INVESTIGAÇÃO ESPECTROQUÍMICA DE DIFOSFATO DE CLOROQUINA E DE
DIFOSFATO DE PRIMAQUINA

DALVA LÚCIA ARAÚJO DE FÁRIA

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários a
obtenção do grau de Doutor em Ciências - Físico-Química.

Aprovada por:

Prof. Dr. Paulo Sérgio Santos, IQ-USP
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. Henrique Eisi Toma, IQ-USP

Prof. Dr. Yoshitaka Gushikem, IQ-UNICAMP

Prof. Dr. Oswaldo Luiz Alves, IQ-UNICAMP

Prof. Dr. Otacírio Rangel Nascimento, IFQSC-USP

SÃO PAULO, SP

11 DE NOVEMBRO DE 1991

U N I V E R S I D A D E D E S Ã O P A U L O

I N S T I T U T O D E Q U Í M I C A

I N V E S T I G A Ç Ã O E S P E C T R O Q U Í M I C A D E D I F O S F A T O D E C L O R O Q U I N A
E D E D I F O S F A T O D E P R I M A Q U I N A

Dalva Lúcia Araújo de Faria

O R I E N T A D O R : P R O F . D R . P A U L O S É R G I O S A N T O S

S Ã O P A U L O

1991

AGRADECIMENTOS

À FAPESP e ao CNPq pelas bolsas concedidas.

E ...

Aos meus amigos. A todos eles: aqueles que me são consangüíneos (por acaso?) e aqueles que não; aqueles com os quais eu dividiria o último pedacinho de papel higiênico ou lhes evitaria as pedradas; aqueles a quem eu gosto de abraçar e por quem eu gosto de ser abraçada; aqueles a quem eu gosto de cuidar; aquele amigo desconhecido que te para o ônibus que chega quando você já tinha desistido de esperar; aquele que simplesmente diz bom dia e noite.

Dizem que a evolução humana se assemelha a uma escada e cada um vê de acordo com o degrau onde se encontra; daqui de onde estou, observo a paisagem com os olhos de cada uma dessas pessoas que, como artistas, fornecem cores, matizes, formas.

Agradeço portanto a eles, porque afinal, cada vez que me canso e me pergunto "Quo vadis, Dalva?" olho em volta e respondo "levantar e continuar, claro".

Ao ^{sal} ^{céu} ^{sol} da (minha) terra

Ou parodiando Ênio Virvístimo, diria eu sobre as pessoas:
"São mundos Tibicuera, são mundos..."

Nos meus delírios personificativos me pergunto:
o que diria o trigo ao moinho que o tritura ?

Í N D I C E

I. INTRODUÇÃO	1
1. MALÁRIA: GENERALIDADES	1
2. PRIMAQUINA E CLOROQUINA	4
i. HISTÓRICO	4
ii. Primaquina	9
A. Estrutura e propriedades	9
B. Mecanismo de ação	12
iii. Cloroquina	13
A. Estrutura e propriedades	13
B. Mecanismo de ação	17
3. OBJETIVOS	19
 II. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	 21
1. EQUIPAMENTOS	21
i. Espectroscopia no Infravermelho	21
ii. Espectroscopia Raman	21
iii. Espectroscopia no vis/UV	23
iv. Espectroscopia de RPE	23
v. Captação de oxigênio	23
vi. Espectroscopia de emissão	24
vii. Medidas eletroquímicas	24
viii. Termogravimetria	25
ix. Cálculos teóricos	25
2. REAGENTES E SOLUÇÕES	27

III. RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÕES	29
1. Espectroscopia de Absorção eletrônica	29
1.1. Hidrocarbonetos aromáticos	30
1.2. Piridina e Quinolina	34
1.3. Primaquina e cloroquina	35
1.4. Interação com oxidantes fortes	44
2. Espectroscopia Vibracional	49
2.1. Esp. Vibracional de PQ e CQ	49
2.2. Esp. Raman de DPQ	58
2.3. Região de estiramento O-H	64
2.4. Raman Ressonante	68
3. Eletroquímica	73
3.1. Voltametria cíclica	73
3.2. Espectroelectroquímica	77
4. Efeito SERS	82
4.1. Primaquina	82
4.2. Cloroquina	84
5. Resonância Paramagnética Eletrônica	93
6. Captação de Oxigênio	107
6.1. "Oxígrafo"	107
6.2. Aparelho de Warburg	107
7. Termogravimetria	111
8. Espectroscopia de emissão	114
9. Cálculos Teóricos	118
IV. CONCLUSÕES	126
Apêndice A	i
Apêndice B	x
Apêndice C	xiv
Apêndice D	xvii
Apêndice E	xxiii

A B S T R A C T

Primaquine diphosphate, its cation radical and Chloroquine diphosphate have been studied by vis-UV, emission, vibrational (IR and NIR) and EPR spectroscopy as well as oxygen uptake, spectroelectrochemistry and thermogravimetry; a semiempirical calculation was performed too.

It was shown that the doubly protonated form of DPQ is oxidized to a radical that absorbs in the visible region (552 nm). Such a species is highly reactive and its time decay is mainly due to its interaction with the non-oxidized drug.

The strong dependence of the DPQ absorption spectra with the pH can be assigned to a high enhancement of the drug basicity and a certain degree of internal charge transfer occur.

Choroquine was studied adsorbed on a silver electrode where it was shown that the adsorption occurs by means of the single protonated form and initially through the quinolinic nitrogen atom but increasing the applied potential it goes to a flat position what can be infered from frequencies shifts in the SER spectra.

S U M Á R I O

Difosfato de Primaquina, seu cátion radical e difosfato de Cloroquina foram estudados por espectroscopia no visível/UV, de emissão, vibracional (Raman, IV e IVP) e RPE além de captação de oxigênio, espectroeletroquímica e termogravimetria; um cálculo semiempírico usando o programa MOPAC também foi realizado.

Concluiu-se que a forma duplamente protonada do DPQ é oxidada a um radical que absorve fortemente no visível (552 nm). Tal espécie é altamente reativa e é possível que a principal causa de seu decaimento com o tempo seja a reação com outras moléculas da droga .

A forte dependência do espectro eletrônico do DPQ com o pH pode ser atribuído ao aumento na basicidade no estado excitado, o que daria à banda de menor energia do espectro, um certo caráter de transferência de carga interna.

Cloroquina foi estudada adsorvida em um eletrodo de prata e pode-se mostrar que a espécie adsorvida é a monoprotonada e que a interação se dá inicialmente pelo átomo de nitrogênio quinolínico mas, à medida em que o potencial é variado ela tende ao posicionamento paralelo à superfície do eletrodo, o que pode ser detectado pelos deslocamentos nas frequências do espectro SER.

P r e f á c i o

Como no Princípio da indeterminação de Heisenberg, parece haver um compromisso entre a complexidade de uma molécula e a profundidade com que se pode estudá-la.

No caso de moléculas simples, de alta simetria, é quase sempre possível o emprego de um método teórico preciso, para corroborar as evidências experimentais, do mesmo modo como as informações que se obtém podem ser tratadas com um grau de rigor muito maior; neste caso, a tendência é de se aumentar verticalmente o conhecimento sobre o sistema, ou seja, um número mais restrito de técnicas experimentais pode fornecer uma quantidade muito grande de informações.

Moléculas com elevado número de átomos e com baixa simetria dificilmente podem ser tratadas que não por comparações ou métodos aproximados de cálculo; aqui encontramos a tendência à horizontalização do conhecimento sobre esse sistema, ou seja, a quantidade de informação que se obtém de cada técnica é tão pequena, que implica na utilização de um grande número delas. E como se ganha em extensão, perde-se em profundidade.

Este trabalho é bastante característico desse quadro: a investigação de aspectos espectroquímicos de difosfato de primaquina e de cloroquina, dois conhecidos antimaláricos, abarcou um número considerável de formas de investigação que não foram exploradas à exaustão nesta tese, principalmente por questões concernentes à própria natureza das drogas estudadas.

A quantidade de técnicas empregadas dificultou também a redação deste trabalho, o que seguramente embargará um pouco sua leitura; procurou-se compartimentalizar ao máximo as discussões de resultados apresentados no capítulo III, ao passo em que se reservou ao capítulo IV a análise integrada dos mesmos.

A natureza multidisciplinar desta investigação fez também necessária a inclusão de alguns apêndices com certos detalhes mais específicos de algumas técnicas menos usuais.

I. I N T R O D U Ç Ã O

1.1. MALÁRIA : GENERALIDADES

A malária é uma doença infecciosa causada por protozoários; acreditava-se antigamente que as emanções de pântanos e águas estagnadas eram as responsáveis pela doença, daí seu nome que é de origem italiana e quer dizer "mal ar" [1]. Ainda hoje é, dentre as doenças infecciosas causadas por protozoários, a que provoca maior mortalidade infantil [2] e somente em 1989 infectou mais de 500 mil pessoas no Brasil [3].

Sua transmissão se dá principalmente através da picada de um mosquito contaminado, assim, o plasmódio transmissor da malária tem em seu ciclo vital um hospedeiro vertebrado (homem) e um invertebrado (mosquito).

A figura da página seguinte esquematiza tal ciclo e os estágios nos quais os principais antimaláricos atuam [4].

No hospedeiro vertebrado se processa a fase assexuada, enquanto que a sexuada ocorre no hospedeiro invertebrado (no caso da malária humana, mosquitos do gênero *Anopheles*).

A fase sexuada se inicia quando a fêmea do anofelino pica um indivíduo parasitado (o macho não possui dispositivo que o permita sugar sangue de vertebrados); com o sangue o

-
- [1] E.I. Ferreira in "Malária - Aspectos Gerais e Quimioterapia", Atheneu Ed. São Paulo e EDUSP, São Paulo, 1982, p.1
 - [2] U. Certa, *Experientia*, 47, 157 (1991)
 - [3] Histórico Epidemiológico da malária no Brasil de 1985 a 1989, Ministério da Saúde, Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) e Depto. de Erradicação e Controle de Endemias (DECEN)
 - [4] W.C.Bowman e M.J. Rand in "Textbook of Pharmacology ", 2ª ed., Blackwell Sci. Pub., Londres, 1980, cap. 36

mosquito recebe gametócitos, que se desenvolvem em seu estômago. Dos gametócitos resultam os gametas feminino e masculino, os quais, unidos, formam o oocineto, que por sua vez atravessa a parede do estômago e forma o oocisto. Este se rompe (num processo chamado esporogonia) e são liberados os esporozóitos, que migram pelo corpo do hospedeiro, indo se instalar preferencialmente em suas glândulas salivares.

Quando esse anofelino pica um indivíduo saudável, esporozóitos são inoculados e se inicia a fase assexuada, que pode ser dividida em estágio pré-eritrocítico (ou exoeritrocítico primário) e o eritrocítico, dependendo da etapa de desenvolvimento do esquizontes.

fig.1 Ciclo de vida do parasito da malária

Após entrarem na corrente sanguínea, os esporozóitos atingem a célula hospedeira que pode ser, por exemplo, um hepatócito e se dividem (esquizogonia), formando os esquizontes (criptozoítos) que se fragmentam e originam os merozoítos criptozóicos, que rompem os hepatócitos.

Alguns desses merozoítos atingem a corrente sanguínea e penetram nos eritrócitos. Dentro das hemácias, os merozoítos se transformam em trofozoítos, os quais por esquizogonia, originam esquizontes. Estes, por sua vez, geram merozoítos que rompem o eritrócito e reiniciam o ciclo.

A manifestação de resistência à drogas como a cloroquina, que é extensivamente empregada na profilaxia e terapia da doença, estimulou esforços no sentido do desenvolvimento de uma vacina [5]. Os dois tipos principais de vacinas estão sendo desenvolvidos por Ruth Nussenzveig em Nova York e objetiva impedir a infecção através do ataque aos esporozoítos; a vacina desenvolvida por Patarroyo, na Colômbia, ataca as formas assexuadas do parasito, reduzindo sua severidade; um artigo de revisão recente sobre esse assunto foi apresentado por U. Certa [6].

-
- [5] a) R. Nussenzveig e V. Nussenzveig, Supl. Rev. Bras. Malaríol. D. Tropicais, 37, 135 (1985)
- b) F. Zavala, J.P. Tam, M.R. Hollingdale, A.H. Cochrane I. Quakyi, R.S. Nussenzveig e V. Nussenzveig, Science, 228, 1436 (1985)
- c) M.E. Patarroyo, R. Amador, P. Clavigo, A. Moreno F. Guzman, P. Romero, R. Tasan, A. Franco, L.A. Murillo, G. Ponton e G. Trujillo, Nature, 332, 158 (1988)
- d) V. Nussenzveig e R. Nussenzveig, Ciência Hoje, 12, 26 (1985)
- e) M.A. Barcinski, Ciência Hoje, 8, 24 (1988)
- [6] U. Certa, Experientia, 47, 157 (1991)

No Brasil, a vacina desenvolvida por M. Patarroyo [5c] começou a ser testada no final de janeiro de 1991 [7], mas resultados oficiais ainda não foram divulgados.

2. PRIMAQUINA E CLOROQUINA

i. Histórico [8]

Até o início deste século, a única medicação disponível contra a malária era a casca de uma árvore natural da América do Sul, com a qual eram feitas infusões; dentre os alcalóides presentes nesse material, o de maior atividade no combate à doença é o quinino.

Com o desenvolvimento da química sintética, surgiu o interesse pela preparação de fármacos mais potentes do que o quinino; nesse sentido, a indústria química alemã assumiu posição de destaque, conforme ver-se-á a seguir.

A técnica de tingimento de membranas teve um papel fundamental no desenvolvimento e síntese de antimaláricos. Em 1869, Hermann Hoffmann desenvolveu essa metodologia para colorir micróbios, o que permitiria sua observação direta ao microscópio, e esse procedimento foi aprimorado por Carl Weigert (Instituto de Patologia da Universidade de Breslau) que usou violeta de metila (o primeiro corante artificial produzido, também conhecido quando na forma impura, como violeta de genciana, fig. 2a) para tingir bactérias.

Esse método também chamou a atenção de Paul Ehrlich, primo de Weigert; ele estava particularmente interessado num corante chamado azul de metileno, sintetizado por Baeyer e Caro em 1876 (figura 2b). Ehrlich observou que esse corante tinha afinidade por fibras nervosas e aventou a hipótese de que ele poderia interferir na transmissão nervosa e agir,

[7] Folha de São Paulo, 16/11/90, Suplemento de Ciência

[8] W. Sneader in "Drug Discovery: the evolution of modern medicines", John Wiley and Sons, Great Britain, 1986

portanto, como analgésico. Realmente, testes feitos com pacientes possuidores de neurite e artrite demonstraram um certo efeito analgésico do corante, porém, sua tendência a causar danos renais com o uso continuado, desencorajou sua utilização, apesar de desencadear um esforço industrial para a síntese de compostos semelhantes que tivessem propriedades analgésicas mais potentes.

Posteriormente, em 1891, sabendo que o azul de metileno era capaz de tingir o plasmódio que causava a malária, Ehrlich e Guttman decidiram fazer testes com pacientes do Hospital Moabite de Berlin, infectados por essa doença; o tratamento teve resultados positivos e os pacientes se recuperaram. Infelizmente, a ação antimalárica desse corante somente era efetiva nas manifestações brandas da doença.

Ehrlich não tinha como testar "in vivo" novas drogas e isso impediu a continuidade de seu trabalho. Nessa época, das várias drogas sintetizadas pelos laboratórios europeus, apenas a arsfenamina (salvarsan, fig. 3a), também sintetizada por Ehrlich, possuía alguma atividade antimalárica além do azul de metileno, porém, desencorajadoramente muito inferior ao do quinino (fig. 3b).

a

b

fig.2

FÓRMULAS ESTRUTURAIS PLANAS
 a - VIOLETA DE METILA
 b - AZUL DE METILENO

fig.3

FÓRMULAS ESTRUTURAIS PLANAS
DE ALGUNS ANTIMALÁRICOS

Esse panorama não se alterou significativamente, até que em 1924 Wilhelm Roehl, no Instituto Quimioterapêutico da Bayer, em Elberfield, utilizou uma técnica eficiente para testar drogas potencialmente antimaláricas em canários.

Isso permitiu que Schulemann, Schonhofer e Wingler, todos de Elberfield, pudessem seguir então a idéia original de Ehrlich de preparar derivados do azul de metileno e verificar suas propriedades antimaláricas.

O primeiro passo foi a substituição de um dos metilas por um grupo dietilamino etila (composto 1, fig. 3c). Roehl encontrou um índice terapêutico (razão entre a dose tóxica e a terapêutica) de 8 para essa droga, mas como o fato dela ser um corante poderia interferir nesse resultado, Schulemann resolveu tentar a síntese de compostos quinolínicos, mantendo, no entanto a cadeia lateral que ele acreditava ser essencial para a atividade antimalárica e ao utilizar uma 8-aminoquinolina (composto 2, fig. 3d), Roehl verificou que o composto curava canários infectados. Esse derivado serviu de base para uma imensa série de compostos, que consistiam essencialmente de derivados onde a posição de ligação ao anel quinolínico era variada e em seguida era alterada a substituição da cadeia lateral.

A fim de aumentar a similaridade com o quinino, um grupo metoxila foi introduzido na posição 6 do anel quinolínico. Além disso, Schulemann e seus colegas testaram vários outros sistemas heterocíclicos além da quinolina.

Em 1925, uma 6-metóxiquinolina foi selecionada para testes clínicos em humanos, devido ao seu alto índice terapêutico; essa droga mostrou-se capaz de curar pacientes com malária naturalmente adquirida e foi comercializada com o nome de "plasmoquina"; apesar da adoção do nome oficial de "pamaquina" sua estrutura química não foi completamente esclarecida até 1928 (fig. 3e).

Mietzsch e Mauss, trabalhando com Schuleman, iniciaram a síntese de análogos da pamaquina com um anel adicional. A atividade ótima dessas aminoacridinas foi conseguida quando a cadeia lateral da pamaquina foi colocada na posição 9 e um

a cadeia lateral da pamaquina foi colocada na posição 9 e um átomo de cloro foi introduzido na posição 3 (fig. 3f).

A droga foi chamada comercialmente de "Plasmoquina E" mas para evitar confusão foi primeiramente denominada "Erion" e posteriormente "Atebrina"; seu nome oficial é mepacrina (quinacrina nos EUA).

Durante a Segunda Guerra Mundial, as tropas alemãs que estavam em campanha na África, utilizavam-se de suprimentos de "Sontoquina" ("Resoquina", fig. 3g); algumas amostras desse medicamento foram obtidas com a captura de prisioneiros.

Após sua análise, sintetizou-se um composto análogo, no qual não havia o grupo metila na posição 3; essa substância revelou uma espantosa atividade antimalárica. Esse análogo, denominado de cloroquina ("Aralen", fig. 3g), já havia sido sintetizado em Elberfield em 1934 e patenteado com o nome de "Resoquina", mas houve a opção pela sontoquina considerada menos tóxica.

Neste ponto há uma pequena divergência entre autores: Meyers e colaboradores [9] atribuem a descoberta da cloroquina, aos esforços desenvolvidos pelo governo americano durante a Segunda Guerra Mundial, iniciado após a tomada das plantações de quina (árvore de cuja casca se extrai o quinino), em Java, pelos Japoneses.

Ainda durante o programa de desenvolvimento de fármacos devido à guerra, um grupo de pesquisadores da Universidade de Colúmbia (N. York), obtiveram a primaquina, uma droga correlata à pamaquina, porém muito menos tóxica do que ela.

[9] F.H. Meyers, E. Jawetz e A. Goldfien in "Review of Medicinal Pharmacology", 7^aed., Lange Medicinal Pub., Califórnia, 1980

ii. Primaquina

A. Estrutura e Propriedades

figura 4

FÓRMULA ESTRUTURAL PLANA
DA PRIMAQUINA

O difosfato de primaquina (DPQ) ou N4-(6-metóxi-8-(quinolinil)-1,4-pentanodiamina, é um sólido cristalino alaranjado de ponto de fusão 205-206°C e apresenta-se em duas formas isoméricas (d e l); o estudo das atividades dessas formas mostrou que ambas são equivalentes em termos terapêuticos, apesar da forma d ser um pouco mais tóxica [10].

Essa droga é classificada principalmente como esquizonticida tecidual [11], ou seja, é capaz de matar os esquizontes no estágio exoeritrocítico, além de ser gametocitocida (atua sobre o parasito quando este se encontra na forma de gametócito).

O principal efeito adverso desse fármaco é a hemólise intravascular aguda, bastante grave em indivíduos portadores de deficiência genética de glicose-6-fosfato-desidrogenase, e a metemoglobinemia em pacientes com deficiência em NADPH metemoglobina redutase.

A Primaquina teve sua síntese reportada pela primeira vez em 1946 [12,13]; de lá para cá, apesar do extensivo

-
- [10] L.H. Schmidt, S. Alexander, L. Allen e J. Rasco, Antimicrob. Agents and Chemotherapy, 12, 51 (1977)
 - [11] A. Korolkovas e J.H. Burckhalter in "Química Farmacêutica", Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 1982
 - [12] R.C. Elderfield et al., J. Am. Chem. Soc., 68, 1524 (1946)

número de publicações relativas a ela, a grande maioria das investigações tem enfoque médico ou farmacêutico e muito pouca atenção tem sido dada aos seus aspectos estruturais e espectroscópicos.

A primeira tentativa de se discutir mais sistematicamente o espectro UV-VIS do DPQ foi feita por Krácmár e Krácmárová [14] que estudaram o efeito do substituinte e solvente no espectro de absorção eletrônico de 32 compostos, entre eles o DPQ. Os autores não discutem, entretanto, as marcantes influências do pH, nem tampouco do meio, restringindo-se à descrição do espectro e às modificações observadas em relação à quinolina.

O espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C por outro lado, foi bem melhor investigado [15,16], tendo sido usado na determinação da primeira e segunda constantes de dissociação da Primaquina e na estimativa da terceira constante [17].

Os autores apresentam resultados concordantes entre si, exceto por uma controvérsia na atribuição dos deslocamentos químicos dos carbonos C5 e C7 e C11 e C12. Outras conclusões interessantes obtidas desses estudos de RM ^{13}C [17] são que os prótons ligados aos C5 e C7 são extremamente lábeis (50% de troca com deutério em 15 minutos), além disso, há indícios de uma certa interação por ligação de hidrogênio entre o nitrogênio quinolínico e o grupo $-\text{NH}_2$ quando este último é protonado.

-
- [13] R.C. Elderfield, H.E. Mertel, R.T. Mitch, I.M. Wempen e Werble, J. Am. Chem.Soc., 77, 4816 (1955)
- [14] J. Krácmár e J. Krácmárová, Pharmazie, 29, 510 (1974)
- [15] S.P. Singh, S.S. Parmar e V.I. Stenberg, J. Heterocyclic Chem., 15, 9 (1978)
- [16] C.D. Hufford, J.D.M. McChesney e J.K. Baker, J. Heterocyclic Chem., 20, 273 (1983)
- [17] J.D. McChesney e S. Saragan, J. Labelled Compounds and Radiopharmaceutics, 20, 53 (1983)

Algumas tentativas de correlacionar a estrutura com a ação farmacológica da droga foram feitas por Singer e Purcell [18] e por Ames e colaboradores [19]. No trabalho de Singer e Purcell foi utilizado o método de Huckel de orbitais moleculares para o cálculo de densidades eletrônicas "pi" e autovalores do HOMO e LUMO, a partir dos quais foi feita uma avaliação de sua capacidade de doar ou receber carga. Ames e colaboradores [19], por sua vez, estudaram a possibilidade dessa droga participar de complexos doador-aceptor, através de métodos eletroquímicos, onde verificaram que o potencial de redução da base livre (DPQ deprotonada) variava entre -1,79 V e -2,00 V, dependendo do solvente utilizado, enquanto que para a forma diprotonada esse valor é de -1,25 V (DMF) e -1,27 V (etanol e água).

Ao DPQ também têm sido dadas extensivas aplicações analíticas. A interação com quinonas formando complexos doador-aceptor foi sugerida na determinação desse antimalárico [20], do mesmo modo que as reações com diazo-p-nitroanilina [21] e com 2,6-dicloroquinona clorimida e 1,2-naftaquinona-4-sulfonato [22], com bromo [23] e iodo [24].

-
- [18] J.A. Singer e W.P. Purcell, J. Med. Chem., 10, 754 (1967)
- [19] J.R. Ames, M.D. Ryan, D.L. Klayman e P. Kovacic, J. Free Rad. Biol. Med., 1, 353 (1985)
- [20] B.S. Sastry, E.V. Rao, M.V. Suryanarayana e C.S.P. Sastry, Pharmazie, 41, 739 (1986)
- [21] S.M. Hanan, M.E-S. Metwally e A.A.A. Ouf, Anal. Lett., 15, 213 (1982)
- [22] A.A.A. Ouf, S.M. Hanan e M. E-S. Metwally, Analyst, 105, 1113 (1980)
- [23] A-F. A. Moussa, Pharmazie, 32, 540 (1977)
- [24] M.A. Salam, A.S. Issa e H. Lymona, J. Pharm. Belg., 41, 314 (1986)

Tem sido também apontada como indicador em cerimetria, dicromatometria e vanadatometria [25] e como reagente específico para Au(III) [26,27] e Cr(VI) e V(V) [28]. Nessas interações com cátions metálicos ocorre o aparecimento de uma banda intensa em ca. 550 nm cuja natureza não foi determinada, apesar da sugestão de Ramappa e Ramachandra [27] de que a interação com Au(III) em meio sulfúrico originaria um "radical púrpura".

A síntese e caracterização de complexos sólidos com metais também foi reportada [29]; esses complexos tiveram suas atividades antimaláricas avaliadas e observou-se que não havia potencialização das mesmas.

B. Mecanismo de ação

Muito pouco se sabe sobre o mecanismo de ação terapêutica e tóxica do DPQ. Apesar dos indícios de interação entre a droga e o DNA [30,31] ela não impede a replicação e transcrição do DNA do plasmódio [32].

-
- [25] G.R.Rao, Y.P. Rao, I.P.K. Raju e G.N. Reddy, J. Inst. Chemists (India), 55, 149 (1983)
 - [26] S. Nai-kui, Z. Xiang-Cong e C. Wen-Tien, Analyst, 108, 889 (1983)
 - [27] P.G. Ramappa e K.S. Ramachandra, C.A. 104:8182b
 - [28] S. Nai-Kui, N. Yu-Biao e C. Wen-Tien, Mikrochimica Acta, 1984I, 19 (1984)
 - [29] N. Wasi e H.B. Singh, Inorg. Chim. Acta, 135, 133 (1987)
 - [30] L.P. Whichard, C.D. Morris, J.M. Smith e D. Holbrook Jr, Mol. Pharmacol., 4, 630 (1968)
 - [31] R.G. Allison e F.E. Hahn, C.A. 86:150346g
 - [32] K.A. Conglin, P. Heu e S.C. Chou, Mol. Pharm., 9, 304 (1973)

Provavelmente a Primaquina é extensivamente metabolizada pelo organismo, apesar disso, poucos foram os metabólitos humanos encontrados [33].

A literatura disponível classifica o DPQ como uma substância antioxidante [34] e é provável que tanto seu mecanismo de ação terapêutica quanto tóxico estejam relacionados às suas propriedades redox.

iii. Cloroquina

figura 5

FÓRMULA ESTRUTURAL PLANA
DA CLOROQUINA

A. Estrutura e propriedades

O difosfato de cloroquina ou N4-(7-cloro-4-quinolinil)-N1,N1-dietil-1,4-pentadiamina (DCQ), é um sólido cristalino, branco e higroscópico que se apresenta normalmente na forma de monohidrato e também existe como dois isômeros óticos d e l.

Tem ação esquizotônica no sangue, ou seja, atua no estágio eritrocítico do parasito.

O principal problema no uso da cloroquina, além do desenvolvimento de resistência à droga em algumas cepas, é o seu acúmulo em tecidos pigmentados, o que pode levar à cegueira.

Um fato curioso sobre o emprego da cloroquina, é que vem aumentando nos últimos anos o número de tentativas de

[33] J.D. Baty, D.A.Price-Evans e P.D. Robinson, Biomed. Mass Spectrom., 2, 304 (1975)

[34] S.S. Epstein, I.B. Saporoschetz, M. Small, W. Park, N. Mantel, Nature, 208, 655 (1965)

suicídio por ingestão da droga: hoje, na França por exemplo, em cada cem casos de suicídio por intoxicação, 4 são por cloroquina [35].

O monohidrato existe como duas formas cristalinas com pontos de fusão diferentes [36].

Os cristais são prismas monoclinicos e pertencem ao grupo espacial P21/a [37]; a determinação das coordenadas atômicas foi realizada alguns anos mais tarde, num trabalho que também definiu, através de estudos de termoanálise, que o DCQ sob aquecimento lento perde água, tem sua estrutura cristalina modificada e tem ponto de fusão 199°C [38].

A base livre do DCQ teve ainda sua conformação em solução de acetona estudada por ressonância magnética de próton, usando um íon paramagnético como sonda [39]; a conclusão a que se chegou foi que a droga se apresenta de forma bastante compacta a 20°C, já que a distância entre o nitrogênio quinolínico e o amínico é de apenas 7,4 Å.

A auto associação da cloroquina em meio aquoso também foi investigada por 1H RMN através da utilização do efeito Overhauser em duas dimensões e a constante de auto associação foi estimada como sendo $4,52 \pm 0,68 \text{ L.mol}^{-1}$ [40].

Uma discussão do efeito de substituinte e solvente sobre o espectro de absorção no VIS-UV em água e em

-
- [35] P. Bauer, B. Marie, M. Weber, P. Bollaert, A. Laran e H. Lambert, Clin. Toxicol., 29, 23 (1991)
 - [36] Ph. van Aerde, J.P. Remon, D. De Rudder, R. van Severen e P. Braeckman, J. Pharm. Pharmacol., 36, 190 (1984)
 - [37] H.S. Preston e J.M. Stewart, Chem. Comm., 1143 (1970)
 - [38] S. Furuseth, J. Karlsen, A. Mostad, C. Romming, R. Salmen e H.H. Tonnsen, Acta Chim. Scandinavica, 44, 741 (1990)
 - [39] N.S. Angerman, S.S. Danyluk e T.A. Victor, J. Am. Chem. Soc., 94, 7137 (1972)
 - [40] N. Marchettini, G. Valensin, E. Gaggelli, Biophys. Chem., 36, 65 (1990)

HCl 0,1 N foi apresentado por Krácmár e Krácmárová [41] . Nesse trabalho apenas são apresentados os máximos de absorção e é feita uma comparação com o espectro da quinolina.

Os valores de pKa da cloroquina foram determinados eletrometricamente: 8,1 para o nitrogênio quinolínico e 10,1 para o nitrogênio amínico [42,43]. Como esses valores são muito próximos, a possibilidade de formação de tautômero também foi investigada [44] e concluiu-se que na faixa de pH entre 6,0 e 12 ocorre dissociação protolítica do nitrogênio heterocíclico e assim essa droga existe em duas formas tautoméricas distintas, com constante de equilíbrio $8,9 \pm 1,0$.

A atribuição do espectro de RMN de ^{13}C foi feita por vários autores [45,46,47,48]; há uma grande concordância nas atribuições.

Um cálculo de orbitais moleculares usando o método de Huckel foi empregado na obtenção da densidade de elétrons pi e da energia do orbital molecular ocupado de mais alta

-
- [41] J. Krácmár e J. Krácmárová, *Pharmazie*, 29, 510 (1974)
- [42] J.L. Irvin e E.M. Irvin, *J. Am. Chem.Soc.*, 69, 1091 (1947)
- [43] P. Nickel, *Pharm. Zeit.*, 42, 1609 (1968)
- [44] L.S. Rosemberg e S.G. Schulman, *J. Pharm. Sci.*, 67, 1770 (1978)
- [45] S.P. Singh, S.S. Parmar e V.I. Stenberg, *J. Heterocyclic Chem.*, 15, 9 (1978)
- [46] B.G. Griggs, W.D. Wilson e D.W. Boykin, *Org. Mag. Res.*, 11, 81 (1981)
- [47] C.D. Huford e J.K. Baker, *Spectrosc. Lett.*, 19, 595 (1986)
- [48] S. Moreau e E. Veignie, *Magn. res. Chem.*, 28, 377 (1990)

energia da droga (HOMO) [49]; esse trabalho será discutido oportunamente com mais detalhes.

Em termos de seu comportamento químico, a cloroquina interage com metais como o ródio e a platina, formando complexos estáveis [50,51], cuja atividade biológica foi investigada; em ambos os casos concluiu-se que a interação se dá através da ligação direta do metal com o nitrogênio heterocíclico.

Um dos efeitos adversos causados pela administração da droga é uma perturbação visual que pode se agravar chegando à cegueira; acredita-se que esses efeitos estejam relacionados com a habilidade que certas drogas, como a cloroquina, possuem de se acumular em tecidos pigmentados, através da interação com a melanina, o que tem despertado o interesse por esse processo [52,53,54] .

O possível envolvimento do complexo de DCQ com ferriprotoporfirina IX também tem gerado bastante interesse no estudo dessa interação, evidenciado no extenso número de publicações a esse respeito [55,56,57] .

-
- [49] J. A. Singer e W.P. Purcell, J. Med. Chem., 10, 754 (1967)
- [50] N. Farrell e M.P. Hacker, Inorg. Chim. Acta, 166, 35 (1989)
- [51] W.I.Sundquist, D.P. Brandford e S.J. Lippard, J. Am. Chem. Soc., 112, 1590 (1990)
- [52] K.B. Stepien, J.P. Dworzanski, I. Imielski e T. Wilczok, J. Anal. App. Pyrolysis, 9, 297 (1986)
- [53] K.B. Stepien e T. Wilczok, Biochem. Pharmacol., 31, 3359 (1982)
- [54] E. Buszman. M. Kopera e T. Wilczok, Biochem. Pharmacol., 33, 7 (1984)
- [55] S. Moreau, B. Perly e J. Biguet, Biochimie, 64, 1015 (1982)
- [56] A.C. Chou, R. Chevli e C.D. Fitch, Biochem., 19, 1543 (1980)
- [57] A.C. Chou e C.D. Fitch, J. Clin. Inv., 66, 856 (1980)

B. Mecanismo de ação

Apesar da cloroquina ser um dos antimaláricos mais empregados, seu mecanismo de ação é ainda objeto de controvérsia. As 3 hipóteses mais frequentemente defendidas são a intercalação com o DNA, a acumulação nos lisossomos e a ligação com a ferriprotoporfirina IX.

a. Intercalação com DNA

Essa forma de ação da droga foi a primeira a ser aventada [58], sendo recentemente discutida num artigo de revisão [59]. Existem dois modos de interação com o DNA propostos: num deles o DCQ se intercala simplesmente entre os passos da estrutura helicoidal do ácido e no outro a droga se fixa através de interação eletrostática entre o nitrogênio quinolínico protonado e os grupos fosfato do esqueleto da hélice [60]. Aparentemente há a necessidade da presença de bases de guanina para a interação com a droga, neste caso, entre o cloro na posição 7 com o grupo 2-amino da base. A principal crítica a este modelo é o alto valor da constante de dissociação (K_d varia entre 27 μM e 2,6 mM, dependendo da força iônica do meio) [61].

b. Acumulação nos lisossomos

-
- [58] J.L. Irvin, E.M. Irvin e F.S. Parker, *Science*, **110**, 426 (1949)
- [59] S.R. Meshnick, *Parasitol. Today*, **6**, 77 (1990)
- [60] G.E. Bass, D.R. Hudson, J.E. Parker e W.P. Purcell, *J. Med. Chem.*, **14**, 275 (1971)
- [61] F. Kwakye-Berko e S.R. Meshnick, *Mol. Biochem. Parasitol.*, **35**, 51 (1989)

Nesse modelo [62], a droga atravessaria a membrana celular como espécie neutra e chegaria ao lisossomo onde, devido ao baixo pH da organela, seria protonada e impedida de sair; nesse processo, haveria a alcalinização do lisossomo.

A principal crítica a essa proposição, é que substâncias semelhantes com pKs bastante próximos não têm a mesma atividade; assim, por exemplo, a troca de cloro por bromo não muda o pK sensivelmente mas faz com que a atividade antimalárica caia pela metade.

c. Ligação com ferriprotoporfirina IX

A ferriprotoporfirina IX liberada pelo parasita se liga ao DCQ formando um complexo com baixo valor de constante de dissociação (K_d aproximadamente igual a $3,5 \cdot 10^{-9}$ M) que seria responsável pelas propriedades antimaláricas da droga [63,64]. Esse complexo poderia agir tanto pela acumulação da droga quanto por sua própria toxicidade, talvez relacionada à aceleração da hemólise induzida por ferriprotoporfirina IX [65].

A indefinição a respeito da origem da toxicidade do complexo é a principal deficiência deste modelo, apesar de recentemente Sugioka e colaboradores [66] demonstrarem que o complexo de cloroquina com ferriprotoporfirina IX, "promover

-
- [62] C.A. Homewood, G.A. Moore, D.C. Warhurst e E.M. Atkinson, *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 35, 51 (1989)
- [63] P.B. Macomber, H. Sprinz e A.J. Tousimis, *Nature*, 214, 937 (1967)
- [64] A.C. Chou, R. Chevli e C.D. Fitch, *Biochem.*, 19, 1543 (1980)
- [65] A.C. Chou e C.D. Fitch, *J. Clin. Inv.*, 66, 856 (1980)
- [66] Y. Sugioka e M. Suzuki, *Biochim. Biophys. Acta*, 1074, 19 (1991)

fortemente a quebra peroxidativa de membranas fosfolipídicas".

Um pouco mais de consenso existe na escolha de um modelo que explique a resistência do plasmódio à DCQ: aparentemente há um bombeamento eficiente do DCQ para fora da célula [67]; a inibição desse bombeamento faria com que a droga apresentasse atividade mesmo em parasitos resistentes [68,69].

3. OBJETIVOS

Nos itens precedentes procurou-se evidenciar alguns aspectos relativos à relevância da presente investigação. O papel que os antimaláricos em foco desempenham no tratamento da doença, por si só, já justifica o interesse em seu estudo.

A carência de informações sobre sua estrutura, propriedades e comportamento químico abre um campo imenso e instigante à pesquisa. A imprecisão na determinação do mecanismo de ação terapêutico ou toxicológico e na especificação das formas de interação dessas drogas em meios

-
- [67] D.J. Krogstad, I.Y. Guzman, D.E. Kyle, A.M.J. Oduola, S.K. Martin, W.K. Milhous e P.H. Schlesinger, *Science*, **238**, 1283 (1987)
- [68] S.K. Martin, A. M. Oduola e W.K. Milhous, *Science*, **235**, 899 (1987)
- [69] A.J. Bitonti, A.S. Sjoerdsma, P. McCann, D.E. Kyle, A.M. Oduola, R.N. Rossan, W.K. Milhous e D.E. Davidson Jr., *Science*, **242**, 1301 (1988)

biológicos, caracterizam um problema de natureza multidisciplinar, cujo esclarecimento é, seguramente, tão difícil quanto necessário.

Este trabalho objetivou inicialmente, uma melhor caracterização, tanto da cloroquina quanto da primaquina, principalmente em termos espectroscópicos, apesar de terem sido empregadas, quando preciso, outras técnicas de investigação. Uma definição mais clara sobre algumas propriedades dessas drogas, pode fornecer subsídios que possam contribuir no trabalho de outros pesquisadores.

Após essa etapa, buscou-se esclarecer algumas formas de interação dessas drogas; neste caso, estudou-se a possibilidade de formação de radicais livres, complexos do tipo doador-aceptor, complexos com metais, adsorção em superfícies, etc.

Finalmente foi feita uma comparação entre as diferenças estruturais que essas aminoquinolinas apresentam e suas propriedades farmacológicas.

II. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

1. EQUIPAMENTOS

i. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

Os experimentos no infravermelho foram realizados em equipamento dispersivo Perkin Elmer, modelo 180. A região estudada foi de 4000 a 250 cm^{-1} e as amostras foram preparadas como pastilhas em KBr, filmes (no caso de líquidos) e dispersão em Nujol e/ou Fluorolube entre placas de KRS-5 que é transparente até 250 cm^{-1} .

Para a região do infravermelho próximo, entre 12000 e 5500 cm^{-1} , foi utilizado um equipamento interferométrico Bruker (IFS 48) ; as amostras sólidas foram dispersas em Nujol e colocadas entre lamínulas de vidro ou então solubilizadas em água e estudadas em cela de quartzo de caminho ótico 0,1 cm.

ii. ESPECTROSCOPIA RAMAN

Os espectros Raman foram obtidos em vários equipamentos diferentes por questões circunstanciais; foram utilizados espectrômetros de varredura e interferométricos (veja apêndice no final desta tese).

Os espectros no visível foram excitados com o auxílio de lasers de Ar^+ e Kr^+ (Spectra Physics, modelo 165), assim como o de Ar^+ do mesmo fabricante, modelo 2020. Para a região do infravermelho, foi utilizada a linha em 1064 nm de um laser de Nd-Yag (Quantronix).

Os aparelhos dispersivos utilizados, foram:

a) Jarrell Ash 25-300 com duplo monocromador Czerny-Turner, equipado com fotomultiplicadora RCA C31034A.

b) Spex 14018 com duplo monocromador e utilizando também uma fotomultiplicadora RCA C31034.

c) Spex 1877, com triplo monocromador, equipado com sistema de detecção multicanal OMA III (EG&G Princeton Applied Research).

Os espectrômetros interferométricos empregados foram os seguintes:

a) Bomem DA 3.02 com detetor de InGaAs, operado sem refrigeração. Os deslocamentos Raman registrados foram de 400 a 3600 cm^{-1} .

b) Bomem RamSpec 151, um equipamento de rotina com menos recursos que o DA 3.02, também equipado com detetor de InGaAs e operando na mesma faixa que o anterior, porém com resolução fixa em 4 cm^{-1} .

c) Bruker IFS 66, que utiliza um detetor de Germânio, refrigerado com nitrogênio líquido.

A forma de preparação da amostra, depende da natureza do experimento a ser realizado. Assim, por exemplo, uma amostra que absorva a radiação de excitação, pode se decompor e, nesses casos, utilizam-se celas rotatórias, que evitam a exposição do mesmo ponto da amostra e podem ser usadas tanto para sólidos quanto para líquidos. Ainda nestes casos, pode-se explorar um efeito de intensificação do espalhamento de radiação, que é chamado de efeito Raman ressonante (veja apêndice no final desta tese); esse efeito atua seletivamente nos modos relacionados aos grupos cromofóricos presentes e, portanto, deve-se utilizar um padrão que seja inerte em relação ao composto estudado e seja transparente à radiação de excitação, uma vez que quanto mais próximo do máximo de absorção da substância, tanto maior a intensificação observada. Os padrões mais utilizados são o sulfato, o nitrato e o carbonato de metais alcalinos, que tanto podem ser triturados com o composto, como solubilizados em água, no caso de soluções aquosas.

Muitas vezes quando o solvente é orgânico, podem-se utilizar as próprias bandas do solvente como padrão interno,

desde que, obviamente, o solvente preencha as condições acima mencionadas.

No caso das substâncias que são transparentes na região de excitação, pode-se trabalhar com soluções, líquidos e sólidos em capilares ou pastilhas.

iii. ESPECTROSCOPIA NO VISÍVEL E ULTRAVIOLETA

Nas medidas realizadas na região do visível e ultravioleta, foi utilizado um espectrômetro Beckman DU 70, para a faixa compreendida entre 190 e 920 nm; este é um equipamento de varredura e os espectros foram obtidos de dispersão em Nujol entre placas de quartzo, pastilha de KBr e soluções que foram acondicionadas em celas de quartzo, usualmente com caminho ótico de 1,0 cm.

Um equipamento multicanal, com detecção por fotodiodos também foi utilizado: o HP 8451A foi empregado nos experimentos de espectroeletroquímica, onde se trabalhou com uma cela de quartzo com caminho ótico de 0,028 cm. Detalhes sobre a parte eletroquímica encontram-se adiante, neste capítulo.

iv. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA

Também por questões circunstanciais, os espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica foram obtidos em equipamentos JEOL JES-PE, Varian E-4 e Bruker ER 200D-SRC; em todos os casos trabalhou-se em solução aquosa ou em cela plana ("flat cell") ou com a amostra em tubos plásticos permeáveis a gás (Zeus Ind. Product., Inc.) de 0,8 mm de largura e 0,05 mm de espessura de parede.

v. CAPTAÇÃO DE OXIGÊNIO

O consumo de oxigênio foi controlado tanto através de um oxígrafo (Instech, modelo 125/05) quanto de um aparelho de Warburg (modelo V 85), com recipientes de 25 mL de

capacidade (o esquema da aparelhagem encontra-se na página seguinte).

vi. ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO

As medidas de fluorescência em estado sólido foram feitas em um espectrômetro de fluorescência Hitachi modelo MPF4 acoplado a um registrador Perkin Elmer 56; o espectro de emissão (excitação em 450 nm) foi obtido em cela de vidro. No caso de soluções, foi utilizado o equipamento de fluxo da Perkin Elmer, modelo LS-30.

vii. MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em um Potenciostato e Galvanostato PARC modelo 273 (EG&G Princeton Applied Research) e registrados com o auxílio de um registrador e medidor HP 7090A. Foram utilizados como eletrodos de trabalho Pt e carbono pirolítico, como referência eletrodo de calomelano saturado e como eletrodo auxiliar platina. A cela era de vidro com capacidade para cerca de 20 mL de solução.

Os experimentos de espectroeletroquímica realizaram-se por meio de um potenciostato PARC (EG&G Princeton Applied Research), acoplado a um espectrômetro HP 8451A. Um eletrodo transparente minigril de ouro foi usado como eletrodo de trabalho, enquanto que um eletrodo de Ag/AgCl (1 M KCl) foi usado como referência e um eletrodo de platina como auxiliar. A cela de quartzo empregada tinha caminho ótico de 0,028 cm e o eletrólito de suporte era KCl 0,1 M.

Os espectros SERS foram obtidos utilizando-se o mesmo sistema eletroquímico descrito para a voltametria, exceto pelo fato de que o eletrodo de trabalho era de prata de alta pureza (99,99%). Utilizou-se um espectrômetro Raman Spex modelo 1877, com triplo monocromador e sistema de detecção multicanal OMA III (EG&G Princeton Applied Research). A excitação dos espectros foi feita com a linha 514,5 nm de um

laser de Ar^+ (Spectra Physics modelo 2020). Um esquema da cela empregada pode ser encontrado na página seguinte.

viii. TERMOGRAVIMETRIA

As curvas termogravimétricas foram feitas em equipamento Perkin Elmer, modelo Delta, serie TGA7. Os aquecimentos foram feitos em duas velocidades ($2^\circ\text{C}/\text{min}$ e $10^\circ\text{C}/\text{min}$) em atmosfera ambiente.

ix. CÁLCULOS TEÓRICOS

Alguns cálculos teóricos foram feitos utilizando o programa semi-empírico MOPAC, versão 5.0. Foi utilizado o Hamiltoniano PM3 [69].

Obtiveram-se as geometrias otimizadas, a matriz de densidade eletrônica, a matriz de ordem de ligação e a análise de população de Mulliken para ambas as drogas e respectivas espécies protonadas nos átomos de nitrogênio terminais da cadeia alifática e nos nitrogênios quinolínicos.

Os cálculos foram realizados no Laboratório de Espectroscopia Vibracional do Departamento de Química da UNICAMP, com o auxílio do Prof. Yoshiyuki Hase.

[69] J.J.P. Stewart in "MOPAC Manual - A General Molecular Orbital Package", 5^a ed., Franck J. Seiler Res. Lab., U.S. Air Force Academy, Colorado, 1987

a - Warburg

b - Cella para SERS

- 1 el. referência
- 2 el. trabalho
- 3 N_2
- 4 el. auxiliar

fig. 6

ESQUEMAS DE:

a - EQUIPAMENTO DE WARBURG

b - CELA PARA SERS

2. REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes empregados eram de grau analítico, exceto o DPQ e o DCQ que na maioria dos casos foram utilizados sem posterior purificação.

Todas as soluções utilizadas eram preparadas imediatamente antes do experimento.

No caso dos experimentos de SERS, as soluções foram feitas com água bidestilada e todo o sistema foi exaustivamente limpo e enxaguado com água bidestilada a fim de evitar possíveis contaminações, devido à sensibilidade da técnica.

Quando se trabalhou com PbO_2 , a adição do DPQ foi feita de forma lenta e sob agitação sobre uma solução de H_2SO_4 0,1 M que já continha excesso de PbO_2 . Para os outros oxidantes, misturaram-se simplesmente as soluções sob agitação.

Como várias técnicas foram utilizadas e cada uma delas exigia uma relação de concentrações diferentes, é mais conveniente que esse dado seja fornecido quando da discussão do experimento.

A preparação do cloridrato de primaquina foi feita extraíndo-se em diclorometano a base livre (forma deprotonada) a partir do difosfato da droga; a seguir foi borbulhado HCl seco nessa solução o que resultou em uma suspensão alaranjada. Essa solução foi deixada decantar, filtrada e seca, resultando num sólido alaranjado.

Para o cloridrato de cloroquina o procedimento foi o mesmo, porém não houve a separação de sólido e sim de um óleo incolor.

Em ambos os casos, excesso de HCl tornava a solução transparente a partir da qual não se obtinham sólidos e levava, com a evaporação do solvente, à formação de um óleo.

A preparação de determinados complexos está descrita quando da caracterização e discussão da espécie.

III. RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÕES

1. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA

A atribuição das transições eletrônicas em moléculas complexas não é uma tarefa fácil. Apesar dos recentes avanços na espectroscopia fotoeletrônica [70], o procedimento usualmente adotado nesses casos prende-se à comparação com moléculas correlatas mais simples, para as quais se disponha de cálculos teóricos precisos capazes de corroborar as atribuições.

A utilização de métodos ab-initio é limitada pelo número de átomos a serem considerados e, dessa forma, o cálculo dos níveis de energia em moléculas maiores normalmente é feito através de teorias simplificadas onde parâmetros empíricos são introduzidos [71].

Tanto o espectro do DPQ quanto o do DCQ podem ser discutidos através da comparação com o espectro da quinolina; esta, por sua vez, tem seu espectro analisado em função do espectro do naftaleno onde se consideram os efeitos causados pela substituição de um átomo de carbono por um de nitrogênio. Finalmente o próprio espectro do naftaleno é comparado com o do benzeno para o qual a literatura é vasta [72] .

[70] C. Cauletti e G. Distefano in "The Chemistry of Organic Selenium and Tellurium Compounds", v.2 (S. Patai ed.), John Wiley and Sons Ltd., 1987, p.1

[71] T. Clark in "A Handbook of Computational Chemistry - A Practical Guide to Chemical Structure and Energy Calculations", John Wiley and Sons, Inc., 1985, cap.4

[72] L.D. Ziegler e B.S. Hudson in "Excited States", v.5 (E.C. Lim ed.), Academic Press Inc., N. York, 1982

fig. 7 FÓRMULA ESTRUTURAL PLANA DA QUINOLINA E ALGUNS DERIVADOS

1.1. Espectros eletrônicos de hidrocarbonetos aromáticos

Os hidrocarbonetos aromáticos possuem em seu espectro três tipos principais de bandas de absorção associadas às transições dos elétrons π do sistema aromático e além disso, há uma banda fraca devida à excitação de um estado tripleto que aparece em comprimentos de onda maiores [73]. Essas 3 bandas podem ser classificadas de acordo com sua intensidade: as bandas do tipo 1 são fracas, com ϵ entre 10^2 e 10^3 L.mol⁻¹ e têm rica estrutura vibracional; as do tipo 2 tem intensidade moderada (ϵ da ordem de 10^4 L.mol⁻¹) e apresentam estrutura vibracional regular; finalmente, as do tipo 3 são bandas intensas (ϵ em torno de 10^5 L.mol⁻¹) e ocasionalmente possuem estrutura vibracional [74].

A 1^a. classificação dessas bandas foi feita por Clar [75] que as chamou de bandas alfa, p e beta. As bandas alfa são tipicamente fracas e deslocam-se para comprimentos de onda menores com o abaixamento da temperatura enquanto que as bandas p (intensidade moderada) e beta (intensas) deslocam-se para comprimentos de onda maiores; além disso,

[73] S.F. Mason, Quert. Rev. (London), 15, 287 (1961)

[74] J.N. Murrell in "The theory of the electronic spectra of organic molecules", Chapman and Hall Ltd., Londres, 1963, p.91

[75] F. Clar in "Aromastische Kohlenwasserstoffe", Springer Verlag, Berlin, 1952

as bandas alfa são menos influenciadas pelo solvente do que as bandas p e beta.

A tabela seguinte mostra para o caso do benzeno, as diferentes denominações dessas bandas [76], para cada banda de absorção.

TABELA 1 - DIFERENTES DENOMINAÇÕES DAS BANDAS DE ABSORÇÃO DO BENZENO

183 nm (47000)	207 nm (7000)	264 nm (220)
$E_{4u} \leftarrow A_{1g}$	$B_{4u} \leftarrow A_{1g}$	$B_{2u} \leftarrow A_{1g}$
E_1	E_2	B
---	K	B
A	B	C
Primária	1a. Primária	Secundária
---	Principal	---
Beta	p	alfa
1B	1L_a	1L_b

A. Benzeno e Naftaleno

Pode-se simplificar sensivelmente os cálculos dos orbitais moleculares, utilizando-se combinações de orbitais atômicos adaptados à simetria molecular, assim, pode-se usar

[76] C.N.R. Rao in "Ultraviolet and Visible Spectroscopy - Chemical Applications", Butterworth & Co. (Pub.) Ltd., 1967, p.59

a tabela de caracteres para o grupo de ponto D_{6h} , do benzeno, para verificar como os orbitais moleculares se transformam a partir das várias operações de simetria [77]. A representação redutível para o benzeno, contém representações dos tipos A_1 , B_1 , E_1 e E_2

$$\Gamma_{\text{RED}} = A_1 + B_1 + E_1 + E_2$$

Ou seja, os orbitais atômicos $2p_z$ no benzeno originam 6 orbitais moleculares (representações do tipo E são duplamente degeneradas) que se transformam de acordo com os tipos de simetria acima citados. Uma representação esquemática desses orbitais moleculares é dada na figura abaixo:

FIG 8

REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS ORBITAIS MOLECULARES DO BENZENO

Considerando para o benzeno a simetria D_{6h} , apenas as transições para estados de simetria A_{2u} e E_{1u} são

[77] G.M. Barrow in "Introduction to Molecular Spectroscopy", McGraw-Hill International Ed., 1964, p.280

permitidas, entretanto, pode ocorrer acoplamento entre um estado excitado B_{2u} (260 nm) e um modo vibracional em 925 cm^{-1} (simetria E_{2g}) e assim a simetria total ficaria

$$\Gamma = B_{2u} \times E_{2g} = E_{4u}$$

tornando o modo ativo por acoplamento vibrônico.

A banda em 200 nm deve decorrer de uma transição $\pi\text{-}\pi^*$ já que espectros de monocristais de hexametilbenzeno, usando luz polarizada, mostraram que essa banda é polarizada quase que totalmente no plano molecular [78].

Uma outra absorção muito fraca, aparece em ca. de 330 nm e corresponde à transição singlete-triplete (${}^3B_{2u} \leftarrow {}^1A_{1g}$), altamente proibida e é somente observada em presença de oxigênio.

Todos os hidrocarbonetos aromáticos com anéis condensados absorvem em comprimentos de onda maiores que o benzeno e essas transições também estão relacionadas aos elétrons π do anel [79].

A tabela seguinte mostra a relação entre as bandas do benzeno e do naftaleno:

TABELA 2 - TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS (EM nm) DO BENZENO E NAFTALENO (ξ ENTRE PARÊNTESES)

SUBST.	${}^1A \rightarrow {}^1L_b$	${}^1A \rightarrow {}^1L_a$	${}^1A \rightarrow {}^1B_b$	${}^1A \rightarrow {}^1C_b$	${}^1A \rightarrow {}^1B_a$
Benz.	260(220)	208(6900)	183(46000)	-	-
Naftal.	312(280)	290(9300)	220(133000)	190(10^4)	167(30000)

[78] R.C. Nelson e W.T.Simpson, J. Chem. Phys., 23, 1146 (1955)

[79] H.B. Klevens e J.R. Platt, J. Chem. Phys., 17, 470 (1949)

1.2. Espectros eletrônicos de Piridina e Quinolina

Do exposto acima [80], quando se substitui um grupo CH em um hidrocarboneto aromático, por um átomo de nitrogênio, poucas alterações são observadas no espectro, exceto uma ligeira intensificação da banda em comprimento de onda maior (banda $\pi\text{-}\pi^*$ proibida ou banda B). Assim, o espectro de absorção do benzeno e da piridina, naftaleno e quinolina e antraceno e acridina, são similares. A tabela seguinte reporta os valores de λ máximo e ϵ máximo para a banda B:

TABELA 3 - TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS (EM nm) DE ALGUNS COMPOSTOS AROMÁTICOS (ϵ ENTRE PARÊNTESES)

SUBSTÂNCIA	LAMBDA MÁXIMO (ϵ)	SOLVENTE
Benzeno	255 (250)	hexano
Piridina	256 (1860) 281 (ombro)	ciclohexano
Naftaleno	275 (5600) 311 (320)	álcool
Quinolina	275 (4500) 311 (6300)	hexano

A banda associada à transição $\pi^* \leftarrow n$ (banda R, do alemão Radikal [81]) que aparece em frequências menores (ca. 320 nm no naftaleno), tem sua atribuição dificultada pela pequena força do oscilador e pela superposição com a transição $\pi\text{-}\pi^*$ bem mais intensa [82]. Hiraya e

[80] C.N.R. Rao in "Ultraviolet and Visible Spectroscopy - Chemical Applications", Butterworth & Co. (Pub.) Ltd., 1967

[81] a) A. Burawoy, Ber., 63, 3155 (1930)
b) A. Burawoy, J. Chem. Soc., 1177 (1939)

[82] K.H. Becker, W. Groth e D. Thran, Chem. Phys. Lett., 56, 84 (1978)

colaboradores [83] usando feixe supersônico de quinolina, localizaram a origem da transição $n\text{-}\pi^*$ em 294 nm. As outras bandas da quinolina aparecem em 275 nm (4500) e 311 nm (6300) [84].

1.3. Espectros eletrônicos de Primaquina e Cloroquina

Apesar de anteriormente reportados na literatura [85,86], não há, até onde se tem conhecimento, nenhuma análise detalhada dos espectros de absorção no visível e UV dessas drogas. Neste trabalho, procurou-se discutir tais espectros por comparação com sistemas mais simples e além disso, buscou-se interpretar o efeito do meio e do grau de protonação nos mesmos.

A. Primaquina

As figuras seguintes mostram o comportamento do espectro de absorção eletrônica do difosfato de primaquina; as bandas observadas estão dispostas na tabela seguinte. A figura 9 refere-se à amostra no estado sólido, em pastilha de KBr (a) e dispersa com Nujol (b).

Os espectros obtidos do estado sólido são concordantes entre si, exceto pelas intensidades relativas e largura de banda o que provavelmente pode ser explicado em termos de efeito de matriz.

-
- [83] A. Hiraya, Y. Aduba, K. Kimura e E.C. Lim, J. Chem. Phys., 81, 3345 (1984)
- [84] R.A. Morton e A.J.A. de Gouveia, J. Chem. Soc., 916 (1934)
- [85] J. Krácmár e J. Krácmárová, Pharmazie, 29, 510 (1974)
- [86] Sadtler Research Lab. Inc., 1972, n° 19035 UV

FIG 9

ESPECTROS ELETRÔNICOS DE DPQ
NO ESTADO SÓLIDO
a - PASTILHA EM KBr
b - DISPERSÃO EM NUJOL

A figura 10 mostra espectros do DPQ em diferentes valores de pH (1,0 e 12), onde se evidencia a extrema dependência das frequências de transição com o grau de protonação.

Finalmente a figura 11 reporta o espectro do DPQ em metanol (a) e o da base livre (PQ) em diclorometano (b), respectivamente.

TABELA 4 - TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS DE DPQ EM VÁRIOS MEIOS
(EM nm)

KBr/Nujol	H ₂ O (pH 12,0)	H ₂ O (pH 1,0)	MeOH	CH ₂ Cl ₂
223,5	-	203,5	206,0	-
247,5	-	222,5	222,0	-
267,0	258,0	240,0 (sh)	240,0 (sh)	231,0(?)
292,0	315,5 (sh)	265,0	265,0	266,0
351,5	350,5	282,0	315,0	315(sh)
385,0	-	332,0	360,0	340(sh)
474,5	-	417,5	-	363,0

O efeito do pH : Conforme a figura 10 demonstra, há uma forte dependência do espectro de absorção com o pH; o mesmo tipo de fenômeno já foi anteriormente observado para outras aminoquinolinas [87]. Esse fenômeno pode ser relacionado com uma maior basicidade do estado excitado que assim, por ter um caráter n maior que o estado fundamental é estabilizado por formação de ligações de hidrogênio com as moléculas de H₂O

Um ciclo foi proposto por Forster [88] em 1950, como uma tentativa de correlacionar os deslocamentos espectrais e as constante de dissociação do estado excitado.

[87] S.G. Schulman, J. Pharmac. Sci., **60**, 371 (1971)

[88] Th. Forster, Zeits. Elektrochem., **53**, 42 (1950)

fig.10 ESPECTROS ELETRÔNICOS DE DPQ
EM DIFERENTES VALORES DE pH

fig.11 ESPECTROS ELETRÔNICOS DE DPQ EM:
a - CH₂Cl₂
b - METANOL

Nesse ciclo, exposto esquematicamente a seguir, são mostradas duas formas de alcançar o estado excitado de uma base a partir do estado fundamental de seu ácido conjugado. Como o ciclo é fechado têm-se que

mas E_A e E_B podem ser expressas como:

$$\Delta H + E_B = \Delta H^* + E_A ; E_B = Nh(c/\lambda') ; E_A = Nh(c/\lambda)$$

onde N = cte. de Avogadro; h = cte. de Planck; c = velocidade da luz e λ e λ' correspondem aos comprimentos de onda de absorção do ácido e da base respectivamente.

considerando então que A , A^* , B e B^* tenham estruturas vibracionais similares então λ e λ' podem ser tomados no máximo dos comprimentos de onda de absorção maiores. assim :

$$\Delta H - \Delta H^* = Nhc(1/\lambda - 1/\lambda') \quad \text{mas}$$

$$\Delta H = \Delta G + T\Delta S = 2,3 RT pK_a - T\Delta S$$

$$\Delta H^* = \Delta G^* + T\Delta S^* = 2,3 RT pK_a^* - T\Delta S^*$$

$$(pK_a - pK_a^*) + T \frac{(\Delta S - \Delta S^*)}{2,3 RT} = \frac{Nhc}{2,3 RT} (1/\lambda - 1/\lambda')$$

$$\text{Para } T = 25^\circ C$$

$$pK_a - pK_a^* = 2,10 \cdot 10^3 (1/\lambda - 1/\lambda')$$

$$\text{com } pK_a = 3,20, \lambda = 414,5 \text{ nm e } \lambda' = 354 \text{ nm}$$

Substituindo-se na equação tem-se o valor de $pK_{a^*} = 11,9$

Ou seja, o primeiro estado excitado é substancialmente mais básico que o fundamental. A transição eletrônica passa a ter, portanto, um certo caráter de transição de transferência de carga interna. Em metanol essa banda apresenta-se bastante deslocada para o UV, talvez porque o solvente (metanol) não estabilize suficientemente o estado

excitado através da formação de ligações de hidrogênio. A presença dessa banda nos espectros do sólido será discutida logo adiante.

Atribuição das transições : O espectro mais simples de ser analisado é o da base livre. Os espectros obtidos em solução aquosa (pH 12) e em diclorometano estão em acordo com o esperado a menos dos deslocamentos ocasionados pela diferença no meio. O espectro em CH_2Cl_2 é análogo ao da quinolina a menos das transições que estão relacionadas aos substituintes:

TABELA 5 - TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS (EM nm) DE PQ, QUINOLINA E DPQ

SUBSTÂNCIA	$\lambda_{\text{máx}}$				
PQ (base livre)	231	266	315	340	366
Quinolina	228	270	315	-	-
DPQ (pH 12,0)	?	258	315(sh)	-	350,5

Conforme já foi discutido anteriormente, a banda de maior comprimento de onda no espectro da quinolina possui rica estrutura vibracional e o valor de 315 nm corresponde ao centro desse conjunto de transições; além disso sabe-se que solventes inertes tendem a preservar a resolução dessa estrutura, devido à pequena interação com o soluto. Assim os ombros observados em 315 nm e 340 nm poderiam corresponder a essa estrutura vibracional. De fato, a água tende a alargar as bandas e a fazer com que a resolução se perca (conforme demonstra a figura). Nessa região são esperadas também as transições $n\text{-}\pi^*$, que no caso de compostos heteroaromáticos contendo nitrogênio, são de intensidade moderada porque são permitidas apenas pela componente 2s do orbital do orbital híbrido $2s2p^2$ [89,90,91,92]. Por esse

[89] R.C. Hirt, Spectrochim. Acta, 12, 114 (1958)

motivo, essas transições são normalmente ocultadas pelas transições $\pi\text{-}\pi^*$, bem mais intensas.

Ocorre porém que o ombro em 315 nm não pode ser atribuído a uma transição desse tipo, porque em H_2O o estado fundamental (caráter n) é estabilizado pela formação de ligações de hidrogênio ao passo que o excitado (π^*) não o é; essa estabilização leva a um aumento na energia de transição e, conseqüentemente, ocorreria um "blue shift" em água, o que não se verificou neste caso.

A banda em ca. 260 nm pode ser relacionada à transição em 270 nm na quinolina e que corresponde à banda do tipo K [89].

O espectro do difosfato de primaquina é bem mais complexo tanto em H_2O (pH 1,0) quanto em MeOH. A figura seguinte (figura 12) apresenta os espectros onde se destacam: o deslocamento da banda B (base livre = 354 nm, difosfato = 414 nm) e alteração nas intensidades relativas das bandas.

Chama a atenção o fato de que em H_2O , as bandas características das transições $\pi\text{-}\pi^*$ apresentam-se desdobradas enquanto que em metanol isso é menos evidente. Esse desdobramento provavelmente decorre do fato de que a correlação entre a simetria molecular da droga e a do benzeno leva a níveis não degenerados, uma vez que se sabe que os níveis que originam as bandas K e E são duplamente degenerados; o marcante efeito do pH na banda K já foi discutido anteriormente, e pode ser explicado pela formação de ligações de hidrogênio com a água.

Os espectros obtidos do difosfato no estado sólido (KBr e Nujol) são bastante concordantes com aqueles obtidos de solução; pode-se observar o nítido deslocamento batocrômico da banda K (420 nm em solução e 470 nm em KBr) que pode ser

[90] M. Ito, R. Shimada, T. Kuraishi e W. Mizushima, J. Chem. Phys., 26, 1508 (1957)

[91] F.M. Uber, J. Chem. Phys., 9, 777 (1941)

[92] S.F. Mason, J. Chem. Soc., 1263 (1959)

FIG. 12

ESPECTROS ELETRÔNICOS DE DPQ EM:

a - METANOL

b - SOLUÇÃO AQUOSA pH 1,0

atribuído aos efeitos característicos da matriz. O fato da banda K aparecer nessa região no sólido e em menor energia em metanol, pode ser explicado de duas formas: ou o DPQ, como o cloroquina [93,94], se apresenta na forma de um hidrato, como o indicam medidas calorimétricas que mostraram que durante o aquecimento e próximo ao seu ponto de fusão o DPQ libera água [95], ou então fortes ligações de hidrogênio entre os grupos H_2PO_4^- promovem essa estabilização. Para testar esta última hipótese foi sintetizado o cloridrato de Primaquina e os resultados obtidos estão discutidos na próxima sessão que avalia os resultados da espectroscopia vibracional.

B. Cloroquina

Devido à similaridade de estruturas, as características gerais dos espectros da DPQ e da DCQ são bastante coincidentes, exceto pela dependência acentuada com o pH que a DCQ não apresenta.

Dessa forma, também neste caso podem ser feitas as comparações com o espectro da quinolina, considerando as perturbações causadas pelos substituintes.

1.4. Interação de DPQ com oxidantes fortes

É um fato observado há já algum tempo, que quando DPQ interage com oxidantes fortes, uma banda intensa aparece no espectro visível-UV, em 552 nm.

-
- [93] S. Furuseth, J. Karlsen, A. Mostad, C. Romming, R. Salmen e H.H. Tonnesen, *Acta Chem. Scandinavica*, **44**, 741 (1990)
- [94] H.S. Preston e J.M. Stewart, *Chem. Comm.*, 1142 (1970)
- [95] M. Kuhnert-Brandstatter, A. Kofler e H.-C Rhi, *Sci. Pharm.*, **32**, 308 (1964)

fig.13

ESPECTROS ELETRÔNICOS DE DCQ EM:
a - SOLUÇÃO AQUOSA pH 1,0
b - CH₂Cl₂

FIG 14

ESPECTROS ELETRÔNICOS DE DCQ EM:

a - PASTILHA DE KBr

b - SOLUÇÃO EM METANOL

As figuras seguintes reportam os espectros do produto de oxidação da droga gerado, através de vários oxidantes diferentes (PbO_2 , Ce^{IV} e Cr^{VI}) e o seu decaimento temporal; o fato da banda de absorção apresentar-se sempre na mesma região mostra que não deve se tratar de algum tipo de complexo de transferência de carga entre o metal e o ligante.

O mesmo tipo de composto púrpura é obtido quando se aquece uma solução ácida de DPQ com iodato e bromato, mostrando definitivamente que tal reação cromogênica deve estar associada à oxidação da droga e a banda intensa observada deve corresponder a uma transição interna da mesma.

FIG 15

ESPECTROS ELETRÔNICOS DO PRODUTO DE
OXIDAÇÃO DO DPQ POR PbO_2 E Ce^{IV}

$\lambda (\text{nm}) \rightarrow$

fig.16 Decaimento temporal da banda em 552nm

2. ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL

2.1. ESPECTRO VIBRACIONAL DE PQ E CQ

As bases livres derivadas de difosfato de Cloroquina (CQ) e Primaquina (PQ), possuem 112 e 117 frequências fundamentais de vibração, respectivamente, que são ativas tanto no Raman quanto no infravermelho, por causa da baixa simetria dessas moléculas (E). Devido à complexidade dos espectros, tentou-se atribuir as bandas de absorção mais intensas dessas substâncias, por comparação principalmente com a quinolina, para a qual já há um estudo vibracional mais completo, inclusive com cálculo de coordenadas normais.

Em moléculas complexas como estas, é de se esperar que os modos estejam bastante acoplados, por esse motivo, o termo "estiramento C-N", por exemplo, referir-se-á a uma "vibração característica de compostos com ligação C-N" e não à vibração pura. Os espectros no IV estão nas figuras 17, 18 e 19.

Como a região de alta frequência pode ser atribuída de maneira inequívoca (modos de estiramento N-H em cerca de 3400 cm^{-1} , estiramento C-H aromático em $3100\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ e estiramento C-H alifático em $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$), centrar-se-á a discussão na região abaixo de 1800 cm^{-1} .

A região compreendida entre 1650 e 1550 cm^{-1} apresenta três bandas resolvidas, porém parcialmente sobrepostas: nessa faixa do espectro são encontrados os modos de deformação do N-H no plano (1620 cm^{-1} na N-metilanilina [96]), do -NH_2 (1610 cm^{-1} na n-propilamina [97] e presente apenas no

[96] A.K. Ansari e P.K. Verma, Indian J. of Pure and App. Phys., **16**, 454 (1978)

[97] F.R. Dollish et al. in "Characteristics Raman Frequencies of Organic Compounds", John Wiley and Sons, N. York, 1974

FIG 17

ESPECTROS NO INFRAVERMELHO

a - PQ

b - CQ

FIG 18

ESPECTROS NO INFRAVERMELHO DISPERSÃO EM NUJOL

a - DPQ

b - DCQ

X 1.0E+03

FIG 19

ESPECTRO FT-RAMAN DO DCQ

TABELA 6 - NÚMEROS DE ONDA (cm^{-1}) DAS BANDAS DE ABSORÇÃO DE PQ NO INFRAVERMELHO (INTENSIDADE ENTRE PARÊNTESES)

NÚMERO DE ONDA	NÚMERO DE ONDA
370 (OMBRO)	1218 (8,7)
465	1238 (1,1)
485 (LARGA CA. 2,3)	1262 (2,3)
515	1338 (2,0)
590 (OMBRO)	1390 (9,8)
628 (3,1)	1425 (8,0)
680 (2,6)	1458 (8,6)
700 (0,7)	1460 (OMBRO)
738 (3,2)	1470 (OMBRO)
793 (6,3)	1522 (10,0)
823 (7,1)	1580 (9,4)
885 (OMBRO)	1597 (8,7)
900 (1,7)	1618 (9,8)
935 (OMBRO)	1620 (OMBRO)
970 (1,4)	2850
1030 (4,6)	2930
1052 (5,7)	2958 SUPERPOSTAS
1065 (OMBRO)	2998
1115 (OMBRO)	3042
1135 (1,1)	3070 (OMBRO)
1162 (8,0)	3190 (OMBRO)
1175 (OMBRO)	3300 (OMBRO)
	3380 (4,6)

TABELA 7 - NÚMEROS DE ONDA (cm^{-1}) DAS BANDAS DE ABSORÇÃO DE CQ NO INFRAVERMELHO (INTENSIDADE ENTRE PARÊNTESES)

NÚMERO DE ONDA	NÚMERO DE ONDA
430 (mf)	1365 (OMBRO)
595 (mf)	1375 (f)
600 (mf)	1400 (mf)
645 (mf)	1420 (mf)
655 (mf)	1450 (f)
755 (m)	1460 (OMBRO)
805 (f)	1470 (OMBRO)
820 (OMBRO)	1485 (OMBRO)
850 (f)	1515 (OMBRO)
877 (f)	1520 (OMBRO)
905 (f)	1530 (OMBRO)
1050 (OMBRO)	1535 (f)
1075 (f)	1573 (F)
1130 (OMBRO)	1608 (f)
1145 (f)	2650 (mf)
1170 (mf)	2810 (mf)
1193 (f)	2870 (mf)
1210 (f)	2935 (f)
1245 (f)	2970 (m)
1275 (f)	3060 (mf)
1328 (f)	3300 (f - LARGA)
	3440 (mf)

f = fraca

mf = muito fraca

m = média

F = forte

TABELA 8 - DESLOCAMENTOS RAMAN (cm^{-1}) DO ESPECTRO
FT DE DCQ (INTENSIDADE RELATIVA ENTRE
PARÊNTESES) - EXCITAÇÃO EM 1064 nm

NÚMERO DE ONDA		NÚMERO DE ONDA	
506,7	(0,5)	1209,8	(1,3)
533,0	(0,9)	1252,0	(1,1)
594,4	(1,4)	1301,8	(0,8)
661,8	(0,3)	1320,6	(1,4)
757,6	(3,8)	1335,7	(2,0)
836,0	(0,5)	1369,9	(10,0)
865,6	(0,6)	1404,8	(4,5)
884,6	(0,9)	1424,9	(1,4)
905,8	(2,3)	1454,1	(3,7)
944,2	(0,8)	1486,8	(1,8)
967,5	(0,8)	1554,6	(5,8)
1000,8	(0,8)	1611,1	(3,0)
1021,1	(0,9)	2750,0	(0,3 - LARGA)
1033,9	(0,8)	2875,9	(1,8)
1046,0	(0,8)	2900,0	(OMBRO)
1065,9	(1,2)	2932,3	(4,2)
1100,8	(3,8)	2946,3	(3,9)
1133,4	(0,8)	2975,2	(2,9)
1160,1	(2,1)	2983,6	(3,2)
1173,2	(1,2)	3070,0	(2,6)
		3125,9	(0,7)

espectro da PQ), além dos modos do anel aromático, presentes no espectro da quinolina [98] (1623, 1597, 1571 e 1502 cm^{-1})

Entre 1550 e 1300 cm^{-1} , além dos modos relativos ao esqueleto quinolínico (1510, 1495, 1464, 1450, 1425, 1388 e 1367 cm^{-1} na quinolina), há os modos de deformação das ligações C-H da cadeia alifática, os quais usualmente se localizam em 1425-1450 cm^{-1} (deformação assimétrica) e 1383 - 1377 cm^{-1} (deformação simétrica) [99]. De qualquer forma, o modo mais intenso do espectro Raman (ca. 1380 cm^{-1}) deve corresponder ao estiramento simétrico do anel quinolínico.

O estiramento C-N da quinolina (em 1313,5 cm^{-1}) [100] não aparece no espectro da PQ; é provável que, devido aos acoplamentos existentes e aos efeitos eletrônicos causados pelos substituintes o modo que contém maior contribuição dessa vibração seja deslocado para frequências maiores (ca. 1380 cm^{-1}); na piridina, por exemplo, os estiramentos do anel situam-se em 1600 - 1430 cm^{-1} [100].

São esperados na região imediatamente abaixo (1300 - 900 cm^{-1}) os modos de vibração envolvendo o grupo metoxila: estiramento assimétrico (C-O-C) em 1245 cm^{-1} e estiramento simétrico em 1030 cm^{-1} para o metóxi-benzeno [101], sendo que ambos os modos são intensos no IV e fracas no Raman. É possível, portanto, que a banda em 1050 cm^{-1} no espectro da PQ corresponda ao estiramento simétrico da ligação (C-O-C), apesar de se encontrar também nessa região alguns modos de vibração C-H. Essa atribuição é corroborada pelo fato dessas bandas não se encontrarem presentes no espectro da CQ.

Abaixo de 900 cm^{-1} torna-se muito difícil a atribuição devido à menor correlação entre o espectro da PQ e da CQ e o

[98] S.C. Wait e J.C. MacNerney, J. Mol. Spectrosc., **34**, 56 (1970)

[99] J.H.S. Green, Spectrochim. Acta, **18**, 39 (1969)

[100] S.L. Srivastava, M. Prasad e P. Rohitashava, Spectrochim. Acta, **40A**, 681 (1984)

[101] J.H.S. Green, Spectrochim. Acta, **18**, 39 (1962)

da quinolina ou mesmo da 6-metóxiquinolina. Mesmo assim , pode-se numa primeira tentativa, atribuir as bandas da PQ em 610 cm^{-1} a uma deformação do anel no plano (611 cm^{-1} na quinolina e 626 cm^{-1} na 8-hidroxiquinolina [101]), 787 cm^{-1} à deformação C-H fora do plano (786 cm^{-1} na quinolina e 780 cm^{-1} na 8-hidroxiquinolina [101]) e 812 cm^{-1} à deformação do esqueleto fora do plano. Conforme será visto adiante, na apresentação dos espectros SER da cloroquina, essa atribuição ao modo em ca. 780 cm^{-1} é corroborada.

Na cloroquina, as bandas que aparecem entre 600 e 650 cm^{-1} são bastante fracas e em torno de 800 cm^{-1} há apenas uma banda.

2.2. ESPECTROSCOPIA RAMAN DE DPQ

Sistemas de interesse biológico usualmente dependem de meios aquosos, com frequência tamponados, o que restringe seriamente a utilização da espectroscopia no IV; para o espalhamento Raman, no entanto, a secção de choque de espalhamento da água é bastante pequena, o que torna o uso da espectroscopia Raman bastante interessante [102], principalmente pela possibilidade de explorar seus efeitos especiais de intensificação de espalhamento (veja apêndice no final desta tese).

Infelizmente, a fluorescência, seja da amostra, seja de impurezas presentes, impede ou dificulta bastante a obtenção de espectros Raman, que é um efeito de segunda ordem, portanto intrinsecamente fraco (aproximadamente somente 1 em cada 10^8 fótons sofre espalhamento Raman). Há alguns modos de se contornar o problema, que serão oportunamente discutidos.

[102] A.T. Tu in "Raman Spectroscopy in Biology Principles and Applications", John Wiley and Sons, N. York, 1982

Quando se iniciou o uso desta técnica no estudo do DPQ pretendia-se caracterizar sua ação como ácido e base de Lewis e o fato de se originarem produtos coloridos incitava a possibilidade de utilização do efeito Raman ressonante. Infelizmente a droga apresenta emissão na região do visível (590 nm), não reportada anteriormente na literatura. Várias tentativas foram feitas para contornar o problema, como a exposição prolongada (em cela giratória) à radiação laser ("photo bleaching"), preparação de complexos com quinonas e iodo, por exemplo, e nenhuma dessas tentativas foi eficiente. A única solução foi excitar o espectro com radiação fora da região visível do espectro (no infravermelho próximo - IVP) o que somente é possível com equipamentos que operam por transformada de Fourier; as razões para isso estão expostas no apêndice sobre espectroscopia Raman

No caso do DPQ foram obtidos os espectros Raman, por questões circunstanciais em equipamentos da Bruker IFS 66, Bomem (Ramspec 151) e Bomem DA 3.02. A concordância das frequências (tabela 10) elimina a possibilidade de artefatos e as pequenas variações nas intensidades podem ser atribuídas às características diferentes dos filtros, beam splitters e, principalmente dos detetores .

A figura seguinte mostra o espectro FT-Raman tanto do DPQ quanto da base livre.

A natureza do fundo presente no espectro do DPQ é ainda controversa; B. Chase [103], aventou a hipótese de se tratar da presença de metais de transição, retirados da vidraria durante a síntese da droga, entretanto, a base livre (PQ) não apresenta tal comportamento . Outra possibilidade é a de que a droga absorva radiação no IVP e como o detetor é extremamente sensível pode captar a emissão térmica resultante do processo de decaimento, mas os espectros de absorção feitos no IVP tanto em dispersão com Nujol como em

[103] B. Chase, comunicação pessoal

fig.20 Espectro FT Raman

a – DPQ

b – PQ

**TABELA 9 - DESLOCAMENTOS RAMAN (cm^{-1}) DO ESPECTRO (FT)
DO DPQ E PQ (EXCITAÇÃO EM 1064 nm)**

PQD	BASE LIVRE	PQD	BASE LIVRE
453	460	1430	1424
483		1454	1450
531			1475
775	777	1532	1521
912		1589	1594
	1030	1610	1600
1064	1049		1615
1170	1160	2880	2865
	1237	2920	2934
1293	1264	2965	2963
1309			3007
1339	1335		3055
1380	1372	3097	
	1388		3315

TABELA 10 - DESLOCAMENTOS RAMAN (cm^{-1}) DO ESPECTRO (FT)
DO DPQ EM DIFERENTES EQUIPAMENTOS

=====	
B R U K E R	B O M E M

453	
483	
531	
775	775
912	911
1064	1064
	1126
1170	1069
1293	1294
1309	1310
1339	1339
1380	1380
1430	1431
1454	1457
1532	
1589	
1610	1610
2880	2879
2920	2928
2965	2964
	2988
	3065
3097	3099

fig.21 Espectro no IVP do DPQ
solução aquosa

solução aquosa (HCl 0,1 M), não mostraram absorção alguma em torno de 9300 cm^{-1} , que é a região de operação de um laser de Nd-Yag.

Mesmo assim, no laboratório de Aplicações da Bomem (Québec), tentou-se improvisar uma cela rotatória (esquema na página seguinte) para soluções, mas os resultados não foram satisfatórios, conforme mostram os espectros que acompanham o esquema.

Outra hipótese que vale a pena ser aventada, é de que possa se tratar de um processo de absorção sequencial de 2 fótons, um fenômeno que tem aproximadamente a mesma secção de choque que o espalhamento Raman na região do NIR [104]. O laser de Nd-Yag usado como fonte de excitação no NIR emite em 1064 nm , ou seja, cerca de 2 vezes 530 nm ; para a DPQ ainda há absorção ótica em 530 nm , para a base livre não.

A DPQ absorveria portanto 2 fótons, seria levada ao estado excitado e seu decaimento térmico originaria o fundo. Daí o fenômeno ser observado para o difosfato e não para a base livre. A verificação dessa hipótese não é trivial porém algumas tentativas vem sendo implementadas.

2.3. REGIÃO DE ESTIRAMENTO O-H

A possibilidade de que o DPQ pudesse conter moléculas de água em sua estrutura cristalina, levou a um estudo mais rigoroso da região de alta frequência do espectro IV (figura 23).

No caso do DCQ é notória a presença de uma banda em ca. 3500 cm^{-1} , conforme o esperado, porém, há também uma banda larga que vai de ca. 3400 a 2200 cm^{-1} à qual se sobrepõem os modos de estiramento C-H.

Para o DPQ não se evidencia nenhuma absorção em torno de 3500 cm^{-1} , no entanto, a banda larga e intensa também está presente, o que poderia dificultar a detecção de alguma molécula de água que estivesse fortemente ligada.

[104] D.M. Friedrich, J. Chem. Ed., 59, 472 (1982)

BOMEM
MICHELSON SERIES

PRIMAQUINE AQUEOUS SOLUTION (2.RAW SPECTRUM
Res 4.00 CM-1 #Scans 192

65
Date . December 10, 1988
Time . 13hr-21min-4sec

Description. solution in a spinning cell / 1 W

fig. 22

a) Espectros FT em solução
aquosa; cela rotatória

b) Cela rotatória

FIG 23

ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DE DPQ
DISPERSÃO EM FLUOROLUBE

FIG 24

ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DE DCQ
DISPERSÃO EM FLUOROLUBE

Como os sais das drogas são difosfatos, provavelmente a estrutura larga se deve a estiramentos O-H dos íons H_2PO_4^- e por esse motivo foi preparado o cloridrato de primaquina, cujos espectros em Nujol e Fluorolube são dados a seguir

Previsivelmente, a envoltória desaparece e uma pequena banda em 3400 cm^{-1} se sobrepõe ao estiramento N-H; ocorre que o cloridrato, apesar de preparado em condições anidras, mostrou certo caráter higroscópico durante sua manipulação, o que justificaria a presença de uma pequena quantidade de água.

Esses resultados estão mais de acordo com a suposição de que são os íons H_2PO_4^- que estabilizam o estado excitado da espécie diprotonada da primaquina e não moléculas de água. Tal fato se confirma quando se obtém o espectro no visível-UV do cloridrato e a banda larga em ca. 450 nm desaparece.

2.4. PRODUTO DE OXIDAÇÃO DO DPQ: ESTUDO POR RAMAN RESSONANTE

A intensa coloração que se desenvolve quando DPQ é oxidado sugere a utilização do efeito Raman ressonante para o estudo do grupo cromofórico presente no radical.

Assim, uma solução milimolar de DPQ em H_2SO_4 0,1 M foi preparada, oxidada com PbO_2 e filtrada imediatamente. O espectro Raman ressonante foi obtido com excitação em 514,5 nm registrado entre 200 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} em equipamento Spex de varredura, na velocidade de $10\text{ cm}^{-1}.\text{s}^{-1}$, a fim de minimizar o efeito do decaimento do cromóforo.

As bandas observadas e mostradas na tabela seguinte, também apresentam com finalidade de comparação, modos de vibração de outros compostos quinolínicos. Existe uma boa concordância entre as frequências dos modos intensificados e aquelas atribuídas a vibrações do anel quinolínico,

FIG 25

ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DE CLORIDRATO
DE PRIMAQUINA - DISPERSÃO EM FLUOROLUBE

FIG 26

ESPECTRO NO INFRAVERMELHO DE CLORIRATO
DE PRIMAQUINA - DISPERSÃO EM NUJOL

sugerindo fortemente que a banda em 550 nm corresponda a uma transição do tipo π - π^* do sistema quinolínico

fig.27 Raman ressonante do produto de oxidação do DPQ

TABELA 11 - DESLOCAMENTOS RAMAN (cm^{-1})

PQD ^o	8HQ	QNL	ATRIBUIÇÃO
220	-	-	
526	527	521	Def. do anel fora do plano
596	-	-	
650	626	611	Def. do anel fora do plano
983	-	-	
1038	1027	1011	Def. do anel fora do plano
1055	1050	1031	Respiração do anel
1345	1340	1314	Respiração do anel
1382	1367	1371	Respiração do anel
1450	1427	1431	Respiração do anel
1548	-	-	
1573	1567	1571	Respiração do anel
1607	1607	1593	Respiração do anel

PQD^o - espécie oxidada de DPQ
 8HQ - 8-hidroxiquinolina
 QNL - quinolina

3. ELETROQUÍMICA

3.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

O comportamento do DPQ frente a oxidantes fortes, sugeriu o uso da voltametria cíclica com o objetivo de comparar as observações feitas em sistema químico com o E_p obtido através de um método eletrométrico. .

Testes preliminares foram feitos em eletrodo de Pt usando KCl como eletrólito de suporte, porém a formação de clorocomplexos de platina restringiu bastante a região de trabalho do eletrodo, mesmo assim, foi possível ver, como um ombro, um pico irreversível em ca. +0,82V (Eletrodo de Calomelano Saturado - ECS). Com o eletrodo de platina os eletrólitos de suporte foram o KCl 0,1 M e o H_3PO_4 também 0,1 M; a velocidade de varredura foi de 50 mV.s^{-1} e a região investigada foi de 0,0 a -1,0 V.

A próxima tentativa foi portanto com eletrodo de carbono pirolítico em H_3PO_4 0,1 M como eletrólito e obteve-se novamente um pico irreversível com máximo em +0,8 V (ECS), compatível portanto com os resultados das oxidações químicas (figura 28).

Registrando-se os voltamogramas a várias velocidades observou-se linearidade na relação $I \times v^{1/2}$ o que mostra que o processo é controlado por difusão; o potencial sofre um deslocamento de 20 mV para cada 100 mV.s^{-1} na velocidade .

A fim de verificar se a irreversibilidade relacionava-se com reações secundárias utilizou-se um recurso do plotter HP 7090A, que é um buffer de memória capaz armazenar um espectro obtido com velocidade de 20 V.s^{-1} para registrá-lo posteriormente; isso foi feito com eletrodo de Au, usando-se solução 10^{-3} M de DPQ e H_3PO_4 0,1 M como eletrólito (figura 29).

O voltamograma obtido mostra um pico de oxidação em +0,94 V, um pico de redução em +0,14 V num comportamento

ainda irreversível . Como a região varrida foi de 0,0 a 1,3 V, qualquer reação química que eventualmente ocorra, deve se processar em tempo inferior a 10^{-3} segundo.

O voltamograma cíclico da droga obtido em pH 10, não mostrou qualquer sinal de oxidação, quando o potencial foi varrido de 0,0 a 1,5 V

fig. 28

VOLTAMOGRAMAS CÍCLICOS DE DPQ EM
DIFERENTES VELOCIDADES

fig.29

VOLTAMOGRAMA CÍCLICO DA DPQ COM
VELOCIDADE DE VARREDURA DE 20 V.s^{-1}

3.2. ESPECTROELETROQUÍMICA

Um arranjo possível para um experimento de espectroeletroquímica, consiste em se utilizar um eletrodo de trabalho, em condições de espessura que lhe confira transparência no visível e no UV. No caso particular deste experimento utilizou-se um eletrodo de Au ("minigrid") com eletrodos de Ag/AgCl e Pt como referência e auxiliar, respectivamente.

A cela tem pequeno caminho ótico (0,28 mm), exatamente para permitir que toda a solução seja rapidamente oxidada. Aplicou-se inicialmente um potencial de +0,87 V (Ag/AgCl) a uma solução de DPQ em pH 1,0 e o comportamento com o tempo é mostrado na figura 30. Esse comportamento se acentua ainda mais, caso o potencial aplicado seja de +1,2 V .

Uma interpretação é a de que o potencial aplicado é inicialmente capaz de oxidar a droga que tem extrema tendência de interagir com outras moléculas que ainda não foram oxidadas, formando (por exemplo) estruturas diméricas; sabe-se por exemplo, que a posição 5 do anel do DPQ é bastante reativo. A partir de um certo momento, a concentração dessas moléculas diminui e o espectro da espécie oxidada pode ser observado (máximo de absorção em ca. 550 nm).

Para averiguar essa hipótese preparou-se uma solução de DPQ em H_2SO_4 0,1 M que foram separadas em 2 porções iguais; da primeira tirou-se imediatamente o espectro no visível/UV ; a segunda foi oxidada com PbO_2 , filtrada e também obteve-se seu espectro . A seguir, misturaram-se as duas soluções e o espectro resultante não foi a superposição de ambos, mas sim um espectro bastante similar ao obtido da espectroeletroquímica (figura 31).

O mesmo experimento espectroeletroquímico realizado em pH 7,0 mostrou comportamento bastante diferente, com ponto isobéstico em 350 nm e novas bandas em 400 nm e 500 nm, indicando que os produtos de oxidação da DPQ são fortemente

FIG 30

ESPECTROS DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA EM pH 1
INTERVALO DE TEMPO ENTRE CADA ESPECTRO CA. 1 MINUTC

fig. 31 ESPECTROS DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA

FIG 32

ESPECTROS DE ABSORÇÃO ELETRÔNICA EM pH 7
INTERVALO DE TEMPO ENTRE CADA ESPECTRO CA. 1 MINUTO

influenciados pelo pH do meio, já que na condição deste experimento a primaquina encontrava-se monoprotonada (figura 32).

4. INTENSIFICAÇÃO DE ESPALHAMENTO RAMAN POR SUPERFÍCIE

4.1. PRIMAQUINA

Alguns resultados utilizando o efeito SERS da droga adsorvida em eletrodo de Ag foram obtidos em equipamento multicanal, com tempo de integração de 1 segundo e mostram 3 conjuntos de bandas: um que vai de 1500 a 1620 cm^{-1} , composto de três bandas largas, outro que vai de 1300 a 1400 cm^{-1} onde apenas uma banda larga se distingue e, finalmente, uma única banda larga centrada em 1250 cm^{-1} que desaparece em -0,4 V (figura 33).

Conforme ilustra a figura, à medida em que o potencial se torna mais negativo, as bandas vão se tornando mais largas, até que em -1,0 V, apenas 2 bandas largas são observadas, num comportamento reversível em relação ao potencial aplicado e que não apresenta correlação com o potencial de carga zero do eletrodo.

Como a substância não é eletroquimicamente ativa nesses potenciais, uma interpretação que pode ser dada é de que à medida em que o potencial vai se tornando negativo, as moléculas de DPQ da interfase vão se empacotando. De certo modo, essa interpretação é confirmada pelo resultado obtido quando se tentou obter o espectro SER do DPQ usando equipamento de varredura. Nesse caso, um espectro registrado entre 200 e 1800 cm^{-1} demora cerca de 30 minutos para ser concluído e fornece um espectro que independe do potencial aplicado e é bastante similar ao obtido em equipamento multicanal em -1,0 V; ao final do experimento pode-se perceber a formação de um filme de coloração escura e esverdeado na superfície do eletrodo.

A tentativa de se obter o complexo de DPQ com prata forneceu um material com a mesma aparência e mesmo espectro (que foi obtido no IV).

Como se sabe, também é possível a observação de efeito SERS em eletrodo de Au, o qual pode chegar a potenciais onde

KCl

fig.33 ESPECTRO RAMAN DE DPQ ADSORVIDO EM ELETRODO DE PRATA

o DPQ é oxidado; tentou-se desse modo, obter o espectro SERR (Raman Ressonante Intensificado por Superfície) do produto de oxidação do DPQ, porém o experimento não apresentou espectro algum, talvez devido à alta reatividade da substância formada e/ou sua pouca capacidade de adsorção.

4.2. CLOROQUINA

Difosfato de cloroquina é uma das drogas antimaláricas mais empregadas, o que por si só justifica um estudo mais aprofundado de suas propriedades. Foram registrados os espectros Raman entre 600 e 1800 cm^{-1} em equipamento multicanal, com tempo de aquisição de 10 segundos.

Empregou-se eletrodo de prata e variou-se o pH, eletrólito de suporte, potencial aplicado ao eletrodo e concentração da droga.

Os espectros obtidos mostram um conjunto de bandas em 1620, 1582, 1450, 1370 e 780 cm^{-1} , todos modos do anel quinolínico, que se mantiveram inalterados na faixa de concentração estudada (de $2 \cdot 10^{-3}$ M a $4 \cdot 10^{-6}$ M), conforme mostram as figuras seguintes.

Os eletrólitos investigados foram KCl, KBr, NaClO_4 , H_2SO_4 e tampão borato. No caso do KCl e do KBr, o máximo de intensificação se dá no valor estimado para o potencial de carga zero (PCZ) do eletrodo, o que sugere a adsorção de uma espécie neutra, ou seja, sugere que o nitrogênio quinolínico não esteja protonado; realmente, em meio sulfúrico (0,1 M) não se observaram espectros em nenhum potencial.

Em pH mais elevado (tampão borato) os espectros obtidos decaem com o tempo, indicando que os íons borato não estabilizam suficientemente os centros ativos na superfície do eletrodo, como o fazem os íons cloreto, por exemplo; esse comportamento em tampão de borato está mostrado nas figuras das páginas seguintes. O papel de estabilizador dos centros ativos acaba por ser feito pela própria substância adsorvida: neste caso, pelas indicações dos espectros ,

ESPECTROS RAMAN DE DIFOSFATO DE CLOROQUINA
 ADSORVIDO EM ELETRODO DE PRATA

Counts

fig. 34

ESPECTROS RAMAN DE DCQ ADSORVIDO EM
 ELETRODO DE PRATA EM MEIO DE KCl

ESPECTROS RAMAN DE DIFOSFATO DE CLOROQUINA
 ADSORVIDO EM ELETRODO DE PRATA

fig. 35

ESPECTROS RAMAN DE DCQ ADSORVIDO EM
 ELETRODO DE PRATA EM MEIO DE KBr

ESPECTROS RAMAN DE DIFOSFATO DE CLOROQUINA
ADSORVIDO EM ELETRODO DE PRATA

fig. 36

ESPECTROS RAMAN DE DCQ ADORVIDO EM
ELETRODO DE PRATA EM MEIO DE H_2SO_4 0,1 M

Counts

ESPECTROS RAMAN DE DIFOSFATO DE CLOROQUINA
 ADSORVIDO EM ELETRODO DE PRATA

fig. 37

ESPECTROS RAMAN DE DCQ ADSORVIDO EM
 ELETRODO DE PRATA EM MEIO DE NaClO₄

ESPECTROS RAMAN DE DIFOSFATO DE CLOROQUINA
 ADSORVIDO EM ELETRODO DE PRATA
 Tampão de Borato

fig. 38

ESPECTROS RAMAN DE DCQ ADSORVIDO EM
 ELETRODO DE PRATA EM TAMPÃO BORATO

ESPECTRO RAMAN DE DIFOSFATO DE CLOROQUINA
 ADSORVIDO EM ELETRODO DE PRATA
 decaimento temporal em tampão borato $\Delta t = 1'$
 em $-0,6V$

fig.39

ESPECTROS RAMAN DE DCQ ADSORVIDO EM
 ELETRODO DE PRATA - DECAIMENTO TEMPORAL EM
 TAMPÃO BORATO NO POTENCIAL DE $-0,6 V$

ESPECTROS RAMAN DE DIFOSFATO DE CLOROQUINA
ADSORVIDO EM ELETRODO DE PRATA

DCQ 4.10^{-6} M

fig.40

através do átomo de nitrogênio quinolínico. Os espectros obtidos em perclorato apresentam, pelo mesmo motivo, uma relação sinal/ruído muito baixa.

Os espectros da droga adsorvida entre os potenciais de 0,0 V e -1,0 V permitem supor que em potenciais mais próximos de zero, as moléculas estejam competindo com os íons presentes; à medida em que o potencial se torna mais negativo, os íons vão sendo desorvidos e as moléculas agora podem se acomodar, preferencialmente de modo perpendicular à superfície, através do átomo de nitrogênio quinolínico. Em potenciais mais negativos do que o PCZ, a molécula tende à orientação paralela, pela interação dos elétrons "pi" da cloroquina, com o metal.

Essa interação, que poderia ser enxergada como uma transferência de carga do metal para um orbital vazio (antiligante) da droga, explicaria o aparecimento de uma banda em 1350 cm^{-1} (1370 cm^{-1} deslocada) e a intensificação do modo em 1580 cm^{-1} para potenciais em torno de -1,0 V.

Essa hipótese é corroborada quando se examinam os espectros obtidos com concentração de 4.10^{-6}M da droga; devido à baixa concentração superficial o "tombamento" da molécula é favorecido e, em KCl, já em -0,6 V a banda mais intensa é a em 1580 cm^{-1} e não a em 1620 cm^{-1} .

Medidas de capacitância na interfase do eletrodo, que permitiriam obter informações sobre a estrutura da dupla camada e consequentemente sobre a orientação da droga na superfície do eletrodo, foram tentadas pelo Prof. Bulhões, da Universidade Federal de São Carlos, porém a interferência do eletrólito de suporte impediu a obtenção de qualquer resultado conclusivo.

5. ESPECTROSCOPIA DE RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA

Como já foi dito anteriormente, a ação de oxidantes fortes sobre soluções de DPQ leva ao aparecimento de uma coloração púrpura bastante intensa. É fato sabido que nesse tipo de oxidação, é comum a formação de espécies radicalares as quais, em alguns casos, apresentam valores bastante elevados de ϵ . Por esse motivo, essa solução altamente colorida foi investigada através de espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE).

O espectro de RPE de uma solução 0,1 M de DPQ em meio sulfúrico (0,1 M), oxidada por PbO_2 mostra 3 linhas (figura 41a) e independe do oxidante utilizado, uma vez que o mesmo espectro é observado quando se emprega Ce^{IV} (figura 41b); no caso do dicromato há interferência por causa do paramagnetismo que o metal apresenta.

Uma vantagem que advém do uso de soluções de Ce^{IV} , é a possibilidade de controle da concentração relativa de oxidante e substrato, conseqüentemente levando ao ajuste da concentração de radical: concentrações radicalares altas levam ao alargamento da linha [105] e conseqüentemente à perda de resolução. A figura 42 reproduz o espectro obtido com Ce^{IV} , quando se parte de micromoles de DPQ e excesso (4 vezes) de Ce^{IV} ; não foi possível conseguir uma melhor resolução, mesmo trabalhando-se com valores menores de modulação de amplitude (figura 43).

Do mesmo modo que a coloração púrpura, esse sinal decai com o tempo e vai sendo paulatinamente substituído por outro, com uma só linha bastante larga, que tem uma dependência temporal bem menos acentuada. A figura seguinte (fig. 44) mostra as modificações que ocorrem no espectro com o passar do tempo; a solução de DPQ (0,1 M), oxidada com

[105] R.S. Alger in "Electron Paramagnetic Resonance Techniques and Applications, Interscience Pub., USA, 1968, p.46

PQ + Ce^{IV}
MA 1,0
Amp. $2,5 \cdot 10^2$
Resp. 0,1
SR 8 minutos
Campo 3440 G
largura 80 G
Potência 15 mW

fig.42

ESPECTRO DE RPE DE DPQ OXIDADO POR Ce^{IV}

MA 0,8

fig.43

ESPECTROS DE RPE DE DPQ OXIDADO POR Ce^{IV}
EFEITO DA MODULAÇÃO DE AMPLITUDE

fig.44

ESPECTROS DE RPE DE DPQ OXIDADO POR PbO_2
DECAIMENTO TEMPORAL

PbO₂, apresentava-se púrpura no início do experimento e marrom ao seu final.

É provável que sejam vários os mecanismos envolvidos nesse decaimento, incluindo as reações de terminação radical-radical e radical-solvente, porém, os experimentos empregando espectroscopia no visível/UV mostram que a adição de uma solução de DPQ à solução púrpura leva ao desaparecimento quase que total da banda em 552 nm. Isso sugere que o radical que se forma inicialmente seja altamente reativo e tenha uma grande afinidade pela espécie diprotonada da droga, dessa forma, pode-se esperar a formação de produtos de condensação:

Realmente, conforme já foi mencionado, a própria impossibilidade de se obter o espectro de C¹³ do produto final de decaimento mesmo com 12 horas de tempo de aquisição, mostra que os produtos resultantes tem massa molecular bem maior do que a da Primaquina.

A pouca resolução do espectro e as bandas largas tornam difícil a análise do mesmo, ainda assim, foi feita uma tentativa de simulação digital do espectro melhor resolvido e, para tanto, fêz-se a adaptação de um programa gentilmente cedido pela Profa. Ohara Augusto (deste Instituto) e buscou-se na literatura valores de separações hiperfinas para radicais orgânicos correlatos.

Infelizmente, esse programa não é dimensionado para a aquisição direta de dados do espectrômetro, nem tampouco busca automaticamente a convergência entre os valores de

fig. 45

SIMULAÇÃO DE ESPECTRO DE RPE

separações teóricos e calculados*, o que faz com que o êxito de de uma simulação de espectro de espécies radicalares mais complexas seja quase que totalmente uma obra do acaso.

A figura 45 reporta os resultados obtidos com a simulação usando o seguinte conjunto de dados:

TABELA 12 - PARÂMETROS PARA SIMULAÇÃO DE ESPECTROS DE RPE

SEPARAÇÃO HIPERFINA		SPIN	No. DE NÚCLEOS EQUIVALENTES

1	8,5 mT	1/2	1
2	3,4 mT	1	1
3	1,0 mT	1	1
4	2,0 mT	1/2	2
5	1,0 mT	1/2	2
6	0,5 mT	1/2	2

largura de linha = 1,0 mT

Cabe frisar que mesmo que a simulação fosse perfeita, o que obviamente não é o caso, ter-se-ia apenas um conjunto de dados adequados à satisfação das condições estabelecidas para a simulação, mas não necessariamente o único conjunto. Assim, qualquer cálculo (exceto talvez alguns cálculos "ab-initio") deve ser considerado um sustentáculo adicional para um modelo previamente estabelecido.

De qualquer maneira, a simples observação do espectro leva à constatação de que o elétron desemparelhado deve estar bastante deslocalizado pelo sistema aromático, porque é evidente a contribuição de vários spins nucleares.

Resta determinar o sítio primário de oxidação da droga. Como já foi dito anteriormente neste item, há uma correlação entre o espectro de RPE e a banda de absorção em 552 nm, além disso, o aparecimento dessa banda está bastante

* O equipamento atualmente em funcionamento (Bruker) conta com esse recurso

vinculada ao pH do meio, conforme mostrou o experimento de espectroeletrólítica. Na faixa de pH estudada, no entanto, apenas o nitrogênio quinolínico é sensível à protonação (pK_a de 3,20) assim, é de se esperar que a banda em 552 nm esteja relacionada à uma transição interna de um radical que se forme a partir da espécie biprotonada da droga.

Cumprir lembrar, que em compostos aromáticos a separação hiperfina pode ser usada para medir a densidade de elétrons desemparelhados sobre um determinado núcleo [106]. A relação entre a separação hiperfina e essa densidade de carga é dada pela equação:

$$a_j = Q \cdot p_j$$

onde Q é a integral de troca intra e interatômica e p_j é a probabilidade de encontrar um elétron desemparelhado em um orbital p . Q é usualmente obtido de forma empírica e varia de 22 a 30 mT [107].

A maior densidade de elétrons desemparelhados estaria portanto, sobre o nitrogênio quinolínico e sobre o próton ligado diretamente a ele.

Devido à existência de três sítios de protonação, torna-se importante analisar o efeito do pH nos espectros de RPE, entretanto, aqui surgem alguns problemas em relação aos oxidantes: a solução de Ce^{IV} é solúvel somente em meio bastante ácido, caso contrário sofre hidrólise, o dicromato apresenta paramagnetismo, enquanto que o potencial de oxidação do PbO_2 é largamente dependente do pH do meio (1,46 V em meio ácido e 0,28 V em meio alcalino) [108]. Mesmo assim, como o dióxido de chumbo IV era o único passível de utilização, foi empregado no pH 1,0, 3,5 e 8,0. Para pH 1,0 os resultados obtidos já foram apresentados nos parágrafos anteriores.

[106] H.M. McConnell, J. Chem. Phys., 24, 632 (1956)

[107] H.M. McConnell, J. Chem. Phys., 24, 764 (1956)

[108] J.D. Lee in "Química Inorgânica - um novo texto conciso", Ed. Edgard Blucher Ltda, São Paulo, 1980, p. 176

fig. 46

ESPECTROS DE RPE DE DPQ OXIDADO POR PbO_2
EM MEIO DE KCl 0,1 M (pH EM TORNO DE 3,5)

Em pH 3,5 ocorre o aparecimento do espectro de uma nova espécie radicalar com três linhas e aspecto típico de nitróxido (fig. 46). Justificar a existência dessa espécie como sendo decorrente da presença de monofosfato de Primaquina (MPQ) (o pK_2 da droga é 3,2) não é uma boa opção porque, nesse caso, a elevação do pH (e, conseqüentemente, aumento na concentração de MPQ) favoreceria a formação do radical, o que não ocorre.

Nessas circunstâncias, resta avaliar o papel que o pH do meio tem sobre as propriedades químicas do PbO_2 . Se é que se pode fazer uma analogia, o $KMnO_4$ transfere com bastante facilidade, átomos de oxigênio para a espécie oxidada sendo que esse fato é usado para explicar certos mecanismos de reações orgânicas. Outra evidência, é que Augusto e col. [109] trabalhando praticamente no mesmo pH com o sistema H_2O_2 e HRP, não detectou esse radical e sim uma outra espécie radicalar completamente diferente; nesta suposição, então, o PbO_2 transferiria átomos de oxigênio para o DPQ oxidado, formando um nitróxido relativamente estável nesse pH.

Em pH mais elevado (em torno de 7,0), é necessário aumentar muito a concentração de DPQ e, nessas condições, há uma grande variação de propriedades importantes do sistema, como potencial de oxidação do PbO_2 e a solubilidade da droga. Assim, as informações obtidas são apenas qualitativas, mas servem para indicar a possibilidade de formação de espécies radicalares mais complexas, envolvendo provavelmente produtos de condensação e ciclização.

Várias tentativas foram feitas ainda, no sentido de gerar espécies radicalares de DPQ no estado sólido (teoricamente mais estáveis), através da utilização de raios-X. A utilização da amostra pura, sem nenhum eluente provoca o aparecimento apenas de uma banda larga; por outro lado, quando se tenta diluir a amostra com algum haleto

[109] O. Augusto, J. Schreiber e R.P. Mason, Biochem. Pharmacol., 37, 2791 (1988)

fig. 47

ESPECTROS DE RPE DE DPQ OXIDADO POR PbO_2
EM MEIO ALCALINO

fig. 48

ESPECTROS DE RPE DE DPQ NO ESTADO SÓLIDO
IRRADIADO COM RAIOS-X

alcalino por exemplo, surgem os centros de cr que so defeitos na estrutura cristallina que absorvem luz visvel. Curiosamente o exemplo mais simples de um centro de cr um centro F (do alemo "Farbe" que significa cr) que foi identificado por RPE como sendo um eltron ligado a uma vacncia [110].

[110] A.F. Kip, C. Kittel, R.A. Levy e A.M. Portis,
Phys. Rev., 91, 1066 (1953)

6. CAPTAÇÃO DE OXIGÊNIO

Como já foi descrito pormenorizadamente no capítulo II desta tese, a possibilidade de que a reação de oxidação do DPQ consumisse oxigênio foi investigada tanto através de um "oxígrafo" quanto de um aparelho de Warburg.

6.1. "Oxígrafo"

Os primeiros resultados empregando esta técnica foram obtidos utilizando-se Ce^{IV} como oxidante e indicavam que havia um consumo proporcional à quantidade de oxidante adicionada. Quando o experimento foi repetido com dicromato de potássio, os resultados não foram concordantes, uma vez que não se observava consumo significativo de O_2 .

O próximo oxidante a ser testado deveria ser o PbO_2 , mas este poderia aderir à superfície da membrana que reveste o eletrodo e alterar o fluxo de oxigênio pela mesma. Uma solução para este caso foi a utilização de um aparelho de Warburg, que mede o consumo de O_2 total e não somente o dissolvido na solução.

6.2. Aparelho de Warburg

Tanto o sistema DPQ/Pb_2 quanto o $\text{DPQ/Ce}^{\text{IV}}$ foram investigados.

No primeiro caso, foram preparados três conjuntos diferentes de sistemas, cada um deles em duplicata, resultando na utilização simultânea de 6 frascos:

FRASCO PRINCIPAL (2,7 mL)		RECIPIENTE LATERAL
conj. 1	H_2SO_4 0,1 M	PbO_2
conj. 2	$\text{DPQ } 5 \cdot 10^{-3}\text{M}$	H_2SO_4
conj. 3	$\text{DPQ } 5 \cdot 10^{-3}\text{M em } \text{H}_2\text{SO}_4$ 0,1 M	PbO_2

Os dois primeiros sistemas são simples controles. Nessas condições, existem presentes no sistema 13,5 μmoles de DPQ e ao final de 90 minutos, não houve mais variações significativas de pressão nesses sistemas conforme pode ser visto na figura da página seguinte; os valores finais obtidos estão, entretanto, dentro da flutuação experimental quando é feita uma comparação com os controles.

Os resultados em termos numéricos, estão expostos na tabela abaixo:

TABELA 13 - CAPTAÇÃO DE O_2 EM APARELHO DE WARBURG

TEMPO (min)	A (μmoles)	B (μmoles)	C (μmoles)
0	0,00	0,00	0,00
3	-0,15	-0,10	-0,14
5	-0,14	-0,10	-0,14
10	-0,14	-0,13	-0,10
20	-0,20	-0,22	-0,08
30	-0,25	-0,33	-0,17
60	-0,34	-0,32	-0,10
90	-0,24	-0,32	-0,10

A = DPQ/ H_2SO_4 ; B = DPQ/ $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{PbO}_2$; C = $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{PbO}_2$

Concentração de DPQ = 13,5 $\mu\text{moles}/2,7 \text{ mL}$

Concentração de H_2SO_4 = 0,1 M

Num outro experimento, utilizou-se Ce^{IV} e os resultados obtidos foram análogos àqueles do experimento com PbO_2 .

TABELA 14 - CAPTAÇÃO DE O₂ EM APARELHO DE WARBURG

TEMPO (min.)	A (μmols)	B (μmols)	C (μmols)
0	0,00	0,00	0,00
3	0,15	0,09	0,09
10	0,00	-0,10	-0,17
20	0,04	-0,14	-0,33
30	0,04	-0,14	-0,36
57	0,11	-0,11	-0,40
107	0,11	-0,12	-0,25

A = DPQ/H₂SO₄; B = Ce^{IV}/H₂SO₄ ; C = Ce^{IV}/DPQ/H₂SO₄

Concentração de Ce^{IV} = 15 μmols/2,7 mL

Concentração de DPQ = 13,5 μmols/2,7 mL

Concentração de H₂SO₄ = 0,1 M

Essa aparente disparidade entre os resultados obtidos com Ce^{IV} no oxígrafo e no aparelho de Warburg talvez possa ser explicada se considerarmos a necessidade de meios extremamente ácidos que os sais de cério necessitam para se solubilizarem; a elevação do pH pode levar à hidrólise do sal que poderia se depositar sobre a membrana do eletrodo e modificar o fluxo do gás, da mesma forma que o PbO₂ o faria

CAPTACAO DE OXIGENIO

Aparelho de Warburg

Acido sulfurico com PbO₂
Concentracao de oxigenio em μ mols

DPQ em acido sulfurico
Concentracao de oxigenio em μ mols

DPQ oxidada por PbO₂ (meio sulfurico)
Concentracao de oxigenio em μ mols

7. TERMOGRAVIMETRIA

A curva termogravimétrica (TG) e a sua primeira derivada (DTG) foi utilizada com a finalidade de verificar a presença ou não de moléculas de água na estrutura cristalina da DPQ, como é o caso da cloroquina. Essa questão não pode ser esclarecida através da espectroscopia no IV, devido à presença das espécies H_2PO_4^- que poderiam interferir.

O equipamento utilizado já foi descrito no Capítulo 2 desta tese e o aquecimento foi realizado com o sistema aberto à atmosfera.

As figuras seguintes expõem os resultados obtidos (tanto a curva TG quanto a curva DTG) em ambos os casos, para as duas razões de aquecimento, quais sejam $2^\circ\text{C}/\text{min}$ e $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

No que diz respeito ao DCQ, uma perda de massa nítida é observada em cerca de 100°C (4,5% de perda de massa) e deve corresponder à liberação da molécula de água de hidratação; próximo ao ponto de fusão ocorre outra perda de massa mais pronunciada, cuja explicação se torna mais difícil, uma vez que não existe reportada a decomposição da droga durante a fusão. Os picos seguintes que aparecem estão relacionados com a decomposição térmica total do produto.

Já no caso do DPQ, encontra-se descrito na literatura, que sua fusão é seguida de decomposição, o que fica evidenciado no termograma, entretanto, antes do pico de decomposição, há uma pequena perda de massa que poderia estar relacionada à perda de uma molécula de água, que estaria fortemente ligada à estrutura do DPQ conforme observações feitas por outros autores, que ao fundir um pouco do sal ao qual havia sido colocada uma gota de óleo mineral, viram surgir, próximo ao ponto de fusão, pequenas bolhas, o que seria um indicativo da presença de água. Não se deve, entretanto, considerar esse experimento como conclusivo porém, como um indicativo adicional à observação de outros autores.

Analogamente ao DCQ, os outros picos dos diagramas DTG devem corresponder à decomposição da amostra.

Essa questão da presença ou não de água poderia a princípio ser facilmente resolvido através de espectroscopia no infravermelho, mas alguns problemas foram encontrados. Como esses problemas foram contornados e as conclusões obtidas estão discutidas no item III.2 desta tese e no capítulo final.

fig. 51

CURVAS DE TG E DTG DO DIFOSFATO DE
 CLOROQUINA EM DUAS VELOCIDADES DE
 AQUECIMENTO DIFERENTES

fig. 50

CURVAS DE TG E DTG DO DIFOSFATO DE
PRIMAQUINA EM DUAS VELOCIDADES DE
AQUECIMENTO DIFERENTES

8. ESPECTROSCOPIA DE EMISSÃO

Na introdução desta tese foi dito que não havia nada reportado na literatura acerca da fluorescência da DPQ.

Uma verificação bibliográfica mais rigorosa, revelou um artigo sobre a determinação fluorimétrica, após fotólise, do DPQ em amostras de sangue; nesse artigo, os autores [111] afirmam que o DPQ tem uma fluorescência muito fraca, o que os levou a fotolisar uma solução da droga e assim obter um material com rendimento quântico maior. A excitação foi feita em 288 nm e o máximo de emissão apareceu em 370 nm (solução de ácido fosfórico).

Irvin e Irvin [112] estudaram a Pamaquina, um análogo à Primaquina, porém com os hidrogênios ligados ao nitrogênio da cadeia alifática, substituídos por grupos etila (veja capítulo I desta tese), que atestaram ser "praticamente não fluorescente quando irradiado pela luz do sol ou pela linha 365 de uma lâmpada de mercúrio".

Num outro trabalho, Walden e col. [113] ao elaborarem um sistema para detecção de tempos de vida de espécies fluorescentes, testaram várias drogas, dentre elas o DPQ (tempo de vida de 1,3 ns), mas não há informações sobre máximos de emissão.

Schulman e col. [114] procuraram reinvestigar o espectro de emissão da Pamaquina, mas utilizaram reagentes sem purificação prévia, sendo que estes sabidamente podem conter impurezas que induzam a resultados enganosos.

[111] M. Tsuchiya, E. Torres, J.J. Aaron e J.D. Winefordner
Anal. Lett., 17, 1831 (1984)

[112] J.L. Irvin e E.M. Irvin, J.Biol. Chem., 174, 589
(1948)

[113] G.L. Walden e J. D. Winefordner, Spectrosc. Lett.,
13, 793 (1980)

[114] S.G. Schulman e K. Abate, J. Pharm. Sci., 61, 1576
(1972)

Nossos espectros de emissão da amostra no estado sólido mostram uma emissão relativamente fraca em 595 nm (excitação em 450 nm, figura 52a) que ainda não havia sido reportada na literatura; em solução aquosa (pH 11) esse máximo se desloca para 515 nm (excitação em 350 nm) (fig. 52b).

Estudos de soluções em pH 0 em equipamento de fluxo, mostraram que com excitação feita em 264 nm há, realmente, uma emissão fraca em 370 nm; o mesmo se observou em pH 5, porém não em pH 11 já que essa banda não é mais detectável (figura 53).

Devido ao baixo rendimento quântico das emissões da amostra, torna-se muito arriscado considerar as outras emissões presentes nos espectros.

fig. 52 Espectro de emissão

fig.53 Espectros de emissão de DPQ

9. CÁLCULOS TEÓRICOS

Numa tentativa de compreender melhor a reatividade e o processo de oxidação do DPQ, foram feitos alguns cálculos teóricos utilizando o programa MOPAC versão 5,0.

No caso do DCQ, como haviam dados de raio-X para o monohidrato [115] as coordenadas experimentais foram usadas; para o DPQ, como não havia essa facilidade, empregaram-se as distâncias e ângulos do DCQ, porém utilizando-se um modelo molecular, ajustaram-se os ângulos diédricos para que mais se aproximassem dos esperados experimentalmente [116].

Como houve uma boa concordância entre os parâmetros geométricos calculados e os experimentais para o DCQ é de se supor que o mesmo ocorra para o DPQ. As diferenças observadas no caso do DCQ devem-se provavelmente à presença dos íons H_2PO_4^- na estrutura cristalina e mesmo à molécula de água que podem alterar certas distâncias internucleares e certos ângulos de ligação; obviamente o cálculo teórico não leva esses fatores em consideração.

Os valores de densidade de carga não estão de acordo com os esperados nem tampouco os autovalores obtidos, assim, destes cálculos obtêm-se os parâmetros geométricos que foram otimizados como mínimos relativos de energia.

Finalmente, os outros dados fornecidos (entalpia de formação, dipolo e potencial de ionização), não há para essas drogas valores disponíveis na literatura que permitam uma comparação, porém este tipo de programa está otimizado para fornecer parâmetros dessa natureza.

[115] S. Furuseth, J. Karlsen, A. Mostad, C. Romming, R. Salmen e H. Tonnesen, *Acta Chem. Scandinavica*, **44**, 741 (1990)

[116] C.D. Hufford, J. D. McChesney e J.K. Baker, *J. Heteroc. Chem.*, **20**, 273 (1983)

TABELA 15 - COMPARAÇÃO ENTRE AS DISTÂNCIAS INTERNUCLEARES
OBTIDAS TEORICAMENTE (MOPAC VERSÃO 5.0) E
OBTIDAS EXPERIMENTALMENTE

LIGAÇÃO	DISTÂNCIA INTERNUCLEAR	
	MOPAC Å	RAIO-X Å
C11-C2	1,656876	1,732(4)
C2 -C3	1,419697	1,402(5)
C3 -C7	1,367981	1,367(5)
C7-C10	1,421272	1,423(5)
C10-C9	1,421234	1,447(5)
C9-N11	1,403782	1,377(4)
N11-C12	1,351823	1,331(5)
C12-C14	1,402526	1,361(5)
C14-C16	1,388578	1,412(5)
C16-C10	1,429221	1,447(5)
C16-N17	1,455183	1,340(5)
C2 -C5	1,380531	1,380(5)
C9 -C5	1,416176	1,391(5)
N17-C19	1,502277	1,471(5)
C19-C21	1,522639	1,523(5)
C19-C25	1,536473	1,526(5)
C25-C28	1,524681	1,515(5)
C28-C31	1,525016	1,507(5)
C31-N34	1,525669	1,506(5)
N34-C42	1,529765	1,502(5)
C42-C45	1,515608	1,506(6)
N34-C35	1,529765	1,512(5)
C35-C38	1,512237	1,506(6)

SUMMARY OF PM3 CALCULATION

VERSION 5.00

C18 H28 N3 C1

Mon Jun 24 17:30:03 1991

CHLOROQUINA

HERBERTS TEST WAS SATISFIED IN BFGS
SCF FIELD WAS ACHIEVED

```

HEAT OF FORMATION      =      355.543020 KCAL
ELECTRONIC ENERGY     =     -26592.507376 EV
CORE-CORE REPULSION    =     23239.092887 EV
TOTAL ENERGY          =     -3353.414490 EV
GRADIENT NORM          =       8.968284
DIPOLE                  =      11.62986 DEBYE
NO. OF FILLED LEVELS   =       60
CHARGE ON SYSTEM       =       2
IONIZATION POTENTIAL   =      14.557802 EV
MOLECULAR WEIGHT       =      321.892
SCF CALCULATIONS       =      144
COMPUTATION TIME = 4 HOURS 39 MINUTES AND 17.000 SECONDS

```

FINAL GEOMETRY OBTAINED
PM3 BONDS DENSITY MULLIK T=30000 CHARGE=+2
CHLOROQUINA

CHARGE

C1	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	0.2341
C	1.656876	1	0.000000	0	0.000000	0	1	0	0	-0.0857
C	1.419697	1	119.103774	1	0.000000	0	2	1	0	-0.0454
H	1.099458	1	118.720115	1	0.518106	1	3	2	1	0.1467
C	1.380531	1	120.678551	1	-179.125986	1	2	3	4	-0.1347
H	1.100370	1	119.699606	1	179.430679	1	5	2	3	0.1521
C	1.367981	1	120.403304	1	0.566417	1	3	2	5	-0.0686
H	1.103152	1	119.756237	1	-177.979292	1	7	3	2	0.1279
C	1.416176	1	118.923322	1	-0.543070	1	5	2	3	-0.1349
C	1.421272	1	121.061122	1	0.466618	1	7	3	2	-0.0673
N	1.403782	1	119.481022	1	179.571395	1	9	5	2	0.5230
C	1.351823	1	121.052580	1	-0.495330	1	11	9	10	-0.1213
H	1.105012	1	118.685880	1	179.866124	1	12	11	9	0.1705
C	1.402526	1	121.050560	1	-0.360141	1	12	11	9	-0.1181
H	1.100279	1	118.718338	1	-179.259241	1	14	12	11	0.1613
C	1.388578	1	120.183735	1	0.023302	1	14	12	11	0.0642
N	1.455183	1	124.554142	1	175.386649	1	16	10	9	-0.0318
H	0.999394	1	108.370163	1	-60.204154	1	17	16	10	0.0791
C	1.502277	1	116.087950	1	64.600945	1	17	16	10	-0.0640
H	1.129684	1	108.739472	1	-56.012831	1	19	17	16	0.0681
C	1.522639	1	110.990664	1	63.817843	1	19	17	16	-0.1260
H	1.103440	1	111.487350	1	71.302009	1	21	19	17	0.0524
H	1.098601	1	110.522358	1	-169.541246	1	21	19	17	0.0677
H	1.097854	1	112.341158	1	-49.673632	1	21	19	17	0.0540
C	1.536473	1	110.171784	1	-173.108746	1	19	17	16	-0.0975
H	1.109948	1	110.382803	1	58.432599	1	25	19	17	0.0668
H	1.110594	1	107.365224	1	172.939253	1	25	19	17	0.0759
C	1.524681	1	113.836200	1	-65.543465	1	25	19	17	-0.1197
H	1.109454	1	109.971421	1	68.910291	1	28	25	19	0.0779
H	1.116662	1	108.625907	1	-46.579664	1	28	25	19	0.0831
C	1.525016	1	109.818870	1	-168.701268	1	28	25	19	-0.2367
H	1.121099	1	110.719799	1	57.488764	1	31	28	25	0.1255
H	1.115760	1	110.182388	1	-59.316656	1	31	28	25	0.1159
N	1.525669	1	112.867070	1	179.118286	1	31	28	25	0.6038
C	1.529765	1	110.441287	1	147.064029	1	34	31	28	-0.2179
H	1.120221	1	108.198059	1	87.392674	1	35	34	31	0.1247
H	1.114353	1	108.572906	1	-27.275933	1	35	34	31	0.1123
C	1.512237	1	112.053736	1	-149.956456	1	35	34	31	-0.1404
H	1.099801	1	112.803154	1	60.540524	1	38	35	34	0.0688
H	1.099821	1	112.730479	1	-62.226954	1	38	35	34	0.0714
H	1.100771	1	109.476865	1	179.149755	1	38	35	34	0.1039
C	1.530121	1	111.160282	1	-89.211036	1	34	31	28	-0.2072
H	1.112884	1	108.624469	1	60.690651	1	42	34	31	0.1064
H	1.113811	1	108.838220	1	175.969674	1	42	34	31	0.1189
C	1.515608	1	112.268385	1	-61.694261	1	42	34	31	-0.1405
H	1.103723	1	111.494103	1	61.402698	1	45	42	34	0.0640
H	1.098604	1	110.518281	1	-178.773597	1	45	42	34	0.1062
H	1.104152	1	111.683181	1	-58.196573	1	45	42	34	0.0734
H	0.993466	1	118.552490	1	-0.533131	1	11	9	5	0.0942
H	1.007608	1	108.352309	1	28.708017	1	34	31	28	0.0633
O	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	

SUMMARY OF PM3 CALCULATION

VERSION 5.00

C18 H27 N3 C1

Mon Jun 24 16:53:26 1991

CHLOROQUINA

HERBERTS TEST WAS SATISFIED IN BFGS
SCF FIELD WAS ACHIEVED

```

HEAT OF FORMATION      =      167.466879 KCAL
ELECTRONIC ENERGY     =    -26436.775411 EV
CORE-CORE REPULSION    =     23090.537961 EV
TOTAL ENERGY          =    -3346.237450 EV
GRADIENT NORM          =      11.439576
DIPOLE                 =     25.91272 DEBYE
NO. OF FILLED LEVELS   =        60
CHARGE ON SYSTEM       =         1
IONIZATION POTENTIAL   =     10.883943 EV
MOLECULAR WEIGHT       =     320.884
SCF CALCULATIONS       =       153
COMPUTATION TIME = 7 HOURS 46 MINUTES AND 30.000 SECONDS

```

FINAL GEOMETRY OBTAINED
RESTART PM3 BONDS DENSITY MULLIK T=30000 CHARGE=+1
CHLOROQUINA

										CHARGE
Cl	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	0.1060
C	1.679543	1	0.000000	0	0.000000	0	1	0	0	-0.1295
C	1.414895	1	118.886874	1	0.000000	0	2	1	0	-0.0783
H	1.096243	1	118.944430	1	0.516355	1	3	2	1	0.1212
C	1.371191	1	120.600548	1	-179.347839	1	2	3	4	-0.0635
H	1.098672	1	120.427998	1	179.799521	1	5	2	3	0.1387
C	1.369242	1	120.017542	1	0.197632	1	3	2	5	-0.1029
H	1.100144	1	119.513058	1	-177.975604	1	7	3	2	0.1021
C	1.419040	1	119.971723	1	-0.099104	1	5	2	3	-0.0112
C	1.418670	1	121.128651	1	0.450468	1	7	3	2	-0.0869
N	1.389978	1	119.355527	1	179.404262	1	9	5	2	-0.0381
C	1.320206	1	121.129567	1	-0.361309	1	11	9	10	-0.0509
H	1.096422	1	116.990794	1	179.961931	1	12	11	9	0.1275
C	1.422690	1	120.848478	1	-0.247413	1	12	11	9	-0.1269
H	1.096171	1	118.628563	1	-179.020108	1	14	12	11	0.1166
C	1.373665	1	120.137626	1	0.155209	1	14	12	11	-0.0580
N	1.457689	1	123.370836	1	176.025449	1	16	10	9	-0.0237
H	0.998921	1	108.024544	1	-57.063212	1	17	16	10	0.0594
C	1.500525	1	115.253379	1	65.118775	1	17	16	10	-0.0765
H	1.128536	1	109.410238	1	-62.844101	1	19	17	16	0.0757
C	1.523623	1	111.282096	1	57.351437	1	19	17	16	-0.1217
H	1.103481	1	111.305672	1	66.661013	1	21	19	17	0.0345
H	1.097760	1	110.744953	1	-173.954022	1	21	19	17	0.0490
H	1.098442	1	111.847522	1	-53.867311	1	21	19	17	0.0727
C	1.536981	1	109.096452	1	179.324854	1	19	17	16	-0.0914
H	1.108819	1	110.670620	1	62.492489	1	25	19	17	0.0633
H	1.109540	1	108.238488	1	177.875796	1	25	19	17	0.0616
C	1.521605	1	112.006413	1	-60.497172	1	25	19	17	-0.1349
H	1.109913	1	109.663042	1	68.912654	1	28	25	19	0.0887
H	1.122900	1	108.926240	1	-46.780735	1	28	25	19	0.0837
C	1.524287	1	110.866918	1	-168.279257	1	28	25	19	-0.2268
H	1.119154	1	110.747794	1	53.419122	1	31	28	25	0.1172
H	1.112346	1	110.636195	1	-64.761188	1	31	28	25	0.1142
N	1.526013	1	110.490707	1	173.024720	1	31	28	25	0.6047
C	1.526623	1	111.880238	1	164.942241	1	34	31	28	-0.2217
H	1.119462	1	108.343218	1	85.287652	1	35	34	31	0.1203
H	1.113015	1	109.449444	1	-29.984297	1	35	34	31	0.1136
C	1.513885	1	111.974671	1	-152.280854	1	35	34	31	-0.1382
H	1.099929	1	112.712783	1	62.137393	1	38	35	34	0.0704
H	1.099757	1	112.667987	1	-60.434415	1	38	35	34	0.0667
H	1.100280	1	109.490508	1	-179.068190	1	38	35	34	0.0965
C	1.530338	1	109.326081	1	-70.833019	1	34	31	28	-0.2150
H	1.119656	1	107.194188	1	55.716331	1	42	34	31	0.1180
H	1.111845	1	109.284768	1	171.414458	1	42	34	31	0.1134
C	1.514820	1	112.152160	1	-65.551567	1	42	34	31	-0.1401
H	1.103608	1	111.541172	1	59.597920	1	45	42	34	0.0676
H	1.098346	1	110.264601	1	179.334298	1	45	42	34	0.0999
H	1.103906	1	111.747601	1	-60.897257	1	45	42	34	0.0682
H	1.007748	1	108.103530	1	46.254066	1	34	31	28	0.0647
O	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	

SUMMARY OF PM3 CALCULATION

VERSION 5.00

C18 H26 N3 Cl

Mon Jun 24 12:14:44 1991

CHLOROQUINA

GRADIENT TEST NOT PASSED, BUT FURTHER WORK NOT JUSTIFIED
SCF FIELD WAS ACHIEVED

HEAT OF FORMATION = 13.346500 KCAL
ELECTRONIC ENERGY = -25999.955033 EV
CORE-CORE REPULSION = 22662.367055 EV
TOTAL ENERGY = -3337.587978 EV
GRADIENT NORM = 10.899966
DIPOLE = 3.01408 DEBYE
NO. OF FILLED LEVELS = 60
IONIZATION POTENTIAL = 9.014833 EV
MOLECULAR WEIGHT = 319.877
SCF CALCULATIONS = 36
COMPUTATION TIME = 1 HOURS 11 MINUTES AND 28.000 SECONDS

FINAL GEOMETRY OBTAINED										CHARGE
PM3 BONDS DENSITY MULLIK T=30000										
CHLOROQUINA										
Cl	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	0.0771
C	1.683359	1	0.000000	0	0.000000	0	1	0	0	-0.1264
C	1.415973	1	118.767902	1	0.000000	0	2	1	0	-0.0949
H	1.095893	1	118.821585	1	0.404718	1	3	2	1	0.1173
C	1.370815	1	120.772283	1	-179.422503	1	2	3	4	-0.0711
H	1.097642	1	120.894324	1	179.700297	1	5	2	3	0.1329
C	1.367334	1	120.228172	1	0.292362	1	3	2	5	-0.0884
H	1.100561	1	119.996507	1	-177.667302	1	7	3	2	0.1131
C	1.422217	1	119.540196	1	-0.238585	1	5	2	3	-0.0161
C	1.420623	1	120.867430	1	0.308523	1	7	3	2	-0.0860
N	1.391062	1	118.527857	1	179.763274	1	9	5	2	-0.0617
C	1.323823	1	119.496451	1	-0.208818	1	11	9	10	-0.0481
H	1.096653	1	116.177692	1	179.974656	1	12	11	9	0.1179
C	1.421165	1	122.451652	1	-0.097259	1	12	11	9	-0.1285
H	1.096725	1	119.213702	1	-179.651126	1	14	12	11	0.1298
C	1.375340	1	119.548909	1	-0.190915	1	14	12	11	-0.0382
N	1.456546	1	123.968602	1	176.986854	1	16	10	9	-0.0128
H	0.998270	1	108.614967	1	-59.493709	1	17	16	10	0.0591
C	1.499683	1	115.405381	1	64.257450	1	17	16	10	-0.0701
H	1.128277	1	109.023124	1	-56.479913	1	19	17	16	0.0512
C	1.522931	1	110.844438	1	63.445802	1	19	17	16	-0.1261
H	1.103766	1	110.957024	1	69.626453	1	21	19	17	0.0584
H	1.097722	1	110.535449	1	-171.388261	1	21	19	17	0.0431
H	1.097753	1	112.205677	1	-51.355181	1	21	19	17	0.0511
C	1.535564	1	109.826688	1	-174.343055	1	19	17	16	-0.0983
H	1.109182	1	110.353184	1	61.011705	1	25	19	17	0.0478
H	1.109792	1	107.794292	1	175.628831	1	25	19	17	0.0534
C	1.520052	1	113.255994	1	-62.652219	1	25	19	17	-0.1221
H	1.108057	1	110.290497	1	69.505575	1	28	25	19	0.0732
H	1.120571	1	109.717718	1	-45.862572	1	28	25	19	0.0717
C	1.525854	1	111.152654	1	-167.873437	1	28	25	19	-0.0708
H	1.112811	1	110.596180	1	49.930692	1	31	28	25	0.0347
H	1.108750	1	110.027307	1	-66.765572	1	31	28	25	0.0529
N	1.490377	1	110.180094	1	173.829108	1	31	28	25	-0.0843
C	1.491255	1	113.368668	1	161.874968	1	34	31	28	-0.0693
H	1.112105	1	111.503615	1	74.582987	1	35	34	31	0.0333
H	1.108416	1	108.093654	1	-41.762276	1	35	34	31	0.0528
C	1.517463	1	110.453953	1	-162.294480	1	35	34	31	-0.1177
H	1.097577	1	112.090559	1	67.155472	1	38	35	34	0.0480
H	1.103223	1	111.153295	1	-52.619503	1	38	35	34	0.0453
H	1.097025	1	110.855679	1	-172.725463	1	38	35	34	0.0385
C	1.486909	1	113.755500	1	-66.226235	1	34	31	28	-0.0939
H	1.112499	1	105.707199	1	57.209704	1	42	34	31	0.0654
H	1.112079	1	105.724120	1	171.519472	1	42	34	31	0.0664
C	1.517511	1	116.727217	1	-65.630998	1	42	34	31	-0.1402
H	1.098954	1	112.378899	1	61.484612	1	45	42	34	0.0420
H	1.097775	1	110.237864	1	-179.106606	1	45	42	34	0.0452
H	1.098980	1	112.398118	1	-59.605548	1	45	42	34	0.0431
O	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	

N	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	0.5619
C	1.346790	1	0.000000	0	0.000000	0	1	0	0	-0.1426
C	1.411190	1	120.505144	1	0.000000	0	2	1	0	-0.1141
C	1.372579	1	120.068006	1	-0.797613	1	3	2	1	0.0443
C	1.427668	1	119.973622	1	-0.396124	1	4	3	2	-0.0014
C	1.405326	1	121.021199	1	-177.206513	1	5	4	3	-0.1123
C	1.392812	1	119.880043	1	177.884663	1	6	5	4	0.1606
C	1.421941	1	120.447670	1	1.579084	1	7	6	5	-0.1319
C	1.378860	1	120.501980	1	-0.083865	1	8	7	6	-0.0458
C	1.427753	1	119.585967	1	-1.923642	1	9	8	7	-0.2145
H	1.104209	1	119.262478	1	-179.249809	1	2	1	10	0.1693
H	1.099777	1	118.705006	1	179.379224	1	3	2	1	0.1624
H	1.100520	1	120.926403	1	-0.134901	1	4	3	12	0.1497
H	1.101331	1	119.488213	1	-179.755367	1	6	5	10	0.1592
D	1.363040	1	114.430805	1	-0.069613	1	7	6	14	-0.1503
C	1.410596	1	119.037589	1	-4.079057	1	15	7	8	0.0444
H	1.095817	1	112.069281	1	63.902901	1	16	15	7	0.0335
H	1.094812	1	101.814002	1	-178.595633	1	16	15	7	0.0882
H	1.095595	1	112.238497	1	-60.870825	1	16	15	7	0.0419
H	1.101538	1	119.402454	1	0.801724	1	8	7	15	0.1402
N	1.458987	1	123.039432	1	1.260559	1	9	8	20	-0.0369
C	0.999126	1	108.676424	1	49.519766	1	21	9	8	0.0811
C	1.500734	1	116.471208	1	107.645633	1	21	9	10	-0.0609
H	1.119002	1	106.254078	1	179.831755	1	23	21	22	0.0787
C	1.525089	1	114.184071	1	64.583376	1	23	21	9	-0.1521
H	1.099610	1	111.949249	1	51.879486	1	25	23	24	0.0719
H	1.099530	1	112.551418	1	173.305382	1	25	23	24	0.0593
H	1.102759	1	110.725053	1	-66.735413	1	25	23	24	0.0442
C	1.543356	1	107.808387	1	-172.355141	1	23	21	9	-0.1155
H	1.109576	1	109.586044	1	39.931207	1	29	23	25	0.0529
H	1.110717	1	109.767612	1	29.487896	1	29	23	21	0.0890
C	1.525558	1	113.334114	1	35.187832	1	29	23	24	-0.1113
H	1.111760	1	109.674899	1	89.035636	1	32	29	30	0.0809
H	1.111776	1	109.670305	1	88.774377	1	32	29	31	0.1027
C	1.527022	1	114.417823	1	87.790403	1	32	29	23	-0.2939
H	1.114461	1	109.194852	1	-31.346306	1	35	32	34	0.1316
H	1.121857	1	108.964413	1	-38.838920	1	35	32	29	0.1371
N	1.516988	1	113.468384	1	-40.113258	1	35	32	33	0.8382
H	1.001575	1	109.633865	1	-9.449670	1	38	35	36	0.0275
H	1.003329	1	110.330986	1	-7.238631	1	38	35	32	0.0256
H	1.000676	1	109.749596	1	-4.883659	1	38	35	37	0.0227
O	0.993262</									

N	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	-0.1127
C	1.330296	1	0.000000	0	0.000000	0	1	0	0	-0.0473
C	1.418370	1	122.668384	1	0.000000	0	2	1	0	-0.1433
C	1.366042	1	119.259585	1	-0.609360	1	3	2	1	-0.0077
C	1.427368	1	119.558368	1	1.259412	1	4	3	2	-0.0314
C	1.409310	1	120.948031	1	-179.554535	1	5	4	3	-0.1252
C	1.386996	1	119.600468	1	-179.734289	1	6	5	4	0.1209
C	1.417873	1	120.930593	1	2.053661	1	7	6	5	-0.1589
C	1.381751	1	119.961761	1	-1.565523	1	8	7	6	-0.0456
C	1.427852	1	120.072894	1	-1.306746	1	9	8	7	-0.0576
H	1.096947	1	116.432865	1	178.343933	1	2	1	10	0.1086
H	1.096115	1	119.231676	1	180.011295	1	3	2	1	0.1343
H	1.097688	1	121.339651	1	0.537375	1	4	3	12	0.1281
H	1.098821	1	119.482286	1	-179.920367	1	6	5	10	0.1417
O	1.374162	1	114.272129	1	1.375919	1	7	6	14	-0.1716
C	1.407699	1	118.339553	1	-1.953733	1	15	7	8	0.0466
H	1.096001	1	112.213813	1	63.750341	1	16	15	7	0.0323
H	1.094091	1	101.805539	1	-178.599473	1	16	15	7	0.0700
H	1.095899	1	112.378957	1	-60.837119	1	16	15	7	0.0330
H	1.100003	1	119.686279	1	-1.210870	1	8	7	15	0.1317
N	1.455786	1	120.637295	1	0.707577	1	9	8	20	-0.0422
H	1.000363	1	109.320570	1	24.935488	1	21	9	8	0.0654
C	1.503863	1	113.786225	1	84.171574	1	21	9	10	-0.0733
H	1.118056	1	106.684390	1	-176.581459	1	23	21	22	0.0801
C	1.526056	1	112.868469	1	65.465562	1	23	21	9	-0.1499
H	1.099598	1	111.627416	1	64.220662	1	25	23	24	0.0597
H	1.099027	1	112.114536	1	-175.174166	1	25	23	24	0.0534
H	1.098425	1	110.939382	1	-55.294409	1	25	23	24	0.0663
C	1.534659	1	109.408133	1	-172.823046	1	23	21	9	-0.1133
H	1.110696	1	108.242010	1	-40.157528	1	29	23	25	0.0848
H	1.110744	1	110.757247	1	-49.601554	1	29	23	21	0.0712
C	1.520585	1	114.523102	1	-40.842685	1	29	23	24	-0.1024
H	1.111000	1	110.334750	1	-68.479011	1	32	29	30	0.0690
H	1.110468	1	107.955225	1	-68.488736	1	32	29	31	0.0862
C	1.526766	1	114.244783	1	-74.634826	1	32	29	23	-0.2312
H	1.112712	1	109.982381	1	-18.547368	1	35	32	34	0.0987
H	1.113629	1	110.209845	1	-22.212692	1	35	32	29	0.1166
N	1.508800	1	112.602230	1	-26.058512	1	35	32	33	0.6530
H	1.001421	1	108.865614	1	65.382212	1	38	35	36	0.0198
H	1.002543	1	108.820091	1	69.428847	1	38	35	32	0.0134
H	1.052105	1	113.567623	1	71.800622	1	38	35	37	0.1289
O	0.00000									

SUMMARY OF PM3 CALCULATION

VERSION 5.00

C15 H21 N3 O

Mon Jun 24 12:56:50 1991

PRIMAQUINA

GRADIENT TEST NOT PASSED, BUT FURTHER WORK NOT JUSTIFIED
SCF FIELD WAS ACHIEVED

HEAT OF FORMATION = 3.455835 KCAL
ELECTRONIC ENERGY = -21236.804786 EV
CORE-CORE REPULSION = 18355.899044 EV
TOTAL ENERGY = -2880.905742 EV
GRADIENT NORM = 13.129637
DIPOLE = 1.65756 DEBYE
NO. OF FILLED LEVELS = 51
IONIZATION POTENTIAL = 8.331462 EV
MOLECULAR WEIGHT = 259.350
SCF CALCULATIONS = 169
COMPUTATION TIME = 2 HOURS 2 MINUTES AND 17.000 SECONDS

FINAL GEOMETRY OBTAINED
PM3 DENSITY BONDS MULLIK T=30000
PRIMAQUINA

CHARGE

N	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	-0.0435
C	1.322793	1	0.000000	0	0.000000	0	1	0	0	-0.0744
C	1.422352	1	122.245055	1	0.000000	0	2	1	0	-0.1383
C	1.365489	1	119.152360	1	-0.122954	1	3	2	1	-0.0687
C	1.425705	1	119.584009	1	-0.317885	1	4	3	2	-0.0241
C	1.411911	1	120.505086	1	-178.808936	1	5	4	3	-0.1715
C	1.382183	1	119.153777	1	178.811271	1	6	5	4	0.1195
C	1.415042	1	121.199885	1	0.237056	1	7	6	5	-0.2362
C	1.387133	1	120.585417	1	-0.129783	1	8	7	6	0.0157
C	1.434475	1	119.019466	1	0.163800	1	9	8	7	-0.0622
H	1.096218	1	116.103064	1	-179.744863	1	2	1	10	0.1169
H	1.094176	1	119.325138	1	180.038650	1	3	2	1	0.1130
H	1.095811	1	121.373739	1	-0.216862	1	4	3	12	0.1109
H	1.096723	1	119.524780	1	179.541653	1	6	5	10	0.1269
O	1.381991	1	114.182404	1	-0.448782	1	7	6	14	-0.1890
C	1.405368	1	117.912809	1	-2.777917	1	15	7	8	0.0511
H	1.096281	1	112.492003	1	62.013123	1	16	15	7	0.0271
H	1.093537	1	102.157826	1	179.796889	1	16	15	7	0.0509
H	1.096126	1	112.394802	1	-62.393703	1	16	15	7	0.0285
H	1.099148	1	119.385805	1	0.811338	1	8	7	15	0.1218
N	1.434440	1	118.301468	1	5.960637	1	9	8	20	0.0420
H	1.000199	1	110.554325	1	1.933493	1	21	9	8	0.0449
C	1.495450	1	119.456195	1	59.401171	1	21	9	10	-0.0889
H	1.119648	1	106.603931	1	177.834804	1	23	21	22	0.1245
C	1.527062	1	112.126629	1	65.276794	1	23	21	9	-0.1421
H	1.098558	1	111.619568	1	58.081874	1	25	23	24	0.0476
H	1.099355	1	112.548246	1	178.840786	1	25	23	24	0.0373
H	1.097970	1	110.560529	1	-60.801253	1	25	23	24	0.0540
C	1.538922	1	108.977528	1	-172.351960	1	23	21	9	-0.0937
H	1.110824	1	109.122846	1	7.357958	1	29	23	25	0.0459
H	1.110911	1	110.112661	1	-2.099138	1	29	23	21	0.0553
C	1.531928	1	119.278657	1	4.704293	1	29	23	24	-0.1017
H	1.113006	1	106.901798	1	2.584954	1	32	29	30	0.0433
H	1.108393	1	107.425747	1	3.631763	1	32	29	31	0.0462
C	1.527313	1	119.893995	1	1.984866	1	32	29	23	-0.1206
H	1.108568	1	109.225877	1	1.506328	1	35	32	34	0.0457
H	1.110233	1	112.816529	1	-4.971913	1	35	32	29	0.0864
N	1.483778	1	113.812195	1	-8.852608	1	35	32	33	-0.0499
H	0.997542	1	109.855631	1	-8.832872	1	38	35	36	0.0207
H	1.000532	1	109.993885	1	-5.670901	1	38	35	32	0.0285
O	0.000000	0	0.000000	0	0.000000	0	0	0	0	

I V . C O N C L U S Õ E S

A principal conclusão que se pode tirar deste trabalho é de que em meio onde o pH é bastante baixo (em torno de 1), a oxidação do DPQ fornece um radical de intensa absorção no visível (552 nm) e que apesar de sua relativa estabilidade, decai com o tempo dando origem a uma outra espécie radicalar, composta de uma única linha larga.

Para se chegar a essa conclusão utilizou-se espectroscopia no visível e UV, voltametria cíclica, espectroeletroquímica e espectroscopia Raman ressonante.

O radical inicialmente formado reage muito facilmente com outras moléculas da droga que ainda não foram oxidadas e esse parece ser um dos mecanismos de aniquilação do radical primário; não há consumo de oxigênio. O espectro Raman ressonante do radical colorido revelou a intensificação dos modos relativos ao anel quinolínico numa clara indicação de que o grupo cromofórico é o sistema "pi" deslocalizado do sistema quinolínico.

Trabalhando-se em pH mais alto ocorre o inconveniente da variação do potencial de oxidação do reagente empregado (PbO_2) mesmo assim, em pH 3,5 (meio de KCl) observou-se um sinal de 3 linhas típico de nitróxido. Augusto e col. [117] vêm estudando o mesmo tipo de sistema com outro oxidante (H_2O_2 e HRP) no mesmo pH e observam um sinal totalmente diferente, logo, a diferença parece ser mesmo o oxidante empregado. Sabe-se que o KMnO_4 participa em uma série de reações orgânicas, transferindo átomos de oxigênio; neste trabalho está sendo considerada a possibilidade do PbO_2 agir como doador de átomos de oxigênio para a Primaquina, com a consequente formação de nitróxido.

Além das caracterizações espectroscópicas que foram feitas tanto para o DPQ quanto para a DCQ, como a atribuição

[117] O. Augusto, J. Schreiber e R.P. Mason, Biochem. Pharmacol., 37, 2791 (1988)

dos espectros no visível/UV e vibracional, foi registrado pela primeira vez o espectro Raman da Primaquina e também foi reportada pela primeira vez a fluorescência que ela apresenta no visível.

Do ponto de vista dos espectros eletrônicos, o DPQ apresenta um comportamento ímpar, que é a forte dependência com o pH do meio, característico de variações acentuadas de basicidade (no caso) no estado excitado. Esse fenômeno faz com que a banda de menor energia do espectro, que lhe confere a coloração amarela ou alaranjada, tenha um certo caráter de transferência de carga interna.

A Cloroquina por outro lado, apresentou extema facilidade de adsorção em superfície metálica e permitiu que se determinasse que a espécie ativa nesse processo é a monoprotonada e que, inicialmente, a adsorção se processa pelo nitrogênio quinolínico para , em seguida, a molécula "tombar" e se situar paralela ao eletrodo numa situação que é, aparentemente, a mais estável.

Esse comportamento que ela apresenta, é bastante útil para estudos posteriores de mecanismos de associações com outras drogas, através da intensificação do sinal Raman por mecanismos que são chamados de longo alcance.

Foram feitos também alguns cálculos com o método semi empírico MOPAC (PM3) e , como as densidades eletrônicas e autovalores não apresentavam resultados satisfatórios, apenas a otimização dos parâmetros geométricos e termodinâmicos foram consideradas.

Todas as tentativas feitas no sentido de se preparar complexos de Primaquina ou Cloroquina que pudessem ser estudados por Raman ressonante não deram certo, ou porque o E da banda de transferência de carga era muito pequeno (como no caso das quinonas) ou porque a síntese descrita na literatura simplesmente não ocorria.

Este trabalho obviamente não se encerra aqui: poder-se-ia mesmo dizer que agora existem mais questões a serem

respondidas do que antes; como foi dito na Introdução desta tese, essas drogas são tão complexas quanto instigantes.

A P Ê N D I C E A

O ESPALHAMENTO RAMAN

Pode-se entender facilmente o que seja o espalhamento Raman, imaginando-se o seguinte experimento: suponha-se que uma certa quantidade de uma substância seja iluminada com uma radiação monocromática e intensa de frequência ν_0 (um laser por exemplo)

que não possa ser absorvida por ela. Quando se analisa com um monocromador a radiação que atinge um detetor colocado a 90° do ângulo de incidência (neste exemplo, para evitar a detecção de luz direta), observa-se o seguinte espectro:

Devido ao ângulo que a direção de observação faz com a direção de incidência, pode-se perceber que todos esses fótons detectados devem corresponder a fótons espalhados pela amostra.

A linha central, muito mais intensa que as demais, corresponde a fótons com a mesma energia dos fótons incidentes; a esse tipo de espalhamento elástico dá-se o nome de espalhamento Rayleigh, que acredita-se seja o responsável pela coloração azul do céu.

As outras linhas, que se localizam simetricamente em relação à linha Rayleigh, são associadas ao espalhamento inelástico da radiação, também chamado de espalhamento Raman. Caso o fóton espalhado tenha menor energia que o de excitação, observa-se a região Stokes do espectro Raman; caso contrário, ou seja, caso o fóton espalhado tenha energia maior do que o incidente, tem-se a região antiStokes.

O espalhamento Raman foi observado pela primeira vez por Raman, na Índia, em 1928. Fisicamente o que ocorre, é que um fóton com energia usualmente (porém não necessariamente) na faixa visível do espectro ao colidir com uma molécula a leva até um estado excitado virtual. O nome virtual decorre do fato desse não ser um autoestado da molécula em estudo.

O relaxamento ao estado fundamental deixa, entretanto, a molécula num nível vibracional diferente do de partida. Se a energia do estado inicial for maior do que a final, resultam as linhas antiStokes, caso contrário, tem-se as linhas Stokes. Na situação em que a molécula volta ao mesmo estado de partida, observa-se o espalhamento elástico da radiação .

Por ser um efeito de segunda ordem, o espalhamento Raman tem pequena seção de choque: tipicamente apenas 1 em 10^8 fótons sofre espalhamento inelástico. Por esse motivo os lasers são bastante adequados para a excitação desses espectros, já que são potentes fontes de radiação monocromática.

Como no caso da espectroscopia de absorção no infravermelho, a espectroscopia Raman convencional trás informações sobre os níveis de energia vibracionais, porém, como se tratam de fenômenos de naturezas diferentes, as regras de seleção para as transições são diferentes; dessa forma, essas duas técnicas se complementam no estudo vibracional de qualquer substância.

a. Aspectos teóricos

No caso da espectroscopia de absorção no infravermelho, as vibrações que são observadas, correspondem àquelas nas quais há variação do momento de dipolo. Isso permite o acoplamento com o campo elétrico da radiação e ocorre a absorção do fóton.

Na espectroscopia Raman, o fenômeno observado é um processo de dois fótons: o de incidência e o espalhado. Classicamente, o espalhamento pode ser encarado como o resultado do aparecimento do dipolo induzido ($\vec{P}$), que surge na molécula como resultado da presença do campo elétrico oscilante da radiação excitante ($\vec{E}$), o qual obviamente depende da polarizabilidade molecular (α):

$$\vec{P} = \alpha \cdot \vec{E}$$

Essa expressão é, na verdade uma aproximação: quando não se conhece a forma analítica de uma função mas sim os valores de suas derivadas em algum ponto, é geralmente possível expressar essa função por uma série infinita; esse é o teorema de Taylor. Uma função genérica $f(x)$ pode então ser expressa como:

$$f(x) = a_0 + a_1 x + \frac{a_2 x^2}{2!} + \frac{a_3 x^3}{3!} + \dots + \frac{a_n x^n}{n!}$$

onde a corresponde às derivadas de $f(x)$. No caso particular de $x = 0$ têm-se a série de McLaurin, que aplicada ao $\vec{P}$ fornece:

$$\vec{P} = \vec{P}_0 + \alpha \vec{E} + \frac{\beta}{2} \vec{E}^2 + \frac{\gamma}{6} \vec{E}^3 + \dots$$

onde β é chamada de hiperpolarizabilidade e γ de segunda hiperpolarizabilidade. Se $P_0 = 0$ então:

$$\vec{P} = \alpha \vec{E} + \beta/2 \vec{E}^2 + \gamma/6 \vec{E}^3$$

O segundo e o terceiro termos estão relacionados aos chamados efeitos não lineares, devido à dependência não linear com E .

Os mesmos argumentos são válidos para a polarizabilidade que também pode ser expressa como uma série numérica, já que é função de um dado modo normal de vibração (Q):

$$\alpha(Q) = \alpha_0 + (\partial\alpha/\partial Q)_0 Q + (\partial^2\alpha/\partial Q^2)_0 \frac{Q^2}{2} + \dots$$

Substituindo na equação original para o dipolo induzido e lembrando-se que a intensidade de $\vec{E}$ varia com o cosseno da frequência da radiação (ν_0), chega-se a :

$$\vec{P} = [\alpha_0 + (\partial\alpha/\partial Q)_0 Q] E_0 \cos 2\pi\nu_0 t$$

mas Q , SENDO função das posições dos núcleos, também oscila

cossenoidalmente com a vibração (de frequência ν):

$$Q = Q_0 \cos 2\pi \nu t$$

assim, voltando à equação anterior:

$$\vec{P} = (\alpha_0 + Q_0 \cos 2\pi \nu t (\partial \alpha / \partial Q)_0) \vec{E}_0 \cos 2\pi \nu_0 t$$

sabe-se porém que $\cos a \cdot \cos b = \frac{1}{2} [\cos (a + b) + \cos (a - b)]$ e dessa forma:

$$\vec{P} = A \cos 2\pi \nu_0 t + B/2 \{ \cos 2\pi (\nu_0 - \nu) t + \cos 2\pi (\nu_0 + \nu) t \}$$

o primeiro termo corresponde ao espalhamento Rayleigh porque a frequência de oscilação do dipolo induzido é a mesma da radiação incidente; os outros dois termos correspondem ao espalhamento Raman nas regiões Stokes e antiStokes, respectivamente.

Obviamente a importância desse modelo clássico é apenas didática. Uma análise mais rigorosa envolve argumentos quânticos e é feita por exemplo no tratamento vibrônico desenvolvido por Albrecht.

Neste ponto cabe um exemplo: a fenotiazina tem um máximo de absorção em 320 nm e foram obtidos seus espectros Raman para várias radiações de excitação [1], inclusive no IVP. Teoricamente muito longe da ressonância, há uma clara dependência da intensidade de algumas bandas com a frequência de excitação. Como explicar esse fato? Logicamente não dentro de um modelo que se ocupe apenas do estado fundamental, mas que leve em consideração contribuições eventuais de outros estados excitados da molécula: os estados vibrônicos.

[1] D.L.A. de Faria e P.S. Santos, resultados ainda não publicados

fenotiazina

* = padrão de sulfato

benzeno
ca.1600 cm^{-1}

ESPECTRO FT-RAMAN DE FENOTIAZINA
EXCITAÇÃO EM 1064 nm

Não faz parte das pretensões do presente apêndice desenvolver o formalismo do tratamento dado por Albrecht à questão, mas apenas alguns aspectos conceituais dentro dela.

Inicialmente, deve-se dizer que o ponto de partida para os formalismos que se utilizam da mecânica quântica, é a aproximação de Born-Oppenheimer, que diz que na descrição de uma molécula, pode-se separar a parte nuclear (que passa a ser tratada parametricamente) da parte eletrônica, ou seja, considerá-las separadamente. Ao se falar em acoplamento vibrônico, pode-se induzir o leitor a supor que, nessas condições, a aproximação acima mencionada não é mais válida, já que as componentes nucleares e eletrônicas se misturam.

No atual contexto, acoplamento vibrônico é considerado simplesmente como uma perturbação ao Hamiltoniano eletrônico, ainda dentro da aproximação adiabática da qual a aproximação de Born Oppenheimer é uma representante.

A grosso modo, pode-se dizer que a intensidade Raman é governada pelo tensor de polarizabilidade de transição que tem o seguinte aspecto:

$$[\alpha_{ps}]_{fi} = \frac{1}{hc} \sum_r \left[\frac{[\mu_p]_{fr} [\mu_s]_{ri}}{\bar{\nu}_{ri} - \bar{\nu}_0 + i\Gamma_r} + \frac{[\mu_s]_{fr} [\mu_p]_{ri}}{\bar{\nu}_{rf} + \bar{\nu}_0 + i\Gamma_r} \right]$$

onde r são todos os estados do sistema. Os termos nos numeradores correspondem a momentos de transição entre os estados a que se referem e os termos nos denominadores mostram a relação entre a radiação excitante $\bar{\nu}_{ri}$, a frequência de absorção eletrônica $\bar{\nu}_0$ e o termo $i\Gamma_r$ é um fator de amortecimento, relacionado à meia vida dos estados excitados e é ele quem evita que o denominador tenda a zero (divirja) quando $\bar{\nu}_{ri}$ se aproxima de $\bar{\nu}_0$.

Os estados f , i e r são, portanto estados vibrônicos e

passam a ser escritos como:

$$|i\rangle = |gm\rangle = |g\rangle|m\rangle; |f\rangle = |gn\rangle = |g\rangle|n\rangle; |r\rangle = |ev\rangle = |e\rangle|v\rangle$$

Substituindo-se na equação para o tensor de polarizabilidade, depois de mais algumas etapas de desenvolvimento matemático formal, pode-se chegar a uma expressão que permita que algumas aproximações possam ser feitas desde que se esteja longe de uma região de absorção eletrônica:

- a contribuição eletrônica é tão maior que a nuclear que esta pode ser desconsiderada;

- o fator de amortecimento é desprezado também pelo seu pequeno valor.

Somente nessas condições, o espalhamento Raman pode ser considerado uma propriedade do estado fundamental do sistema.

Essas condições, entretanto, são particularizações de uma situação mais geral: usualmente a dependência que os denominadores da equação (I) tem com v não pode ser desprezada, pode ocorrer do termo $i \Gamma_r$ não ser negligenciável frente à diferença $(\bar{\nu}_{ev, gm} - \bar{\nu}_0)$.

Nessas condições e usando a expansão de Herzberg-Teller que se refere ao momento de transição em relação a uma dada coordenada normal, chega-se a uma expressão extremamente complexa para o tensor de polarizabilidade que pode ser simplificada escrita como :

$$[\alpha_{\rho\sigma}]_{gn, gm} = A + B + C + D$$

O termo A exige que a transição eletrônica ressonante seja permitida, ou seja, a banda de absorção eletrônica deve ser intensa; além disso, os fatores de Franck-Condon devem ser diferentes de zero para pelo menos um valor de v . Isso implica num deslocamento dos poços de potenciais que só pode ser explicado (a menos que a molécula sofra mudança de geometria no estado excitado) no caso dos modos totalmente simétricos.

O termo B surge de contribuições devidas a acoplamentos vibrônicos entre estados excitados e provoca, usualmente uma intensificação mais fraca do que o termo A. Os outros dois termos tem importância bem mais restrita.

Aspectos quantitativos do efeito Raman ressonante podem ser encontrados num artigo clássico de Clark e Dines [2].

Finalmente voltando á questão da fenotiazina, deve-se lembrar que o efeito Raman é um efeito ligado à dispersão de luz e não à sua absorção; assim, mesmo longe da banda de absorção, quando se realiza a somatória sobre todos os estados excitados vibrônicos , pode-se obter variações não desprezíveis no tensor de polarizabilidade quando se muda a frequência da radiação de excitação.

[2] R.J.H. Clark e T.J. Dines, Angew. Chem. Int.Ed. Engl., 25,131 (1986)

A P Ê N D I C E B

O EFEITO SERS

A descoberta do efeito SERS (Surface Enhanced Raman Scattering) está vinculada à tentativa de se estudar superfícies através da espectroscopia Raman. Como a densidade de moléculas adsorvidas é da ordem de 10^{14} a 10^{15} moléculas por centímetros quadrado e a secção de choque da molécula livre também é pequena (cerca de 10^{-30} $\text{cm}^2 \cdot \text{Sr}^{-1} \cdot \text{molécula}^{-1}$), a utilização dessa técnica apresenta pouca sensibilidade.

Em 1974, Fleischmann e colaboradores [1] obtiveram o primeiro espectro Raman sobre eletrodo: a aplicação de vários ciclos de óxido-redução a um eletrodo de Ag em meio aquoso de KCl 0,1 M forneceu um espectro de piridina com relação sinal ruído muito melhor quando comparado com o obtido de uma superfície não tratada dessa forma.

Em 1977, Jeanmaire [2] e Albrecht [3], mostraram que a intensificação não se devia ao aumento na rugosidade da superfície devido aos ciclos redox, como proposto inicialmente por Fleischmann, mas sim a um novo mecanismo de intensificação.

Mas esse efeito não é característico de interfaces metal/eletrólito: foi observado também em interfaces metal/gás [4], metal/vácuo (em ultra alto vácuo) [5] e

-
- [1] M. Fleischman, P.J. Hendra e A.J. McQuillan, Chem. Phys. Lett., 26, 163 (1974)
 - [2] D.L. Jeanmarie e R.P. Van Duyne, J. Electroanal. Chem., 84, 1 (1977)
 - [3] M.G. Albrecht e J.A. Creighton, J. Am. Chem. Soc., 99, 5215 (1977)
 - [4] A. Otto, Surface Sci., 75, L392 (1978)
 - [5] R.R. Smardzewski, R. J. Cotton e J. S. Murday, Chem. Phys. Lett., 68, 53 (1979)

sólido/sólido [6] como também em colóides (principalmente de Ag e Au) [7] e em "metal island films" [8].

No caso particular de eletrodos, os melhores substratos, ou seja, os metais que levam às maiores intensificações, são a prata, o ouro e o cobre; estes dois últimos apresentam o efeito quando a excitação é feita no vermelho, enquanto que na prata utiliza-se um laser de Ar^+ (linha em 514.5 nm).

Uma condição necessária (porém não suficiente) para a observação do efeito SERS, é a existência de rugosidade superficial, ou seja, superfícies lisas não levam à intensificação do sinal. Isso pode ser mostrado em estudos de adsorção de piridina em prata (faces 100, 010, 111 e 540) a 100 K, onde se mostrou que a intensidade das bandas da piridina quimiosorvida e fisiosorvida são comparáveis e não se intensificam [9].

O papel da morfologia da superfície é levada em conta nos dois modelos teóricos existentes e extensivamente aceitos: o modelo eletromagnético puro e o modelo molecular puro.

A intensidade da radiação Raman é proporcional ao quadrado do campo elétrico induzido pela radiação excitante:

$$I \propto E^2$$

Para se aumentar a intensidade Raman, portanto, deve-se aumentar P , o que pode ser feito tanto pela variação do campo elétrico local (E), quanto da polarizabilidade (α). O

-
- [6] J.C. Tsang, J.R. Kirtley e J.A. Bradley, Phys. Rev. Lett., 70, 49 (1980)
 - [7] J.A. Creighton, C.G. Blatchford e M.G. Albrecht, J. Chem Soc., Faraday II, 75, 790 (1979)
 - [8] H. Seki e M.R. Philpott, J. Chem. Phys., 73, 5376 (1980)
 - [9] D.R. Mullins e A. Campion, Chem. Phys. Lett., 110, 565 (1984)

modelo eletromagnético puro cuida das alterações em E ao passo que o molecular, das alterações na polarizabilidade.

O eletrólito de suporte desempenha também papel decisivo na intensificação do espalhamento por superfície; aparentemente os ânions empregados podem formar uma camada insolúvel quando em contato com os íons Ag^+ que aparecem durante os ciclos redox, como é o caso do cloreto e brometo. Nessas condições parece que ocorre uma estabilização dos centros ativos da superfície.

Atualmente o efeito SERS vem sendo utilizado com frequência no estudos de sistema com interesse biológico como proteínas [10] e peptídeos [11]. A observação da intensificação do espectro da piridina na região do infravermelho próximo, em eletrodos de Ag e Au [12], pode ser uma ferramenta adicional para o estudo de tais sistemas, já que a excitação em 1064 nm pode eventualmente evitar problemas de fotodecomposição da amostra, desde que possa ser possível a utilização de potências baixas de radiação laser.

Uma intensificação adicional pode ainda ser obtida combinando-se a técnica SERS com o efeito Raman Ressonante : quando a linha de excitação coincide com uma banda de absorção do adsorbato, as intensificações se somam; isso foi explorado por Jeanmarie e Van Duyne que estudaram dessa forma o cristal violeta [13].

A intensificação por superfície permitiu ainda o desenvolvimento da técnica de Espalhamento Hiper Raman Intensificado por superfície (SEHRS). O efeito hiper Raman é

-
- [10] I.R. Nabiev, G.D. Chumanov e R.G. Efremov, J. Raman Spectroscopy, 21, 49 (1990)
- [11] T.M. Herne, A.M. Ahern e R.L. Garrell, J. Am. Chem. Soc., 113, 846 (1991)
- [12] D.B. Chase e B.A. Parkinson, App. Spectroscopy, 42, 1186 (1988)
- [13] D.L. Jeanmarie e R.P. Van Duyne; J. Electroanal. Chem., 84, 1 (1977)

um processo ótico não linear, no qual a frequência da radiação espalhada é deslocada em relação à segunda harmônica da radiação incidente; sendo um efeito fraco (tipicamente o espalhamento Raman é 10^5 vezes mais intenso) a intensificação da intensificação SERS poderia auxiliar sua observação. Realmente Golab e col. obtiveram o espectro SEHRS da piridina pela primeira vez em 1988 [14].

[14] J.T. Golab, J. R. Sprague, K.T. Carran, G.C. Schatz e R. P. Van Duyne, J. Chem. Phys. 88, 7942 (1988)

APÊNDICE C : UMA BREVE INTRODUÇÃO
À VOLTAMETRIA CÍCLICA [1,2,3,4]

É uma técnica na qual o potencial de um eletrodo fixo é variado partindo-se de um potencial onde não ocorrem processos redox e indo a potenciais onde eles acontecem.

Os parâmetros obtidos de um voltamograma estão mostrados na figura seguinte e é a partir deles que advêm todas as informações termodinâmicas e cinéticas do sistema em estudo.

- [1] J. T. Maloy, J. Chem. Ed., 60, 285 (1983)
- [2] D.H. Evans, K.M. O'Connell, R.A Petersen, M.J. Kelly, J. Chem. Ed., 60, 290 (1983)
- [3] "Instrumental Methods in Electrochemistry" Southampton Electrochemistry Group, Ellis Horwood series in Physical Chemistry (T.J. Kemp Ed.), Ellis Horwood Limited, Inglaterra, 1985
- [4] A.J. Bard e L.R. Faulkner in "Electrochemical Methods Fundamentals and Applications", John Wiley and sons, N. York, 1980

Quando se investiga a corrente em função do potencial aplicado a um eletrodo é necessário conhecer as contribuições de diferentes processos para a corrente lida. A corrente que provém de um eletrodo polarizado pode ser capacitiva ou faradáica. A corrente capacitiva é oriunda de rearranjo de íons na dupla camada; já a corrente faradáica é de natureza química, ou seja, corresponde á descarga das espécies eletroativas. É a única considerada em voltametria cíclica e mede a taxa com que uma reação química ocorre no eletrodo.

A corrente faradáica depende da taxa com que a substância chega do seio da solução até o eletrodo (transporte de massa) e da taxa com que os elétrons são transferidos (transporte de carga). O transporte de massa se processa através da difusão (movimento espontâneo das partículas), migração (movimento ocasionado por um campo elétrico) e convecção, que aparece apenas quando a solução está sendo agitada.

Pode-se eliminar as contribuições devidas à migração e à convecção, através de dois procedimentos simples: a solução não deve ser agitada durante a aplicação da rampa de potencial (convecção) e emprega-se um eletrólito de suporte em concentração pelo menos 100 vezes maior do que a da substância eletroativa. Se a corrente é controlada somente por difusão, isto é, o transporte de elétrons se faz muito mais rapidamente do que a difusão da substância, então a expressão abaixo é válida.

$$i(t) = n F A D \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} \bigg|_{x=0}$$

$n = n^\circ \text{ de } e^-$
 $A = \text{área do eletrodo}$
 $F = \text{cte de Faraday}$

Se a etapa lenta, entretanto, for a transferência de carga, então fatores cinéticos passam a ter o papel principal no voltamograma.

Experimentalmente utilizam-se 3 eletrodos em voltametria cíclica; isso porque é necessário controlar o potencial do eletrodo de trabalho e essa tarefa quem faz é o eletrodo auxiliar: enquanto o eletrodo de trabalho e o auxiliar são mantidos polarizados, nenhuma corrente passa pelo eletrodo de referência por causa de sua alta corrente de impedância. O efeito da queda ôhmica é minimizado utilizando-se um capilar de Luggin, que faz com que o eletrodo de referência fique o mais próximo possível do eletrodo de trabalho.

Outro detalhe experimental importante é que o oxigênio dissolvido na água é reduzido entre $-0,2V$ e $-0,8V$ (ESC) e por isso deve ser eliminado borbulhando-se N_2 na solução.

Os processos redox que ocorrem em sistemas eletroquímicos, podem ser reversíveis, irreversíveis e quase-reversíveis, mas a discussão desses aspectos foge ao objetivo deste apêndice e pode ser encontrada em qualquer uma das referências fornecidas.

APÊNDICE D : ALGUNS ASPECTOS INTRODUTÓRIOS DA RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA

Há uma série de livros, monografias e artigos de revisão que tratam dos aspectos teóricos relativos a esta técnica de maneira bastante clara.

Este apêndice se propõe, portanto, a discutir aspectos mais gerais, alguns ligados à instrumentação, num texto para usuários somente.

Como todas as técnicas espectroscópicas, a RPE está ligada à interação da radiação eletromagnética com a matéria; neste caso em particular, radiação com frequência na região de microondas (que tipicamente cobre a faixa do espectro desde 1 GHz até 100 GHz) é absorvida por uma espécie química que possua elétrons desemparelhados e que esteja sendo submetida a um campo magnético externo ($\vec{H}$); dessa maneira, essa espécie é levada a um outro estado energético (autoestado) e a diferença de energia entre os estados inicial e final (ΔE) é $\Delta E = h \nu$. Ocorre que se uma molécula tem elétrons desemparelhados, pode-se associar a ela um momento magnético total ($\vec{\mu}$) diferente de zero, uma vez que no caso de elétrons emparelhados, eles se cancelam.

A quantização dos níveis de energia dessas espécies acontece quando se aplica um campo magnético externo, antes disso, todas as orientações dos momentos magnéticos no espaço são degeneradas. A situação de mínima energia é obtida quando os momentos magnéticos estão orientados paralelamente ao campo aplicado e a de máxima energia, quando for antiparalela.

Essa energia é expressa como $E = - \vec{\mu} \cdot \vec{H}$. Pode-se notar que se trata de um produto escalar, ou seja, projeções de $\vec{\mu}$ sobre $\vec{H}$ e, no caso em que $\vec{\mu}$ e $\vec{H}$ não tenham a mesma direção, o vetor momento magnético descreve um movimento de precessão ao longo da direção de $\vec{H}$ com frequência (chamada de frequência de precessão de Larmor) exatamente igual à frequência da radiação necessária para promover a transição

entre dois estados energéticos. Observe-se que o momento magnético se relaciona com o momento angular eletrônico através da expressão:

$$\vec{\mu} = g \beta \vec{S} \quad \text{onde } \beta = eh/4\pi mc \quad \text{e } \vec{S} \text{ é o spin do elétron}$$

portanto, $E = g \beta S_z H$, ou seja, $E = \pm 1/2 g \beta H$ isso porque S_z é a projeção do spin ao longo do eixo e só pode assumir os valores de $+1/2$ ou $-1/2$ de volta à condição de ressonância de Bohr, têm-se para a absorção de energia $\Delta E = g \beta H$.

Um elétron livre teria, desse modo, um espectro de RPE com apenas uma linha; isso, entretanto, é bastante raro, devido à interação do momento magnético eletrônico com o nuclear.

O esquema abaixo representa o efeito da proximidade de um próton (spin nuclear $1/2$) com um elétron desemparelhado:

O aspecto geral de um espectro de RPE não é, entretanto, esse: não se representam as absorções diretamente, mas sim, suas derivadas primeiras:

A razão para isso é eminentemente prática: a diferença de energia entre os autoestados é tão pequena que torna a diferença de população dos 2 estados mínima e portanto, o ruído aleatório do circuito eletrônico seria maior do que ela; assim, a detecção direta somente é possível para sinais intensos e largos, em sistemas com elevada densidade de spins.

O sinal deve, portanto, ser amplificado o que é feito mais adequadamente quando se trabalha com corrente alternada (a.c.) do que com corrente direta (d.c.); um sinal a.c. pode ser obtido, modulando-se o campo magnético externo ($\vec{H}$) com um campo secundário ($\vec{H}'$). O detetor é modulado com a mesma frequência e é portanto sensível somente a sinais que sejam dependentes da frequência de modulação [1]

O detetor mais utilizado é um diodo, usualmente citado apenas como "cristal"; consiste num bloco de silício contendo impurezas que lhe conferem caráter semicondutor.

Outro tipo é o bolômetro cujo funcionamento se baseia no fato de que a absorção de energia leva ao aquecimento de um fio metálico por onde circula uma corrente elétrica; a resistência do fio é sensível à temperatura, o que provoca variações na corrente lida [2].

[1] J.E. Bell (ed.) in "Spectroscopy in Biochemistry", CRC Press Inc., Florida, 1981

[2] C.P. Poole Jr., in "Electron Spin Resonance" 2a. ed, John Wiley and Sons, USA, 1983, cap. 7

Um outro componente importante de um espectrômetro é a fonte : aparelhos comerciais de RPE normalmente empregam como fonte um klystron, que é essencialmente uma válvula capaz de gerar microondas na faixa entre 0,5 e 35 GHz, sendo o tipo mais usual aquele que opera na chamada banda X do espectro de microondas, ou seja, radiações de 3,2 cm de comprimento de onda (9 GHz); outra banda importante é a banda Q (8 mm operando em 35 GHz). A escolha de uma ou de outra opção tem implicações importantes tanto na sensibilidade quanto na resolução do espectro, como será discutido adiante.

Na figura seguinte está esquematizado um Klystron de reflexão [3]. O catodo emite elétrons por efeito termoiônico os quais por sua vez são acelerados para o anodo ("rf gap") pela voltagem V_B ; nesse espaço, o feixe de elétrons sofre a ação de um campo elétrico de rádio-frequência que alternadamente freia e acelera os elétrons modulando sua velocidade e formando pulsos ("bunches") de elétrons. Como o refletor é negativo em relação ao espaçamento existente, os elétrons retornam a ele; ajustando-se a rádio-frequência e as tensões V_B e V_R , obtém-se um pulso com uma fase tal que, ao retornar ao anodo, se desempacota, fornecendo energia à cavidade de ressonância.

A intensidade de uma banda de absorção depende da diferença de população (n) entre os estados envolvidos (N^- e N^+) então, $n = N^- - N^+$; quando essas populações se igualam, dizemos que houve saturação do sinal. A lei de distribuição de Boltzmann diz que $N^+/N^- = e^{-\Delta E/kT}$, como $\Delta E = g\beta H$, tem-se que $N^+/N^- = e^{-g\beta H/kT}$.

Na equação anterior podemos observar a dependência com a temperatura (aumentos de temperatura provocam diminuição do sinal) e com o campo (quanto maior for o campo, maior será a absorção).

[3] C.P. Poole Jr., in "Electron Spin Resonance " 2a. ed, John Wiley and Sons, USA, 1983, cap. 3

do sinal) e com o campo (quanto maior for o campo, maior será a absorção).

Isso fica evidente quando se expressa n de outro modo:

$$n = N^- g \beta H / 2kT$$

Um valor de campo típico para a banda X é de 3000 G e para a banda Q é de 12000 G, assim, obtém-se uma sensibilidade cerca de 4 vezes maior quando se trabalha com a banda Q do que com a banda X. Ocorre também aumento na resolução quando se vai da banda X para a banda Q exatamente por que elas operam em frequências diferentes; como a frequência da banda Q é maior, spins com diferentes fatores g aparecerão mais separados.

Finalmente, uns poucos comentários sobre as recentes resoluções da IUPAC no que concerne à nomenclatura empregada em RPE [4].

O nome recomendado para a técnica é EPR (em inglês obviamente), sem pontuação e com letras maiúsculas; como o uso do termo ESR está bastante difundido, a sua exclusão seria de pouca praticidade.

A unidade recomendada para medidas de campo magnético estático é o Tesla (T) ao invés de Gauss e para o campo magnético oscilante, o militesla (mT).

A constante de acoplamento hiperfina (A) deve ser expressa em joules (J), mas com o uso de constantes apropriadas pode-se expressá-la em MHz ou cm^{-1} também; não se recomenda expressar A em gauss, tesla ou militesla.

A separação hiperfina (a) deve ser medida em unidades de militesla.

Por fim, recomenda-se que o termo "valor g " seja substituído por "fator g ".

[4] H. Chon, Pure and Appl. Chem., 61, 2195 (1989)

KLYNSTRON

A P Ê N D I C E E

ESPECTROSCOPIA INTERFEROMÉTRICA

A história da espectroscopia interferométrica começou em 1880 quando Albert A. Michelson inventou o interferômetro com o qual, em companhia de Morley, realizou a célebre experiência que levou à conclusão da inexistência do éter. Devido ao fato de na época não serem disponíveis detetores eletrônicos nem microprocessadores, a espectroscopia interferométrica não pode ser inventada antes por Michelson o qual, mesmo empregando os olhos como detetor, fez estimativas grosseiras para o espectro do efeito Zeeman; para computar as transformadas de Fourier, ele inventou um computador analógico mecânico de seno e cosseno, que podia manipular cerca de 80 dados, resolvendo com esse aparelho, vários espectros que eram dubletes.

Desde os tempos de Michelson até os primeiros anos da década de 50, a espectroscopia interferométrica não sofreu nenhuma implementação apreciável, até que um grupo da Universidade John Hopkins resolveu tornar essa técnica uma realidade. A partir daí seu uso foi cada vez mais difundido: nos fins dos anos 50, início dos anos 60, Pierre e Janine Conne aplicaram a espectroscopia interferométrica à astronomia, publicando o "Atlas de espectros no infravermelho próximo de Vênus, Marte, Júpiter e Saturno", resolvendo ao mesmo tempo problemas ligados a telescópios, atmosfera terrestre e fontes extra-terrestres de radiação, além de problemas ligados à computação.

A partir de 1960 as maiores contribuições nesse assunto foram feitas na área de manipulação de dados e computação; em 1965, o algoritmo de Cooley-Tukey foi publicado pelos autores. Esse algoritmo, sem qualquer aproximação, reduz o tempo de processamento da transformada de Fourier em várias

ordens de grandeza e é por isso chamado de FFT ("Fast Fourier Transform").

Há vários tipos de espectroscopia interferométrica; este Apêndice referir-se-á à espectroscopia de Transformada de Fourier. Trata-se resumidamente, da obtenção de um espectro a partir de uma figura de interferência, sendo que a forma de fazê-lo é através de uma aplicação matemática.

Na espectroscopia convencional temos o acesso sequencial às informações no espectro, isto é, dividimos o espectro em quantidades discretas (elementos espectrais) que são lidas uma após a outra, sequencialmente. No método de transformada de Fourier, não há separação dos componentes espectrais, isto é, o espectro inteiro é obtido de uma só vez, entretanto, na forma codificada de um interferograma, devendo portanto ser convertido em espectro através de processamento matemático.

Desse fato decorre uma série de vantagens que, mesmo se comparadas com algumas desvantagens, explicam porque este tipo de espectroscopia vem experimentando uma aceitação tão grande.

Apesar de não ser universalmente utilizado em espectrômetros comerciais, o interferômetro de Michelson é frequentemente descrito, talvez por sua simplicidade. Consiste de dois espelhos (um fixo e outro móvel), lentes e um separador de feixes ("beam splitter"). O espelho móvel se desloca a uma razão lenta e uniforme e, devido à diferença no caminho ótico, será observada uma figura de interferência. A saída do detetor, registrada em função do deslocamento do espelho móvel, corresponde ao interferograma que, por sua vez é a Transformada de Fourier do espectro da radiação detectada (figura seguinte). Assim, um interferograma de uma fonte monocromática é uma simples função cosseno. À saída do detector está presente, para cada posição do espelho móvel, todo o espectro, sendo cada frequência codificada de maneira específica e única. Esse tipo de endereçamento de componentes independentes de

informação antes da passagem por um único canal, é chamado de multiplexação, um sistema bastante utilizado como técnica de comunicação.

O poder de resolução de um espectrômetro interferométrico é determinado pela máxima diferença de caminho que possa ser obtida entre dois raios interferentes. Essa diferença de caminho, por sua vez, depende das dimensões do interferômetro.

Um outro ponto que deve ser observado é o tratamento matemático em si: a integral de transformação é dada entre os limites "mais infinito" e "menos infinito" entretanto, o espelho se move apenas entre os limites $d < x > -d$, o que significa que há um corte abrupto nos dois extremos do interferograma previsto. portanto, a saída distorcida instrumentalmente e seu aspecto é a deconvolução de um aspecto verdadeiro e o perfil de influência do instrumento. Segundo Fourier, a transformada de uma convolução de duas funções é o produto da transformada das duas funções individuais. Isso significa que, uma vez conhecidas as características do equipamento, cada ponto ou valor da saída deve ser multiplicado por um fator de correção para obter o espectro verdadeiro. Essa operação também é feita por computador; tal tipo de correção é chamada de "apodização".

Uma outra parte crucial do interferômetro é o divisor de feixes; antigamente pensou-se em filmes metálicos "semiprateados", em substratos semitransparentes tais como vidro ou quartzo, para a região visível do espectro. Um divisor ideal deve ser 50% refletor e transmissor, sem haver absorção da radiação. Mais recentemente vem sendo utilizados filmes de materiais dielétricos com alto índice de refração sobre substratos transparentes.

Suponha-se um espectro com n elementos espectrais e um tempo total T disponível, de observação; como na espectroscopia convencional cada elemento é observado independentemente, o tempo de observação por elemento é T/N , tendo-se um sinal de saída proporcional à T/N ,

acompanhado do ruído do detetor proporcional à raiz quadrada de T/N . Em um instrumento interferométrico, cada elemento é observado durante o tempo total T , tendo então um sinal de saída proporcional a T ; o ruído que acompanha esse sinal pode ser considerado como resultante de ruídos independentes, cada um proporcional à raiz quadrada de T/N , entretanto, como o ruído se soma quadraticamente, a contribuição resultante de ruído será dada por:

$$(N(T/N))^{1/2} = T^{1/2}$$

A nova relação sinal/ruído, isto é, $T/T^{1/2}$ significa em relação à relação anterior uma melhora de $N^{1/2}$. Essa vantagem, decorrente do sistema de multiplexação, é chamada de vantagem de Fellgett. Essa vantagem só é observada, entretanto, caso o ruído seja devido ao detetor e não à fonte, o que é exatamente o caso na região do infravermelho; para as regiões do visível e ultra-violeta, os detetores utilizados fornecem uma resposta que não é independente da intensidade do sinal detectado, mas sim proporcional à sua raiz quadrada. No caso da espectroscopia Raman foi demonstrado, entretanto, que se o sinal observado não for muito intenso, ainda se continua a ter a vantagem de Fellgett.

Outra vantagem (vantagem de Jacquinot) é o fato desse tipo de instrumento possuir alta luminosidade ("throughput"), não se registrando perdas apreciáveis; isso é particularmente importante quando a fonte de radiação tem baixa intensidade.

As duas figuras abaixo correspondem, respectivamente ao interferograma da acetona (excitação com a linha 1064 nm de um laser de Nd-Yag) e em seguida o mesmo espectro, após a transformação de Fourier.