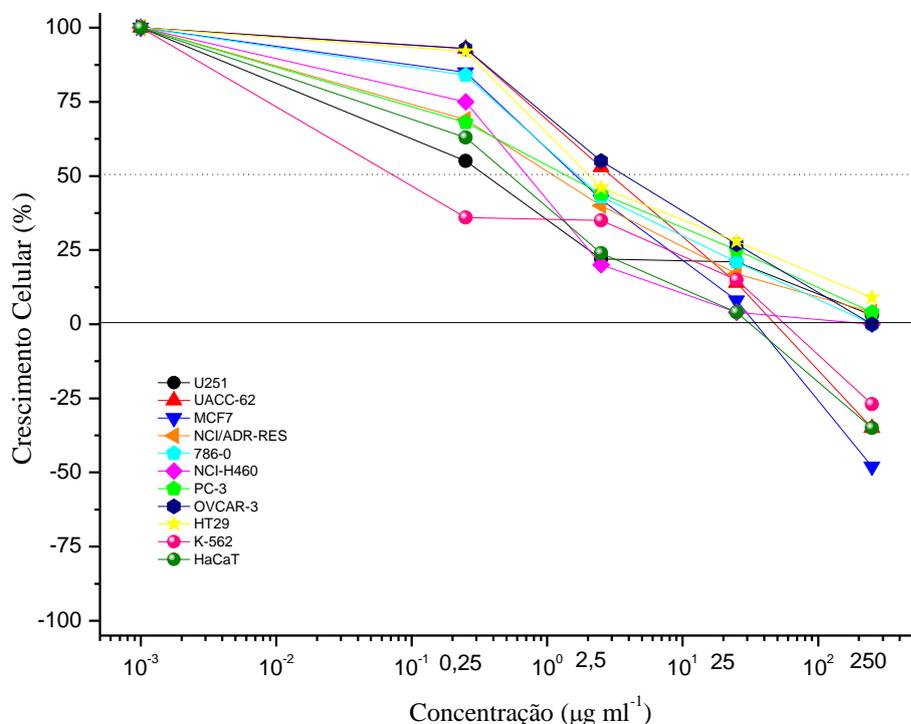
Figura 28. Correlação entre a porcentagem de crescimento celular e a concentração para o padrão doxorrubicina.



FONTE: BISCOLI, 2018.

No gráfico comparativo entre a porcentagem de crescimento celular e a concentração utilizada para o lapachol (Figura 29), demonstra-se que o ligante livre foi ativo contra as culturas celulares estudadas, sendo três delas células tumorais: UACC-62 (melanoma) com TGI em 46,9 µg mL⁻¹, K562 (leucemia) com TGI em 41,3 µg mL⁻¹ e, o melhor resultado, frente a célula MCF-7 (mama) com um TGI em 28,0 µg mL⁻¹. A naftoquinona também apresentou atividade na célula não tumoral HaCaT, com total inibição em 23,1 µg mL⁻¹. Os resultados encontrados reafirmaram que o lapachol tem potencial antiproliferativo, porém, por apresentar maior atividade contra uma linhagem não tumoral, seu uso pode ser considerado quase inviável.

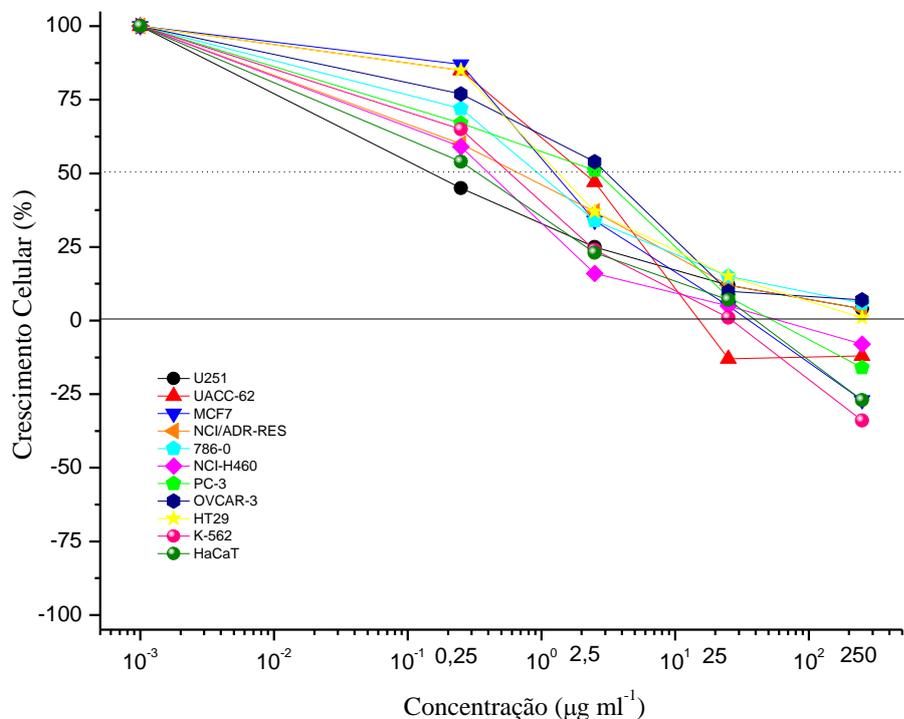
Figura 29. Correlação entre a porcentagem de crescimento celular e a concentração para o lapachol.



FONTE: BISCOLI, 2018.

Os resultados observados para o complexo metálico de Mg^{II} (Figura 30) demonstraram que o mesmo se mostrou ativo frente a seis das culturas celulares estudadas, sendo cinco delas linhagens tumorais: UACC-62 (glioma) com TGI de 45,4 µg mL⁻¹, MCF-7 (mama) com TGI de 38,5 µg mL⁻¹, NCI-H460 (pulmão) com TGI de 57,1 µg mL⁻¹, PC-3 (próstata) com TGI de 68,1 µg mL⁻¹, sendo que o melhor resultado encontrado foi para a cultura celular K562 (leucemia) com uma TGI de 22,5 µg mL⁻¹. O composto apresentou uma TGI de 29,2 µg mL⁻¹ para a célula não tumoral HaCaT.

Figura 30. Correlação entre a porcentagem de crescimento celular e a concentração para o complexo.



FONTE: BISCOLI, 2018.

Avaliando-se detalhadamente os resultados encontrados (Tabela 11), é possível observar que o complexo foi mais ativo que o lapachol frente a quatro linhagens tumorais: pulmão (NCI-H460), próstata (PC-03), melanoma (UACC-62) e leucemia (K562), sendo que nesta última linhagem foi consideravelmente mais ativo (45,5%). O composto de coordenação só foi menos ativo frente a cultura celular de mama MCF-7 (27,3%). Com estes resultados, é possível afirmar que a coordenação do íon metálico Mg^{II} ao lapachol, potencializou as atividades antiproliferativas contra as células tumorais, diminuindo a toxicidade diante da linhagem celular não tumoral HaCaT (21,0% menos ativo que o lapachol).

Outro fator relevante para se considerar o complexo $[Mg^{II}(Lapachol)_2]_n$ como potencial quimioterápico, esta relacionado a comparação do mesmo com o padrão doxorrubicina: verifica-se que o complexo pode ser uma droga mais eficiente no combate a leucemia, pois, o quimioterápico de referência se mostra 326% mais tóxico contra as células não tumorais (HaCaT) quando se compara com a linhagem tumoral de leucemia (K562); já o complexo apresentou-se 30% mais ativo contra a leucemia, comparativamente as células não

tumorais, sendo que, dessa forma, o complexo poderia ser utilizado em maiores concentrações, sem prejuízo na questão da toxicidade.

Tabela 11. Valores de TGI expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Linhagem/Composto	Doxorrubicina	Lapachol	Complexo
U251	<0,025	-	-
UACC-62	0,12	46,9	45,4
MCF-7	3,3	28,0	38,5
NCI-ADR/RES	1,5	-	-
786-O	0,58	-	-
NCI-H460	4,0	-	57,1
PC-3	5,4	-	68,1
OVCAR-03	0,21	-	-
HT-29	16,1	-	-
K562	2,3	41,3	22,5
HaCaT	0,54	23,1	29,2

Linhagens tumorais humanas: U251 (glioma); UACC-62 (melanoma); MCF-7 (mama); NCI-ADR/RES (ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos); 786-O (rim); NCI-H460 (pulmão, tipo não pequenas células); PC-03 (próstata); OVCAR-03 (ovário); HT-29 (cólon); K562 (leucemia). Linhagem não tumoral humana: HaCaT (queratinócito, não tumoral) - TGI > 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

FONTE: BISCOLI, 2018.

Os resultados para os testes antitumorais se mostraram satisfatórios, demonstrando que a complexação do íon Mg^{II} ao lapachol potencializou as atividades do ligante e diminuiu, a princípio, sua toxicidade frente ao corpo humano. Os resultados ainda se mostraram relevantes mesmo quando comparado a doxorrubicina e demonstraram que o complexo tem potencial farmacológico.

6. CONCLUSÃO

A partir dos dados expostos neste trabalho é possível afirmar que a síntese do complexo $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$ foi realizada com êxito. Ao realizar uma análise comparativa entre o novo composto de coordenação e o ligante não coordenado é possível observar que ambos apresentam propriedades significativamente distintas.

Os dados das análises de pré-caracterização (ponto de fusão e teste de solubilidade), análises espectroscópicas (IV e UV-Vis) e térmicas (TG/DTG e DSC) confirmaram a coordenação do íon metálico Mg^{II} ao ligante lapachol, e confirmaram a estequiometria do mesmo, bem como forneceram dados prévios das posições de coordenação.

Através da técnica de difratometria de raios-X em monocristal obteve-se a elucidação da estrutura do complexo $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$, a qual pertence ao sistema cristalino tetragonal, apresentando o grupo espacial $P4_32_12$. O complexo possui uma fórmula empírica $\text{MgC}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_6$, massa molecular de $506,82 \text{ g mol}^{-1}$, e um ambiente de coordenação octaédrico distorcido, onde o íon Mg^{II} está coordenado via quatro oxigênios carbonílicos do C10 (O3 e O3#, nas posições equatoriais e *cis* entre si) e do C3 (O2#2 e O2#3, nas posições equatoriais e *cis* entre si), e dois oxigênios fenólicos do C1 (O1 e O1# nas posições axiais e *trans* entre si). Os dados cristalográficos revelaram ainda que o composto de coordenação apresenta uma estrutura na forma polimérica, podendo assim ser caracterizado como MOF, abrindo novas possibilidades de aplicação do mesmo.

O perfil eletroquímico mostrou uma grande distinção entre o lapachol e o complexo, visto que todos os processos apresentados são atribuídos ao ligante, que sofre influência do íon metálico após a coordenação.

Os estudos das propriedades ópticas (UV-Vis e absorvidade molar) demonstram o rearranjo eletrônico por influência do centro metálico após o processo de coordenação, aumentando consideravelmente a intensidade de absorção (4 vezes aproximadamente) para o complexo.

A avaliação do perfil luminescente também demonstrou que o complexo metálico teve maior intensidade de emissão que o ligante não coordenado, sendo este efeito conhecido como CHEF. É possível também observar uma grande diferença entre o perfil de emissão em estado sólido e em solução, sendo que, no estado sólido a intensidade de emissão foi consideravelmente maior, e a diferença entre o ligante e o complexo foi mais acentuada.

Os ensaios antimicrobianos demonstraram que após a coordenação do ligante ao íon metálico Mg^{II} houve uma considerável potencialização das atividades antibióticas para bactérias do tipo Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*. Pode-se caracterizar tanto o ligante quanto o complexo como tendo um resultado bom para a Concentração Inibitória Mínima (CIM), sendo que ambos se mostram bactericidas, uma vez que a razão $CBM/CIM \leq 4,0$.

Os ensaios antitumorais comprovaram que o complexo foi mais ativo que o lapachol frente a quatro linhagens tumorais estudadas (UACC-62, NCI-H460, PC-3 e K562), sendo que o melhor resultado foi para a linhagem de leucemia (K562), na qual o composto impediu o crescimento celular com uma concentração de $22,5 \mu g mL^{-1}$, contra $41,3 \mu g mL^{-1}$ do lapachol. Quando se compara o complexo com o padrão quimioterápico de referência, verifica-se que o mesmo é menos tóxico contra as células não tumorais (HaCaT).

Levando-se em consideração a multirresistência das cepas bacterianas e das linhagens tumorais aos medicamentos atuais, bem como a necessidade latente por drogas mais efetivas e específicas, é reconhecível a relevância e o potencial de aplicação deste trabalho, visto que o composto de coordenação obtido pode ser elencado como um possível fármaco com diversas aplicações, principalmente correlacionadas as suas boas atividades antimicrobianas e antitumorais. Acrescenta-se a sua potencial aplicação como nanotransportador, devido a sua organização como MOF, como observada na difratometria de raios-X, e o perfil de luminescência.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU, O.; KARAMOKO, O.; ADAMA, C.; AUGUSTIN, A. A. Phytochemical Screening and Evaluation of the Antibacterial Activity of Bark Extracts of *Pericopsis (Afrosmia) laxiflora* (Benth.) of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* ESBL. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 5, p. 86-90, 2013.

AHMED, S.; KHAN, A. Y. Mechanistic Study of Quinone_Polyalcohol Interaction through Cyclic Voltammetry. **Russian Journal of Electrochemistry**, v. 49, p. 336–343, 2013.

ANVISA. **Interpretação de dados microbiológicos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Módulo II, Brasília, 2008.

ARAÚJO, E. L.; ALENCAR, J. R. B.; NETO, P. J. R. Lapachol: Segurança e Eficácia na terapêutica. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 12, p. 57-59, 2002.

ARIOLI, E. L.; CORRÊA, P. H. S. Hipocalcemia. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 43, p. 467-472, 1999.

AYMONE, W. C.; VALIATI, V.; RESEM, M. G. F. S.; PERES, W. Hemocromatose hereditária. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 101, p. 27-33, 2013.

ATKINS, P.; JONES, L. **Princípios de Química**: Questionando a vida moderna e o meio ambiente. 3ª. Edição. Porto Alegre: Bookman, 2006. 965 p.

BAI, L.; GAO, C.; LIU, Q.; YU, C.; ZHANG, Z.; CAI, L.; YANG, B.; QIAN, Y.; YANG, J.; LIAO, X. Research Progress in Modern Structure of Platinum Complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 140, p. 349-382, 2017.

BARAN, E. J. Trace Elements Supplementation: Recent Advances and Perspectives. **Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 1-9, 2004.

BARBAGALLO, M.; DOMINGUEZ, L. J.; GALIOTO, A.; FERLISI, A.; CANI, C.; MALFA, L.; PINEO, A.; BUSARDO, A.; PAOLISSO, G. Role of magnesium in insulin action, diabetes and cardio-metabolic syndrome X. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, p. 39-52, 2003.

BARBOSA, T. P.; NETO, H. D. Preparação de Derivados do Lapachol em Meio Ácido e em Meio Básico: Uma Proposta de Experimentos para a Disciplina de Química Orgânica Experimental. **Química Nova**, v. 36, p. 331-334, 2013.

BASSO, L. E.; UBBINK, J. B.; DELPORT, R. Erythrocyte magnesium concentration as an index of magnesium status: a perspective from a magnesium supplementation study. **Clinica Chimica Acta**, v. 291, p. 1-8, 2000.

BAXTER, G.F. Physiologically based pharmacokinetic model for specific and nonspecific monoclonal antibodies and fragments in normal tissues and human tumor xenografts in nude mice. **Cancer Research**, v. 1528, p. 1517-28, 1994.

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Considerações Sobre a Química Bioinorgânica Medicinal. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, p. 131-142, 2007.

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Uma Visão da Química Bioinorgânica Medicinal. **Química Nova**, v. 30, p. 2062-2067, 2007.

BODINI, M. E.; ARANCIBIA, V. Manganese Complexes With 2-hydroxy-3(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthoquinone (Lapachol). Redox Chemistry and Spectroscopy in Dimethylsulphoxide. **Polyhedron**, v. 8, p. 1407-1412, 1989.

BUSTAMANTE, F. L.S.; SILVA, M. M.P.; ALVES, W. A.; PINHEIRO, C. B.; RESENDE, J. A.L.C.; LANZMASTER, M. Isomerism and Nuclearity Control in Bis(lawsonato)zinc(II) Complexes. **Polyhedron**, v. 42, p. 43-49, 2012.

CARAVAN, P.; ELLISON J. J.; McMURRY, T. J.; LAUFFER, R. B. Gadolinium(III) chelates as MRI contrast agents: structure, dynamics, and applications. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2293-2352, 1999.

CARUSO, F.; MARTINEZ, M. A.; ROSSI, M.; GOLDBERG, A.; VILLALBA, M. E. C.; AYMÓNINO, P. J. Crystal and Molecular Structure of Manganese(II) Lapacholate, a Novel Polymeric Species Undergoing Temperature-Reversible Metal to Ligand Electron Transfer. **Inorganic Chemistry**, v. 48, p. 3529-3534, 2009.

CHATZIKONSTANTINO, A. V.; CHATZIKONSTANTINO, M. V.; RAVERA, E.; FRAGAI, M.; PARIGI, G.; GEROTHANASSIS, I. P.; LUCHINAT, C.; STAMATIS, H. L.; TZAKOS, A. G. Enriching the biological space of natural products, through real time biotransformation monitoring: the NMR tube bioreactor. **Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects**, v. 1862, p. 1-8, 2018.

CLARK, M. J.; GAUL, J. B. Chemistry Relevant to the Biological Effects of Nitric Oxide and Metallonitrosyls. **Structure and Bonding**, v. 81, p. 146-179, 1993.

CLSI. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 7^a Edição. M7-A7. v. 26. n^o. 2, 2006.

CORMA, A.; GARCÍA, H. XAMENA, F. X. L. Engineering Metal Organic Frameworks for Heterogeneous Catalysis. **Chemical Reviews**, v. 110, p. 4606-4655, 2010.

DALMARCO, J. B.; DALMARCO, E. M.; KOELZER, J.; PIZZOLATTI, FRODE, M. G.; T. S. Isolation and Identification of Bioactive Compounds Responsible for the Antibacterial Efficacy of *Lotus comiculatus*: var. São Gabriel. **International Journal Green Pharmacy**, v. 4, p. 108-114, 2010.

ELIN, R. J. Assessment of magnesium status for diagnosis and therapy. **Magnesium Research**. v. 23, p. 194-198, 2010.

EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; FIORITO, S.; MATHIEU, V.; KISS, R. Lapachol and its congeners as anticancer agents: a review. **Phytochemistry Reviews**, v. 13, p. 37-49, 2014.

FALGREEN, S.; LAURSEN, M. B.; BODKER, J. S.; KJELDSEN, M. K.; SCHMITZ, A.; NYEGAARD, M.; JOHNSEN, H. E.; DYBKAER, K.; BOGSTED, M. Exposure Time Independent Summary Statistics for Assessment of Drug Dependent Cell Line Growth Inhibition. **BMC Bioinformatics**, v. 15, p. 1-18, 2014.

FARFÁN, R. A.; ESPÍNDOLA, J. A.; GOMEZ, M. I.; DE JIMÉNEZ, M. C. L.; MARTÍNEZ, M. A.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E. Structural and Spectroscopic Properties of Two New Isostructural Complexes of Lapacholate with Cobalt and Copper. **International Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2012 p.1-6, 2012.

FARFÁN, R. A.; ESPÍNDOLA, J. A.; MARTÍNEZ, M. A.; PIRO, O. E.; AYMONINO, P. J. Synthesis and Crystal Structure of a New Lapacholate Complex With Nickel(II), [Ni(Lap)₂(DMF)(H₂O)]. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 62, p. 3738-3744, 2009.

FARFÁN, R. A.; ESPÍNDOLA, J. A.; GOMEZ, M. I.; JIMÉNEZ, M. C. L.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E.; MARTÍNEZ, M. A. Crystal Structure, Spectroscopic and Thermal Properties of [Zn(Lap)₂(DMF)(H₂O)] and Isomorphous [M(Lap)₂]_n (M: Cd, Mn) Complexes. **Journal of Molecular Structure**, v. 1087, p. 80-87, 2015.

FÉREY, G.; SERRE, C. Large breathing effects in three-dimensional porous hybrid matter: facts, analyses, rules and consequences. **Chemical Society Reviews**, v. 38, p. 1380-1400, 2009.

FORMICA, M.; FUSI, V.; GIORGI, L.; MICHELONI, M.; New fluorescent chemosensors for metal ions in solution. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 256, p. 170– 192, 2012.

FUTYRA, A. R.; DABROWSKI, J. M.; MAZURYK, O.; SPIEWAK, K.; KYZIOL, A.; PUCELIK, B.; BRINDELL, M.; STOCHEL, G. Bioinorganic antimicrobial strategies in the resistance era. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 351, p. 76-117, 2017.

GAGNÉ, R. R.; KOVAL, C. A.; LISENSKY, G. C. Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements. **Inorganic Chemistry**, v. 19, p. 2854-2855, 1980.

GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N. Palladium Coordination Compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 1384-1397, 2009.

GAWALI, S. S.; PEREIRA, E.; DAR, U. A.; BHAND, S. Metal Complexes of Hydroxynaphthoquinones: Lawsone, bis-lawsone, Lapachol, Plumbagin and Juglone. **Molecular Structure**, v. 1148, p. 435-468, 2017.

GOMES, N. G. M.; PEREIRA, D. M.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B. Hybrid MS/NMR methods on the prioritization of natural products: Applications in drug Discovery. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 147, p. 234-249, 2018.

GÓMEZ, M. E. B.; GUILLÉN, A. E.; BLUM, S. C.; BEHRENS, N. B. Metalochaperonas: escoltas personales en el tráfico intracelular de iones metálicos. **Educación Química**, v. 26, p. 26-37, 2015.

GOTTLIEB, S. S.; BARUCH, L.; KUKIN, M. L.; BERNSTEIN, J. L.; FISHER, M. L.; PACKER, M. Prognostic importance of the serum magnesium concentration in patients with congestive heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 16, p. 827-831, 1990.

GUIN, P. S.; DAS, S.; MANDAL, P. C. Electrochemical Reduction of Quinones in Different Media: A Review. **International Journal of Electrochemistry**, p. 1-22, 2011.

HATZISTAVRI, L. S.; SARAFIDIS, P. A.; GEORGIANOS, P. I.; TZIOLAS, I. M.; ARODITIS, C. P.; ZEBEKAKIS, P. E.; PIKILIDOU, M. I.; LASARIDIS, A. N. Oral Magnesium Supplementation Reduces Ambulatory Blood Pressure in Patients With Mild Hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 22, p. 1070-1075, 2009.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 1027-1031, 2002.

HORCAJADA, P.; CHALATI, T.; SERRE, C.; GILLET, B.; SEBRIE, C.; BAATI, T.; EUBANK, J. F.; HEURTAUX, D.; CLAYETTE, P.; KREUZ, C.; CHANG, J. S.; HWANG, Y. K.; MARSAUD, V.; BORIES, P. N.; CYNOBER, L.; GIL, S.; FÉREY, G.; COUVREUR, P.; GREF, R. Porous metal-organic-framework nanoscale carriers as a potential platform for drug delivery and imaging. **Nature Materials**, v. 9, p. 172-178, 2009.

HORCAJADA, P.; GREF, R.; BAATI, T.; ALLAN, P. K.; MAURIN, G.; COUVREUR, P.; FÉREY, G.; MORRIS, R. E.; SERRE. Metal-Organic Framework in Biomedicine. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 1232-1268, 2012.

HOSMANE, N. S. **Advanced Inorganic Chemistry: Applications in Everyday Life**. 1ª. Edição. Illinois: Academic Press. 2017.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, V. U.; MIANA, G. A.; GREEN, I. R. Lapachol: an overview. **Arkivoc**, v. 2, p. 145-171, 2007.

HUXFORD, R. C.; ROCCA, J. D.; LIN, W. Metal-organic Framework as Potential Drug Carriers. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 14, p. 262-268, 2010.

JANUÁRIO, S. R.; LOPES, S. S.; O Poder Terapêutico do Ipê Roxo e seu Uso na Terapia Complementar ao Tratamento de Neoplasias. **Revista Brasileira de Terapia e Saúde**, v. 5, p. 9-14, 2014.

JASTRZAB, R.; TYLKOWSKI, B. Bioinorganic chemistry in the European Union. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 351, p. 1-1, 2017.

JOHNSTONE, T. C.; SUNTHARALINGAM, K.; LIPPARD, S. J. The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. **Chemical Reviews**, v. 116, p. 3436-3486, 2016.

JURISSON, S. S.; LYDON, J. D. Potential technetium small molecule radiopharmaceuticals. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2205-2218, 1999.

KAMAO, M.; SUHARA, Y.; TSUGAWA, N.; UWANO, M.; YAMAGUCHI, N.; UENISHI, K.; ISHIDA, H.; SASAKI, S.; OKANO, T. Vitamin K Content of Foods and Dietary Vitamin K Intake in Japanese Young Women. **Journal of Nutritional Science**, v. 53, p. 464-470, 2007.

KATHAWATE, L.; SHINDE, Y.; YADAV, R.; KASABE, U.; NIKALJE, M.; GAWALI, S. S. Thermal and Spectral Properties of Alkali Metal Complexes of 2-Hydroxy-1,4-Naphthoquinone. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2319-2330, 2014.

KATHAWATE, L.; SHINDE, Y.; YADAV, R.; SALUNKE-GAWALI, S. Thermal, magnetic and spectral properties of metal quinone complexes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, p. 1003-1011, 2013.

KITAGAWA, S.; KITAURA, R.; NORO, S. I. Functional porous coordination polymers. **Angewandte Chemie**, v. 43, p. 2334-2375, 2004.

KUCHAR, J.; HAUSINGER, R. P. Biosynthesis of Metal Sites. **Chemical Reviews**, v. 104, p. 509-525, 2004.

LEUNG, C. H.; LIU, L. J.; LEUNG, K. H.; MA, D. L. Epigenetic Modulation by Inorganic Metal Complexes, **Coordination Chemistry Reviews**, v. 319, p. 25-34, 2016.

LI, H.; EDDAOUDI, M.; O'KEEFFE, M.; YAGHI, O. M. Design and synthesis of an exceptionally stable and highly porous metal-organic framework. **Nature**, v. 402, p. 276-279, 1999.

LIMA, M. L.; POUSADA, J.; BARBOSA, C.; CRUZ, T. Deficiência de Magnésio e Resistência à Insulina em Pacientes com Diabetes Mellitus Tipo 2. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 29, n. 6, p. 954-963, 2005.

LIPPARD, S. The Inorganic Side of Chemical Biology. **Nature Chemical Biology**, v. 2, p. 504-508, 2006.

LIU, R.; YU, T.; SHI, Z.; WANG, Z. The Preparation of Metal-organic Framework and their Biomedical Application. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, p. 1187-1200, 2016.

LUCAS, N. C.; FERREIRA, A. B. B.; NETTO-FERREIRA, J. C. Fotoquímica de Naftoquinonas. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 403-463, 2015.

MARTINEZ, M. A.; JIMÉNEZ, M. C. L.; CASTELLANO, E. E.; PIRO, O. E.; AYMÓNINO, P. J. Synthesis, Structure and Properties of a Zinc(II) Complex with the Lapacholate Anion in Ethanol as Ligands. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 56, p. 803-816, 2003.

MOLINA, R. H.; KALININA, I.; ESPARZA, P.; SOKOLOV, M.; PLATAS, J. G.; BRAUN, A. E. & SACAU, E. P. Complexes of Co(II) and Ni(II) with Lapachol. **Polyhedron**, v. 26, p. 4860-4864, 2007.

MORRISON, R. K.; BROWN, D. E.; OLESON, J. J.; COONEY, D. A. Oral toxicology studies with lapachol. **Toxicology Applied Pharmacology**, v. 17, p. 01-11, 1970.

NAJJAR, R. Complexos Metálicos com Atividade Anticancerígena. **Química Nova**, v. 15, p. 323-328, 1992.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 629-661, 2016.

NGAMENI, E.; TONLE, I. K.; NANSEU, C. P.; WANDJI, R. Voltammetry Study of 2-hidroxy-3-isopropenil-1,4-naphthoquinone Using a Carbon Paste Electrode. **Electroanalysis**, v. 12, p. 847-852, 2000.

NOVIO, F.; SIMMCHEN, J.; MERA, N. V.; FERRÉ, L. A.; MOLINA, D. R. Coordination Polymer Nanoparticles in Medicine. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, p. 2839-2847, 2013.

OLIVEIRA, L. G.; SILVA, M. M.; DE PAULA, F. C. S.; MAIA, E. C. P.; DONNICI, C. L.; de SIMONE, C. A.; FRÉZARD, F.; JÚNIOR, E. N. S.; DEMICHELI, C. Antimony(V) and Bismuth(V) Complexes of Lapachol: Synthesis, Crystal Structure and Cytotoxic Activity. **Molecules**, v.16, p. 10314-10323, 2011.

OTT, I. On the Medicinal Chemistry of Gold Complexes as Anticancer Drugs. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 1670-1681, 2009.

PAZ, F. A. A.; ROCHA, J. Metal-Organic Frameworks: O que são e para que servem. **Química**, v. 134, p. 11-21, 2014.

RAMIREZ, A. V. G. A importância do magnésio na doença cardiovascular. **International Journal of Nutrology**, v. 9, p. 242-253, 2016.

RAMOS, A. L. D.; TANASE, S.; ROTHENBERG, G. Redes metalorgânicas e suas aplicações em catálise. **Química Nova**, v. 37, p. 123-133, 2014

REEDIJK, J. Bioinorganic chemistry. **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**, p. 1-3, 2013.

REINHARD, R. A. Clinical correlates of the molecular and cellular actions of magnesium on the cardiovascular system. **American Heart Journal**, v. 121, p. 1513-1521, 1991.

ROCHA, D. P.; PINTO, G. F.; RUGGIERO, R.; OLIVEIRA, C. A.; GUERRA, W.; FONTES, A. P. S.; TAVARES, T. T.; MARZABI, I. M.; PEREIRA-MAIA, E. C. Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 34, p. 111-118, 2011.

- RODRIGUES, M. A.; RUGGIERO, R.; GUERRA, W. Compostos Inorgânicos Como Fármacos. **Química**, v. 115, p. 25-30, 2009.
- ROYO, S. O.; TORREJÓN, C.; CUADRADO, I.; MOLINA, R. H.; HORTELANO, S.; BRAUN, A. E.; DE LAS HERAS, B. Synthesis and Cytotoxic Activity of Metallic Complexes of Lawsone. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, p. 2471–2477, 2013.
- SACAU, E. P.; BRAUN, A. E.; RAVELO, A. G.; FERRO, E. A.; TOKUDA, H.; MUKAINAKA, T.; NISHINO, H. Inhibitory Effects of Lapachol Derivatives on Epstein-Barr Virus Activation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 483–488, 2003.
- SAKURAI, H.; KOJIMA, Y.; YOSHIKAWA, Y.; KAWABE, K.; YASUI, H. Antidiabetic vanadium (IV) and zinc (II) complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 226, p. 187–198, 2002.
- SANTOS, A. F.; BROTTTO, D. F.; FAVARIN, L. R. V.; CABEZA, N. A.; ANDRADE, G. R.; BATISTOTE, M.; CAVALHEIRO, A. A.; NEVES, A.; RODRIGUES, D. C. M.; ANJOS, A. Study of the Antimicrobial Activity of Metal Complexes and Their Ligands Through Bioassays Applied to Plant Extracts. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 24, p. 309-315, 2014.
- SAWHNEY, S. S.; CHANDRA, R. M. S. N.; VOHRA, N. Kinetics of the Pyrolytic Decomposition of Some Metal Complexes of 2-Hydroxy-3-(3-Methyl-2-Butenyl) 1,4-Naphthalenedione (Lapachol) From DTG Curves. **Thermochimica Acta**, v. 54, p. 373-376, 1982.
- SEVERO, J. F.; MORAIS, J. B. S.; FREITAS, T. E. C.; CRUZ, K. J. C.; OLIVEIRA, A. R. S.; POLTRONIERI, F.; MARREIRO, D. N. Metabolic and Nutritional Aspects of Magnesium. **Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria**, v. 35, p. 67-74, 2015.
- SHARMA, S.; CHAUHAN, M.; JAMSHEERA, A.; TABASSUM, S.; ARJMAND, F. Chiral Transition Metal Complexes: Synthetic approach and Biological Applications. **Inorganica Chimica Acta**, v. 458, p. 88-27, 2017.
- SHRIVER, D.; ATKINS, P. **Química Inorgânica**. 4ª. Edição. Porto Alegre: ARTMED, 2008. 847 P.
- SILVA, E. O.; CARVALHO, T. C.; PARSHIKOV, I. A.; SANTOS, R. A.; EMERY, F. S.; FURTADO, N. A. J. C. Cytotoxicity of lapachol metabolites produced by probiotics. **Letters in Applied Microbiology**, v. 59, p. 108-114, 2014.
- SINGH, I.; OGATA, R. T.; MOORE, R. E.; CHANG, C. W. J.; SCHEUER, P. J. Electronic Spectra of Substituted Naphthoquinones. **Tetrahedron**, v. 24, p. 6053-6073, 1968.
- SOUSA, E. T.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. Fontes, Formação, Reatividade e Determinação de Quinonas na Atmosfera. **Química Nova**, v. 39, p. 486-495, 2016.
- SOUZA, M. A. A.; SILVA, A. R.; FERREIRA, M. A.; LEMOS, M. J.; RAMOS, R. G.; BUARQUE, A. B.; SOUZA, S. R. Atividade Biológica do Lapachol e de Alguns Derivados

sobre o Desenvolvimento Fúngico e em Germinação de Sementes. **Química Nova**, v. 31, p. 1670-1671, 2008.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. **Química Nova**, v. 29, p. 326-337, 2006.

WANI, W. A.; PRASHAR, S.; SHREAZ, S.; RUIZ, S. G. Nanostructured Materials Functionalized With Metal Complexes: In Search of Alternatives for Administering Anticancer Metallodrugs. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 312, p. 67-98, 2016.

WANG, L.; QIN, W.; LIU, W. Two highly sensitive Schiff-base fluorescent indicators for the detection of Zn^{2+} . **Analytical Methods**, v. 6, p. 1167-1173, 2014.

WOLF, F. I.; CITTADINI, A. Chemistry and biochemistry of magnesium. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 24, p. 3-9, 2003.

YAGHI, O. M.; O'KEFFE, M.; OCKWIG, N. W.; CHAE, H. K.; EDDAOUDI, M.; KIM, J. Reticular synthesis and the design of new materials. **Nature**, v. 423, p. 705-714, 2003.

ZHANG, C. X.; LIPPARD, S. New metal complexes as potential therapeutics. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 7, p. 481-489, 2003.

ZHOU, H. C.; LONG, J. R.; YAGHI, O. M. Introduction to Metal-Organic Frameworks. **Chemical Reviews**, v. 112, p. 673-674, 2012.

8. APÊNDICES

APÊNDICE A

Parâmetros Cristalográficos e de Refinamento da Estrutura para o Complexo $[\text{Mg}^{\text{II}}(\text{Lapachol})_2]_n$

Tabela 12. Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e equivalente isotrópico ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para o complexo (Ueq é definido como 1/3 do traço do tensor ortogonalizado Uij).

Átomo	x	y	z	U(eq)
Mg	3766(1)	3766(1)	5000	29(1)
O(2)	1944(2)	7988(2)	3489(2)	36(1)
O(1)	2769(2)	4962(2)	5006(2)	36(1)
O(3)	4467(2)	4877(2)	4094(2)	38(1)
C(9)	4332(3)	6580(3)	3542(2)	27(1)
C(1)	2945(3)	5714(3)	4482(3)	28(1)
C(3)	2563(3)	7309(3)	3733(3)	28(1)
C(10)	3970(3)	5679(4)	4023(3)	30(1)
C(4)	3653(3)	7408(3)	3426(3)	29(1)
C(2)	2260(3)	6489(3)	4293(3)	29(1)
C(11)	1173(3)	6422(3)	4626(3)	39(1)
C(7)	5666(4)	7537(4)	2849(3)	50(1)
C(8)	5326(3)	6656(4)	3241(3)	42(1)
C(6)	5002(4)	8353(4)	2739(3)	55(2)
C(5)	3992(4)	8283(4)	3018(3)	41(1)
C(13)	309(5)	7221(4)	5958(4)	63(2)
C(12)	1064(4)	6721(4)	5587(3)	59(2)
C(15)	283(5)	7464(5)	6934(4)	118(3)
C(14)	-579(5)	7634(6)	5455(5)	140(3)

FONTE: BISCOLI, 2018.

Tabela 13. Comprimentos (\AA) e ângulos ($^\circ$) de ligação para o complexo.

Mg-O(2)#2	2,021(3)
Mg-O(2)#3	2,021(3)
Mg-O(1)#	2,037(3)
Mg-O(1)	2,037(3)
Mg-O(3)#	2,189(3)
Mg-O(3)	2,189(3)
O(2)-C(3)	1,256(4)
O(2)-Mg#4	2,021(3)
O(1)-C(1)	1,278(5)
O(3)-C(10)	1,239(5)
C(9)-C(8)	1,380(5)
C(9)-C(4)	1,411(5)
C(9)-C(10)	1,458(6)
C(1)-C(2)	1,382(6)
C(1)-C(10)	1,507(6)
C(3)-C(2)	1,418(6)
C(3)-C(4)	1,503(6)
C(4)-C(5)	1,371(5)
C(2)-C(11)	1,509(6)
C(11)-C(12)	1,497(6)



C(7)-C(8)	1,368(6)
C(7)-C(6)	1,385(6)
C(6)-C(5)	1,389(6)
C(13)-C(12)	1,309(6)
C(13)-C(14)	1,485(8)
C(13)-C(15)	1,494(7)
<hr/>	
O(2)#2-Mg-O(2)#3	94,27(17)
O(2)#2-Mg-O(1)#	95,47(12)
O(2)#3-Mg-O(1)#	91,58(12)
O(2)#2-Mg-O(1)	91,58(12)
O(2)#3-Mg-O(1)	95,47(12)
O(1)#-Mg-O(1)	169,63(19)
O(2)#2-Mg-O(3)#	94,18(11)
O(2)#3-Mg-O(3)#	165,71(12)
O(1)#-Mg-O(3)#	76,15(11)
O(1)-Mg-O(3)#	95,79(12)
O(2)#2-Mg-O(3)	165,71(12)
O(2)#3-Mg-O(3)	94,18(11)
O(1)#-Mg-O(3)	95,79(12)
O(1)-Mg-O(3)	76,15(11)
O(3)#-Mg-O(3)	80,05(16)
C(3)-O(2)-Mg#4	149,8(3)
C(1)-O(1)-Mg	118,2(3)
C(10)-O(3)-Mg	113,3(3)
C(8)-C(9)-C(4)	119,8(4)
C(8)-C(9)-C(10)	121,7(4)
C(4)-C(9)-C(10)	118,5(4)
O(1)-C(1)-C(2)	124,9(4)
O(1)-C(1)-C(10)	114,7(4)
C(2)-C(1)-C(10)	120,3(4)
O(2)-C(3)-C(2)	121,8(4)
O(2)-C(3)-C(4)	117,5(4)
C(2)-C(3)-C(4)	120,7(4)
O(3)-C(10)-C(9)	123,8(4)
O(3)-C(10)-C(1)	116,9(4)
C(9)-C(10)-C(1)	119,3(4)
C(5)-C(4)-C(9)	119,5(4)
C(5)-C(4)-C(3)	120,9(4)
C(9)-C(4)-C(3)	119,5(4)
C(1)-C(2)-C(3)	119,7(4)
C(1)-C(2)-C(11)	120,1(4)
C(3)-C(2)-C(11)	120,1(4)
C(12)-C(11)-C(2)	113,0(4)
C(8)-C(7)-C(6)	119,8(5)
C(7)-C(8)-C(9)	120,5(4)

C(7)-C(6)-C(5)	120,7(5)
C(4)-C(5)-C(6)	119,7(5)
C(12)-C(13)-C(14)	123,8(5)
C(12)-C(13)-C(15)	122,6(6)
C(14)-C(13)-C(15)	113,6(5)
C(13)-C(12)-C(11)	127,6(5)

FONTE: BISCOLI, 2018.

Tabela 14. Parâmetros de deslocamento anisotrópicos ($\text{Å}^2 \times 10^3$).

Átomo	U11	U22	U33	U23	U13	U12
Mg	24(1)	24(1)	39(1)	2(1)	-2(1)	0(1)
O(2)	36(2)	30(2)	43(2)	4(2)	-8(2)	5(2)
O(1)	32(2)	32(2)	43(2)	2(2)	7(2)	0(2)
O(3)	34(2)	32(2)	48(2)	0(2)	2(2)	7(2)
C(9)	24(3)	38(3)	21(2)	-2(2)	0(2)	-3(2)
C(1)	29(3)	27(3)	28(3)	-4(2)	-2(2)	-1(2)
C(3)	30(3)	28(3)	25(2)	-9(2)	-7(2)	1(2)
C(10)	32(3)	32(3)	26(3)	-2(2)	-5(2)	2(2)
C(4)	31(3)	33(3)	24(2)	-1(2)	-8(2)	-3(2)
C(2)	27(3)	29(3)	31(3)	-5(2)	0(2)	1(2)
C(11)	33(3)	29(3)	54(3)	6(2)	7(3)	5(2)
C(7)	32(3)	61(4)	57(4)	7(3)	12(3)	-5(3)
C(8)	36(3)	44(3)	45(3)	1(3)	6(3)	-2(2)
C(6)	51(4)	55(4)	58(4)	15(3)	6(3)	-13(3)
C(5)	36(3)	37(3)	48(3)	13(3)	-6(3)	-1(2)
C(13)	62(4)	55(4)	71(4)	-9(3)	32(4)	-8(3)
C(12)	59(4)	66(4)	54(4)	4(3)	15(3)	18(3)
C(15)	136(7)	125(7)	92(5)	-19(5)	68(5)	-18(5)
C(14)	59(5)	202(9)	158(7)	-70(6)	-7(5)	40(6)

FONTE: BISCOLI, 2018.

Tabela 15. Coordenadas dos átomos de hidrogênio ($\times 10^4$) e seus respectivos parâmetros de deslocamento isotrópicos ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) no complexo.

Átomo	x	y	z	U(eq)
H(11A)	745	6865	4264	46
H(11B)	929	5727	4550	46
H(7)	6341	7589	2657	60
H(8)	5768	6103	3305	50
H(6)	5235	8953	2475	66
H(5)	3546	8828	2928	49
H(12)	1596	6529	5964	71
H(15A)	-331	7837	7070	177
H(15B)	868	7872	7087	177
H(15C)	294	6840	7272	177
H(14A)	-1035	7975	5860	209
H(14B)	-934	7083	5166	209
H(14C)	-343	8111	5013	209

FONTE: BISCOLI, 2018.