



Desenvolvimento de Líquidos Iônicos Baseados em Fármacos Antimaláricos

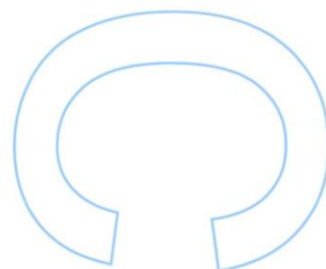
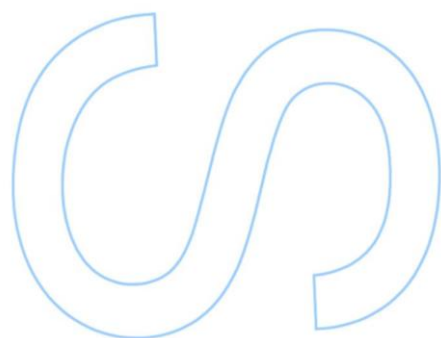
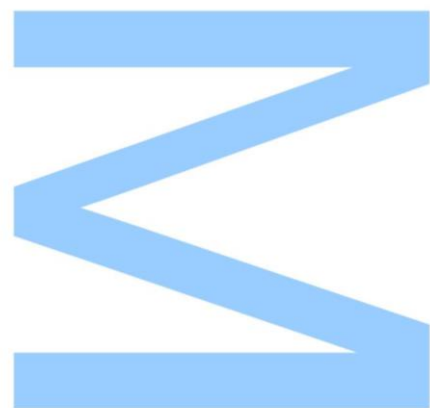
Joana Isabel Ribeiro de Noronha
Mestrado em Química
Departamento de Química e Bioquímica
2015

Orientador

Professora Doutora Paula Alexandra de Carvalho Gomes
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Coorientador

Professor Doutor Ricardo João Vieira Ferraz
Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto

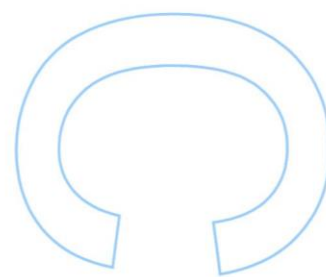
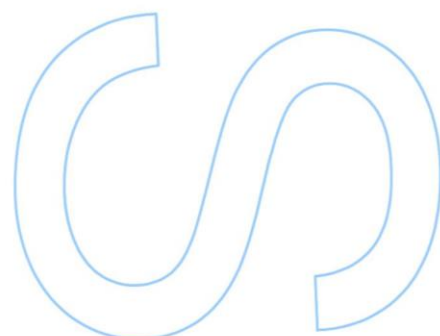
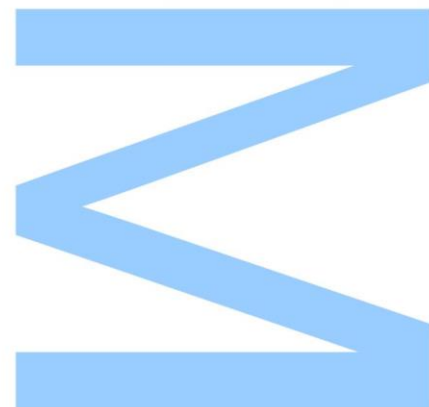




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



“Persistence is the shortest path to success.”

Charles Chaplin

Aos meus avós, pelos ensinamentos de uma vida

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Prof^a Doutora Paula Gomes por me ter dado esta grande oportunidade e desafio na minha vida, assim como por todo o carinho e dedicação nos momentos mais difíceis ao longo do ano. De seguida, queria agradecer ao Prof Doutor Ricardo Ferraz por ter estado ao meu lado durante este projeto, por me ter apoiado e por ter disponibilizado o seu tempo para me ensinar. Agradeço-lhe por tudo.

À Doutora Fátima Nogueira e à Doutora Sílvia Parapini, bem como à Sílvia e à Mariana, por toda a colaboração que me prestarem neste projeto.

Às minhas colegas de laboratório, pelo apoio e disponibilidade, assim como pelos bons momentos passados na companhia delas e pelo ambiente sereno que me proporcionaram. Um agradecimento muito especial à Rita e à Abigail, por me terem aturado e me feito sorrir. Sem vocês, este ano não teria sido o mesmo.

Aos meus amigos do meu coração, Joana, Cláudia, Flávia, Susana, Carla, Ivan e Tânia. Joana, muito obrigado pela paciência que tiveste em ajudar-me na dissertação. Sem ti, a minha luta com o Microsoft word teria continuado. Obrigado também à Spurthi, por me ter ajudado e me apoiado nos momentos de grande crise, um sorriso foi suficiente para todos os males passarem. 고맙습니다 Hwaiting! Também queria agradecer à Sílvia e à Jéssica, que me acompanharam durante os meus dois anos no Mestrado. Obrigado por terem estado comigo nesta aventura.

Ao meu tio, em especial, por me ter ensinado a rir. À minha avó pela paciência e pela sua palavra amiga. Só tu sabes o que realmente necessitava nos momentos mais complicados. Obrigada também a Sofia, à Kikas e ao Snoppy por terem estado ao meu lado. Com vocês consegui esquecer-me dos problemas. Ao resto da minha família, porque sem vocês nada teria sido possível.

E como os últimos são sempre os primeiros, queria agradecer do fundo do meu coração aos meus pais. Sou hoje quem sou graças a vocês e mesmo sabendo que também têm os vossos problemas, sempre me deram a atenção e o carinho necessário para continuar a lutar e a seguir em frente.

Resumo

Os líquidos iônicos (ILs) têm atraído a atenção da comunidade científica, em diversas áreas. Estes são geralmente definidos como sais orgânicos, em que o catião orgânico tem um ponto de fusão inferior a 100 °C, sendo muito deles líquidos à temperatura ambiente. O estudo detalhado dos líquidos iônicos ao nível das suas características físicas e químicas surgiu do seu potencial como solvente “verde”, porém, recentemente tem vindo a surgir um grande interesse no estudo das suas propriedades biológica; assim, uma terceira geração de ILs está a surgir de combinações que integram princípios farmacêticamente ativos (APIs), com vista à produção de novos ILs com potencial terapêutico. Neste âmbito, o objetivo deste trabalho é a síntese e estudo de líquidos iônicos derivados de fármacos antimaláricos básicos, a primaquina (PQ) e a cloroquina (CQ), cujas formas protonadas (catiônicas) são combinadas com diversos ácidos, alguns dos quais igualmente interessantes do ponto de vista terapêutico.

Para esta dissertação foram produzidos catorze sais orgânicos, dez derivados da PQ e outros quatro derivados da CQ, por aplicação do método de neutralização. Todos os compostos finais foram caracterizados por ressonância magnética nuclear de protão (^1H -RMN) e de carbono-13 (^{13}C -RMN), bem como por espectrometria de massa com ionização por eletro-nebulização e deteção por armadilha de iões (ESI-IT MS), para confirmação das estrutura e da sua pureza. Os produtos pretendidos foram sintetizados com êxito, com rendimentos bastante satisfatórios.

Estes sais ainda foram submetidos a caracterização adicional centrada nas suas propriedades biológicas, em colaboração com grupos de investigação externos. A maior parte dos compostos finais derivados da primaquina foram avaliados *in vitro* quanto à sua atividade biológica contra as formas do *P. falciparum* (3D7 e Dd2). Estas análises biológicas foram efetuadas para duas fases da infeção: sanguínea e gametócitos.

Palavras-chave: líquido iónico; antimaláricos; primaquina; cloroquina; *Plasmodium falciparum*

Abstract

Ionic liquids (ILs) have attracted the attention of the scientific community in several areas. They are generally defined as organic salts, wherein the organic cation has a melting point below 100 ° C, and many are liquids at room temperature. The detailed study of ionic liquids, in terms of their physical and chemical characteristics, came from their potential as “green” solvents, but recently great interest in the study of their biological properties has emerged.; thus, a third generation of ionic liquids is emerging from combinations that incorporate pharmaceutically active ingredients (APIs), with the aim of producing new ILs with therapeutic potential. In this context, the purpose of this work is the synthesis and study of ionic liquids derived of basic antimalarial drugs, primaquina (PQ) and chloroquine (CQ), whose protonated forms (cationic) are combined with various acids, some of them also interesting from a therapeutic standpoint.

For this dissertation, fourteen organic salts were produced, ten of them derived from PQ and the other four derived from CQ, by applying the neutralization method. All final compounds were characterized by nuclear magnetic resonance of proton ($^1\text{H-NMR}$) and carbon-13 ($^{13}\text{C-NMR}$) and by mass spectrometry (ESI-IT MS) to confirm their structures and purity. The desired products were synthesized successfully, with very satisfactory yields.

These salts also were subjected to further characterization focused on their biological properties, in collaboration with external research groups. Most of the final compounds derived from primaquine were evaluated *in vitro* for their biological activity against *P. falciparum* forms (3D7 and Dd2). These biological analyses were carried out for two stages of malarial infection: erythrocyte and gametocide.

Keywords: ionic liquid; antimalarial; primaquine; chloroquine; *Plasmodium falciparum*

Índice Geral

Agradecimentos	ix
Resumo	xi
Abstract	xiii
Índice Geral	xv
Índice de Esquemas	xix
Índice de Figuras	xxi
Índice de Tabelas	xxiii
Índice de Abreviaturas	xxv
Compostos Sintetizados	xxvii
Compostos Analisados	xxx
1. Introdução	1
1.1 Líquidos Iônicos – Sais orgânicos	3
1.1.1 Propriedades e características	5
1.1.2 Os líquidos iônicos na História	7
1.1.3 Os líquidos iônicos e as suas gerações	8
1.1.4 Os ILs como ingredientes farmacêuticamente ativos	9
1.2 Malária	10
1.2.1 A malária, a história e o tratamento	11
1.2.2 A malária e o mundo	12
1.2.3 O ciclo de vida do <i>Plasmodium</i>	13
1.2.4 Os medicamentos antimaláricos	15
a) Resistência aos fármacos atuais	16
b) Primaquina	17
c) Cloroquina	19
1.3 Métodos de preparação de Líquidos Iônicos (ILs)	20
1.1.1 Metátese	21

1.1.2 Neutralização.....	22
1.1.3 Carbenos de imidazole	23
2. Âmbito do trabalho.....	25
2.1 Objetivo	27
2.2. Metodologia de síntese dos ILs baseados na primaquina e na cloroquina....	29
3. Procedimento experimental.....	31
3.1 Reagentes e equipamentos utilizados	33
3.2 Síntese de líquidos iónicos baseados na primaquina	33
3.2.1 Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de PQ	33
3.2.2 Síntese dos ILs derivados da PQ (A)	34
3.2.2.1 Síntese do 2-acetilsalicilato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][AA]	35
3.2.2.2 Síntese do 3-carboxi-2,3-di-hidroxipropanoato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][AT].....	36
3.2.2.3 Síntese do oleato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][AO]	38
3.2.2.4 Síntese do Cinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI].....	39
3.2.2.5 Síntese do 4-metilcinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI2]	41
3.2.2.6 Síntese do 4-hidroxicinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI3]	42
3.2.2.7 Síntese do 4-metoxicinamato de PQ 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI4]	44
3.2.2.8 Síntese do 4-isopropilcinamato de de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI5]	46
3.2.2.9 Síntese do 4-clorocinamato 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI6]	47
3.2.2.10 Síntese do benzoato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][BZ]	49
3.3 Síntese de líquidos iónicos baseados na cloroquina.....	51

3.3.1 Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de CQ	51
3.3.2 Síntese dos ILs derivados da CQ (B)	52
3.3.2.1 Síntese do 4-clorocinamato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-N,N-dietilpentan-1-aminium [CQ][ACI6].....	52
3.3.2.2 Síntese do 4-isopropilcinamato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-N,N-dietilpentan-1-aminium [PQ][ACI5].....	54
3.3.2.3 Síntese do Oleato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-N,N-dietilpentan-1-aminium [PQ][AO]	55
3.3.2.4 Síntese do 3-carboxi-2,3-di-hidroxiopropanoato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-N,N-dietilpentan-1-aminium [PQ][AT]	57
3.4 Caracterização dos compostos sintetizados	59
4. Resultados obtidos e discussão	61
4.1 Síntese dos ILs derivados da primaquina (A)	63
4.1.1 Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de PQ	63
4.1.2 Preparação dos líquidos iónicos	64
4.1.3 Degradação do 2-acetilsalicilato de 4-((6-metoxiquinolin-8-ilo)amino)pentan-1-amínio.....	70
4.2 Análise biológica dos ILs derivados da primaquina	75
4.2.1 Fase sanguínea	75
4.2.2 Atividade gametocida.....	78
4.3 Síntese dos ILs derivados da cloroquina (B)	82
4.3.1 Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de CQ	82
4.3.2 Preparação dos líquidos iónicos	82
5. Conclusão e Perspetivas Futuras	85
Referências Bibliográficas	89

Índice de Esquemas

Esquema 1: Procedimento geral para a síntese de ILs por reações de metátese e de neutralização	21
Esquema 2: Vias generalizadas de reações de metátese para a síntese de ILs	22
Esquema 3: Procedimento geral da síntese de ILs por intermédio de carbenos de imidazole	23
Esquema 4: Mecanismo reacional geral das sínteses dos ILs derivados da PQ	29
Esquema 5: Mecanismo reacional geral das sínteses dos ILS baseados na CQ	30
Esquema 6: Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de primaquina	34
Esquema 7: Esquema de síntese do [PQ][AA]	35
Esquema 8: Esquema de síntese do [PQ][AT]	36
Esquema 9: Esquema de síntese do [PQ][AO]	38
Esquema 10: Esquema de síntese do [PQ][ACI]	39
Esquema 11: Esquema de síntese do [PQ][ACI ₂]	41
Esquema 12: Esquema de síntese do [PQ][ACI ₃]	43
Esquema 13: Esquema de síntese do [PQ][ACI ₄]	44
Esquema 14: Esquema de síntese do [PQ][ACI ₅]	46
Esquema 15: Esquema de síntese do [PQ][ACI ₆]	48
Esquema 16: Esquema de síntese do [PQ][BZ]	49
Esquema 17: Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de cloroquina	51
Esquema 18: Esquema da reação de [CQ][ACI ₆]	52
Esquema 19: Esquema de síntese do [CQ][ACI ₅]	54
Esquema 20: Esquema de síntese do [CQ][AO]	56
Esquema 21: Esquema de síntese do [CQ][AT]	57
Esquema 22: Representação esquemática da remoção do bisfosfato do sal	63
Esquema 23: Representação geral da síntese de líquidos iónicos derivados da primaquina	64
Esquema 24: Representação esquemática da remoção do bisfosfato do sal	82
Esquema 25: Representação geral da síntese de líquidos iónicos derivados da cloroquina	83

Índice de Figuras

Figura 1: Publicações sobre “ionic liquid” (até 16 Setembro, 2015) por ano, determinadas pelo Web of Science.....	4
Figura 2: (a) A estrutura proposta para o sal intermediário nas reações de Friedel-Crafts. (b) Um exemplo de um nitrato de alquilamónio simples (nitrato de etilamónio)..	7
Figura 3: Evolução científica dos líquidos iónicos, desenvolvimento das gerações e contextualização histórica.....	8
Figura 4: Alguns exemplos de sais farmacêuticos que podem ser classificados como sendo ILs-APIs1	9
Figura 5: Anópheles Fêmea, mosquito responsável pela transmissão da malária.	11
Figura 6: Percentagem de população em risco de contraírem malária em 2013.....	13
Figura 7: Ciclo de vida do parasita da malária	13
Figura 8: Esporozoítos. (a) Visualização dos esporozoítos nas glândulas salivares. (b) Invasão da uma célula hepática por um esporozoíto.	15
Figura 9: Imagens de microscopia de vídeo em tempo real na invasão de eritrócitos humanos por <i>Plasmodium knowlesi</i>	15
Figura 10: As fases hepáticas do ciclo de vida dos parasitas da malária	16
Figura 11: Estrutura química da artemisinina	17
Figura 12: Estruturas químicas da (1) pamaquina e da (2) primaquina..	18
Figura 13: Estrutura química da cloroquina (CQ)	19
Figura 14: Cátions e aniões utilizados nesta dissertação.....	28
Figura 15: Espectro de massa ESI-IT MS (modo positivo) do composto [PQ][ACI]	66
Figura 16: Espectro de massa ESI-IT MS (modo negativo) do composto [PQ][ACI] ..	66
Figura 17: Comparação dos espectros de RMN ¹ H: [PQ][ACI] (vermelho), ácido cinâmico (verde) e primaquina (azul).	67
Figura 18: Identificação dos picos no espectro de RMN ¹ H do [PQ][ACI] para confirmar a pureza do composto	68
Figura 19: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO-d ₆) do composto [PQ][ACI]	69
Figura 20: Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, DMSO-d ₆) do composto [PQ][ACI] no intervalo de 6,0 a 8,6 ppm.	69

Figura 21: Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO-d6) do composto [PQ][ACI].....	70
Figura 22: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) do composto [PQ][AA] (dia 1)..	71
Figura 23: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) do composto [PQ][AA] (dia 3).....	72
Figura 24: Sobreposição dos espectros de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) do composto [PQ][AA] (dia 1 e dia 3).....	72
Figura 25: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) do composto [PQ][AA].....	73
Figura 26: Sobreposição dos espectros de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) do compostos [PQ][AA] (dia 1 e dia 7).....	73
Figura 27: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) do composto [PQ][AA] (dia 15).	74
Figura 28: Sobreposição dos espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d6) do composto [PQ][AA] (dia 1 e dia 15).....	74
Figura 29: Resultados da análise biológica para os líquidos iónicos derivados da PQ sintetizados, com os valores de IC_{50} respetivos e contra o <i>P. falciparum</i> 3D7 e Dd2...77	
Figura 30: Primacinas, compostos derivados da primaquina acoplados com ácidos cinâmicos, utilizados para comparação, por análise biológica, com os líquidos iónicos sintetizados respetivos.....	79
Figura 31: IC_{50} dos compostos analisados contra a fase dos gametócitos no <i>P. falciparum</i> 3D7 <i>P. falciparum</i> a partir de uma linhagem transgênica 3D7	81

Índice de Tabelas

Tabela 1: Comparação dos líquidos iônicos com solventes orgânicos	6
Tabela 2: Rendimentos obtidos na obtenção da primaquina com o grupo NH ₂ livre ...	64
Tabela 3: Dados das sínteses dos compostos finais, ILs derivados da PQ.	65
Tabela 4: Resultados na fase sanguínea, <i>in vitro</i> para 8 ILs derivados da PQ sintetizados, contra o <i>Plasmodium falciparum</i> estirpe 3D7 e o Dd2 (resistente à cloroquina).....	76
Tabela 5: Dados <i>in vitro</i> da atividade antimalárica contra a fase dos gametócitos no <i>P. falciparum</i> a partir de uma linhagem transgênica 3D7.....	80
Tabela 6: Dados das sínteses dos compostos finais, ILs derivados da CQ.....	83

Abreviaturas

3D7 – *Estirpe de P. falciparium sensível à cloroquina*

A

AA – *Ácido Acetilsalicílico*

ACI – *Ácido trans-cinâmico*

ACI2 – *Ácido p-metilcinâmico*

ACI3 – *Ácido p-hidroxicinâmico*

ACI4 – *Ácido p-metoxicinâmico*

ACI5 – *Ácido p-isopropilcinâmico*

ACI6 – *Ácido p-clorocinâmico*

AO – *Ácido Oleico*

API(s) – *Active Pharmaceutical Ingredient(s)*

AT – *Ácido tartárico*

B

BZ – *Ácido benzoico*

C

CQ – *cloroquina*

D

d – *duplete*

Dd2 – *Estirpe de P. falciparium resistente à cloroquina*

dd – *duplo duplete*

DMC – *diclorometano*

DMSO-d6 – *dimetilsulfóxido deuterado*

E

EM – *espectro(s) de massa*

EMA – *Agência Europeia de Medicamentos*

eq. – *equivalentes estequiométricos*

ESI – *Electrospray Ionization*

ESI-IT MS – *Electrospray Ionization Mass Spectrometry Ion Trap*

Et₃N - *trietilamina*

I

IC₅₀ – *Concentração mínima para 50% de inibição in vitro*

IL(s) – *ionic liquid(s)*

J

J – *constante de acoplamento*

M

m – *multiplete*

m/z – *relação massa/carga*

MM – *massa molar*

MeOH – *metanol*

N

n – *número de experiências*

O

OMS – Organização Mundial de Saúde

P

P. – *Plasmodium*

P.f. – ponto de fusão

P. falciparium – *Plasmodium falciparium*

PfCRT - *Plasmodium falciparum*
Chloroquine Resistance Transporter

P. knowlesi – *Plasmodium knowlesi*

P. malariae – *Plasmodium malariae*

P. ovale – *Plasmodium ovale*

PQ – primaquina

P. vivax – *Plasmodium vivax*

Q

q – quarteto

R

RMN – ressonância magnética nuclear

RMN ¹³C – ressonância magnética nuclear de carbono-13

RMN ¹H – ressonância magnética nuclear de próton

RTIL(s) – *Room Temperature Ionic Liquid(s)*

S

s – singuleto

SI – singuleto largo

T

t - tripleto

T_{amb} – temperatura ambiente

TSIL(s) – *task specific ionic liquid(s)*

U

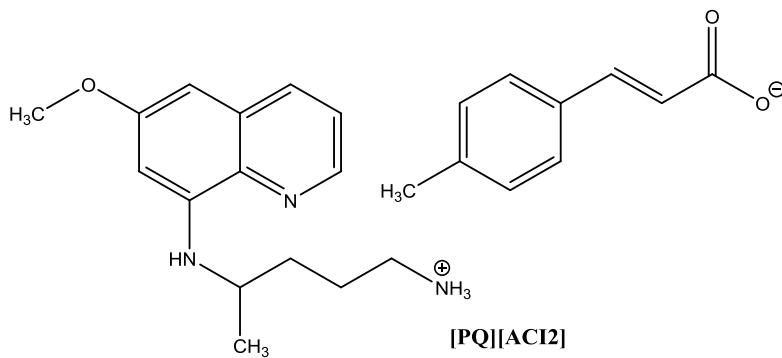
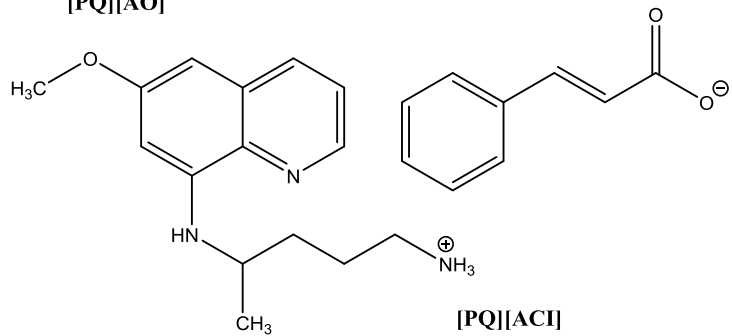
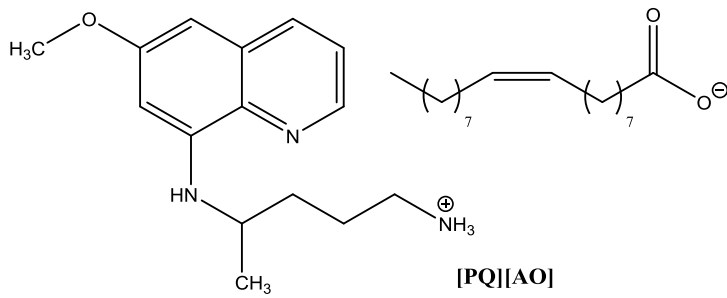
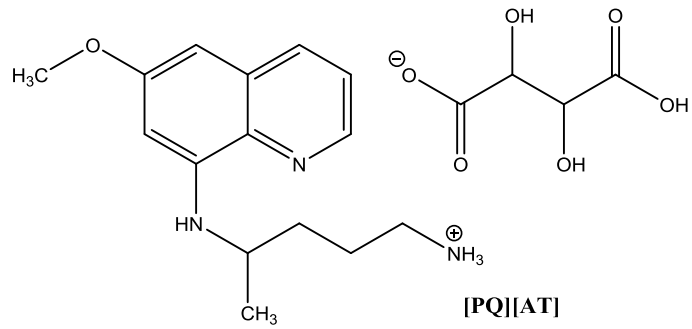
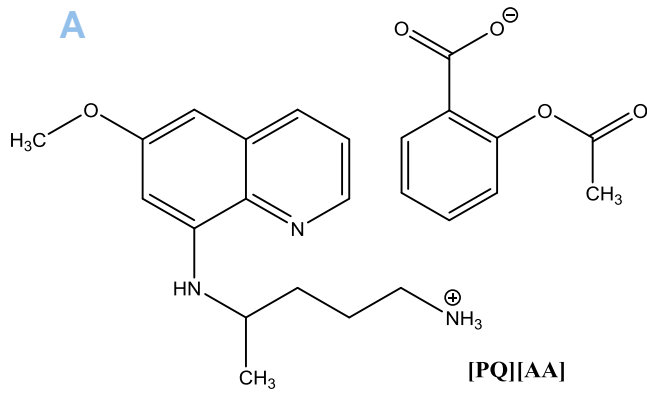
u.m.a. – unidades de massa atômica

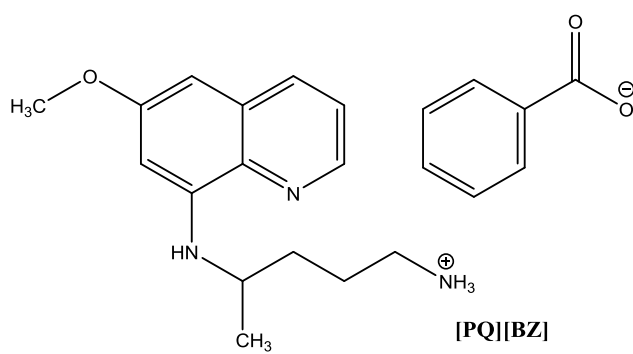
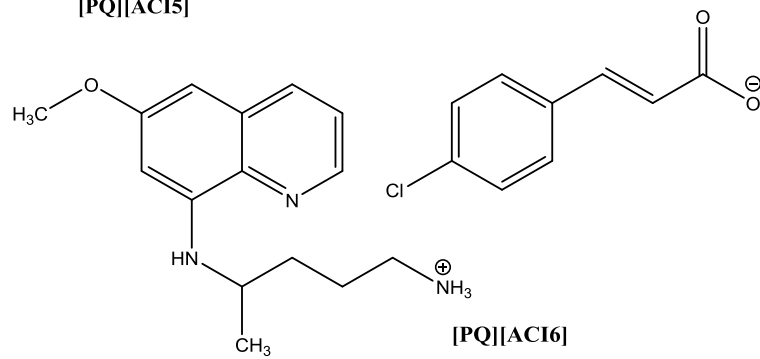
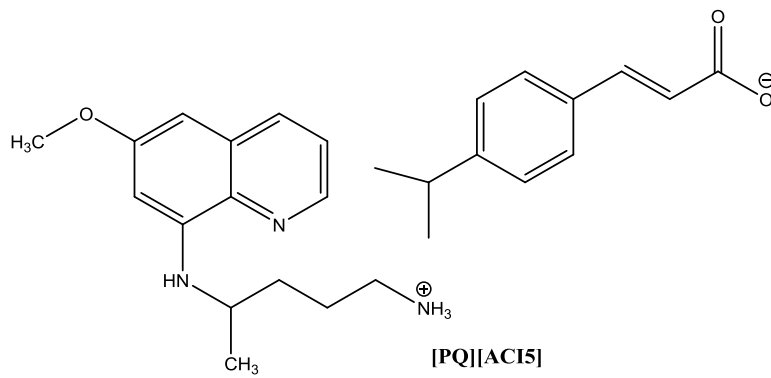
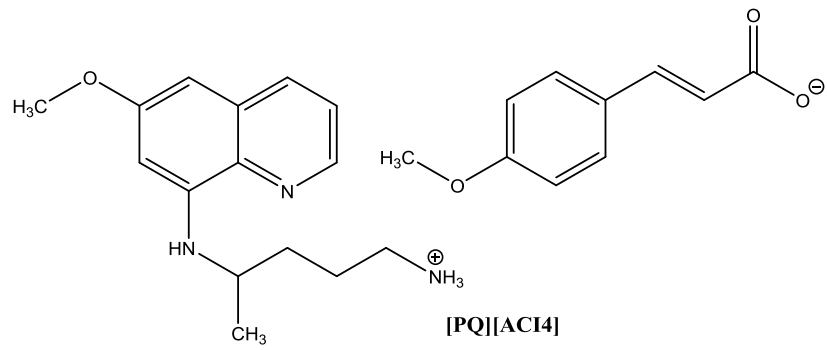
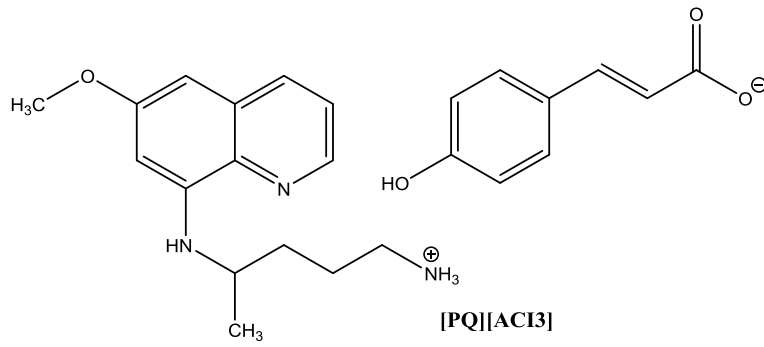
δ – desvio padrão

η – rendimento, %

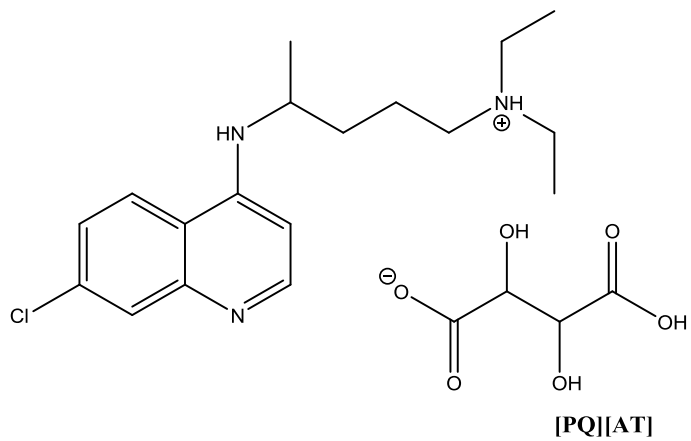
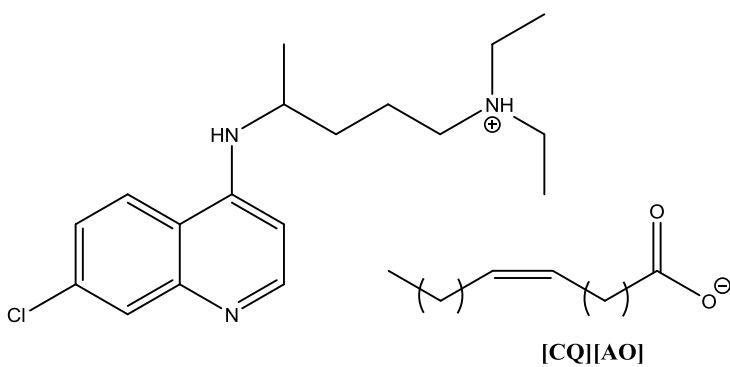
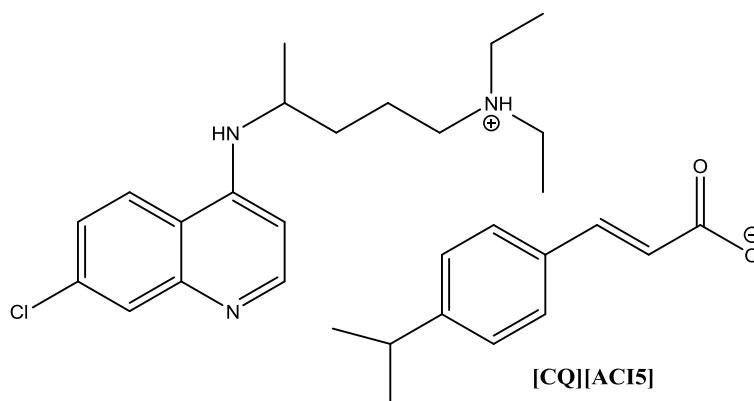
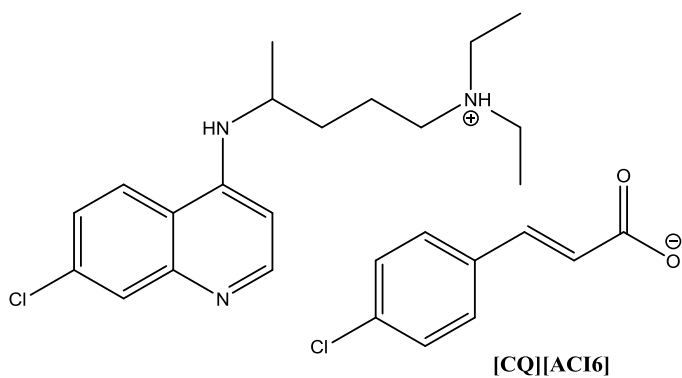
Compostos Sintetizados

A



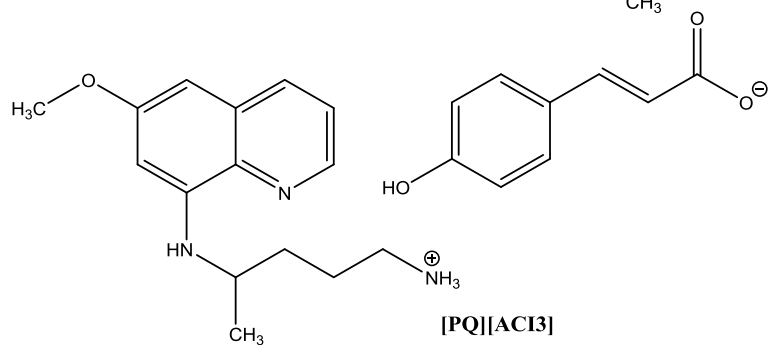
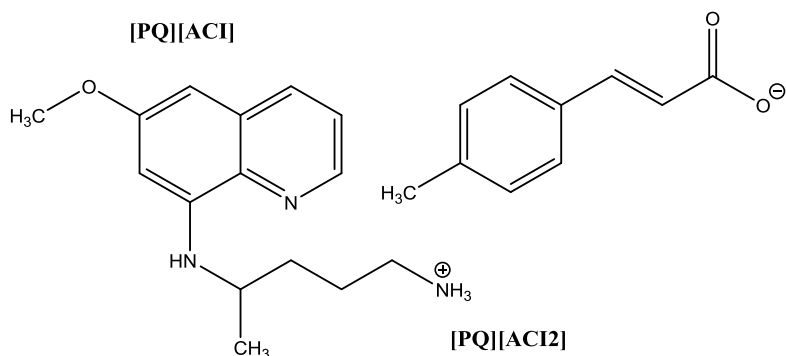
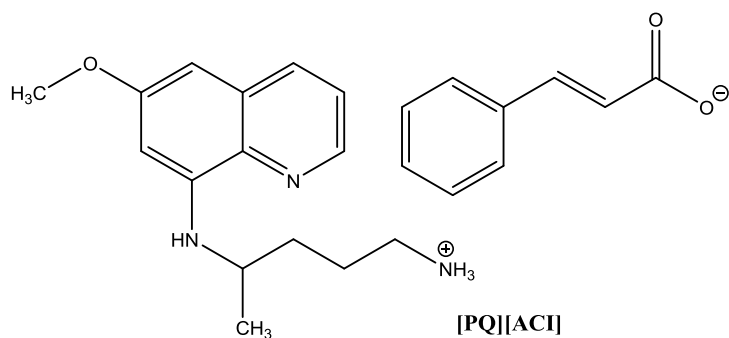
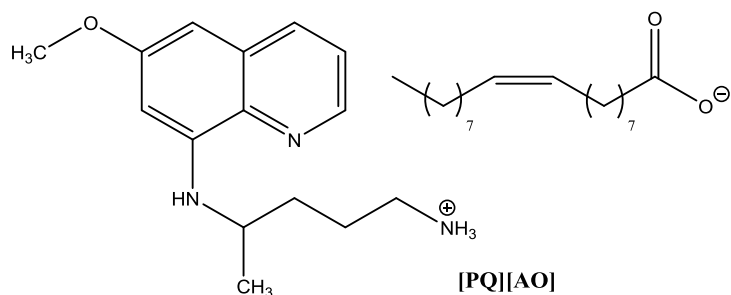
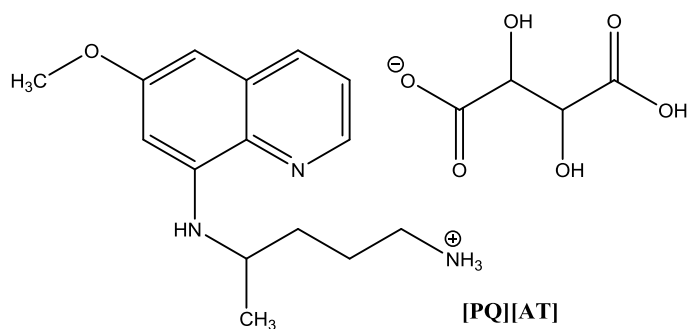


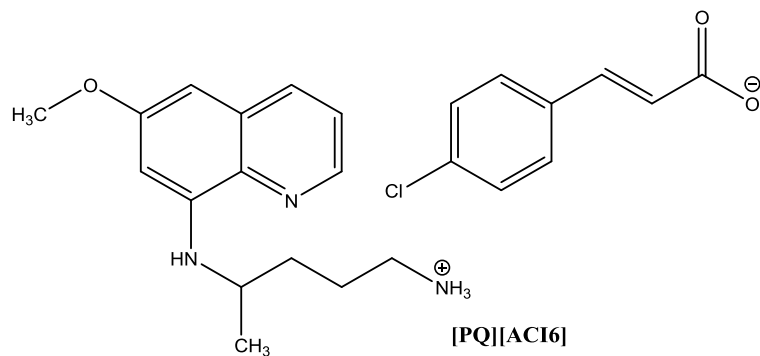
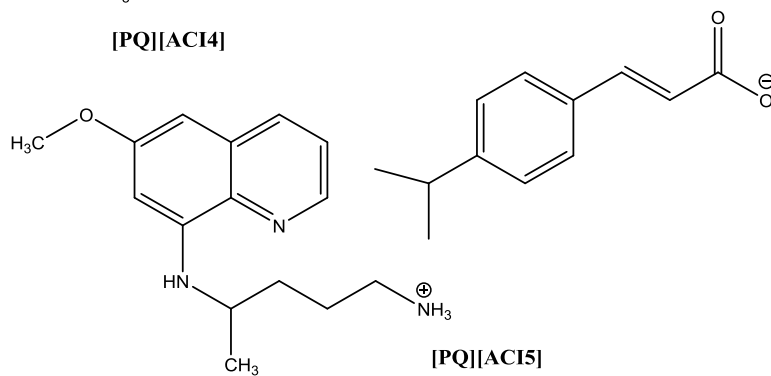
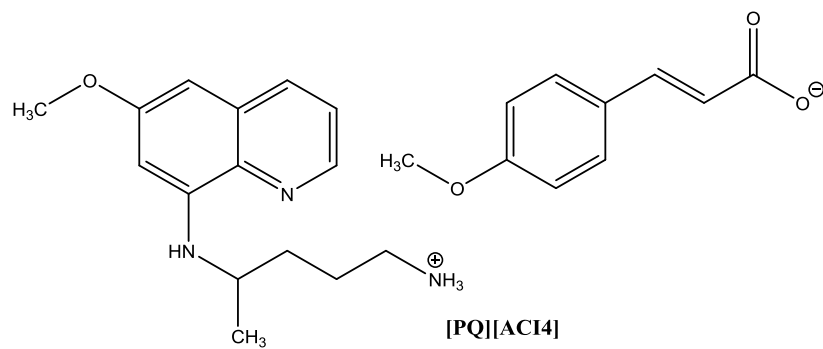
B



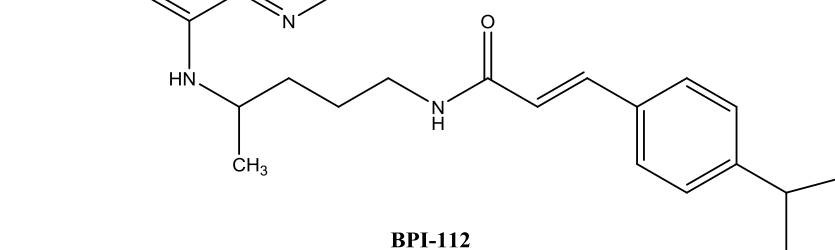
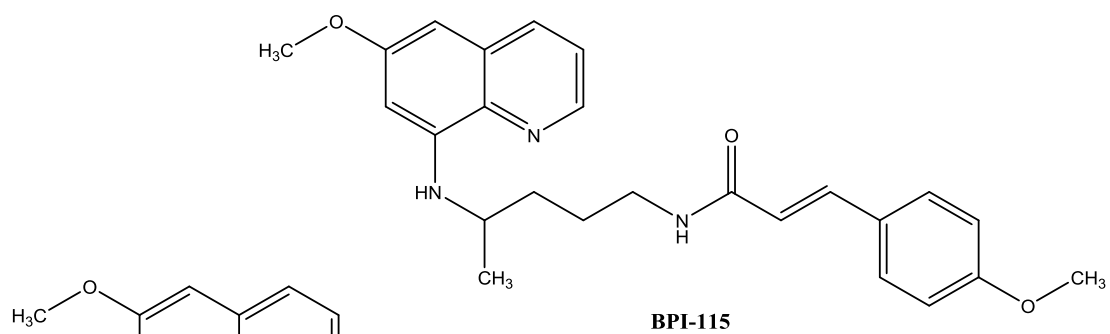
Compostos Analisados

A





C



1. Introdução

1.1. Líquidos Iônicos – Sais orgânicos

Os líquidos iônicos (ILs) são geralmente definidos como sais orgânicos, pois possuem pelo menos um catião orgânico, sendo muitos deles líquidos à temperatura ambiente ^{1, 2}. O termo “*líquido iônico*” foi escolhido com precaução, com o propósito de apresentar uma distinção para a definição clássica de sais fundidos (“*molten salts*” ou apenas “*melts*”), em referência aos compostos iônicos com altos pontos de fusão, alta viscosidade e meios bastante corrosivos, como por exemplo a criolite fundida. Em contrapartida, os líquidos iônicos à temperatura ambiente (*Room Temperature Ionic Liquids* – RTIL) exibem viscosidades baixas, são facilmente manuseados e muitos deles fundem a temperaturas inferiores à da água ³. Estes compostos podem ser conhecidos por nomes distintos, tais como solventes neotéricos, “*designers solvents*”, ou até mesmo fluídos iônicos ⁴. Os RTILs são constituídos integralmente por iões ^{1, 2, 5, 6}. A maioria dos líquidos iônicos é formada por catiões orgânicos e aniões inorgânicos. De modo a serem líquidos à temperatura ambiente, estes sais devem possuir catiões preferivelmente assimétricos ⁴.

Nos últimos anos, os líquidos iônicos – sais orgânicos têm estado na vanguarda da ciência e da tecnologia mais promissora, atraindo um interesse exponencial em várias áreas. A gama de ILs utilizados tem sido expandida nos últimos anos e um aumento significativo no âmbito de ambas as propriedades físicas e químicas destes sais, tem sido evidenciado ^{6, 7, 8}. Na atualidade, o número de líquidos iônicos sintetizados é bastante elevado, não havendo um limite concreto para esse valor. Por esse motivo, a literatura científica tem sido diariamente invadida por publicações relacionadas com esta área, demonstrando essa variedade de novos ILs e de novas aplicações ¹. Desde então, o número de publicações só tem propensão a aumentar, como vemos na Figura 1, envergando por outros domínios e diversas áreas da investigação.

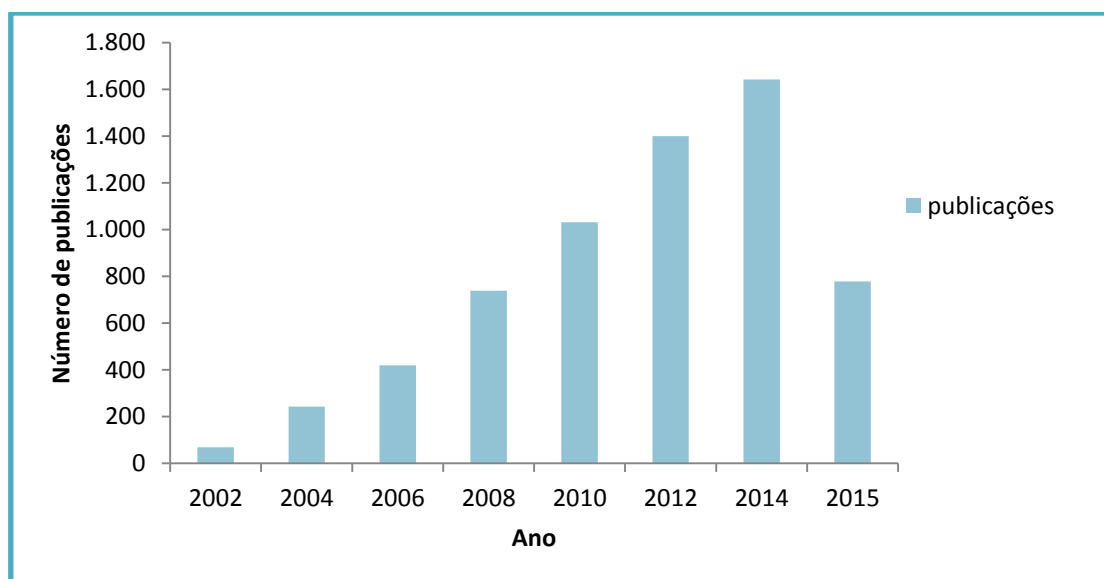


Figura 1 – Publicações sobre “ionic liquid” (até 16 Setembro, 2015) por ano, determinadas pelo Web of Science.

Nos finais dos anos 90, a designação “*designer solvents*” foi atribuída a estes compostos iónicos, proveniente da possibilidade de sintetizar um líquido iónico com uma determinada propriedade necessária, devido à simplicidade de moldagem da conceção deste. Além disso, a vasta variedade das propriedades físico-químicas destes sais também contribuiu para esta denominação.

Este tipo de compostos teve um grande impacto a nível mundial por serem considerados solventes “verdes”. No entanto o aumento do número de líquidos iónicos produzidos e o aumento do conhecimento sobre as propriedades destes compostos, demonstrou que nem todos os ILs podem ser considerados solventes “verdes”. Isto abriu uma nova área de aplicação para os ILs – área biológica.

O progresso desta temática conduziu ao desenvolvimento de líquidos iónicos funcionais, designados por “*task specific ionic liquids*” (TSIL) ⁴. Estes compostos foram introduzidos por Davis Jr. e Forrester em 1999. Por intermédio destes compostos é possível alterar as propriedades de um líquido iónico consoante os iões utilizados. Os TSILs podem ser definidos como sendo ILs que incorporam um grupo funcional, que está covalentemente ligado ao anião ou ao catião (ou a ambos), fazendo parte da estrutura iónica. Esta função confere ao composto, na íntegra, propriedades adicionais (químicas, óticas, magnéticas, físicas ou biológicas), que podem ser empregues para executar tarefas específicas ^{9, 10}. Por conseguinte, na atualidade, o grande interesse por estes compostos iónicos não é encarado como uma estranheza, nem como uma

admiração, fascinando cada vez mais investigadores científicos de uma ampla variedade de domínios, especialmente na área da síntese orgânica.

1.1.1. Propriedades e características

As propriedades dos líquidos iónicos são determinadas pela estrutura e interação entre os iões, uma vez que é a assimetria estrutural entre o catião e o anião que lhes proporciona as suas propriedades únicas. Uma das suas propriedades mais peculiares é obviamente a capacidade de aperfeiçoar/afinar as propriedades físico-químicas, através da escolha apropriada do par catião/anião para o composto iónico pretendido ^{7, 11}.

As principais características destes compostos são: elevada estabilidade térmica e química, baixa volatilidade, inexistência de inflamabilidade, alta condutividade iónica e inigualável capacidade de solubilização com diversos compostos orgânicos. A Tabela 2 apresenta uma comparação entre os solventes orgânicos clássicos e alguns líquidos iónicos.

Tabela 1 - Comparação dos líquidos iónicos com solventes orgânicos ¹².

Propriedades	Solventes Orgânicos	Líquidos Iónicos
Número de solventes	>1,000	>1,000,000
Aplicabilidade	Função única	Multifunção
Capacidade catalítica	Rara	Comum e sintonizável
Quiralidade	Rara	Comum e sintonizável
Pressão de vapor	Obedece à equação de Clausius-Clapeyron	Insignificante em condições normais
Inflamabilidade	Normalmente inflamável	Normalmente não inflamável
Solvatação	Fraca	Forte
Possibilidade de afinar as propriedades	Limitada gama de solventes disponíveis	Ilimitada gama, “ <i>designer solvents</i> ”
Polaridade	Conceitos de polaridade convencionais aplicáveis	Conceito de polaridade questionável
Custo	Normalmente barato	2-100 vezes o custo de solventes orgânicos
Reciclabilidade	Imperativo verde	Imperativo económico
Viscosidade/cP	0,2-100	22-40,000
Densidade/gcm⁻³	0,6-1,7	0,8-3,3
Índice de refração	1,3-1,6	1,5-2,2

1.1.2. Os líquidos iónicos na História

O óleo vermelho, obtido em meados do século XIX, produzido nas reações de *Friedel-Crafts* é considerado o primeiro IL. Posteriormente este óleo foi identificado como o sal deheptacloroaluminato (Figura 2) ^{1, 13}.

No século XX foram aparecendo novos ILs, como os nitratos de alquilamónios. Um desses exemplos é o nitrato de etilamónio. Este sal possui um ponto de fusão baixo, 12 °C, e foi considerado como sendo a primeiro IL à temperatura ambiente ¹⁴ (Figura 2)

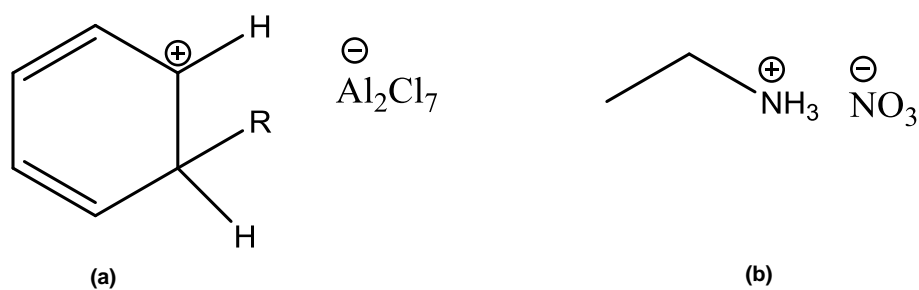


Figura 2 – (a) A estrutura proposta para o sal intermediário nas reações de Friedel-Crafts. (b) Um exemplo de um nitrato de alquilamónio simples (nitrato de etilamónio).

Desde então, esta área tem vindo sempre a progredir. No início da década de 1990, Wilkes e Zaworotka demonstraram que era possível obter ILs à temperatura ambiente, estáveis na presença de água ^{13, 15, 16}. A partir de então os líquidos iónicos começaram a ser alternativas aos solventes orgânicos clássicos ¹⁷.

Atualmente, estes compostos tem vindo a ser utilizados nas mais diversas áreas. Os ILs têm sido utilizados com êxito em aplicações úteis, como em sensores, células solares, células fotoelétricas de estado sólido, baterias, fluidos térmicos, lubrificantes, fluidos hidráulicos, ionogels, entre outros. Existem ainda potenciais aplicações para a utilização de combinações entre propriedades químicas e biológicas, bem como o estudo de ILs energéticos e farmacêuticos ¹⁸.

A aplicação dos ILs na indústria farmacêutica não se resume à sua utilização como solventes, mas também à sua utilização em sistemas de micro-emulsões,

podendo facilitar a dissolução dos fármacos que são insolúveis ou fracamente solúveis em água^{1, 19} ou mesmo acoplados a fármaco^{1, 2, 20, 21}.

1.1.3. Os líquidos iônicos e as suas gerações

Por meados de 2007, Hough *at al.*²² propôs que os líquidos iônicos pudessem ser agrupados em três gerações, consoante as suas propriedades e aplicações (Figura 3).

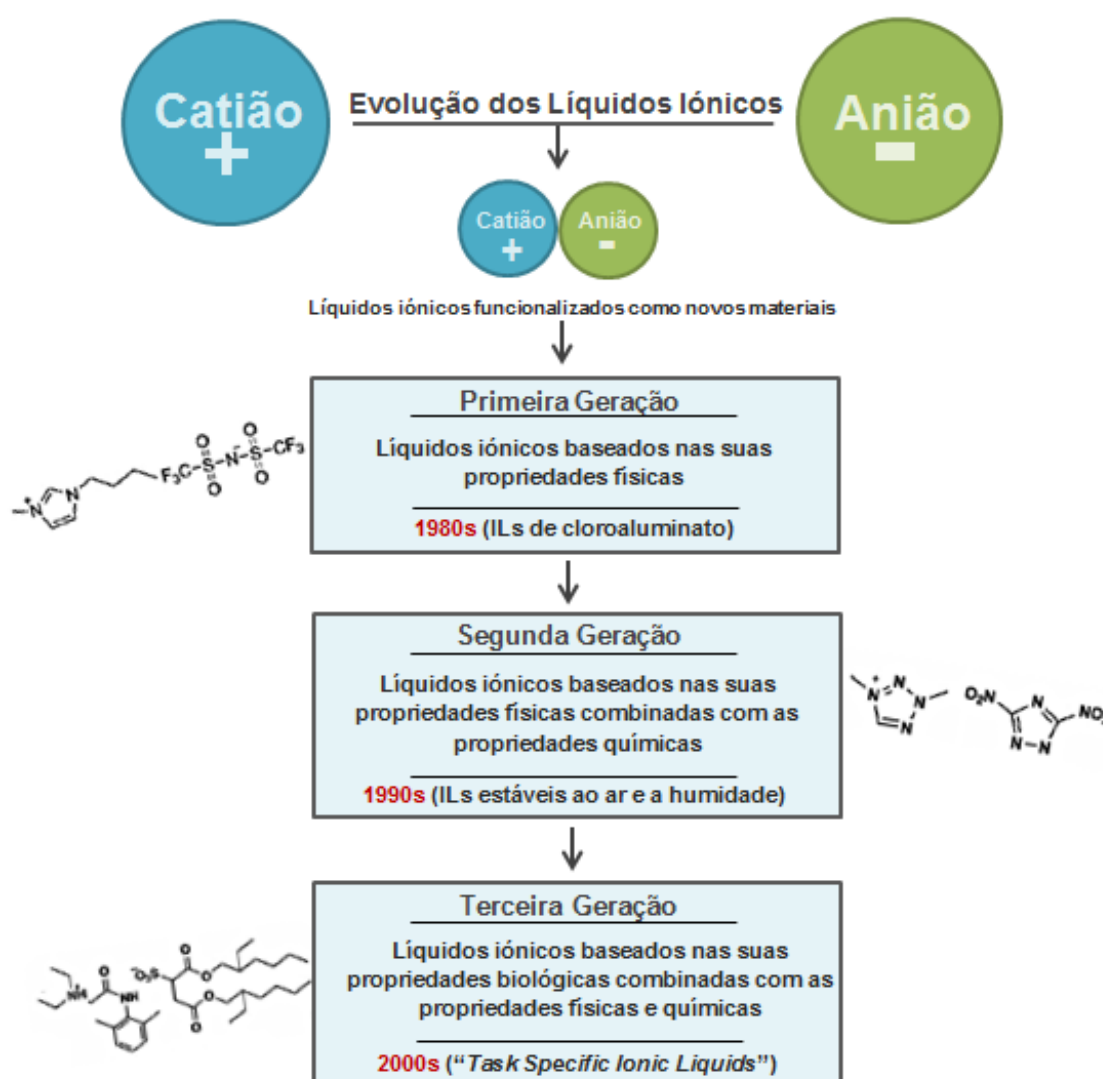


Figura 3 – Evolução científica dos líquidos iônicos, desenvolvimento das gerações e contextualização histórica²².

A primeira geração engloba os ILs com base nas suas propriedades físicas, como por exemplo a diminuição da pressão de vapor ou inexistência de volatilidade, ou até a elevada estabilidade térmica. A segunda geração de líquidos iónicos junta as propriedades físicas com as químicas destes compostos, atribuindo-lhe potencial para a aplicação destes como materiais funcionais, materiais energéticos, lubrificantes e agentes complexantes de iões metálicos ^{1, 7}. Graças às propriedades físicas e químicas sintonizáveis destes compostos é possível adular, pelo menos potencialmente, as propriedades do catião e do anião do sal orgânico de forma independente, permitindo assim a formação de novos materiais funcionais, mas mantendo as características desejadas para um líquido iónico.

A última geração de líquidos iónicos, onde este trabalho se insere, é descrita como aquela em que a atividade biológica é a principal propriedade do líquido iónico, mesmo sendo combinada com as propriedades físico-químicas. Estes compostos têm sido sintetizados com atividade biológica por intermédio de ingredientes farmacêuticos ativos (APIs) ^{1, 2, 7, 22}.

1.1.4. Os ILs como ingredientes farmacêuticamente ativos

Os sais orgânicos com ingredientes farmacêuticos ativos não apareceram recentemente ²³. Na Figura 4 podemos ver alguns exemplos de sais orgânicos já utilizados.

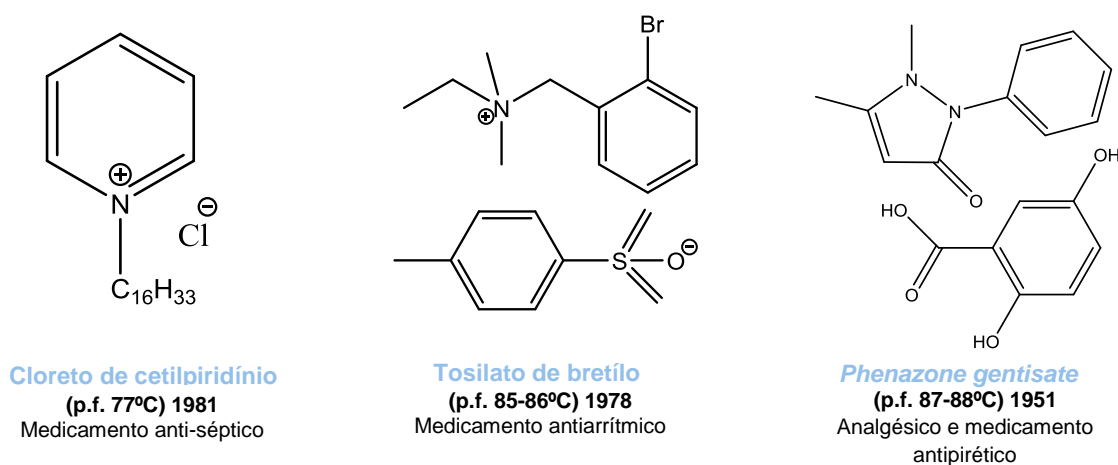


Figura 4 – Alguns exemplos de sais farmacêuticos que podem ser classificados como sendo ILs-APIs ²¹.

Os ILs farmacêuticamente ativos também podem proporcionar novas, improvisadas e extraordinárias propriedades, tais como estabilidade, solubilidade controlada, permeabilidade e distribuição do fármaco no organismo, quando comparadas com as formas farmacêuticas sólidas. Além de que a aplicação de um fármaco ativo sob a forma de um IL à temperatura ambiente, consegue prevenir alguns problemas de polimorfismo, e assim drasticamente influencia a solubilidade de um fármaco e conseqüentemente a dosagem deste ^{2, 24, 25}.

Recentemente sintetizou-se ILs-API a partir de ibuprofeno e naproxeno, assim como antibióticos beta-lactâmicos ^{2, 21}.

O estudo da toxicidade dos ILs demonstrou que eles poderiam ser utilizados como antimicrobianos ^{26, 27, 28}. Os líquidos iônicos têm sido testados contra a resistência de multi-fármacos ²⁹, mostrando uma proeminente eficiência de atividades contra vários patógenos microbianos. Deste modo, o estudo aprofundado dos ILs como ingredientes farmacêuticos ativos, conduziu à investigação de vias alternativas e eficazes para o tratamento de infecções e como material anti-séptico.

1.2. Malária

A malária é uma doença parasitária também conhecida por paludismo, impaludismo e maleita ³⁰. Independentemente de ser uma das doenças mais antigas da humanidade, tendo em conta os inúmeros trabalhos científicos desenvolvidos desde a Antiguidade e a aplicação de novas tecnologias e estratégias para o tratamento e a prevenção da doença, a malária continua a ser um dos maiores problemas de saúde pública no Mundo ^{30, 31}.

Esta enfermidade é uma doença infecciosa, causada por um parasita protozoário do género *Plasmodium*. A malária é geralmente transmitida aos mamíferos pela picada de um mosquito infetado, do género *Anopheles Fêmea* (Figura 5), dando início à infeção assim que os esporozoítos do *Plasmodium* entram no sistema através das glândulas salivares, durante a hematografia ³².

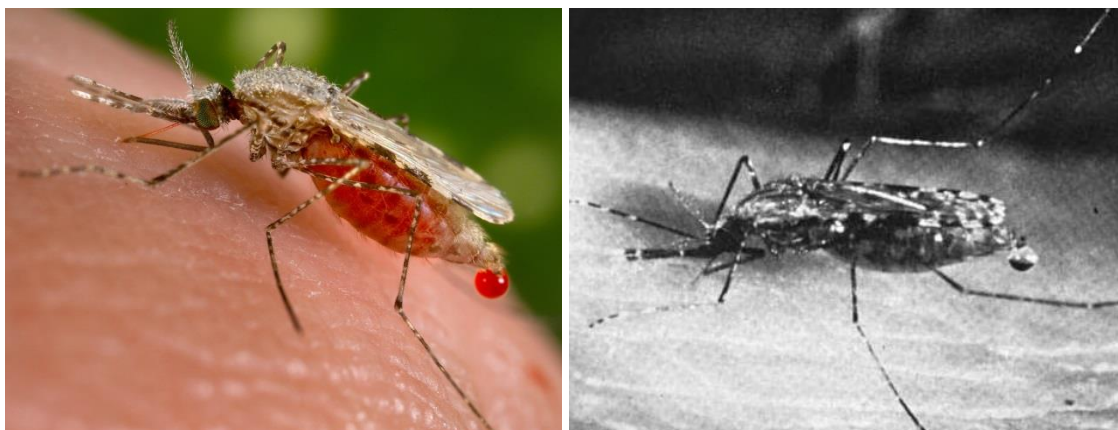


Figura 5 - *Anopheles Fêmea*, mosquito responsável pela transmissão da malária.

Atualmente, o género *Plasmodium* contém uma variedade de espécies. No entanto, só cinco espécies são causadoras da malária humana: *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. falciparum* e *P. knowlesi*^{33, 34}. Entre estas espécies, o *P. falciparum* é o mais mortal, sendo o responsável pela maior percentagem de mortalidade associada com esta enfermidade, cerca de 95%. Em contrapartida, as outras espécies especialmente o *Plasmodium vivax*, originam doenças mais brandas, sendo raramente fatais. O *P. vivax* é outra das espécies dominantes e consegue-se adaptar a condições climáticas menos favoráveis. Por consequência, os casos de malária por *P. vivax* tendem a reaparecer após serem consideradas como doenças curadas, já que nas células hepáticas, esta espécie pode permanecer adormecida, em estado de hibernação³⁰.

1.2.1. A Malária, a história e o tratamento

A malária é uma doença que atualmente afeta bilhões de pessoas em todo o Mundo. No entanto, esta não pode ser vista como uma enfermidade contemporânea. A malária tem estado com os humanos desde o início dos tempos, sendo considerada como uma das doenças mais antigas do Mundo e usufruindo de um papel bastante significativo na história.

Diversos casos de malária foram documentados ao longo dos séculos. O caso mais antigo desta enfermidade apareceu em 1700 a.C. na China, onde era conhecido

como “a mãe das febres”³⁵. A malária foi identificada nestes escritos chineses, porque estes descreviam a febre intermitente característica da malária. Atualmente a artemisinina é um dos fármacos mais utilizados no combate à malária. Este composto era o princípio ativo em diversas poções medicinais na China utilizado há trinta séculos atrás^{30,36}. A quinina foi o primeiro fármaco que ficou mundialmente conhecido contra esta doença sendo extraída da casca da árvore da quina^{31, 37}. Depois destes medicamentos, outros antimaláricos foram sintetizados ao longo do tempo, cada uma deles tem uma indicação preferencial que depende de diversos fatores, tais como a gravidade da doença, a gestação, o tipo de Plasmodium, a idade do paciente, entre outros³⁰.

A luta contra a Malária tem tido algumas boas notícias. Em 15 anos, oito países eliminaram a malária e muitos outros conseguiram reduzir a transmissão para níveis mais baixos. Em contrapartida e pela negativa, a luta contra esta doença prolongou-se ou abrandou-se em alguns lugares. O que tem acontecido é o aumento da resistência dos parasitas aos medicamentos antimaláricos e a persistência dos mosquitos quanto aos inseticidas. Estes são os principais fatores que contribuem para a possível deterioração dos bons resultados obtidos até então³⁸.

1.2.2. A Malária e o Mundo

O clima e a ecologia também são fatores muito importantes. A malária é uma enfermidade tropical e subtropical, que é extremamente sensível ao clima, visto que o mosquito *Anopheles* prefere as regiões quentes, húmidas e chuvosas^{39, 40, 41}.

A malária é a segunda causa mais comum de morte relacionada com doenças infecciosas no Mundo, depois da tuberculose⁴². Anualmente estima-se que cerca de 3,2 bilhões de pessoas estão em risco de contrair esta doença, sendo a população dos países subdesenvolvidos as mais vulneráveis⁴³. Em 2013, a OMS conseguiu estimar, pelas informações recebidas de 97 países onde esta enfermidade era endémica, que 3,3 bilhões de pessoas correram o risco de serem afetadas e de desenvolverem esta doença, e que 1,2 bilhões estavam em risco elevado (Figura 6)⁴⁴.

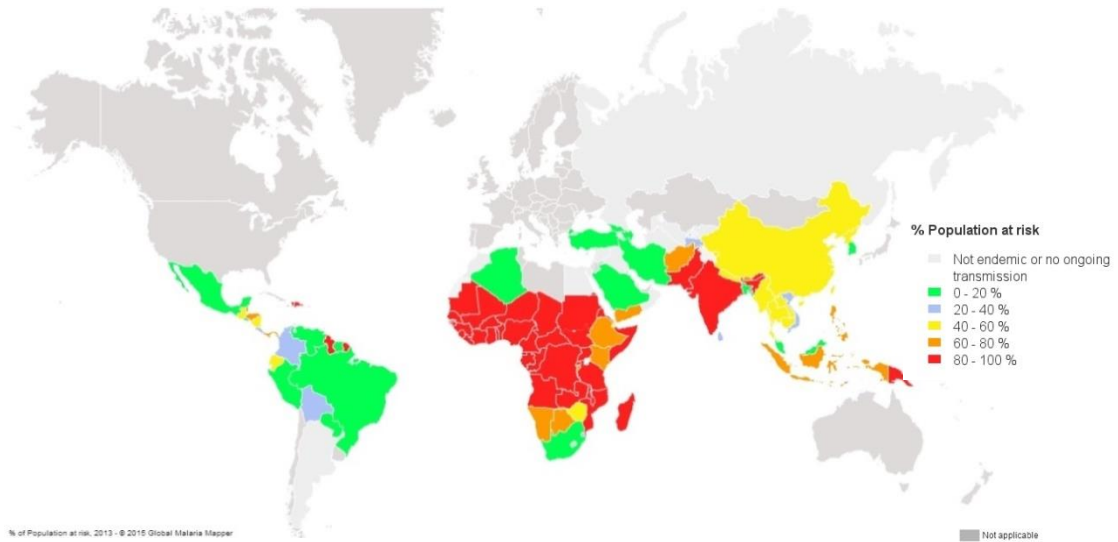


Figura 6 – Percentagem de população em risco de contraírem malária em 2013 ⁴⁴.

1.2.3. O ciclo de vida do *Plasmodium*

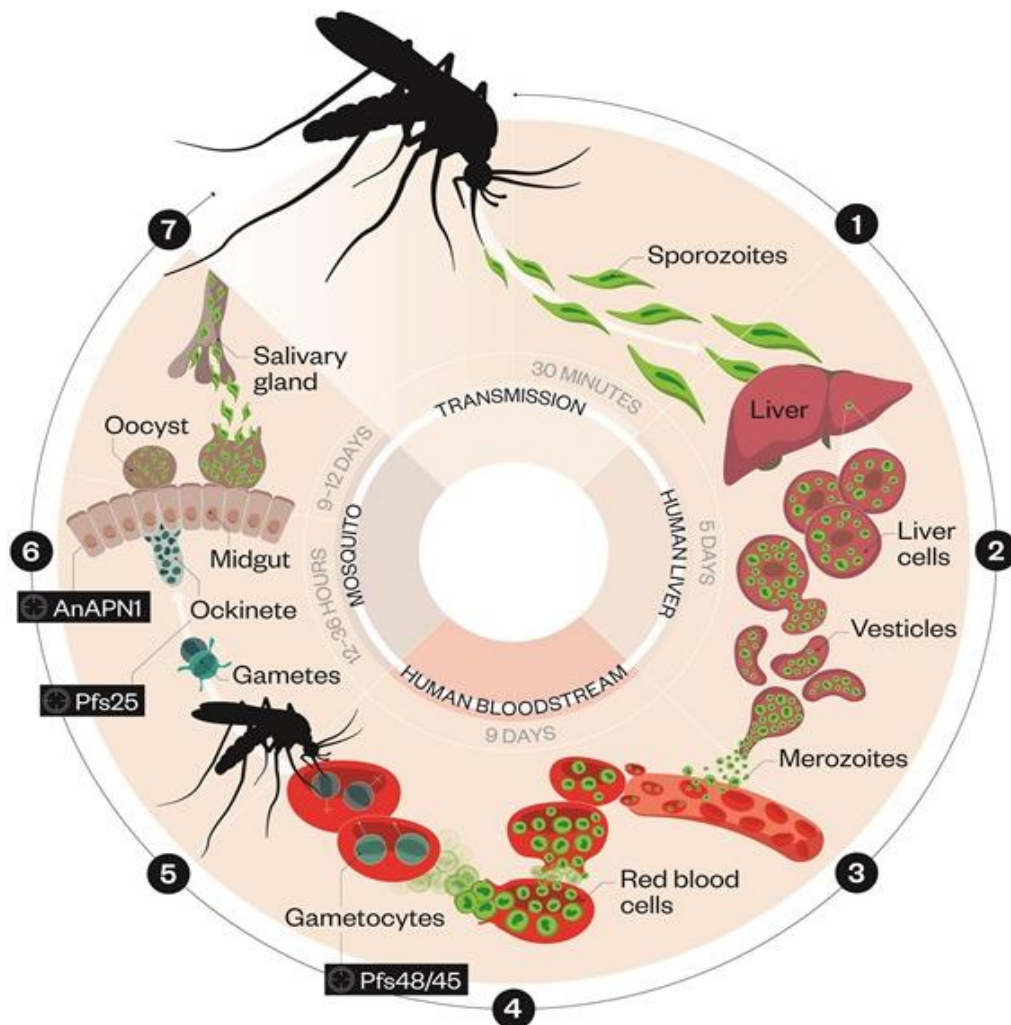


Figura 7 – Ciclo de vida do parasita da malária ⁴⁵.

Como já tínhamos referido antes, uma das razões pela qual a malária continua a ser um grande obstáculo para a humanidade é a resistência disseminada do parasita aos medicamentos disponíveis. A outra razão é o ciclo complexo ⁴⁶ do *P. falciparum* que se separa em diferentes fases, com etapas de desenvolvimento essenciais tanto no mosquito como no hospedeiro vertebrado, como podemos ver na Figura 7.

O ciclo de transmissão da malária divide-se numa fase assexuada que ocorre dentro do hospedeiro vertebrado (intermediário) e outra fase, a sexuada, que apesar de se iniciar no humano, apenas é completada dentro do mosquito (hospedeiro definitivo) ⁴⁷.

A fase assexuada do ciclo, também designada por ciclo esquizogónico, inicia-se quando uma fêmea *Anopheles* infetada com o parasita da malária pica e inocula esporozoítos para a corrente sanguínea **(1)**, que se encontravam alojados nas glândulas salivares (Figura 8). Aproximadamente uma hora depois da inoculação, os esporozoítos migram para as células do parênquima do fígado, os hepatócitos ⁴⁷. Durante a fase da infeção hepática, os esporozoítos percorrem diversos hepatócitos até invadirem um hepatócito final (Figura 8) **(2)** ⁴⁸. Ali, durante um período de oito a dez dias, os esporozoítos amadurecem e dividem-se por meioses sucessivas, dando origem a milhares de merozoítos, que depois são libertados novamente para a corrente sanguínea **(3)** ^{47,49}. Posteriormente, os merozoítos invadem os glóbulos vermelhos (Figura 9). Desta maneira, um novo ciclo de multiplicação assexuada (esquizogonia eritrocítica) começa, gerando novos merozoítos. O tempo de desenvolvimento e o número de merozoítos, depende das espécies de *Plasmodium*. Após a rutura da célula, os merozoítos são libertados e rapidamente voltam a invadir eritrócitos saudáveis **(4)**. Este processo repete-se indefinidamente e é o responsável pela malária, visto que quando cada eritrócito rebenta, mais merozoítos são libertados para a corrente sanguínea, aumentando consideravelmente o parasitema e induzindo a manifestação dos sintomas da enfermidade ^{50,51}.

À medida que a doença progride, alguns desses merozoítos diferenciam-se em gametócitos (femininos e masculinos), que apenas se desenvolvem se forem ingeridos pelo mosquito durante a refeição sanguínea **(5)** ⁵². Deste modo inicia-se a fase sexuada do ciclo de vida do parasita. Dentro do hospedeiro invertebrado, os gametócitos vão-se desenvolver em gâmetas, que por fertilização formam ookinetes (zigoto móvel). Estes formam oócitos ao saírem do intestino dos mosquitos, que é onde os esporozoítos são desenvolvidos **(6)**. Quando maduros, os esporozoítos migram para as glândulas salivares **(7)**. Deste modo o mosquito já pode transmitir a

doença para outro hospedeiro intermédio, iniciando novamente assim o ciclo de vida do parasita ⁴⁹.

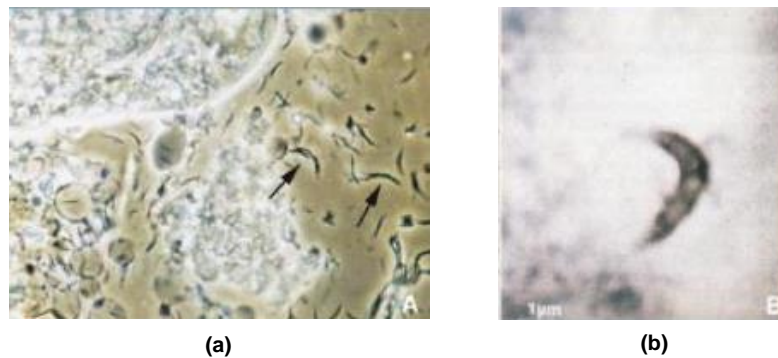


Figura 8 – Esporozoítos. (a) Visualização dos esporozoítos nas glândulas salivares. (b) Invasão da uma célula hepática por um esporozoíto. ⁴⁷

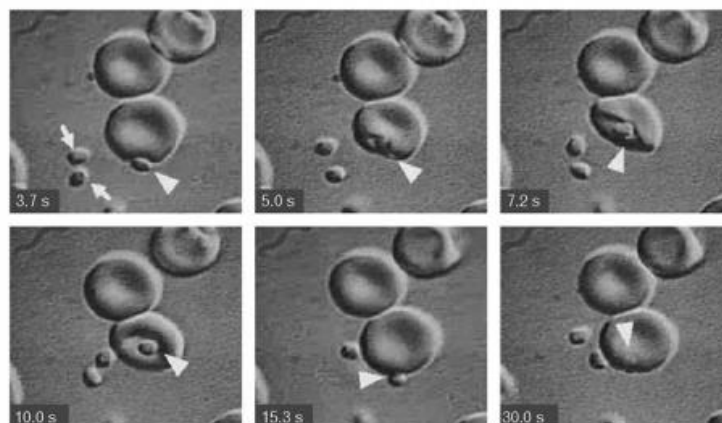


Figura 9 - Imagens de microscopia de vídeo em tempo real na invasão de eritrócitos humanos por *Plasmodium knowlesi* ⁵³.

1.2.4. Os medicamentos antimaláricos

A maior parte dos medicamentos antimaláricos têm como finalidade o combate contra esta enfermidade na fase sanguínea. Deste modo é possível interromper a transmissão da malária, impedindo a formação de gametócitos e assim sendo, o progresso da doença. No entanto, na maioria dos casos, ainda não se conhecem os mecanismos de ação específica dos fármacos antimaláricos utilizados ^{54, 55}.

Na atualidade, já existem medicamentos antimaláricos que atuam em ambas as fases do ciclo assexuado do *Plasmodium*. Os derivados da artemisina (ACTs) têm sido os fármacos mais utilizados hoje em dia. A cloroquina (CQ), apesar da resistência de certas estirpes a este fármaco, foi considerada um das maiores descobertas dentro desta temática. Ambos intervêm na fase eritrocítica da malária. Em contrapartida, a primaquina (PQ) apenas atua na fase hepática do ciclo de vida do parasita.

Os medicamentos que intervêm na etapa hepática também são eminentemente importantes, visto que estes podem ser usados na quimioprofilaxia, de maneira a inibir as manifestações clínicas da malária ⁵⁶. Anteriormente tínhamos mencionado que as infecções causadas por *P. vivax* e por *P. ovale* teriam de ter precauções mesmo após aparente recuperação da doença. Nestas espécies, os hipnozoítos, uma quantidade variada de esporozoítos que se desenvolvem em formas latentes nos hepatócitos (Figura 10), permanecendo nas células hepáticas como que “adormecidas” por longos períodos de tempo, causando posteriormente, recaídas da doença. É exatamente por este motivo que os fármacos, que atuam na fase hepática, são cruciais para estas infecções ^{56, 57}.

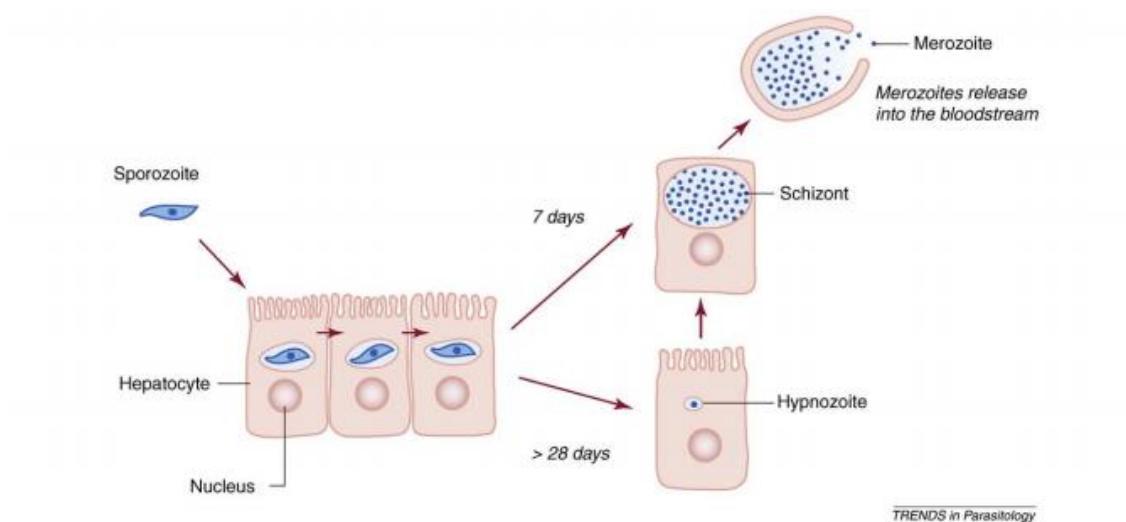


Figura 10 – As fases hepáticas do ciclo de vida dos parasitas da malária ⁵⁷.

a) Resistência aos fármacos atuais

A intensa implementação destes fármacos tem favorecido os parasitas da malária humana a desenvolverem mecanismos de resistência aos medicamentos antimaláricos até agora descobertos. Hoje em dia, o rápido surgimento de resistências

destes parasitas, particularmente do *P. falciparum*, tem sido um dos principais contribuintes para o ressurgimento mundial da malária nas últimas décadas, prejudicando tanto a profilaxia, como a quimioterapia^{58, 59}.

A artemisinina (Figura 11) e os seus derivados têm sido os medicamentos antimaláricos de primeira-linha mais utilizados na atualidade, tendo sido concebidos com a finalidade de melhorar a eficiência e dificultar o aparecimento de resistência. Estes fármacos são muitas vezes utilizados para estirpes que já são resistentes à cloroquina. No entanto já apareceram as primeiras resistências aos ACTs^{60, 61}. Por conseguinte, a necessidade de descobrir novas soluções terapêuticas para combater a malária aumentou, tornando-se cada vez mais urgente. Apesar do progresso na evolução do parasita da malária, a comunidade científica não desiste de encontrar novos fármacos para enfrentar esta enfermidade, sendo já uma motivação para a resolução deste infortúnio.

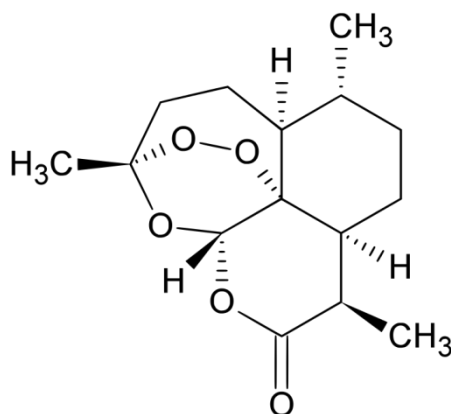


Figura 11 – Estrutura química da artemisinina.

b) Primaquina

Entre meados da Primeira Grande Guerra e o fim da Segunda Guerra Mundial foram perscrutados uma elevada quantidade de potenciais fármacos antimaláricos, em que 12 000 destes eram 8-aminoquinolinas (8AQs). A pamaquina (1) foi um dos primeiros 8AQs a serem sintetizados e apesar do seu insucesso, este medicamento foi o grande impulsionador para a conceção de 8AQs mais seguras contra a malária, tais como a primaquina (PQ) (Figura 12, 2). Independentemente da existência de outros 8AQs antimaláricos, a PQ era o fármaco que demonstrava ter a maior eficiência para o seu intento e os níveis mais baixos de toxicidade^{62, 53}.

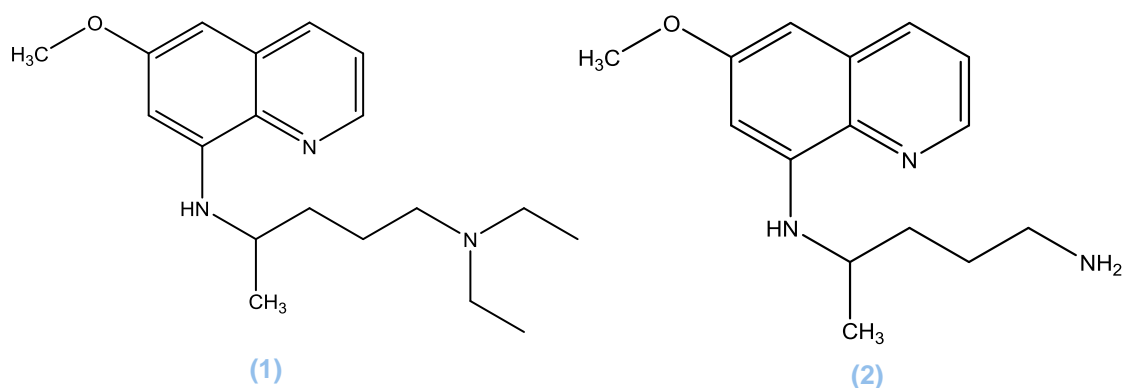


Figura 12 – Estruturas químicas da (1) pamaquina e da (2) primaquina.

Fármacos antimaláricos que atuam na fase hepática do parasita são bastante limitados, ainda que este seja um alvo excepcionalmente interessante. A primaquina foi especificamente desenvolvida para inibir esta fase e é o único fármaco, para uso clínico, que consegue intervir contra a etapa hepática de todas as espécies de *Plasmodium*, incluindo os hipnozoítos do *P. vivax* e do *P. ovale*^{49, 56, 62}. Apesar de ser uma fase clinicamente silenciosa, a completa inibição do desenvolvimento do parasita nesta fase seria, uma mais-valia para a profilaxia e para o tratamento da malária. Apesar disso, infelizmente, a primaquina possui determinadas peculiaridades que obrigam a uma aplicação clínica muito cautelosa deste fármaco. Para além da sua baixa biodisponibilidade oral, a sua elevada hemotoxicidade também contribui para a utilização prudente da primaquina, particularmente em populações vulneráveis, inclusivamente em mulheres grávidas, crianças e idosos⁵⁶. Além disso, Carson *et al.* vieram a descobrir que a primaquina poderia causar graves anemias hemolíticas em pacientes com deficiência em glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). Quatrocentos milhões de pessoas em todo o mundo têm um ou dois genes deficientes em G6PD, sendo esta uma das patologias enzimáticas mais comuns e complicando ainda mais a aplicação da PQ no tratamento da malária, especialmente da *P. vivax* e da *P. ovale*, limitando a sua utilização na quimioprofilaxia^{62, 64}.

Apesar das limitações, a primaquina ainda é um fármaco antimalárico utilizado, mas não é adequado a ser administrado como única medicação para o tratamento da doença. Atualmente, a primaquina para malária da espécie *P. vivax*, é aplicada em três frentes: para a cura radical dos pacientes com parasitemia confirmada, para a profilaxia causal e para a profilaxia terminal. Em regiões mundiais endémicas, a PQ é aplicada como gametocitocida, devido à sua capacidade de redução da transmissão

da infecção, em particular da malária do *P. falciparum*. Além disso, este fármaco pode ser usado em áreas onde a cloroquina é resistente, quando combinada com artemisininas^{65, 66}.

c) Cloroquina

Considerado, no passado, como sendo um dos maiores “fármacos milagres” descobertos, para combater a malária, a cloroquina (CQ) (Figura 13) foi sintetizada em 1934 por Andersag^{67, 68}. A CQ foi declarada como sendo um dos mais afortunados e importantes medicamentos alguma vez sintetizados contra uma enfermidade infecciosa. Para além de ter sido um fármaco de baixo custo, fácil de administrar, com poucos efeitos adversos, também tinha uma elevada eficiência e segurança mesmo em grupos de risco mais vulneráveis, como grávidas e crianças. Naquela época, a CQ desempenhou um papel crucial na erradicação da malária. Contudo o uso abundante deste fármaco levou ao declínio da eficiência do mesmo para a finalidade com que foi sintetizado, começando a surgir os primeiros relatos de resistência à CQ em casos de malária por *P. falciparum* e *P. vivax*, duas das espécies de parasitas da malária, que mais contribuem para os casos endémicos desta doença^{69, 70}.

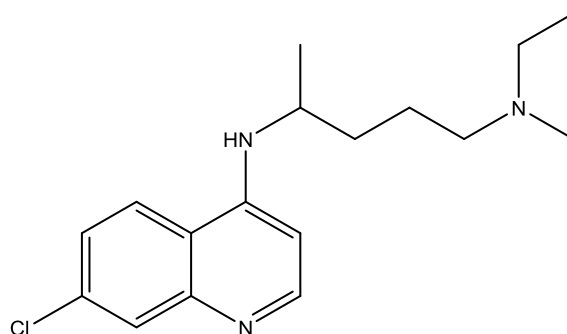


Figura 13 – Estrutura química da cloroquina (CQ).

Os primeiros casos de resistência por parte do *P. falciparum* foram detetados no fim dos anos 50, manifestando-se na Colômbia e na fronteira entre o Camboja e a Tailândia. A vertiginosa difusão desta resistência espalhou-se pelo mundo, mas só atingiu o continente africano em 1977^{70, 71}. Acredita-se que o motivo por detrás da resistência dos parasitas da malária à cloroquina deve-se a uma mutação no *Plasmodium falciparum* Chloroquine Resistance Transporter (PfCRT), que causa uma

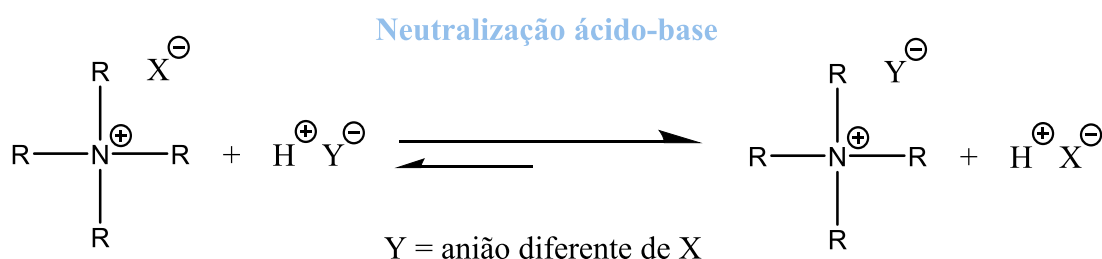
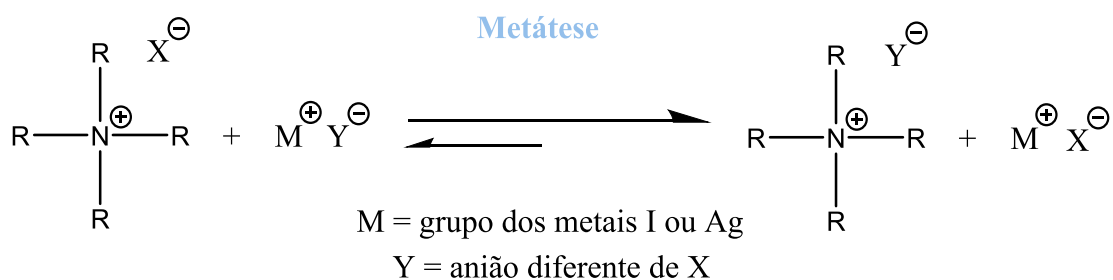
redução na acumulação do fármaco no vacúolo digestivo (CV) do parasita, e assim impossibilita a morte deste. O mecanismo de resistência da CQ é ainda incerto. Para além do *PfCRT* também se acredita que os genes do *pfmdr1* (*P. falciparum multidrug resistente 1*) estejam relacionados a esta resistência, possibilitando a modulação do nível de resistência da CQ ^{72, 73}. Este acontecimento desditoso levou à procura de novas soluções terapêuticas para a malária.

Recentemente, a *GlaxoSmithKline (GSK)*, uma empresa farmacêutica britânica, em colaboração com o *Walter Reed Army Institute of Research* nos EUA, desenvolveu o primeiro candidato a vacina contra a malária, o MosquitexTM, também conhecido pelo seu nome científico RTS,S. A nova vacina foi concebida para prevenir a malária causada pelo *Plasmodium falciparum*, o parasita que mais predomina na África Subsaariana. Os resultados nos ensaios clínicos sugerem que esta vacinação oferece apenas proteção parcial contra a malária. Apesar do Mosquitex por si só, não ser a resposta definitiva para o combate a esta enfermidade, a sua aplicação em conjunto com outras intervenções disponíveis na atualidade, pode ser um contributo muito significativo para controlar o impacto da malária em crianças nas comunidades africanas. Após a aprovação da Agência Europeia de Medicamentos (EMA), em Julho cabe a OMS decidir se a utilização desta nova vacina é recomendável para os países africanos afetados por esta doença e de que modo deve intervir ^{74, 75, 76, 77}.

1.3. Métodos de preparação de Líquidos Iónicos (ILs)

Um dos métodos mais comuns e mais simples para a conceção destes sais orgânicos é a protonação de determinados materiais. No entanto, esta apenas pode ser aplicada para uma quantidade limitada de sais. Por conseguinte é necessário a utilização de métodos mais complexos para estas sínteses ⁷⁸.

Os ILs são constituídos por catiões orgânicos e por aniões orgânicos ou inorgânicos. Além disso, estes sais são frequentemente formados a partir de iões de amónio, fosfónio e sulfonatos ^{79, 80}. Globalmente existem dois métodos principais de síntese de líquidos iónicos: metátese e neutralização ácido-base (Esquema 1). Existe ainda um terceiro método, desenvolvido por Earle e Seddon ⁸¹. Este terceiro método tem a desvantagem de apenas se poder aplicar na síntese ILs com o catião imidazólio e consiste na utilização de carbenos de imidazole ⁷⁹.



Esquema 1 – Procedimento geral para a síntese de ILs por reações de metátese e de neutralização ⁷⁹.

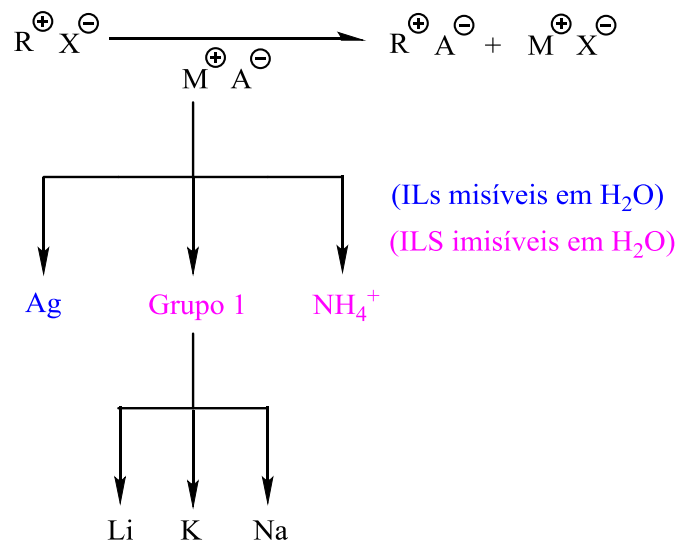
Na maioria dos casos, o catião pretendido encontra-se comercialmente disponível, geralmente como um sal de halogeneto ^{78, 82}. Diversos halogenetos de alquilamónio, comercialmente disponíveis no mercado, podem ser utilizados prontamente em reações de metáteses. Contudo, quando estes sais de halogeneto não estão disponíveis, é necessário uma reação de quaternização, em que um sal de halogeneto orgânico é formado através da alquilação de uma base por um haloalcano. As reações de quaternização têm sido improvisadas, em consequência da utilização de outras técnicas, como o micro-ondas ou os ultrassons. Só posteriormente a este passo é que acontece a permuta aniónica, que pode suceder por metátese ou por neutralização ^{79, 82}.

1.3.1. Metátese

O método mais convencional de síntese de ILs é a reação de metátese de um sal de halogeneto com um sal alcalino adequado:

As reações de metátese (Esquema 2) podem ser divididas em dois grupos:

- a) miscíveis em água - metátese por via de ácidos livres ou de sais de metais alcalinos ou de amónio
- b) imiscíveis em água - metátese de sais de prata ⁸³.



Esquema 2 - Vias generalizadas de reações de metátese para a síntese de ILs ⁸³.

As reações de metáteses são muito utilizadas para a síntese de TSILs, já que estas são muito simples e bastante acessíveis de se preparar. No entanto, estas reações também têm determinados inconvenientes. Apesar de se conseguir eliminar sais inorgânicos indesejáveis através de extração ou de precipitação seguida de filtração ⁸⁴, a obtenção de líquidos iónicos puros continua a ser um desafio. As principais contaminações estão relacionadas com os iões de halogeneto que podem ser um problema para esta via de síntese. Na presença de água ou de prata, podem acontecer reações indesejáveis ^{79, 83}. Outras desvantagens relativamente a estas reações são a variedade limitada de sais metálicos comercialmente disponíveis e a dificuldade em trabalhar com compostos bioativos, já que muitos destes compostos podem sofrer coordenação com metais de transição ⁷⁹.

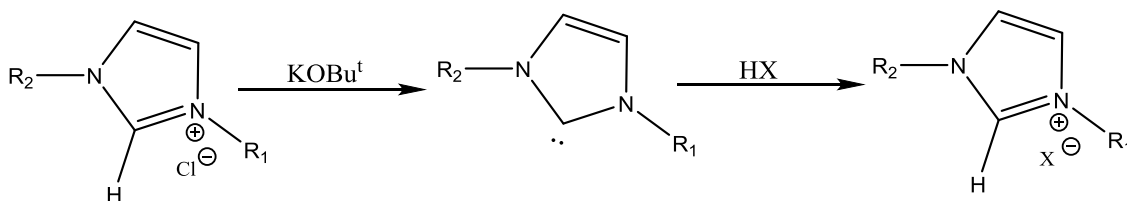
1.3.2. Neutralização

Para evitar as contaminações e contornar as dificuldades que o método de metátese tem, Ohno e Yoshizawa ⁸⁵ propuseram outro método de síntese de líquidos iónicos – o método de neutralização. Este método baseia-se na neutralização de

aminas terciárias e de ácidos orgânicos. Este procedimento é bastante simples e com base em misturas equimolares é possível obter-se sais, sem contaminação de produtos secundários^{79, 85}. Este método funciona muito bem com aminas terciárias, com ácidos de halogeneto e com alguns ácidos orgânicos. O único obstáculo para esta via de síntese é quando os ácidos são mais fracos do que ácidos hidra-hálicos e quando isso acontece, é necessário usar hidróxidos de catiões quaternários.⁷⁹. Mesmo assim, entre a via por metátese e a neutralização ácido-base, esta última demonstra mais benefícios do que a primeira, principalmente porque elimina as complicações existentes na metátese. Esta foi uma das razões pelo qual escolhemos esta via de síntese para a realização desta dissertação, apesar da possibilidade dos ácidos escolhidos para as sínteses não serem suficientemente fortes para neutralizarem as bases utilizadas. Isto não foi verificado, comprovando a mais-valia desta metodologia.

1.3.3. Carbenos de imidazole

Para além da metátese e da neutralização, ainda podemos considerar mais um método de síntese de ILs: a utilização de carbenos de imidazole (Esquema 3) como bases fortes para a formação de catiões de imidazólio. Este método tem a desvantagem de apenas se poder aplicar à síntese de líquidos iónicos de imidazólio^{79, 86}. No entanto este método permite formar ILs ou sais a partir de álcoois, como o metanol e o propanol, do ácido carbónico, do ácido acético e de ácidos sulfónicos de alquilo⁸ sem a contaminação de iões de halogeneto ou de iões metálicos⁷⁹.



Esquema 3 – Procedimento geral da síntese de ILs por intermédio de carbenos de imidazole⁷⁹.

2. Âmbito do trabalho

2.1. Objetivo

Este trabalho teve como objetivo geral o desenvolvimento de líquidos iónicos (ILs) baseados nos fármacos antimaláricos primaquina e cloroquina, de maneira a ajustar e melhorar as suas propriedades. Este trabalho vem na continuidade dos trabalhos desenvolvidos pelo Professor Doutor Ricardo João Vieira Ferraz (co-orientador desta dissertação) na área de líquidos iónicos/sais orgânicos baseados em fármacos, da Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Politécnico do Porto e da Professora Doutora Paula Alexandra de Carvalho Gomes (orientadora desta dissertação) do Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto e do Centro de Investigação em Química da mesma Universidade, na área de fármacos antimaláricos.

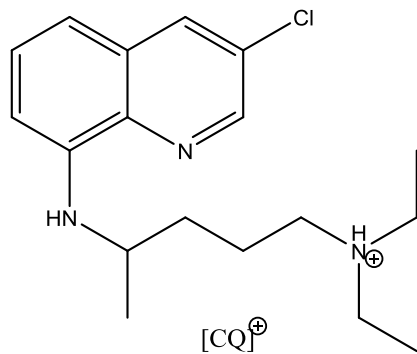
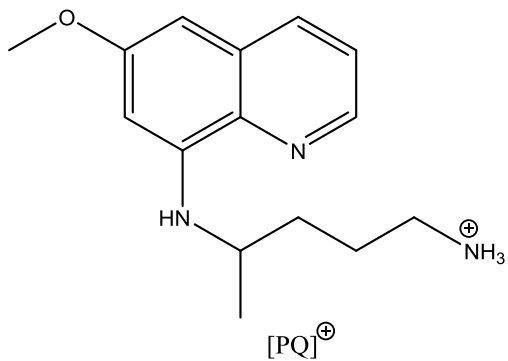
Os objetivos específicos deste trabalho de Dissertação foram os seguintes:

- a) Desenvolver uma metodologia de síntese de ILs baseados em antimaláricos;
- b) Síntese, purificação e caracterização estrutural de uma nova família de ILs baseados na primaquina e na cloroquina;
- c) Estudo das diferenças nas atividades biológicas entre alguns compostos que possuem uma ligação amida (**C**) e alguns compostos sintetizados (**A**, o [PQ][ACI4] e o [PQ][ACI5]) que possuem uma ligação iónica.

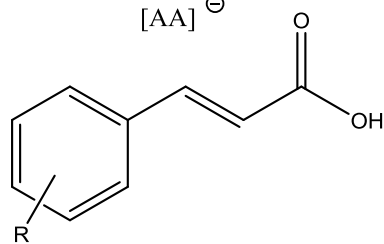
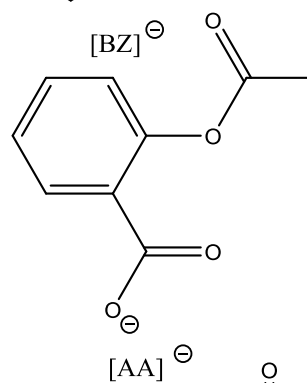
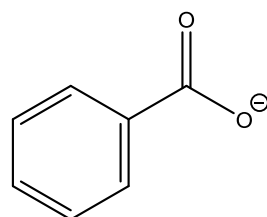
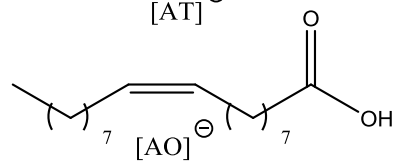
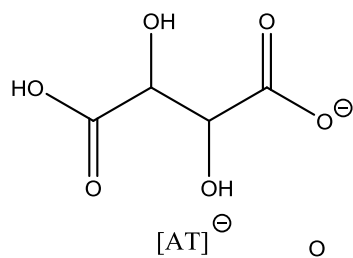
A seleção dos ácidos carboxílicos utilizados teve por base, por um lado, a escolha de aniões não tóxicos (ácido oleico e ácido tartárico). Por outro lado pretendeu-se utilizar ácidos carboxílicos derivados do ácido cinâmico. Com a escolha dos aniões cinamatos pretendeu-se avaliar o efeito da substituição de uma ligação amida por uma ligação iónica.

De modo a atingir o propósito deste projeto procedeu-se à síntese dos sais orgânicos pretendidos, utilizando catiões antimaláricos (Primaquina [PQ] e Cloroquina [CQ]) variando os aniões (Figura 14).

Catiões utilizados



Aniões utilizados



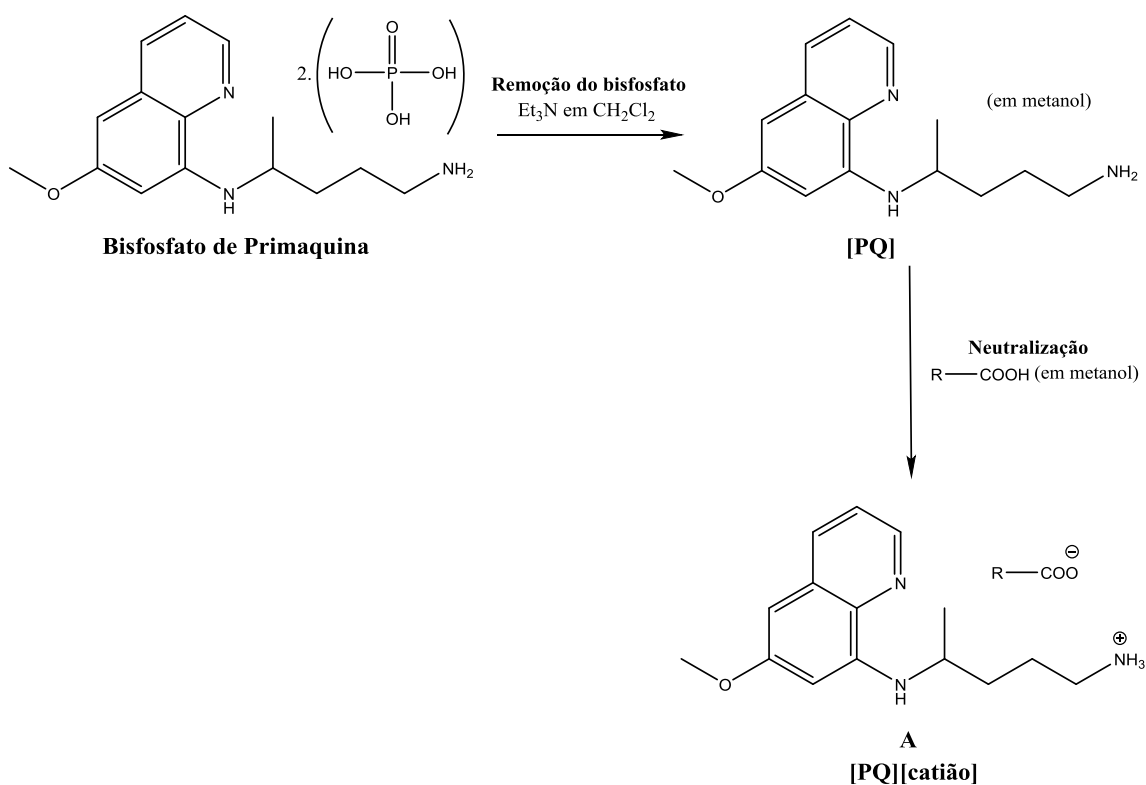
R = H, *p*-CH₃, *p*-OH, *p*-O-CH₃, *p*-CH(CH₃)₂, *p*-Cl

Figura 14 – Catiões e aniões utilizados nesta dissertação.

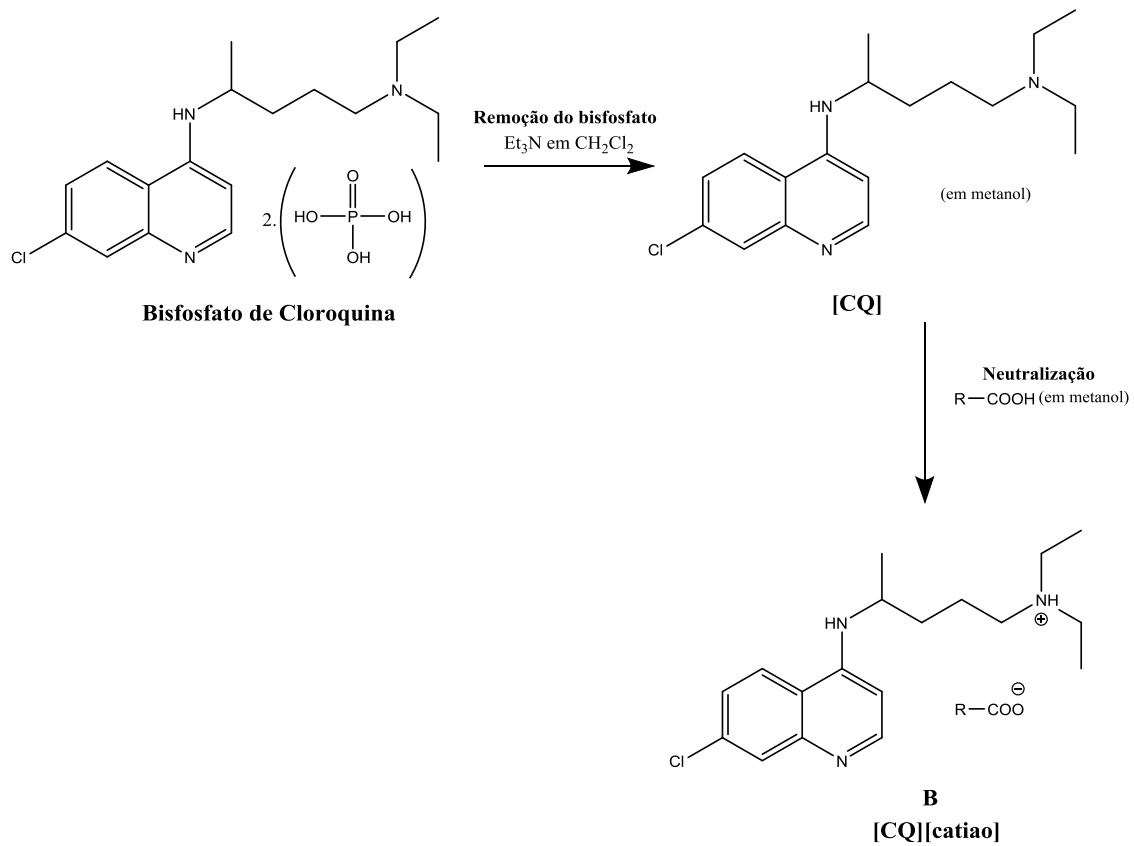
2.2. Metodologia de síntese dos ILs baseados na primaquina e na cloroquina

Sendo assim e tendo como ponto de partida dois sais de bisfosfato dos antimaláricos, previamente utilizados no grupo de investigação, a metodologia de síntese foi delineada conforme se apresenta nos esquemas 4 e 5.

Após a síntese, a purificação e a confirmação espectral que se tinha obtido os sais orgânicos pretendidos, avaliou-se o potencial antimalárico de alguns ILs (na fase sanguínea e na fase gametocida) de maneira a avaliar as diferenças nas propriedades biológicas entre compostos com ligações amida e compostos com ligação iónica.



Esquema 4 - Mecanismo reacional geral das sínteses dos ILs derivados da PQ.



Esquema 5 - Mecanismo reacional geral das sínteses dos ILs baseados na CQ.

3. Procedimento experimental

3.1. Reagentes e equipamentos utilizados

Os reagentes e solventes, usados para as sínteses realizadas dentro do âmbito desta dissertação, foram das seguintes marcas: Sigma-Aldrich (diclorometano, difosfato de primaquina, sal de difosfato de cloroquina), Acros Organics (ácidos cinâmicos), VMR Internacional (metanol, trietilamina, ácido oleico, ácido tartárico, e o ácido acetilsalicílico).

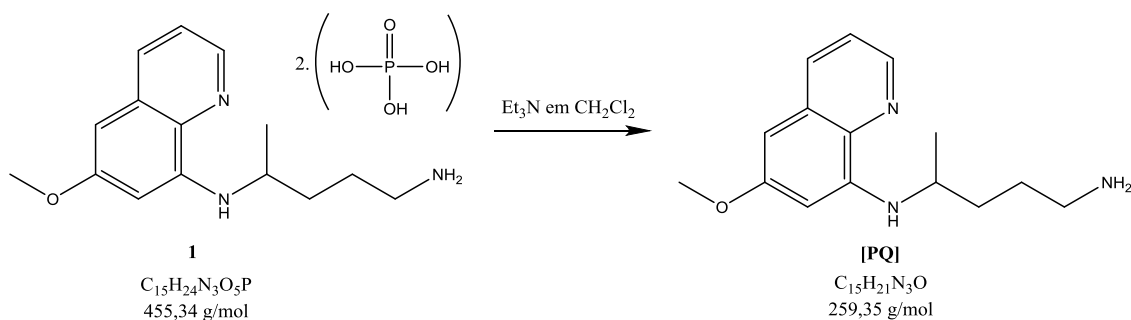
Em todas as sínteses executadas, os solventes utilizados eram de qualidade pró-análise. Previamente à utilização dos reagentes para síntese, era feita uma ressonância magnética nuclear de protão para validar a sua utilização.

Sempre que necessário os solventes eram eliminados por evaporação a pressão reduzida num evaporador rotativo *Heidolph Laborota 4001* e posteriormente secos, num período mínimo de 12 horas, em alto vácuo. Os espetros de RMN foram adquiridos de soluções de composto puro em dimetilsulfóxido puro (DMSO-d₆), contendo tetrametilsilano (TMS) como padrão interno, num espectrómetro Bruker Avance III de 400 MHz existente no Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP).

As análises de ESI-IT MS foram realizadas sobre soluções dos produtos puros em metanol (*LC-MS grade*), num espectrómetro de massa *LTQ Orbitrap XL* (Thermo Scientific Fischer, Bremen, Alemanha), controlado pelo *LTQ Tune Plus 2.5.5* e pelo *2.1.0 Xcalibur*. A voltagem do capilar de ionização por electropulverização (ESI) estava ajustada para os 3.0 kV, a uma temperatura de 275°C.

3.2. Síntese de líquidos iónicos baseados na primaquina

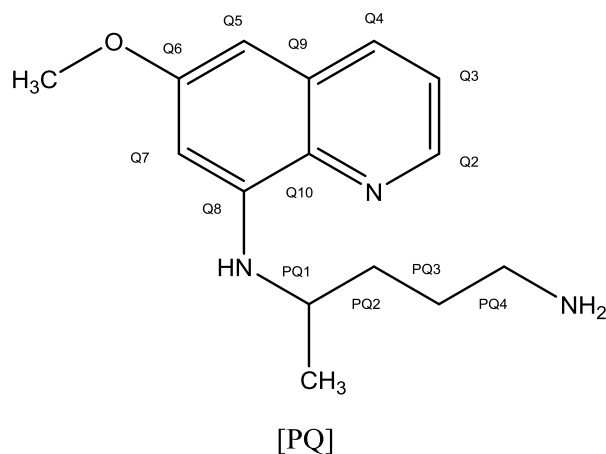
3.2.1. Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de PQ



Esquema 6 - Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de primaquina.

A uma suspensão de bis-diidrogenofosfato de primaquina (**1**) em CH_2Cl_2 seco (15 mL/mmol de **1**), adicionou-se Et_3N (0,75 mL/mmol de **1**), de forma a solubilizar o sal de primaquina. A mistura foi mantida sob agitação magnética e em banho de gelo, ao abrigo da luz, durante cerca de 30 minutos.

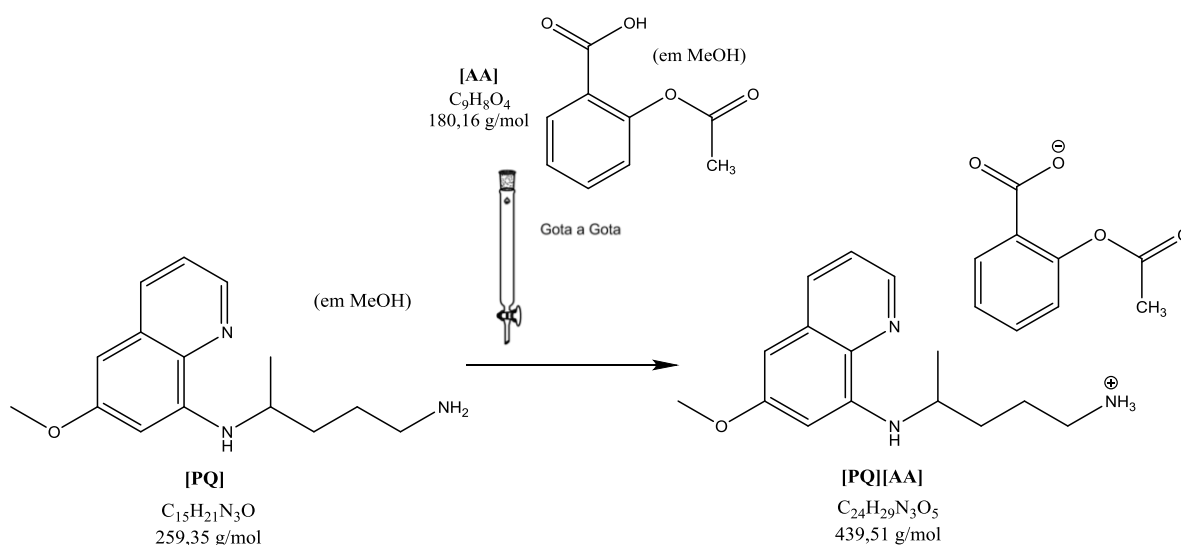
Após esse período, fez-se uma extração líquido-líquido com 10mL de água destilada. Extraíu-se a fase orgânica, e evaporou-se o CH_2Cl_2 num evaporador rotativo e após secagem em ultra vácuo, obteve-se, no final, um óleo amarelo (**[PQ]**) com um rendimento de 84%.



RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4.2, 1.6$ Hz, Q2), 8,07 (dd, 1H, $J = 8.3, 1.6$ Hz, Q4), 7,42 (dd, 1H, $J = 8.2, 4.2$ Hz, Q3), 6,47 (d, 1H, $J = 2.5$ Hz, Q5), 6,25 (d, 1H, $J = 2.5$ Hz, Q7), 6,12 (d, 1H, $J = 8.6$ Hz, -NH-), 3,82 (s, 3H, -OCH₃), 3,64-3,54 (m, 1H, PQ1), 2,54 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz, PQ4), 1,71-11,32 (m, 4H, PQ1+PQ2), 1,21 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz, -CH₃).

3.2.2. Síntese dos ILs derivados da PQ (A)

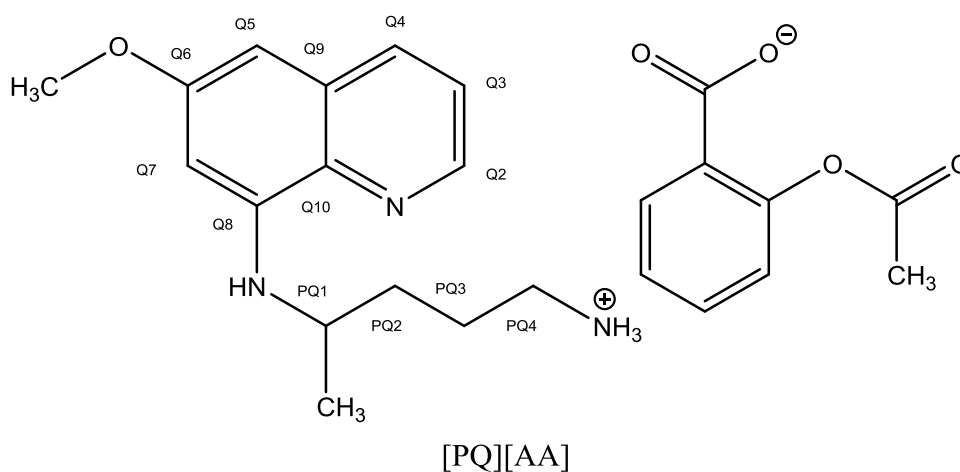
3.2.2.1. Síntese do 2-acetilsalicilato de 4-((6-metoxiquinolin-8-ilo)amino)pentan-1-amínio [PQ][AA]



Esquema 7 – Esquema de síntese do [PQ][AA].

À **[PQ]** (0,063 g; 0,24 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido acetilsalicílico (**[AA]**) (0,090 g; 0,21 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final (**[PQ][AA]**) em ultra vácuo.

2-acetilsalicilato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 87,4 \%$

Aspeto: Óleo alaranjado

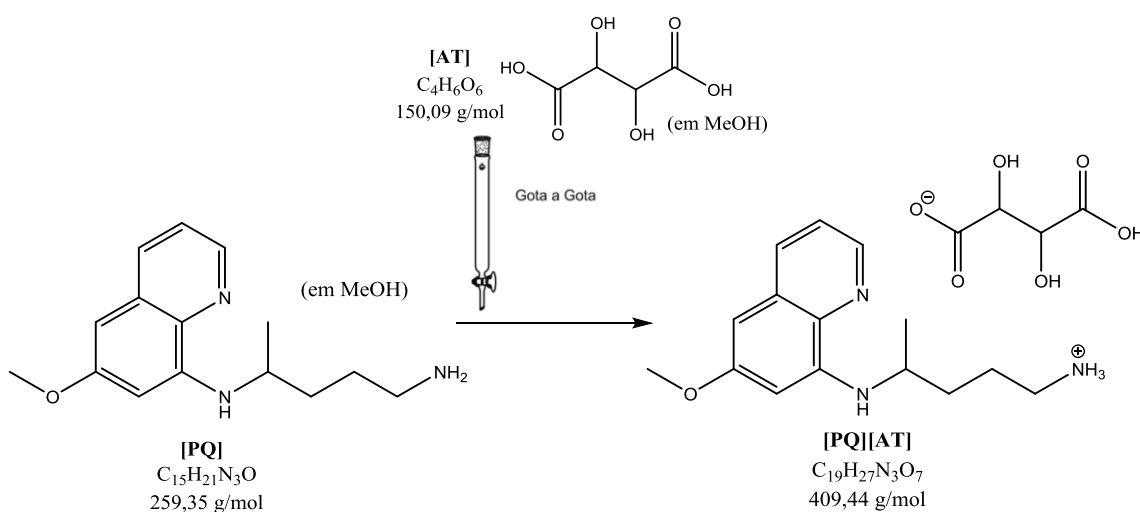
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4,1, 1,7$ Hz, Q2), 8,07 (m, 1H, $J = 8,3, 4,4, 1,6$ Hz, Q4), 7,79 (dd, 1H, $J = 7,7, 3,5$ Hz, ArH), 7,85-7,70 (m, 3H, (ArH) 7,65-7,61 (m, 1H, ArH) 7,43 (dd, 1H, Q3)), 6,48 (dd, 1H, $J = 7,1, 2,5$ Hz, Q5), 6,27 (dd, 1H, $J = 16,1, 2,5$ Hz, Q7), 3,82 (s, 3H, CH_3), 3,61 (m, 2H, PQ4), 2,24 (s, 3H, CH_3COO^-), 1,73-1,49 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,24-1,16 (m, 3H CH_3).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 171,9 (COO), 168,9 (COOMe), 161,3 (Q6), 159,0 (ArC), 144,6 (Q2), 144,2 (Q8), 135,2 (Q10), 134,8 (Q3), 134,5 (ArC), 130,2 (ArC), 129,6 (Q9), 122,1 (Q3), 118,8 (ArC), 116,9 (ArC), 96,1 (Q7), 91,6 (Q6), 55,0 ($-\text{OCH}_3$), 47,0 (PQ1), 33,5 (PQ4), 26,0 (PQ3), 22,6 (PQ2), 20,2 ($-\text{CH}_3$).

(EI $^+$) m/z calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}^+$: 260,1757, obtido 260,1754.

(EI $^-$) m/z calculado para $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_4^-$: 179,0350, obtido 177,1287.

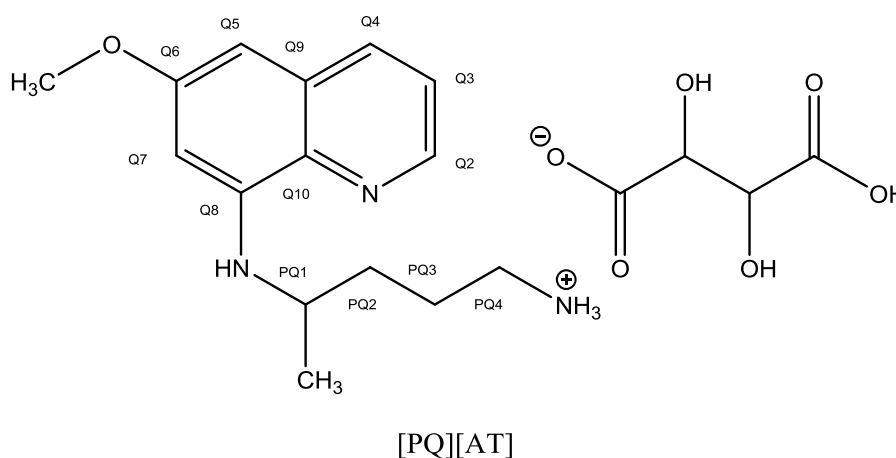
3.2.2.2. Síntese do 3-carboxi-2,3-di-hidroxiopropanoato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][AT]



Esquema 8 – Esquema de síntese do [PQ][AT].

À **[PQ]** (0,062 g; 0,24 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido tartárico (**[AT]**) (0,037 g; 0,25 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final (**[PQ][AT]**) em ultra vácuo.

3-carboxi-2,3-di-hidroxiopropanoato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 93,7 \%$

Aspeto: Óleo amarelo

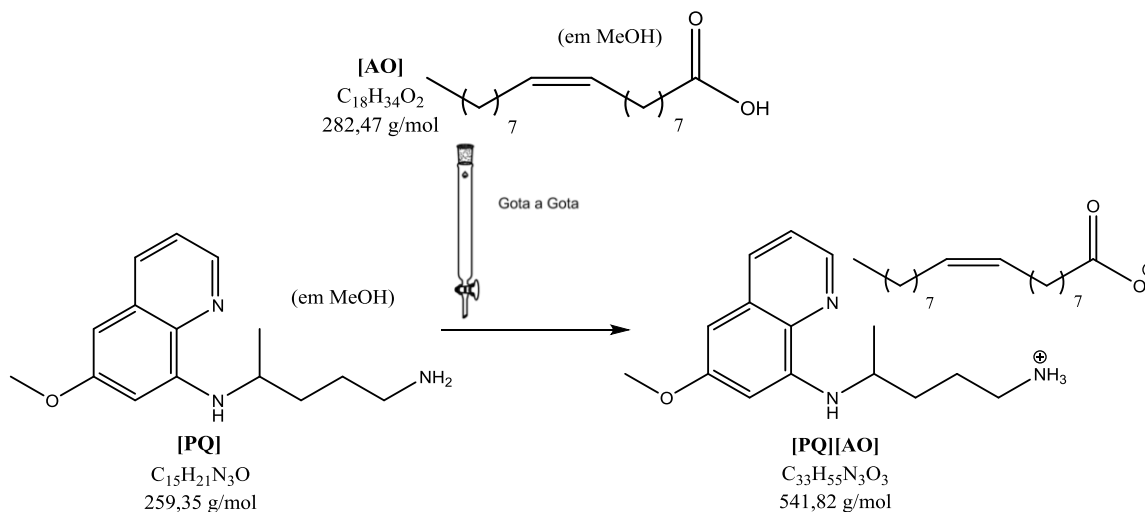
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,54 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,6$ Hz, Q2), 7,43 (dd, 1H, $J = 8,2, 4,3$ Hz, Q4), 6,49 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, Q7), 6,29 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, Q5), 6,16 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, NH), 3,85 (s, 3H, -OCH₃), 3,70-3,62 (m, 1H, PQ1), 3,17 (m, 2H, -CH-), 2,81 (t, 2H, $J = 7,1$ Hz, PQ4), 1,76-1,54 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,20 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz -CH₃).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 159,0 (Q6), 144,6 (Q2, 144,3 (Q8), 134,8 (Q4), 134,6 (Q10), 129,6 (Q10), 122,1 (Q3), 96,3 (Q7), 9,7 (Q5), 71,3 (-CHOH), 55,0 (-CHOH), 48,5 (PQ1), 46,8 (PQ4), 32,8 (PQ2), 24,0 (PQ3), 20,2 (-CH₃).

(EI*) m/z calculado para C₁₅H₂₂N₃O⁺: 260,1757, obtido 260,1753.

(EI) m/z calculado para C₄H₅O₆⁻: 149,0092, obtido 149,0096.

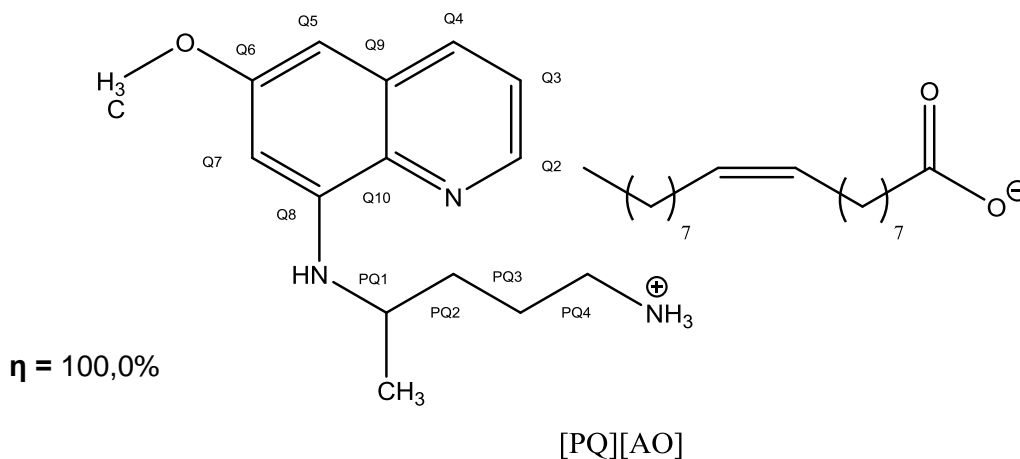
3.2.2.3. Síntese do oleato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][AO]



Esquema 9 - Esquema de síntese do [PQ][AO].

À [PQ] (0,051 g; 0,20 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido oleico ([AO]) (0,056 g; 0,20 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final ([PQ][AO]) em ultra vácuo.

Oleato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



Aspeto: Óleo amarelo

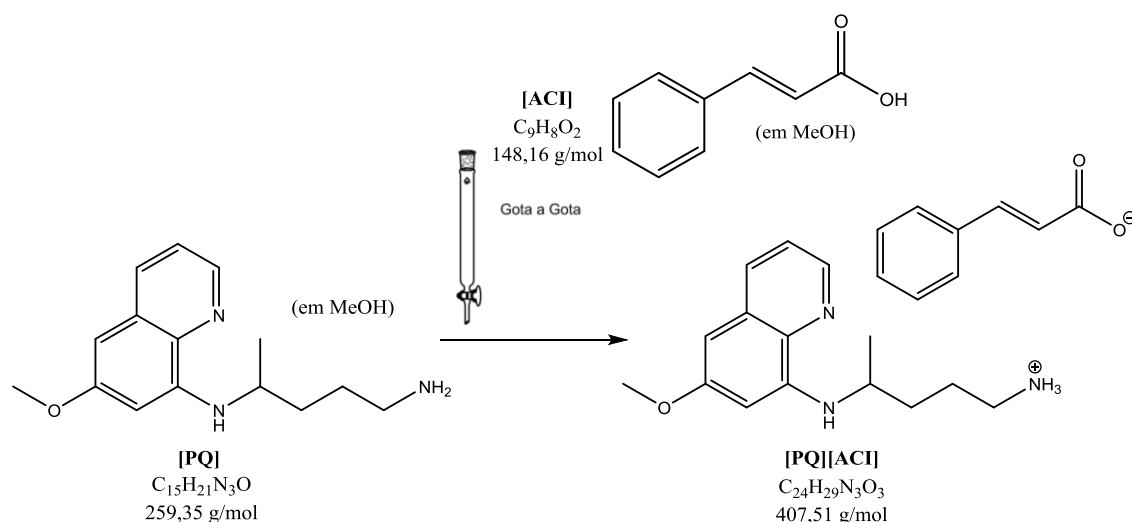
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4,2, 1,6$ Hz, Q2), 8,07 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,6$ Hz, Q4), 7,42 (dd, 1H, $J = 8,2, 4,2$ Hz, Q3), 6,47 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, Q5), 6,26 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, Q7), 6,13 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, -NH-), 5,37-5,27 (m, 2H, -CH=CH-), 3,82 (s, 3H), 3,67-3,57 (m, 1H, PQ1), 2,64 (t, 2H, $J = 6,8$ Hz, PQ4), 2,09 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz -CH₂-COO⁻), 2,06-1,92 (m, 4H, -CH₂-CH=), 1,72-1,40 (m, 6H), 1,34-1,18 (m, 23H), 0,85 (t, 3H, $J = 6,9$ Hz).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 159,0 (Q6), 144,6 (Q8), 144,2 (Q2), 134, 8 (Q4), 134,5 (Q10), 129,6 (CH=CH-), 129,6 (CH=CH-), 122,1 (Q3), 96,1 (Q7), 91,6 (Q5), 55,0 (PQ1), 47,1 (PQ4), 33,2 (CH₂-COO⁻), 31,2 (PQ2), 29,1 (PQ3), 29,1 (-CH₂-), 28,8 (-CH₂-), 28,8 (-CH₂-), 28,7 (-CH₂-), 28,6 (-CH₂-), 28,6 (-CH₂-), 28,5 (-CH₂-), 26,6 (-CH₂-), 26,5 (-CH₂-), 25,0 (-CH₂-), 22,1 (-CH₂-), 20,2 (-CH₃), 13,9 (-CH₃).

(EI⁺) m/z calculado para C₁₅H₂₂N₃O⁺: 260,1757, obtido 260,1753.

(EI⁻) m/z calculado para C₁₈H₃₃O₂⁻: 281,2486, obtido 281,2491.

3.2.2.4. Síntese do cinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI]

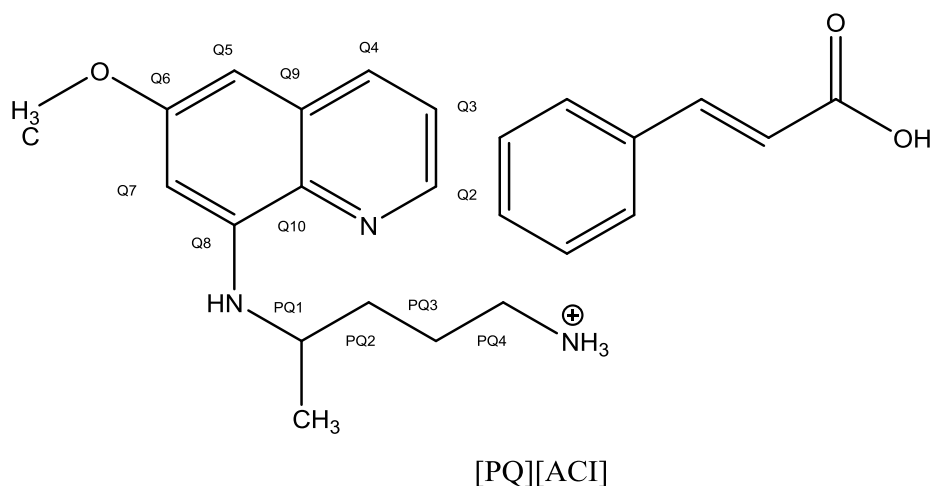


Esquema 10 - Esquema de síntese do [PQ][ACI].

À **[PQ]** (0,051 g; 0,20 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido cinâmico (**[ACI]**) (0,030 g; 0,20 mmol; 1 eq. em 10

mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final ([PQ][ACI]) em ultra vácuo.

Cinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 95,0 \%$

Aspeto: Óleo amarelo

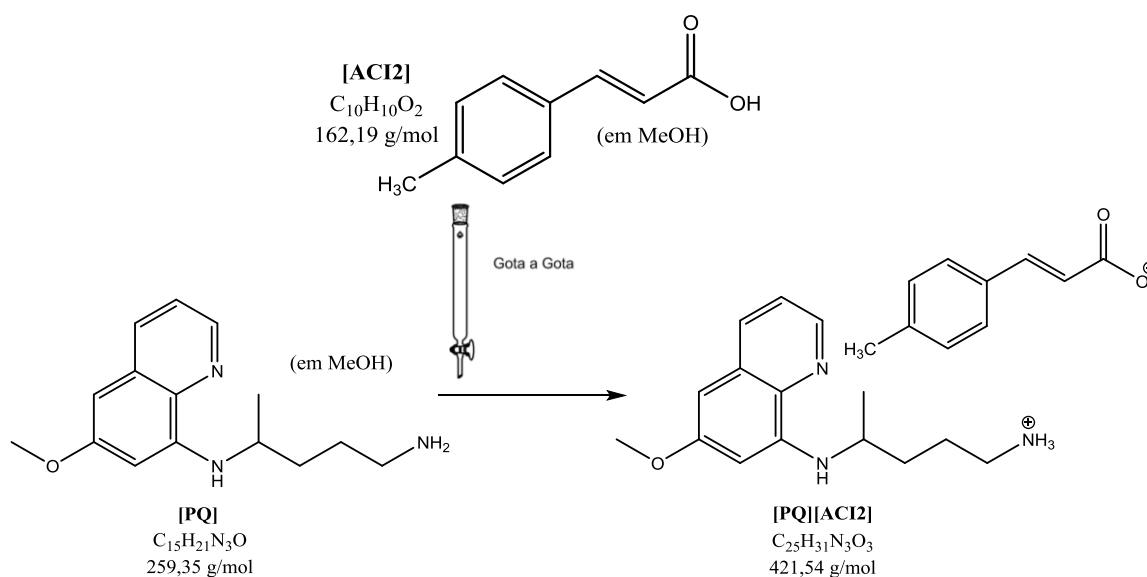
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4,2, 1,6$ Hz, Q2), 8,07 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,6$ Hz), 7,56 (dd, 2H, $J = 8,1, 1,4$ Hz, (ArH)), 7,42 (dd, 1H, $J = 8,2, 4,2$ Hz, Q3), 7,39-7,29 (m, 5H, ArH e $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6,48 (dd, 2H, $J = 9,2, 6,7$ Hz, Q7 e $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6,28 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, Q5), 6,14 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, NH-), 3,82 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3,69-3,59 (m, 1H, PQ1), 2,74 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz, PQ4), 1,75-1,53 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,21 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz, $-\text{CH}_3$).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 159,0 (Q6), 146,8 ($-\text{CH}=\text{CH}-$) 144,6 (Q2), 144,2 (Q8), 139,5 (Q10), 135,5 (Q4), 134,8 (ArC), 134,5 (ArC), 129,6 (Q9), 129,0 (ArC), 128,7 (ArC), 127,5 (ArC), 124,9 ($-\text{CH}=\text{CH}-$), 122,1 (ArC), 96,2 (Q7), 91,7 (Q5), 55,0 (PQ1), 47,0 (PQ4), 33,0 (PQ2), 25,3 (PQ3), 20,2 ($-\text{CH}_3$).

(EI $^+$) m/z calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}^+$: 260,1757, obtido 260,1751.

(EI) m/z calculado para $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2^-$: 147,0452, obtido 147,0456.

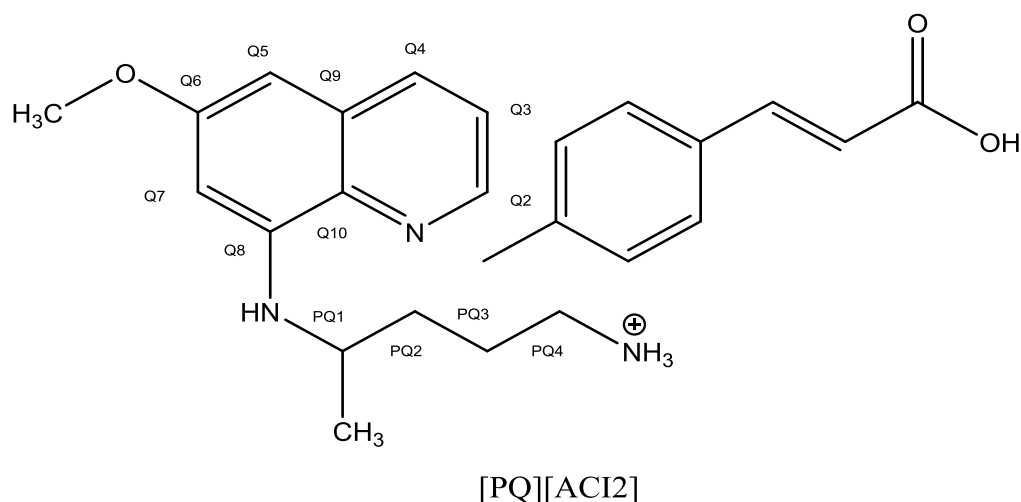
3.2.2.5. Síntese do 4-metilcinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI2]



Esquema 11 - Esquema de síntese do [PQ][ACI2].

À [PQ] (0,069 g; 0,27 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido *p*-metilcinâmico ([ACI2]) (0,044 g; 0,27 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final ([PQ][ACI2]) em ultra vácuo.

4-metilcinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 92,1 \%$

Aspeto: Óleo amarelo

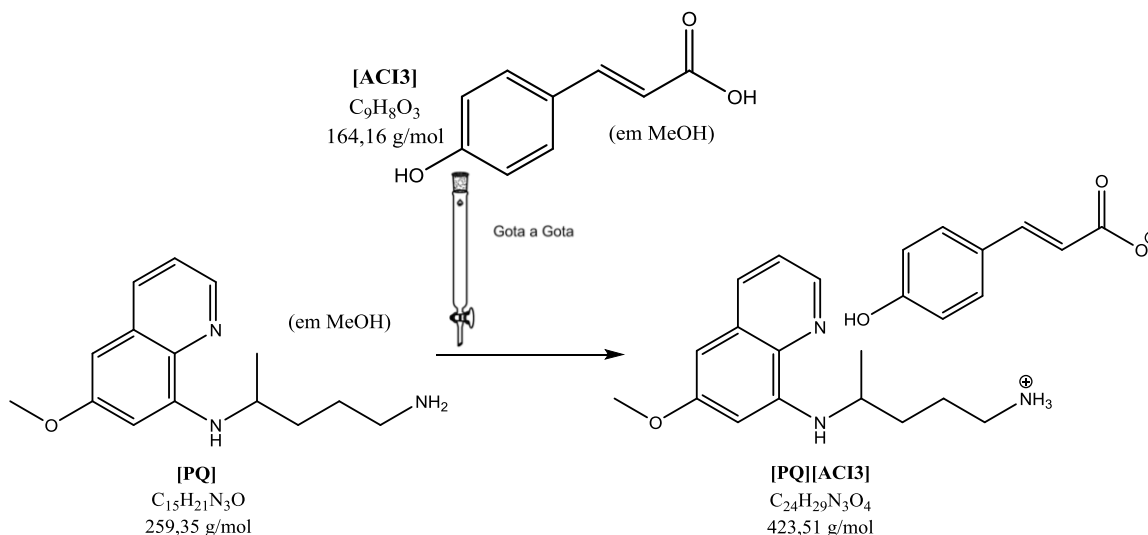
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4,2, 1,6$ Hz, Q2), 8,07 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,5$ Hz, Q4), 7,49-7,40 (m, 4H, *ArH* e Q3), 7,31 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz (-CH=CH-), 7,18 (d, 2H, $J = 7,9$ Hz), 6,44 (m, 2H, -CH=CH- e Q7), 6,27 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, Q5), 6,14 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, -NH-), 3,82 (s, 3H, -OCH₃), 3,68-3,8 (m, 1H, PQ1), 2,71 (t, 2H, $J = 6,2$ Hz, PQ4), 2,30 (s, 3H, Ar-CH₃), 1,74-1,52 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,21 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz, -CH₃).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 159,4 (Q6), 145,18 (-CH=CH-), 144,7 (Q2), 135,3 (Q4), 135,1 (ArC), 135,0 (ArC), 130,1 (Q9), 129,8 (ArC), 128,0 (ArC), 122,6 (ArC), 96,6 (Q7), 92,2 (Q5), 55,5 (PQ1), 47,5 (PQ4), 33,6 (PQ2), 21,4 (ArC), 20,7 (-CH₃).

(EI⁺) m/z calculado para C₁₅H₂₂N₃O⁺: 260,1757, obtido 260,1751.

(EI⁻) m/z calculado para C₁₀H₉O₂⁻: 161,0608, obtido 161,0610.

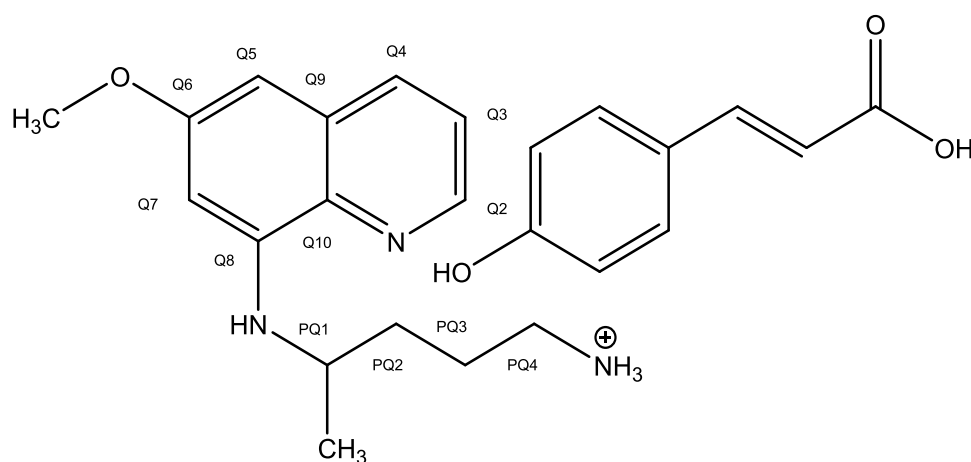
3.2.2.6. Síntese do 4-hidroxicinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI3]



Esquema 12 - Esquema de síntese do [PQ][ACI3].

À **[PQ]** (0,051 g; 0,20 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução do ácido *p*-hidroxicinâmico (**[ACI3]**) (0,033 g; 0,20 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final (**[PQ][ACI3]**) em ultra vácuo.

4-hidroxicinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 91,4 \%$

[PQ][ACI3]

Aspeto: Óleo amarelo

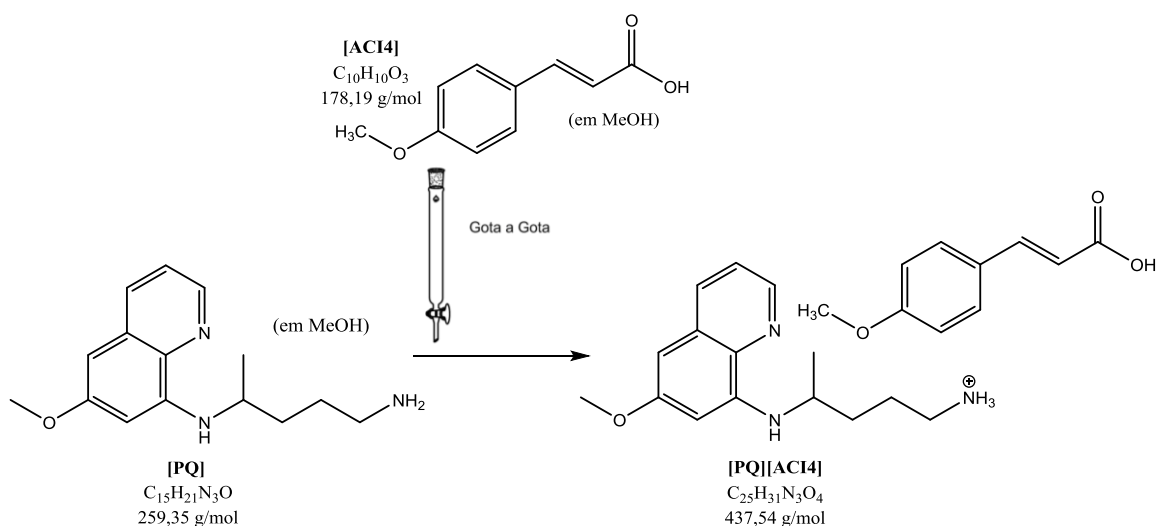
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4,2, 1,6$ Hz, Q2), 8,07 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,6$ Hz, Q3), 7,45-7,38 (m, 3H, ArH, Q3), 7,31 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -CH=CH-), 6,79-6,75 (m, 2H, -CH=CH- e Q7), 6,47 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz Q5), 6,26 (dd, 2H, $J = 10,8, 9,2$ Hz, ArH), 6,13 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, -NH-), 3,82 (s, 3H, -OCH₃), 3,67-3,59 (m, 1H, PQ1), 2,71 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, PQ4), 1,72-1,52 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,21 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz, -CH₃).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 169,8 (-COO), 159,6 (Q6), 159,5 (ArC), 145,1 (-CH=CH-), 144,7 (Q2), 141,5, 135,3 (Q4), 135,0 (ArC), 130,1 (Q9), 129,8 (-CH=CH-), 126,4 (ArC), 122,6 (ArC), 120,9 (Q3), 116,2 (ArC), 96,6 (Q7), 92,2 (Q5), 55,6 (PQ1), 47,5 (PQ4), 33,6 (PQ2), 26,3 (PQ3), 20,7 (-CH₃).

(EI⁺) m/z calculado para C₁₅H₂₂N₃O⁺: 260,1757, obtido 260,1750.

(EI⁻) m/z calculado para C₉H₇O₃⁻: 163,0401, obtido 163,0409.

3.2.2.7. Síntese do 4-metoxicinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI4]

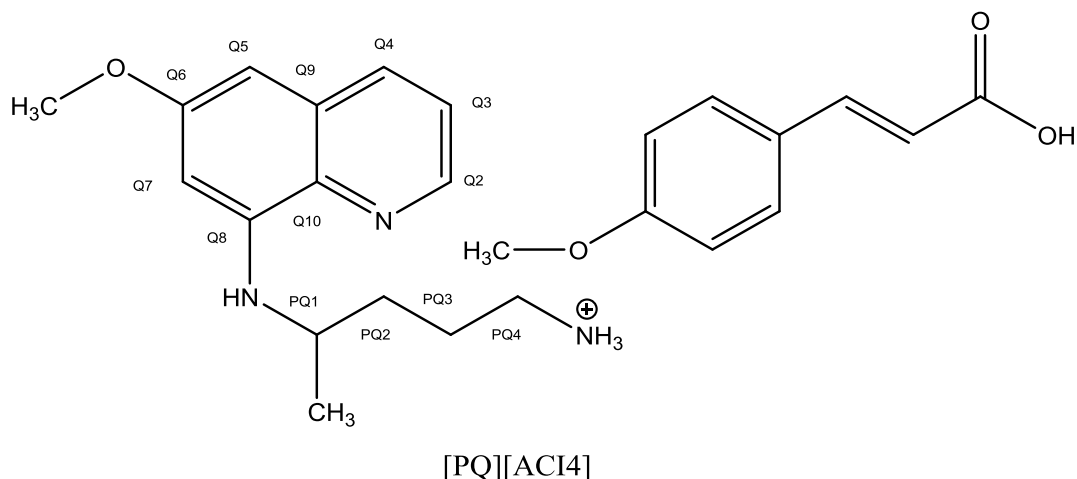


Esquema 13 - Esquema de síntese do [PQ][ACI4].

À [PQ] (0,58 g; 0,22 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido *p*-metoxicinâmico ([ACI4]) (0,037 g; 0,21 mmol; 1 eq.

em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final ([PQ][ACI4]) em ultra vácuo.

4-metoxicinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 88,5 \%$

Aspeto: Óleo amarelo

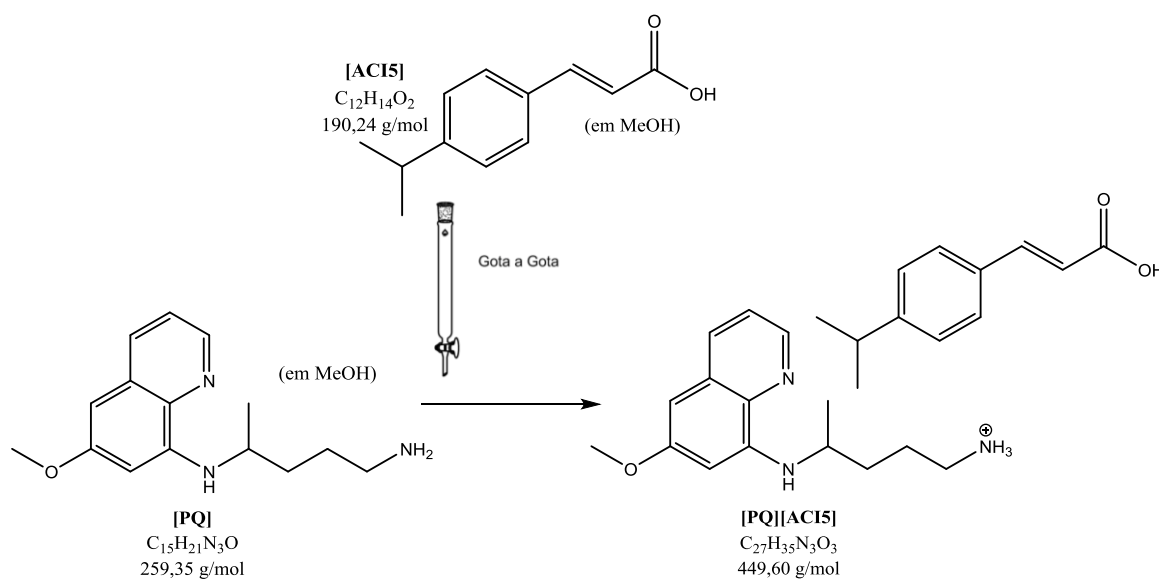
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4,2, 1,6$ Hz, Q2), 8,07 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,6$ Hz, Q4), 7,53 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, ArH), 7,42 (dd, 1H, $J = 8,2, 4,2$ Hz) (Q3), 7,34 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, -CH=CH-), 6,93 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, ArH), 6,47 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, Q7), 6,33 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, Q5), 6,27 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, Q5), 6,13 (d, 6H, $J = 8,7$ Hz, -NH-), 3,82 (s, 3 H, -OCH₃), 3,77 (s, 3 H, -OCH₃), 3,68-3,57 (m, 2H, PQ1), 2,71 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, PQ4), 1,74-1,52 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,21 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz, -CH₃).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 169,4 (-COO), 160,2 (Q6), 159,0 (-CH=CH-), 144,6 (Q2), 144,2 (Q8), 140,1, 134,8 (Q4), 134,5 (Q10), 129,6 (-CH=CH-), 129,2 (ArC), 127,8 (ArC), 122,1 (Q3), 114,2 (ArC), 96,2 (Q7), 91,7 (Q5), 55,21 (-OCH₃), 55,0 (-OCH₃), 48,6 (PQ4), 47,0 (PQ3), 25,5 (PQ2), 20,2 (-CH₃).

(EI⁺) m/z calculado para C₁₅H₂₂N₃O⁺: 260,1757, obtido 260,1752.

(EI⁻) m/z calculado para C₉H₇O₃⁻: 177,0557, obtido 177,0570.

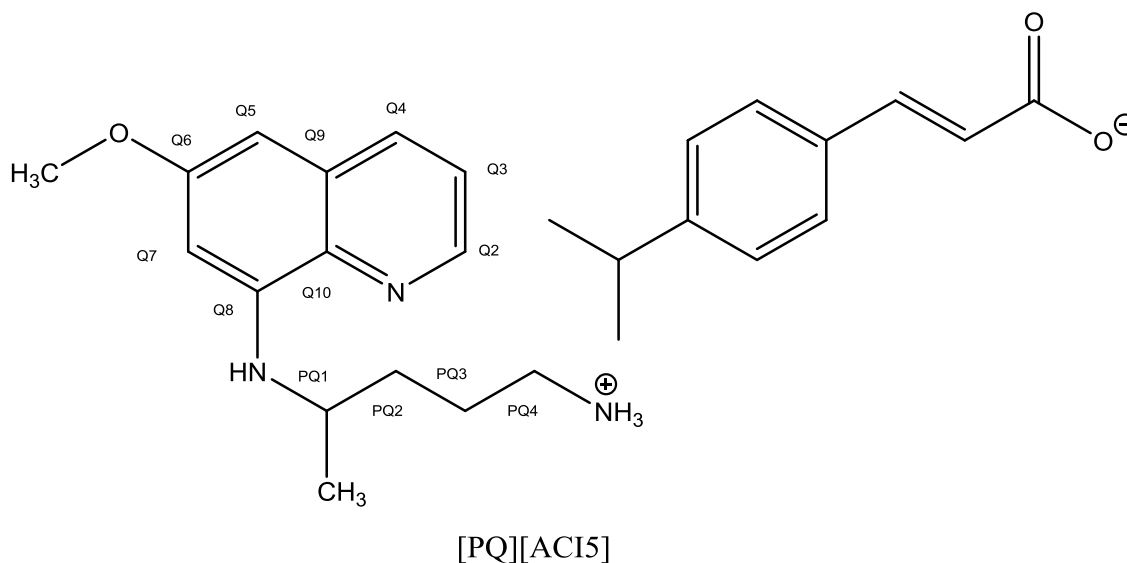
3.2.2.8. Síntese do 4-isopropilcinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI5]



Esquema 14 - Esquema de síntese do [PQ][ACI5].

À [PQ] (0,065 g; 0,25 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução do ácido *p*-isopropilcínâmico ([ACI5]) (0,038 g; 0,20 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final ([PQ][ACI5]) em ultra vácuo.

4-isopropilcinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 99,5 \%$

Aspeto: Óleo amarelo

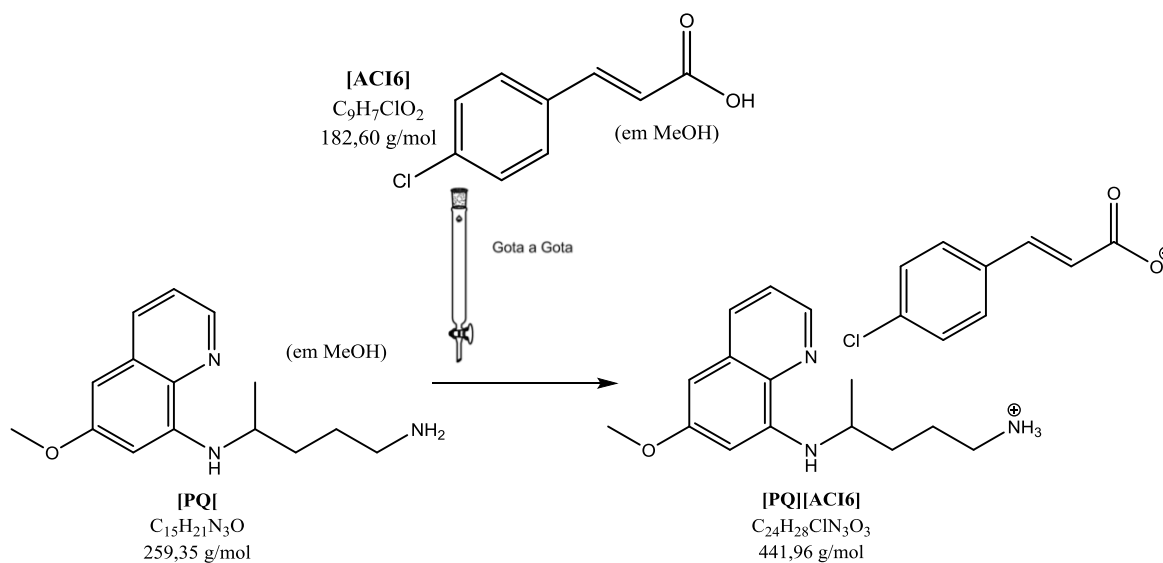
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4,1, 1,5$ Hz, Q3), 8,08 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,4$ Hz, Q5), 7,52 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz *ArH*), 7,45-7,36 (m, 2H, Q3 e $-\text{CH}=\text{CH}-$), 7,25 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz, *ArH*), 6,45 (m, 2H, Q7 e $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6,28 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, Q5), 6,14 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, $-\text{NH}-$), 3,82 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 2,89 (m, 1H, $-\text{CH}-$), 2,71 (t, 2H, $J = 6,7$ Hz, PQ4), 1,76-1,46 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,20 (m, 9H, $-\text{CH}_3$).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 158,9 (Q8), 127,8 (*ArC*), 126,7 (*ArC*), 54,0 ($-\text{OCH}_3$), 33,3 (*CH*), 23,7 ($-\text{CH}_3$).

(EI $^+$) m/z calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}^+$: 260,1757, obtido 260,1756.

(EI) m/z calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_2^-$: 189,0921, obtido 189,0927.

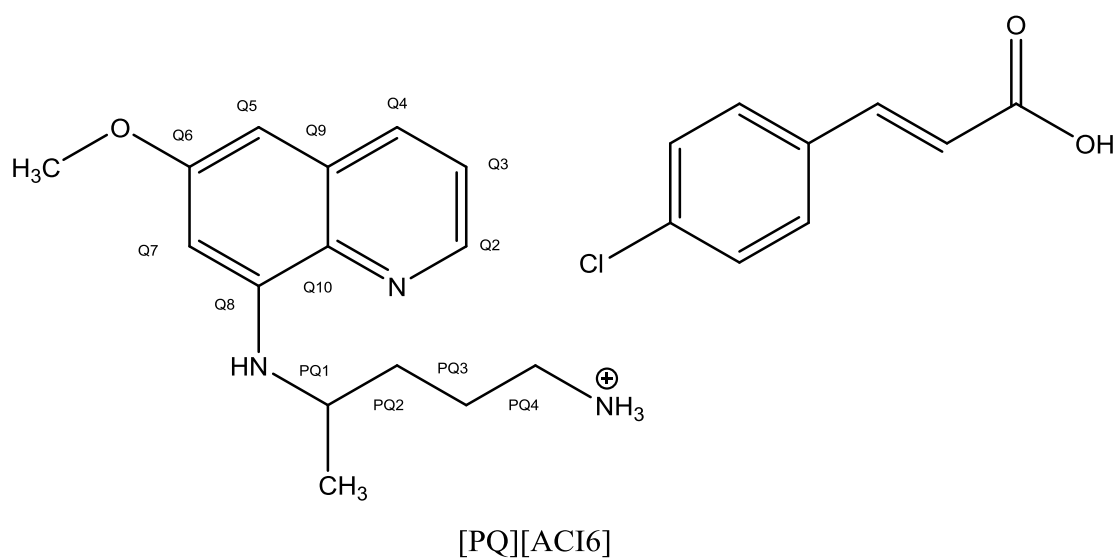
3.2.2.9. Síntese do 4-clorocinamato 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][ACI6]



Esquema 15 - Esquema de síntese do [PQ][ACI6].

À **[PQ]** (0,051 g; 0,20 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido *p*-clorocinâmico (**[ACI6]**) (0,036 g; 0,20 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final (**[PQ][ACI6]**) em ultra vácuo.

4-clorocinamato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 93,3 \%$

Aspeto: Óleo amarelo

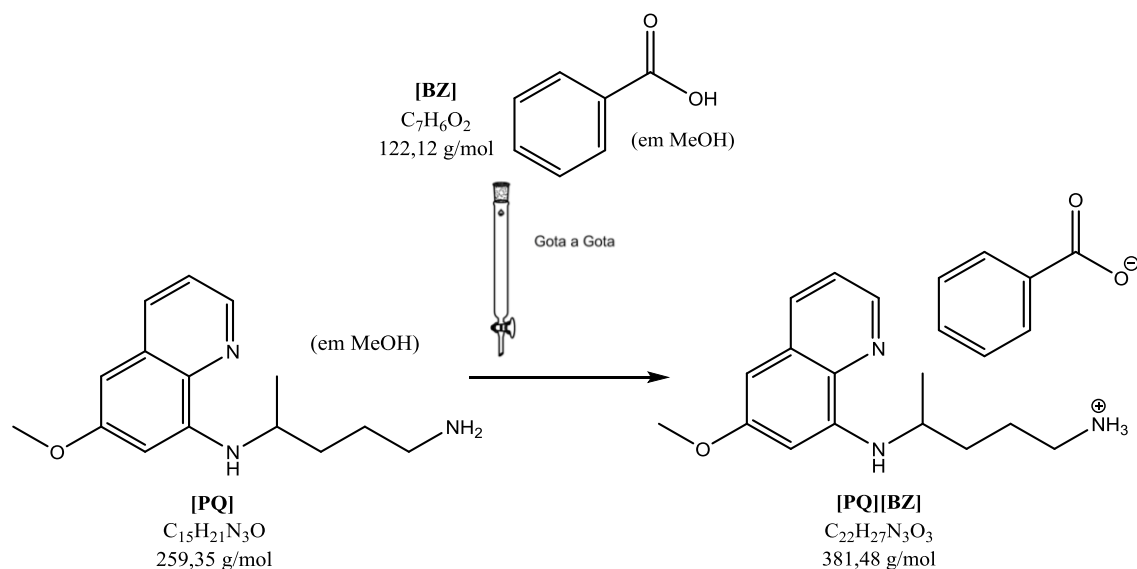
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 8,53 (dd, 1H $J = 4,2, 1,6$ Hz, Q2), 8,07 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,5$ Hz, Q4), 7,62 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, ArH), 7,42 (m, 3H, Q3 e ArH), 7,35 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 6,52 (s, 1H), 6,48 (d, 2H, $J = 2,9$ Hz, Q7), 6,28 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, Q5), 6,14 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz $-\text{NH}-$), 3,82 (s, 3H), 3,64 (m, 1H, PQ1), 2,76 (t, 2H, $J = 6,5$ Hz, PQ4), 1,75-1,54 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,18 (d, 3H, 6,4 Hz. $-\text{CH}_3$).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 168,9 ($-\text{COO}$), 159,0 (Q6), 144,6 ($-\text{CH}=\text{CH}-$), 144,2 (Q8), 138,6 (Q10), 134,5 (Q4), 134,3 (ArC), 133,5 (ArC), 129,6 ($-\text{CH}=\text{CH}-$), 129,3 (ArC), 128,7 (ArC), 122,1 (Q3), 96,2 (Q7), 91,7 (Q5), 55,0 ($-\text{OCH}_3$), 46,9 (PQ4), 33,0 (PQ2), 24,9 (PQ3), 20,2 ($-\text{CH}_3$).

(EI $^+$) m/z calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}^+$: 260,1757, obtido 260,1755.

(EI $^-$) m/z calculado para $\text{C}_9\text{H}_6\text{ClO}_2^-$: 181,0062, obtido 181,0081.

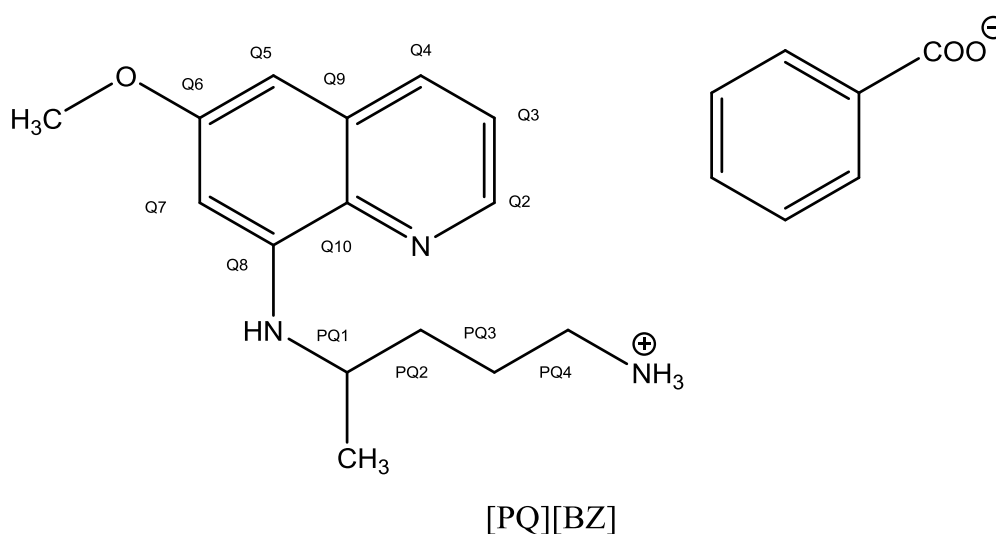
3.2.2.10. Síntese do benzoato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio [PQ][BZ]



Esquema 16 - Esquema de síntese do [PQ][BZ].

À **[PQ]** (0,080 g; 0,31 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido benzoico (**[BZ]**) (0,038 g; 0,31 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final (**[PQ][BZ]**) em ultra vácuo.

Benzoato de 4-((6-metoxiquinolin-8-il)amino)pentan-1-amínio



$\eta = 98,7 \%$

Aspeto: Óleo amarelo

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,53 (dd, 1H, $J = 4,2, 1,6$ Hz, Q3), 8,07 (dd, 1H, $J = 8,3, 1,5$ Hz, Q5), 7,88 (dd, 2H, $J = 8,2, 1,4$ Hz, ArH), 7,37 (m, 5H, ArH, PQ4), 6,48 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, Q7), 6,26 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, Q5), 6,14 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz, -NH-), 3,81 (s, 3H, -OCH₃), 3,63 (m, 1H, PQ1), 2,79 (t, 2H, $J = 6,6$ Hz, PQ1), 1,64 (m, 4H, PQ2 e PQ3), 1,19 (d, 3H, $J = 5,6$ Hz).

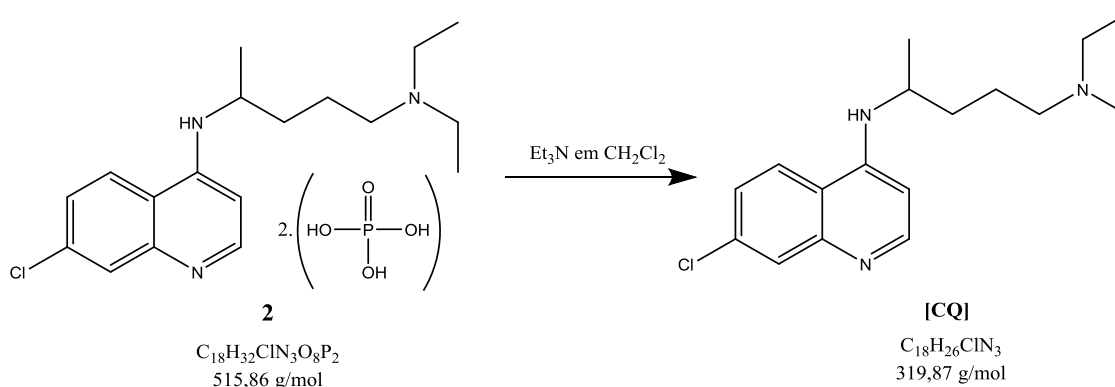
RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 169,1 (-COO), 159,0 (Q6), 144,6 (Q2), 144, 2 (Q8), 137,0 (ArC), 135,8 (Q4), 134,6 (ArC), 130,1 (ArC), 129,6 (Q9), 129,0 (ArC), 127,6 (ArC), 122,1 (Q3), 96,2 (Q7), 91,7 (Q5), 55,0 (PQ1), 46,9 (PQ4), 32,0 (PQ2), 24,7 (PQ3), 20,2 (-CH₃).

(EI⁺) *m/z* calculado para C₁₅H₂₂N₃O⁺: 260,1757, obtido 260,1760.

(EI⁻) *m/z* calculado para C₇H₅O₂⁻: 121,0295, obtido 121,0304.

3.3. Síntese de líquidos iônicos baseados na cloroquina

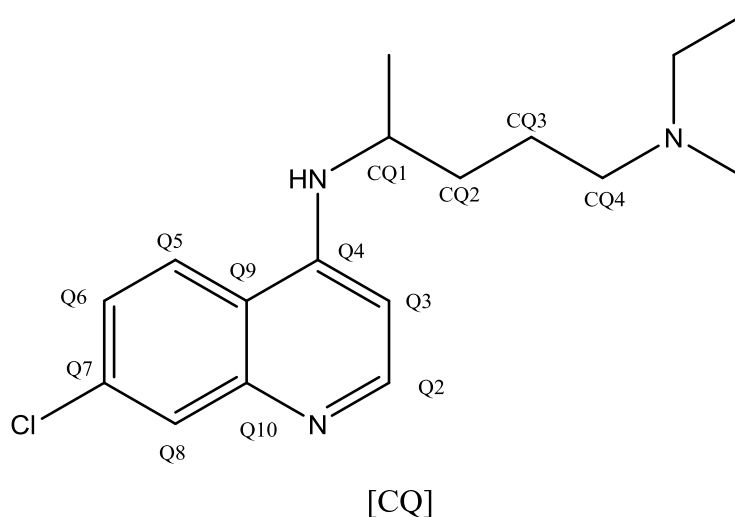
3.3.1. Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de CQ



Esquema 17 - Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de cloroquina.

A uma suspensão de bis-diidrogenofosfato de cloroquina (**2**) em CH₂Cl₂ seco (15 mL/mmol de **2**), adicionou-se Et₃N (0,75 mL/mmol de **2**), de forma a solubilizar o sal de cloroquina. A mistura foi mantida sob agitação magnética e em banho de gelo, ao abrigo da luz, durante cerca de 30 minutos.

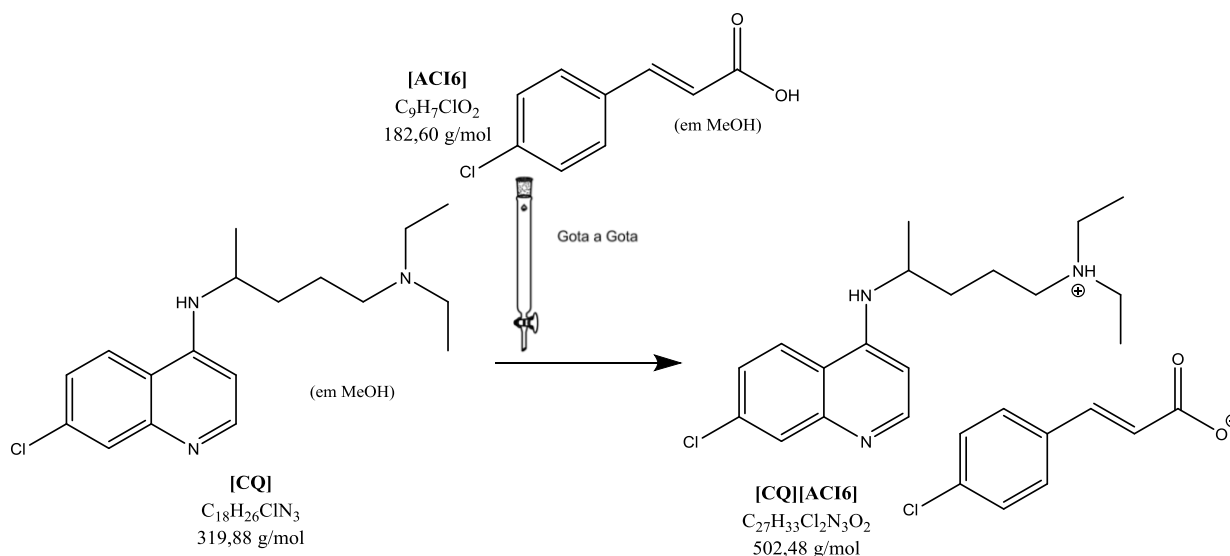
Após esse período, fez-se uma extração líquido-líquido com 10mL de água destilada. Extraíu-se a fase orgânica, e evaporou-se o CH₂Cl₂ num evaporador rotativo e após secagem em ultra vácuo, obteve-se, no final, um óleo incoloro (**[CQ]**) com um rendimento de 97,1%.



RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,36 (m, 2H, Q2 e Q5), 7,76 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, Q8), 7,42 (dd, 1H, $J = 9,0, 2,3$ Hz, Q6), 6,91 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Q3), 6,50 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz, -NH-), 3,72 (m, 1H, CQ1), 2,46-2,32 (m, 4H, -CH₂-), 1,76-1,61 (m, 2H, CQ4), 1,58-1,39 (m, 4H, CQ2 e CQ3), 1,23 (d, 3H, $J = 6,4$ Hz, CH₃).

3.3.2. Síntese dos ILs derivados da CQ (B)

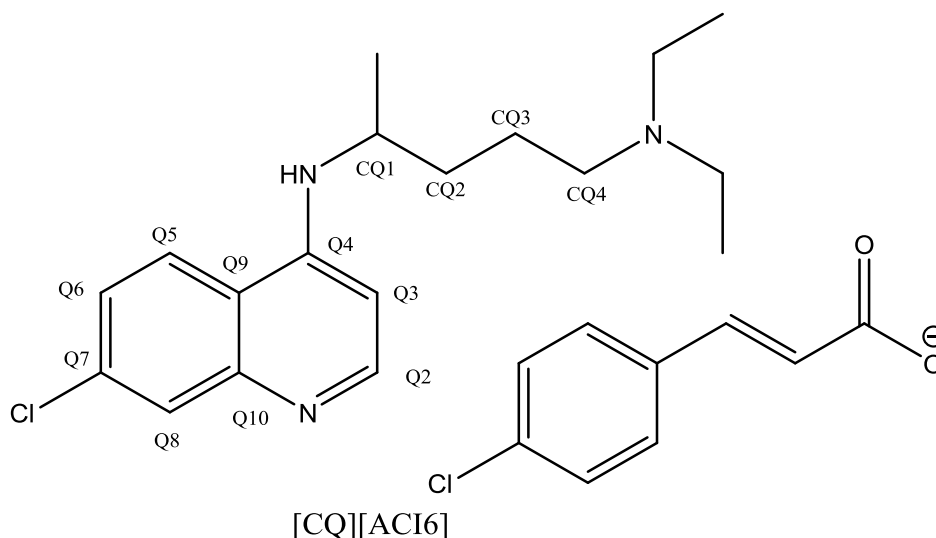
3.3.2.1. Síntese do 4-clorocinamato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-*N,N*-dietilpentan-1-aminium [CQ][ACI6]



Esquema 18 – Esquema da reação de [CQ][ACI6].

À [CQ] (0,051 g; 0,16 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido *p*-clorocinâmico ([ACI6]) (0,029 g; 0,16 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final ([PQ][ACI6]) em ultra vácuo.

4-clorocinamato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-*N,N*-dietilpentan-1-aminium



$\eta = 92,6 \%$

Aspeto: Óleo transparente

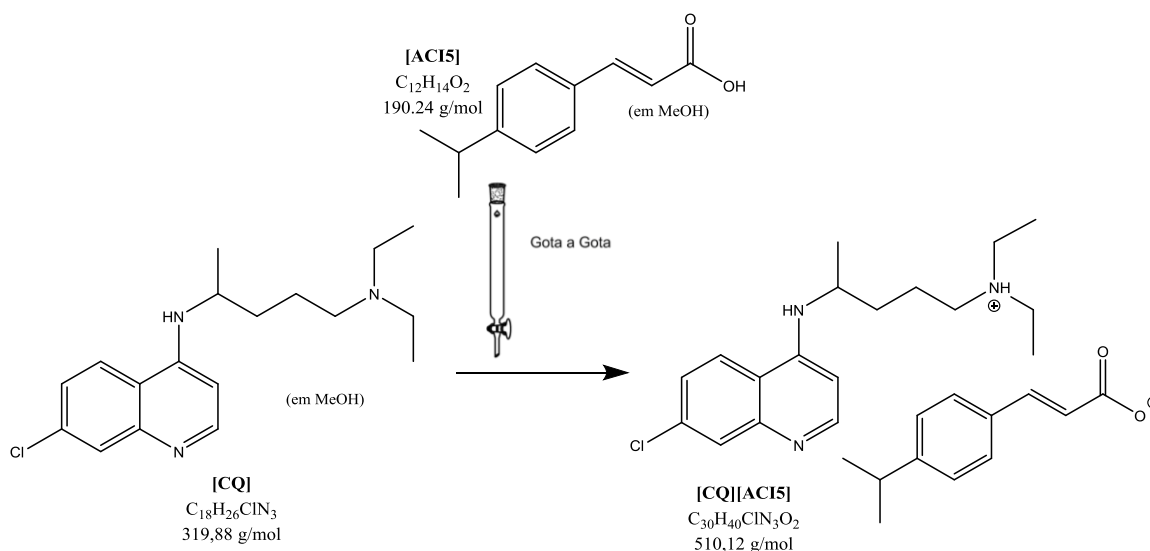
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,39-8,33 (m, 2H, Q2 e Q5), 7,76 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, Q8), 7,69 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, ArH), 7,45 (m, 4H, ArH, Q6), 6,92 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, -CH=CH-), 6,52 (m, 2H, -CH=CH-), 2,44 (m, 4H, -CH $_2$ -), 1,23 (d, 3H, $J = 6,3$ Hz, CH $_3$), 0,93 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 167,9 (-COO), 151,8 (Q2), 149,5 (Q4), 149,2 (Q10), 141,3, 134,3 (Q7), 133,6 (ArC), 133,3 (ArC), 129,7 (-CH=CH-), 128,9 (ArC), 127,4 (ArC), 124,4 (Q5), 123,8, 121,7 (Q6), 117,5 (Q9), 98,8 (Q3), 51,8 (CQ4), 47,5 (CQ1), 46,1 (-CH $_2$ -), 33,2 (CQ2), 22,9 (-CH $_3$), 19,8 (CQ3), 11,1 (-CH $_3$).

(EI $^+$) m/z calculado para C $_{18}$ H $_{27}$ ClN $_3$ $^+$: 320,1888, obtido 320,1888.

(EI) m/z calculado para $C_9H_6ClO_2^-$: 181.0062, obtido 181,0068.

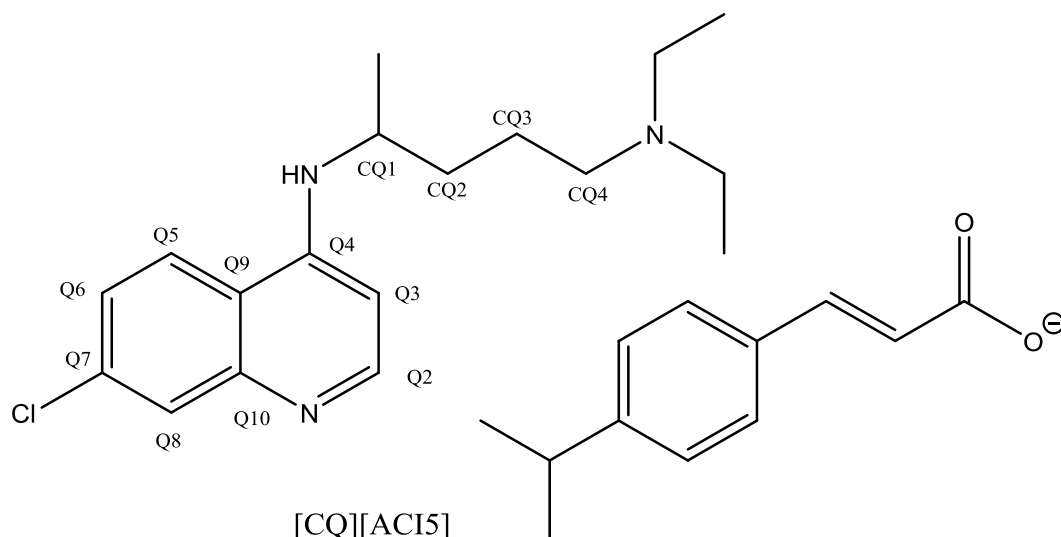
3.3.2.2. Síntese do 4-isopropilcinamato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-*N,N*-dietilpentan-1-aminium [CQ][ACI5]



Esquema 19 - Esquema de síntese do [CQ][ACI5].

À [CQ] (0,052 g; 0,16 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido *p*-isopropilcinâmico ([ACI5]) (0,031 g; 0,16 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final ([PQ][ACI5]) em ultra vácuo.

4-isopropilcinamato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-*N,N*-dietilpentan-1-aminium



$\eta = 98,8 \%$

Aspeto: Óleo transparente

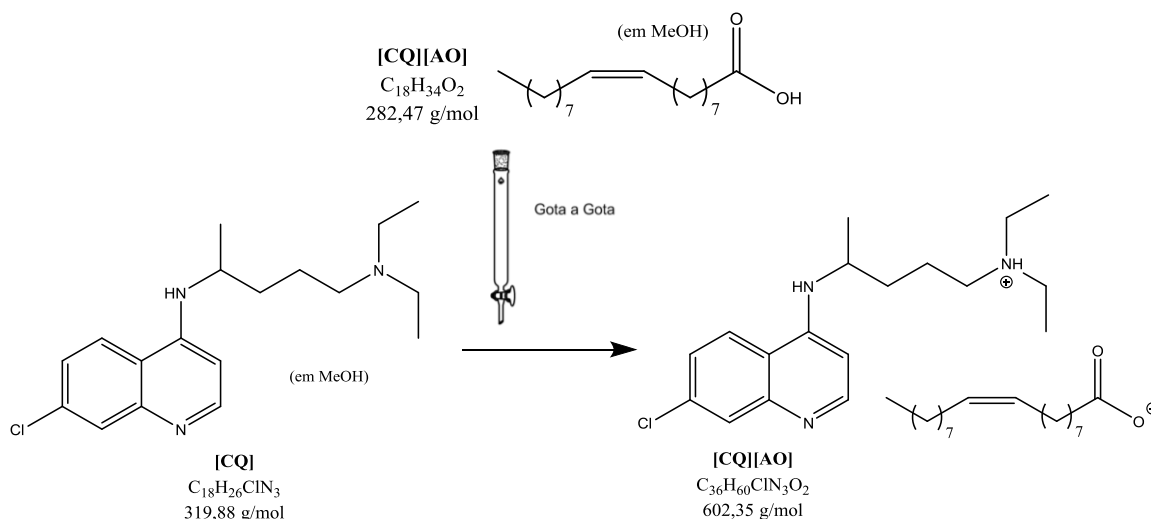
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,39-8,34 (m, 2H, Q2 e Q5), 7,76 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, Q8), 7,57 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz, ArH), 7,51 (d, 1H, $J = 160$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 7,42 (m, 1H, $J = 9,0, 2,3$ Hz, Q6), 7,27 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz, ArH), 6,91 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Q3), 6,50 (d, 1H, $J = 5,7$ Hz, $-\text{NH}-$), 6,45 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, $-\text{CH}=\text{CH}-$), 3,78-3,66 (m, 1H, CQ1), 2,90 (m, 1H, $J = 13,8, 6,9$ Hz), 2,49-2,38 (m, 4H, $-\text{CH}_2-$), 1,75-1,64 (m, 2H, CQ4), 1,57-1,42 (m, 4H, CQ2 e CQ3), 1,21 (d, 6H, $J = 12,2, 6,6$ Hz, $-\text{CH}_3$), 0,92 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 168,0 ($-\text{COO}$), 151,8 (Q2), 150,6 ($-\text{CH}=\text{CH}-$), 149,5 (Q4), 149,2, 143,1 (ArC), 133,3 (Q7), 132,1 (ArC), 128,1 ($-\text{CH}=\text{CH}-$), 127,4 (ArC), 126,8 (ArC), 124,3, 123,8 (Q5), 119,2 (Q6), 117,5 (Q9), 98,8 (Q3), 51,9 (CQ4), 47,6 (CQ1), 46,1, 33,3 (CQ2), 23,6 ($-\text{CH}_3$), 23,0 ($-\text{CH}_3$), 19,8 (CQ3), 11,3 ($-\text{CH}_3$).

(EI $^+$) m/z calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{ClN}_3^+$: 320,1888, obtido 320,1888.

(EI) m/z calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_2^-$: 189,0921, obtido 189,0931.

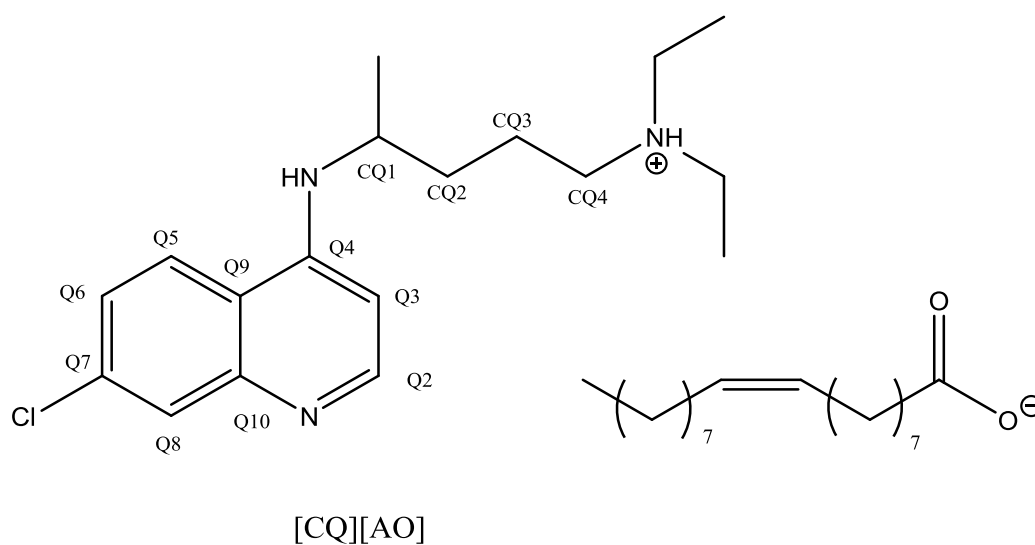
3.3.2.3. Síntese do Oleato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-*N,N*-dietilpentan-1-aminium [CQ][AO]



Esquema 20 - Esquema de síntese do [CQ][AO].

À **[CQ]** (0,050 g; 0,16 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido oleico (**[AO]**) (0,044 g; 0,16 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final (**[PQ][AO]**) em ultra vácuo.

Oleato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-N,N-dietilpentan-1-aminium



$\eta = 95,2 \%$

Aspeto: Óleo transparente

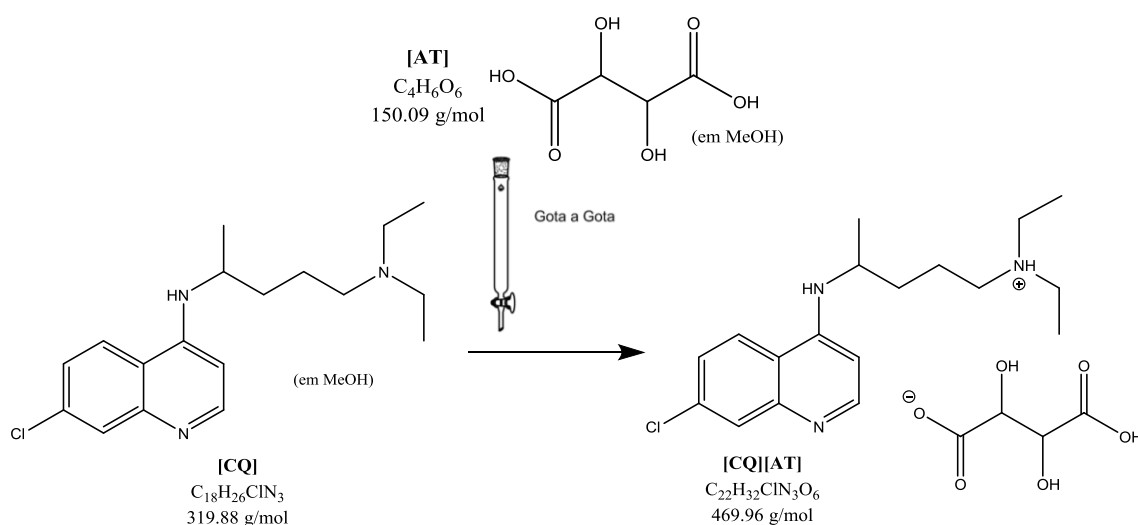
RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,36 (m, 2H, $J = 7,3, 1,6$ Hz, Q2 e Q5), 7,76 (d, 1H, $J = 2,2$ Hz, Q8), 7,42 (m, 1H, $J = 9,0, 2,3$ Hz, Q6), 6,91 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, Q3), 6,50 (d, 1H, $J = 5,7$ Hz, -NH-), 5,38-5,26 (m, 2H, -CH=CH-), 3,77-3,66 (m, 1H, CQ1), 2,48-2,35 (m, 4H, -CH₂), 2,16 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, -CH₂-COO⁻), 2,03-1,91 (m, 4H, -CH₂-CH=), 1,74-1,64 (m, 2H, CQ4), 1,58-1,40 (m, 4H, CQ2 e CQ3), 1,26 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz, -CH₃), 0,91 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz), 0,85 (t, 3H, $J = 6,8$ Hz, -CH₃)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ 174,6 (-COO), 151,8 (Q2), 149,5 (Q4), 149,3, 133,3 (Q7), 129,6 (-CH=CH-), 129,6 (ArC), 127,4 (ArC), 124,4, 123,8 (Q5), 117,5 (Q9), 98,8 (Q3), 52,0 (CQ4), 47,6 (CQ1), 46,1 (-CH₂-CH₃), 33,8 (CQ2), 33,3 (CH₂-COO⁻), 31,3, 29,1 (-CH₂), 28,8 (-CH₂-), 28,7 (-CH₂), 28,6 (-CH₂-), 28,7 (-CH₂-), 28,5 (-CH₂-), 26,6 (-CH₂-), 24,5 (-CH₂-), 23,2 (-CH₂-), 22,1 (-CH₃), 19,8 (CQ3), 13,9 (-CH₃), 11,4 (-CH₃).

(EI⁺) m/z calculado para C₁₈H₂₇ClN₃⁺: 320,1888, obtido 320,1889.

(EI⁻) m/z calculado para C₁₈H₃₃O₂⁻: 281,2486, obtido 281,2496.

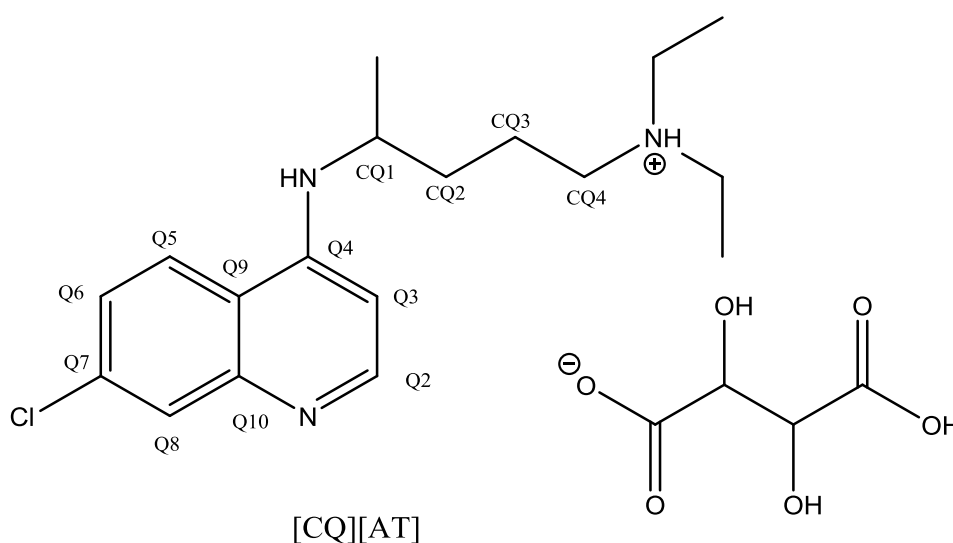
3.3.2.4. Síntese do 3-carboxi-2,3-di-hidroxiopropanoato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-*N,N*-dietilpentan-1-aminium [CQ][AT]



Esquema 21 – Esquema de síntese do [CQ][AT].

À **[CQ]** (0,051 g; 0,16 mmol; 1 eq.) dissolvida em 10 mL de MeOH, adicionou-se gota a gota uma solução o ácido tartárico (**[AT]**) (0,024 g; 0,16 mmol; 1 eq. em 10 mL de MeOH). A mistura reacional permaneceu em agitação magnética, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. O pH da reação foi sempre controlado (antes, a meio e no final da reação). Após cerca de 15 minutos, evaporou-se o solvente a pressão reduzida e secou-se o produto final (**[PQ][AT]**) em ultra vácuo.

3-carboxi-2,3-di-hidroxiopropanoato de 4-((7-cloroquinolin-4-il)amino)-N,N-dietilpentan-1-aminium



$\eta = 98,3 \%$

Aspeto: Óleo transparente

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,42-8,34 (m, 2H, Q2 e Q5), 7,78 (d, 12H, $J = 2,2$ Hz, Q8), 7,45 (dd, 1H, $J = 9,0, 2,1$ Hz, Q6), 7,04 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz, Q3), 6,54 (d, 1H, $J = 5,7$ Hz, -NH-), 3,97 (s, 2H), 3,83-3,71 (m, 1H, CQ1), 2,96-2,79 (m, 6H, -CH- e -CH₂-CH₃), 2,08 (s, 1H), 1,79-1,49 (m, 10H, CQ4, CQ3 e -CH₃), 1,24 (d, 2H, $J = 6,3$ Hz, CQ2), 1,08 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, -CH₃).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 10 MHz) δ 174,2 (-COO), 151,4 (Q2), 149,8 (Q4), 148,7, 133,6 (Q7), 127,0 (Q8), 124,4 (Q5), 124,0 (Q6), 117,4 (Q9), 98,9 (Q3), 71,6 (-CHOH), 50,9 (CQ4), 47,5 (CQ1), 46,0 (-CH₂-), 32,6 (CQ2), 20,9 (-CH₃), 19,8 (CQ3), 9,2 (-CH₃).

(EI⁺) m/z calculado para $C_{18}H_{27}ClN_3^+$: 320,1888, obtido 320,1891.

(EI⁻) m/z calculado para $C_4H_5O_6^-$: 149,0092, obtido 149,0100.

3.4. Caracterização dos compostos sintetizados

Após a síntese orgânica e como já foi referido antes, outro dos objetivos principais a ser alcançado nesta dissertação é a caracterização dos compostos finais, tanto por caracterização estrutural, como por caracterização biológica.

A caracterização estrutural foi elaborada por intermédio de análises de ressonância magnética nuclear (1H e ^{13}C) e de espectrometria de massa, por MS-ESI Orbitrap, realizadas no Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP).

Para além desta caracterização, a maioria dos líquidos iónicos derivados da primaquina sintetizados foram avaliados quanto às suas atividades biológicas *in vitro* contra a espécie *P. falciparum*, em duas fases do ciclo de vida do parasita no hospedeiro vertebrado: sanguínea e gametocida. Estas avaliações foram realizadas com colaborações externas, sendo elas, respetivamente, o Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa com a Doutora Fátima Nogueira e o Departamento de Ciência Farmacológica e Biomolecular da Universidade de Milão com a Doutora Silvia Parapini.

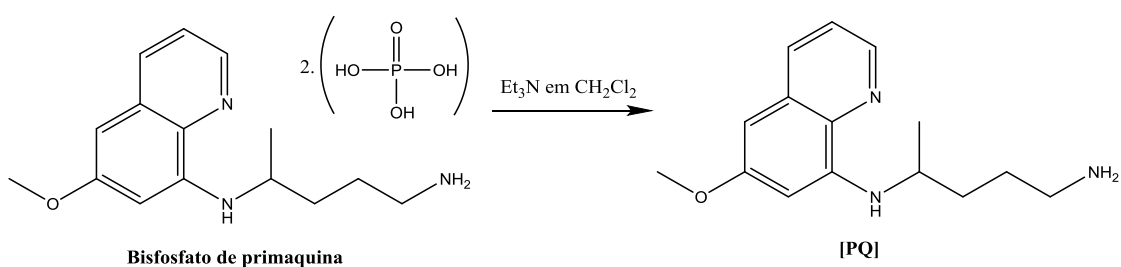
4. Resultados obtidos e discussão

4.1. Síntese dos ILs derivados da primaquina (A)

4.1.1. Remoção do grupo bisfosfato do bisfosfato de PQ

Para a dissertação em que este projeto se insere, o catião desejado é a forma catiónica de um fármaco antimalárico, a primaquina, que se encontra comercializada sob a forma de sal de difosfato.

Para a obtenção da base pretendida, tivemos que remover o grupo fosfato do difosfato de PQ (Esquema 22), antes da aplicação do método de preparação destes sais orgânicos.



Esquema 22 - Representação esquemática da remoção do bisfosfato do sal.

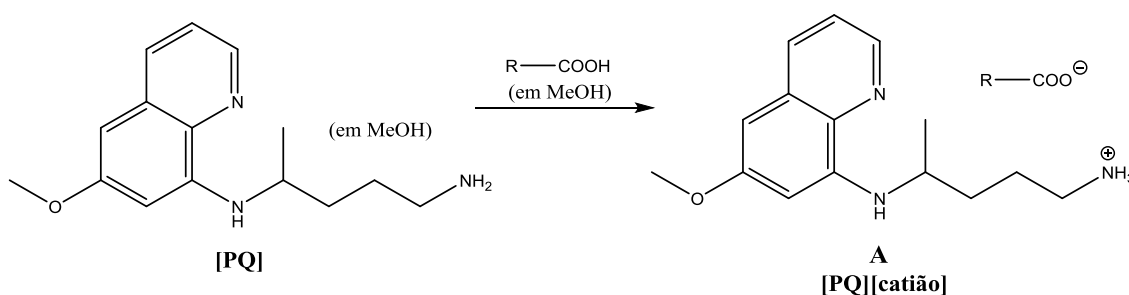
Para esta etapa do projeto, o procedimento experimental foi executado de acordo com o que foi descrito na secção 3.2.1. do capítulo anterior. Como já foi referido, a remoção foi efetuada sempre que necessário.

O produto obtido apresentou-se como um óleo amarelo e os dados de Ressonância Magnética Nuclear de protão (RMN-1H) estavam de acordo com dados anteriormente publicados para o mesmo composto. Os rendimentos obtidos para as diversas sínteses foram no geral satisfatórios (Tabela 2).

Tabela 2 – Rendimentos obtidos a obtenção da primaquina com o grupo NH₂ livre.

Remoção	Rendimento (%)
1	99,7
2	54,1
3	95,0
4	83,1
5	97,1
85,8 ± 18,6	
Média dos rendimentos	

4.1.2. Preparação dos líquidos iónicos



Esquema 23 – Representação geral da síntese dos líquidos iónicos derivados da primaquina.

A síntese dos líquidos iónicos está descrita na secção 1.3.. Este método mostrou-se simples e eficaz para derivados antimaláricos como a primaquina. Estando de acordo com os resultados obtidos para outros compostos bioativos como a preparação de líquidos iónicos baseados em aminoácidos⁸⁷, a síntese de ILs resultantes da ampicilina², e de derivados da fluoroquinolona²⁰.

Tanto a primaquina, como os ácidos utilizados nas sínteses eram solúveis em metanol, evitando a utilização de solventes halogenados.

Para estas sínteses, a base utilizada foi a primaquina. No caso do ácido carboxílico:

- Baseados em produtos naturais – ácido oleico e tartárico

- Baseados em fármacos – ácido benzoico, acetilsalicílico e derivados do ácido cinâmico.

Os ácidos derivados do ácido cinâmico serviram para estudar os diferentes efeitos que os substituintes poderiam causar, caso estivessem ligados à primaquina por uma ligação covalente (ligação amida) ou por uma ligação iónica.

A Tabela 3 mostra os rendimentos obtidos para estas sínteses.

Tabela 3 – Dados das sínteses dos compostos finais, ILS derivados da PQ.

Compostos finais	MM (g/mol)	Massa obtida (g)	Rendimento (%)
[PQ][AA]	439,51	0,0904	87,4
[PQ][AT]	409,44	0,1018	93,7
[PQ][AO]	541,82	0,1068	100,0
[PQ][ACI]	407,51	0,0822	95,0
[PQ][ACI2]	421,54	0,1131	92,1
[PQ][ACI3]	423,51	0,0851	91,4
[PQ][ACI4]	437,54	0,0918	88,5
[PQ][ACI5]	449,59	0,0893	99,5
[PQ][ACI6]	441,96	0,0866	93,3
[PQ][BZ]	381,48	0,1171	98,7

A confirmação da obtenção dos produtos finais foi obtida por espectroscopia de RMN (^1H e ^{13}C) e espectrometria de massa (ESI-IT MS).

A título exemplificativo mostramos de seguida os espectros do composto [PQ][ACI].

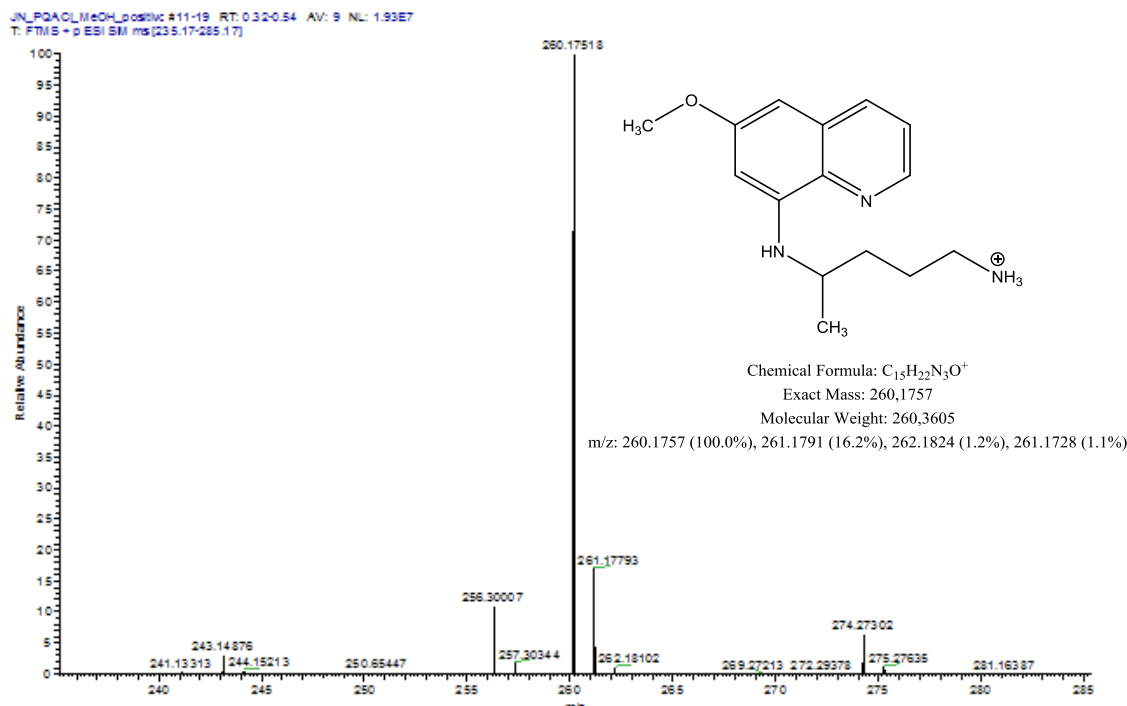


Figura 15 – Espectro de massa ESI-IT MS (modo positivo) do composto [PQ][ACI].

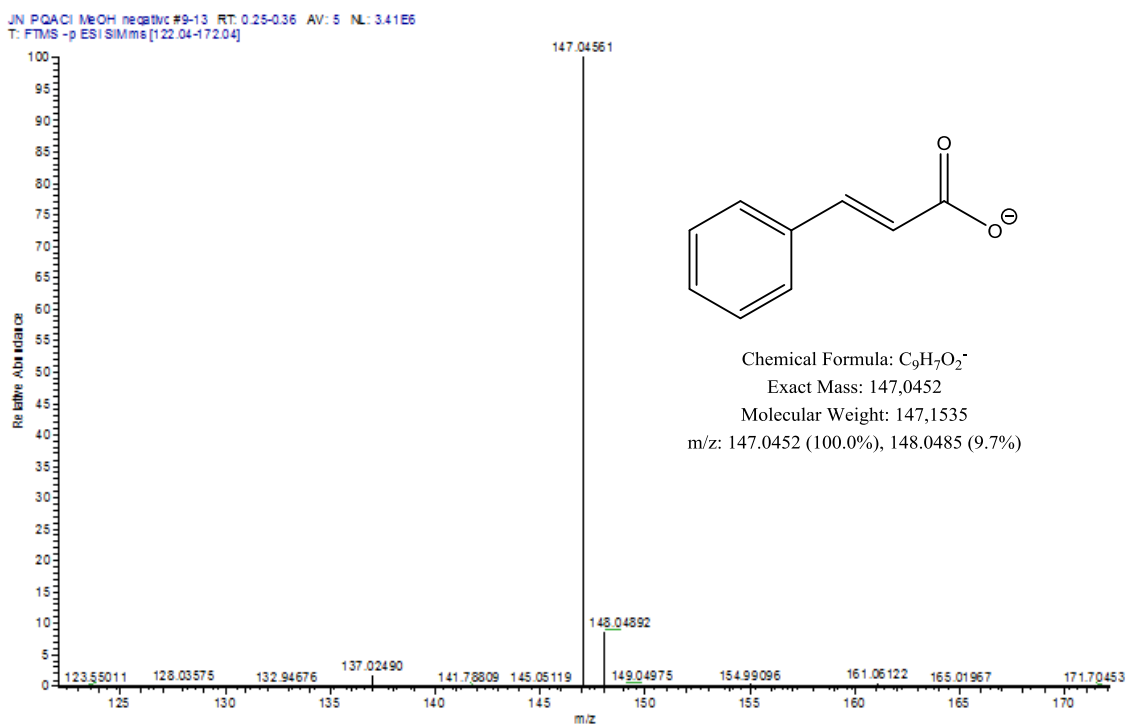


Figura 16 - Espectro de massa ESI-IT MS (modo negativo) do composto [PQ][ACI].

Como se pode ver na Figura 15, o pico que se encontra a m/z 260,0456 corresponde à massa exata do catião (260,1757 unidades de massa atómica (u.m.a.)). Na Figura 16, o espectro de massa no modo negativo (anião do sal **[PQ][ACI]**) apresenta um pico a $m/z = 147,0456$, que é compatível com o anião do composto, em que a massa exata é de 147,0452 u.m.a.

Para além das análises realizadas aos produtos finais, também se fez análises de RMN ^1H aos compostos de partida, à primaquina e aos ácidos utilizados, para uma melhor comparação dos três espetros (Figura 17).

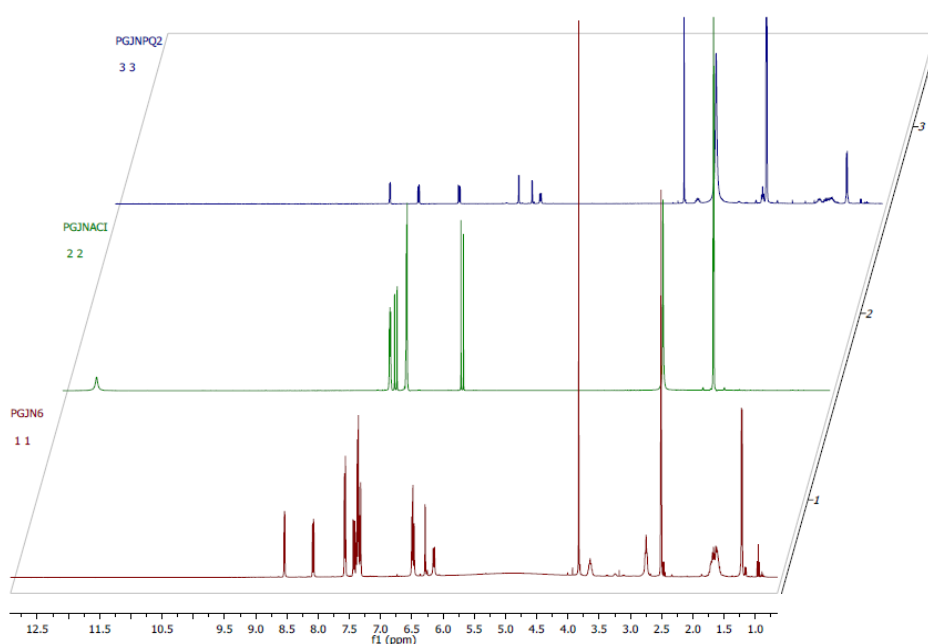


Figura 17 – Comparação dos espetros de RMN ^1H : **[PQ][ACI]** (vermelho), ácido cinâmico (verde) e primaquina (azul).

Esta análise permite uma melhor compreensão das modificações que aconteceram no espetro do **[PQ][ACI]**, quando comparado com os outros dois. Na Figura 17 (PGJNACI) consegue-se visualizar a existência de um pico acima dos 10 ppm que corresponde ao sinal do protão ácido. Como era de esperar este pico desaparece após a obtenção do sal.

O espetro de protão dos produtos finais permite-nos confirmar a estrutura do composto final, assim como a confirmação do seu grau de pureza.

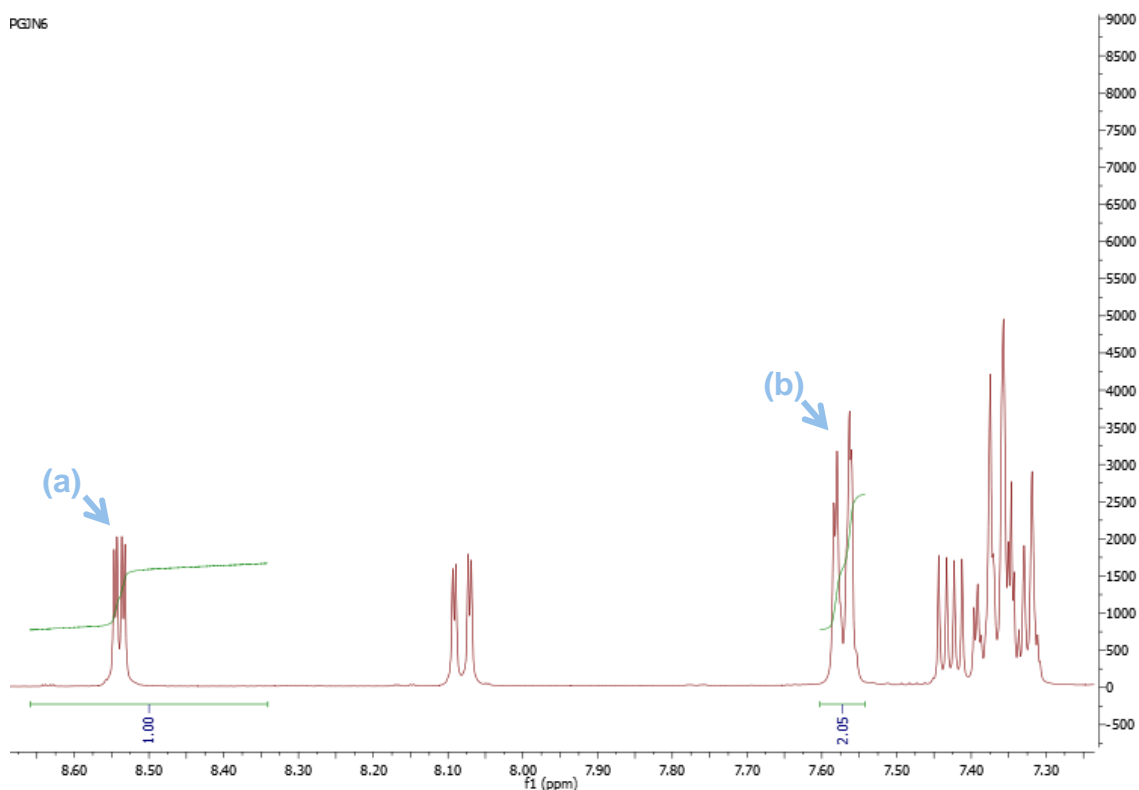


Figura 18 – Identificação dos picos no espectro de RMN ^1H do [PQ][ACI] para confirmar a pureza do composto.

Para verificar a pureza dos compostos sintetizados foi necessário verificar a proporção das integrais anião/catião. Quando a proporção anião/catião não era 1 foi necessário adicionar mais ácido ou mais primaquina, consoante a diferença das proporções que tínhamos.

Pelo espectro de RMN apresentado (Figura 18), o sinal (a) corresponde a um protão do anel quinolínico, enquanto que o sinal (b) corresponde a dois protões do anel aromático do ácido cinâmico. Relativamente aos integrais, para o (a) temos um integral igual a 1,00, enquanto que para o (b), o integral é aproximadamente 2,00. A proporção tem que ser de 1:1, o que é compatível com o que se consegue visualizar no espectro do [PQ][ACI].

O espectro de RMN ^1H do [PQ][ACI] está representado na íntegra na Figura 19. Para facilitar a identificação de alguns sinais, na Figura 20 está apresentada uma ampliação de uma das zonas do espectro do composto, no intervalo de 6,0 e 8,5 ppm.

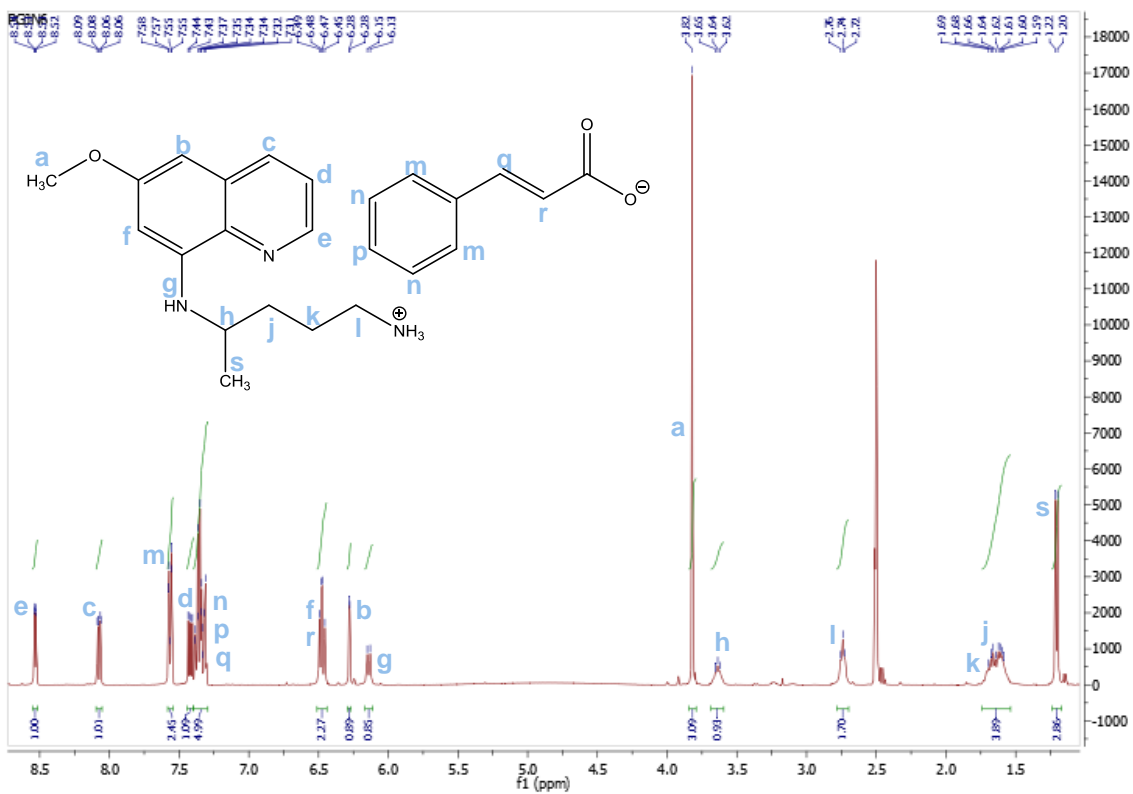


Figura 19 – Espectro de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto [PQ][ACI].

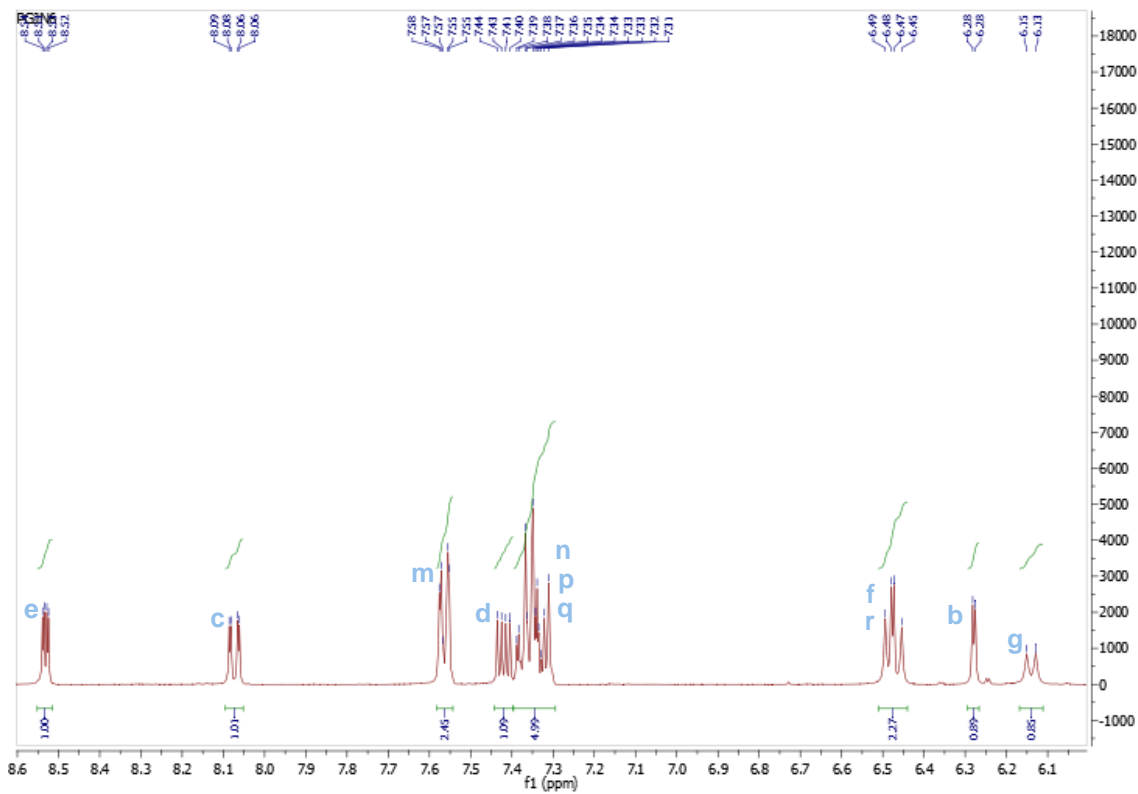


Figura 20 – Espectro de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto [PQ][ACI] no intervalo de 6,0 a 8,6 ppm.

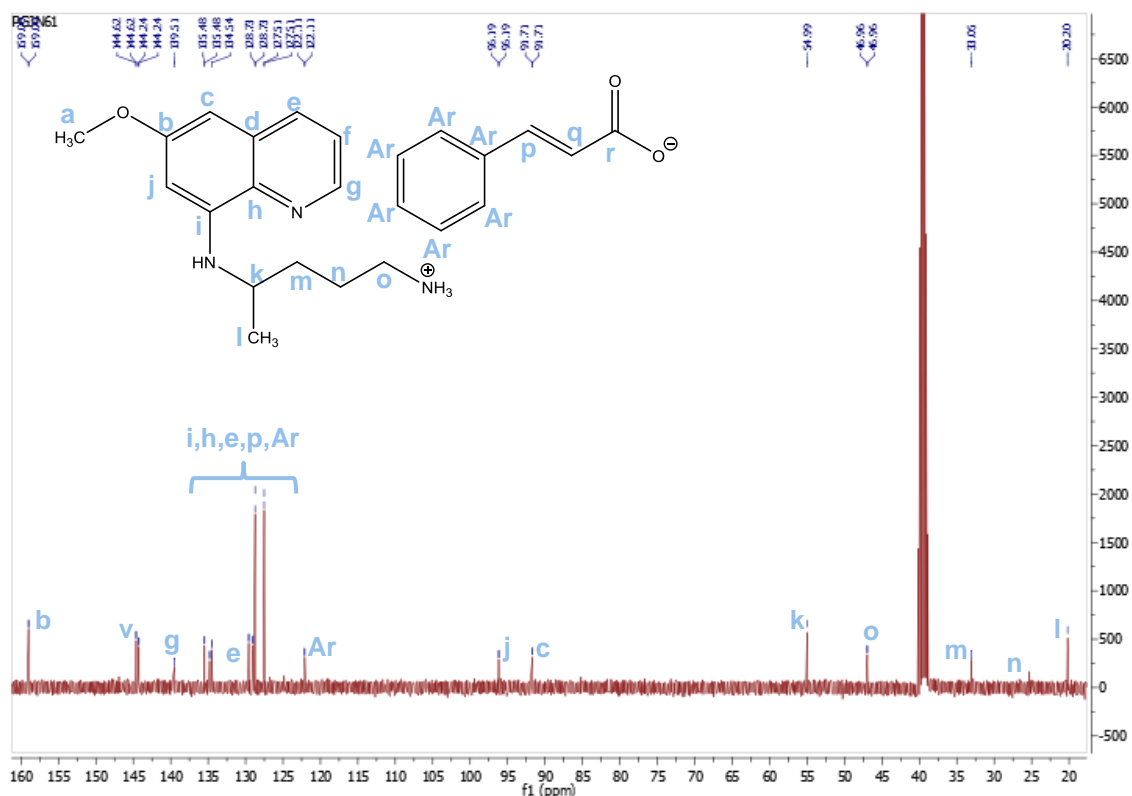


Figura 21 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) do composto [PQ][ACI].

Na figura 21 está representado o espectro de RMN ^{13}C do composto [PQ][ACI], em que os sinais apresentam-se de acordo com o esperado. Analisando o espectro visualizou-se os nove carbonos quinolínicos (b,c,d,e,f,g,h,i,j) entre 91,71 e 161,11 ppm, assim como o carbono do carbonílico a 159,00 ppm. Os carbonos do anel aromático do anião (Ar) encontram-se por volta dos 122,11 a 139,51 ppm. Os carbonos k,m,n,o (Figura 21) estão representados pelos picos entre 25,31 ppm e 55,00 ppm. Para finalizar, ainda temos o pico correspondente ao carbono metilo, que pode ser identificado a 20,20 ppm.

4.1.3. Degradação do 2-acetilsalicilato de 4-((6-metoxiquinolin-8-ilo)amino)pentan-1-amínio

A síntese do 2-acetilsalicilato de 4-((6-metoxiquinolin-8-ilo)amino)pentan-1-amínio [PQ][AA] foi efetuada tal como proposto. No entanto, este composto não era

tão estável como os restantes. O estudo da degradação da primaquina com o ácido acetilsalicílico foi monitorizado por RMN ^1H ao longo do tempo. Preparou-se e analisou-se o espectro no dia 1, no dia 3, no dia 7 e no dia 15 (Figura 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28).

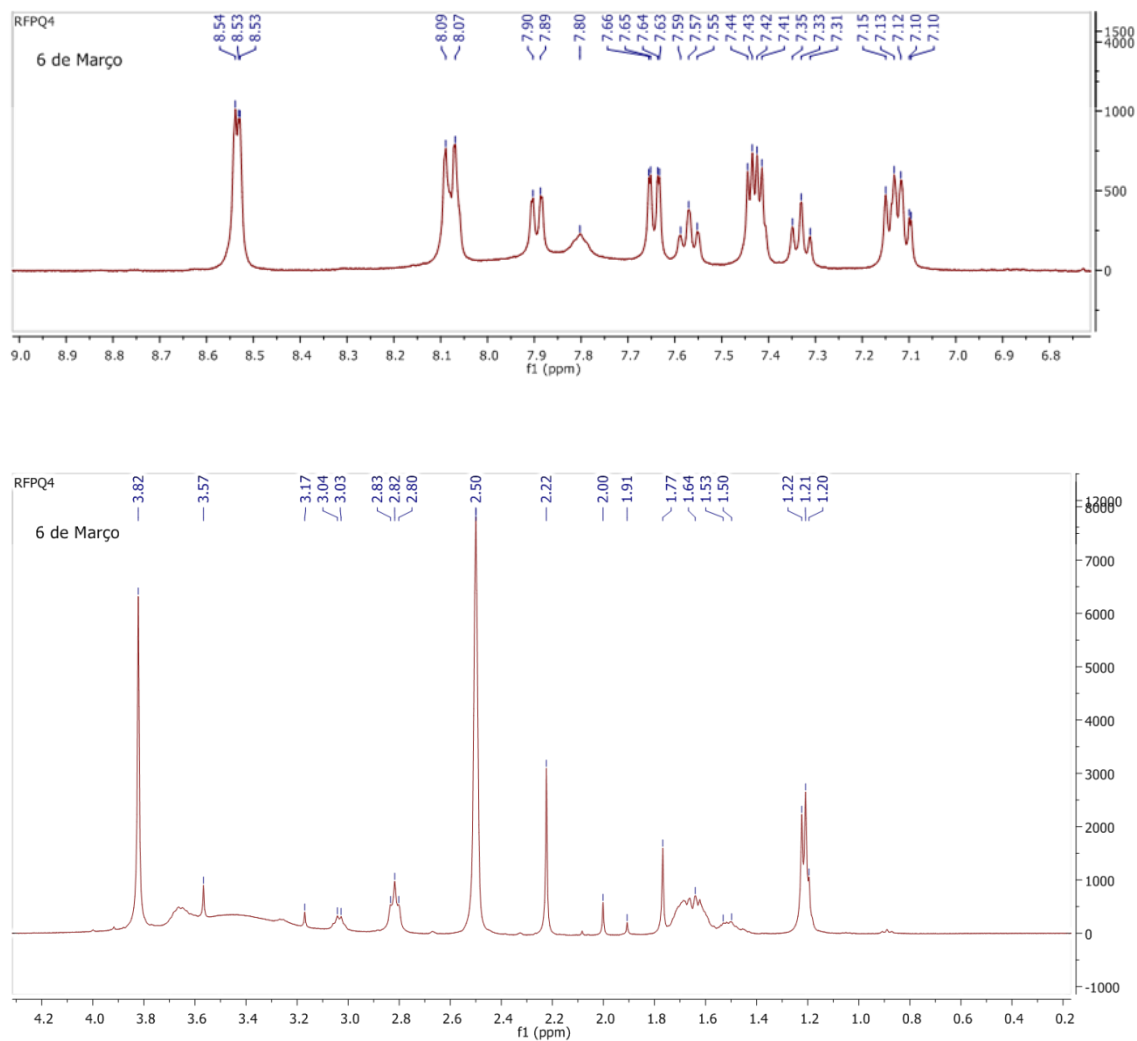


Figura 22 - Espectro de RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto [PQ][AA] (dia 1).

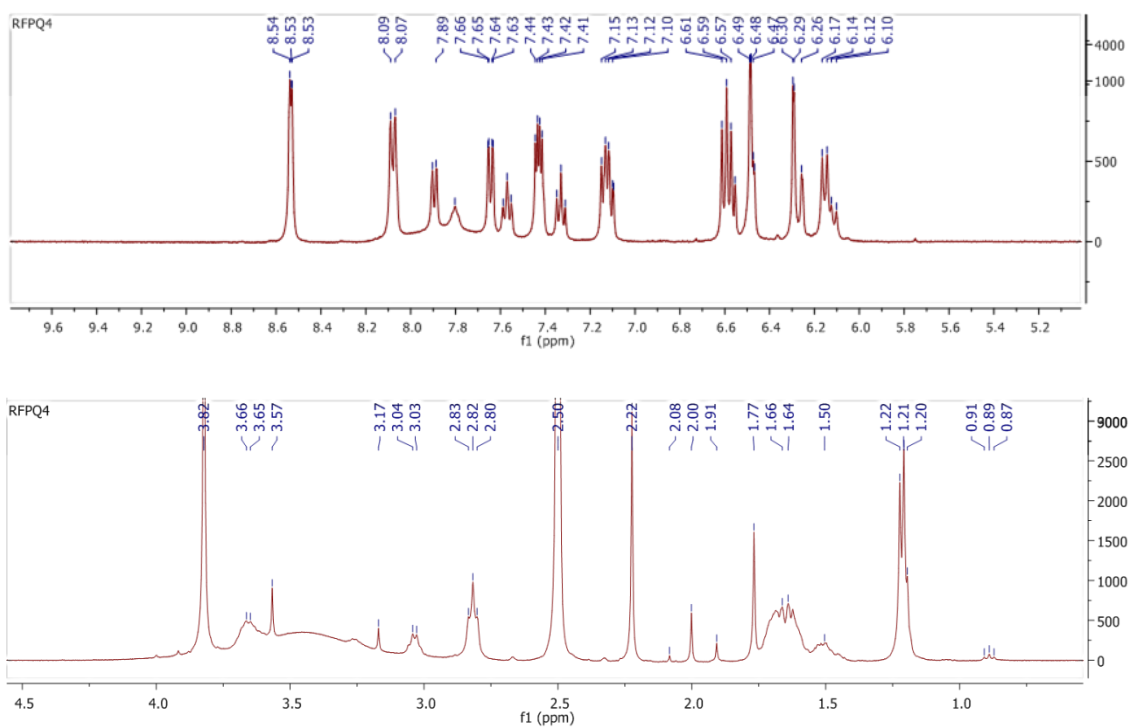


Figura 23 - Espectro de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto [PQ][AA] (dia 3).

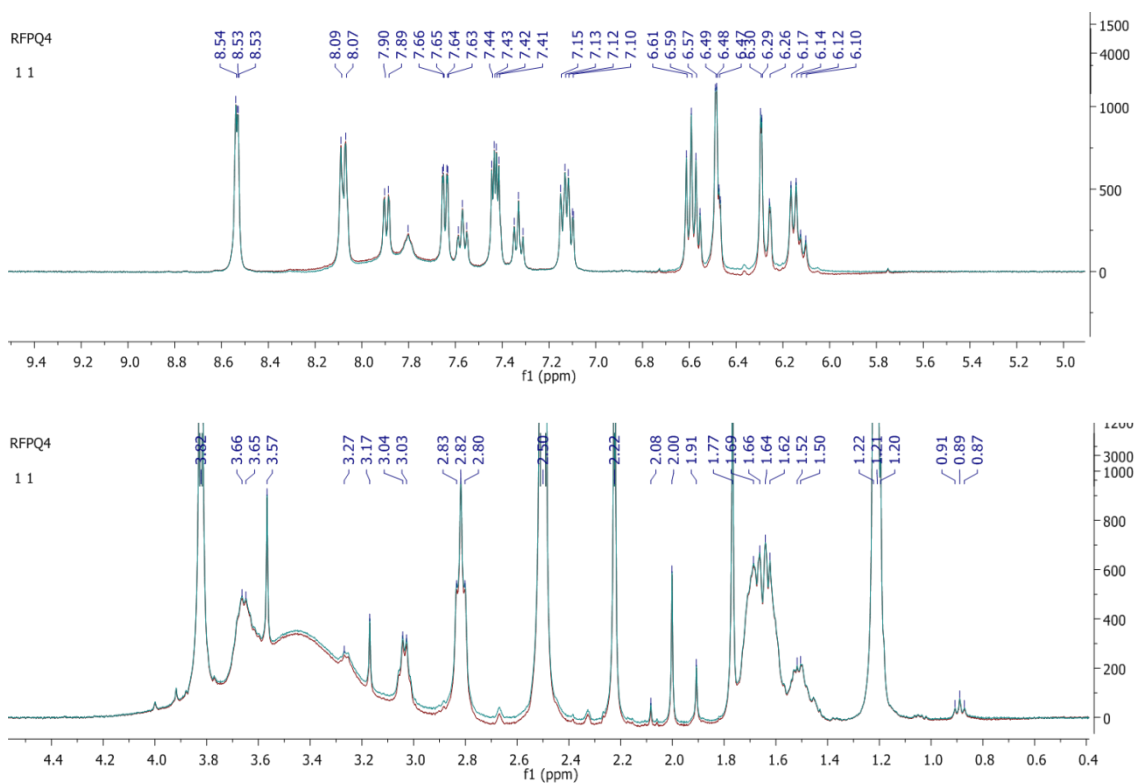


Figura 24 – Sobreposição dos espectros de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto [PQ][AA] (dia 1 e dia 3).

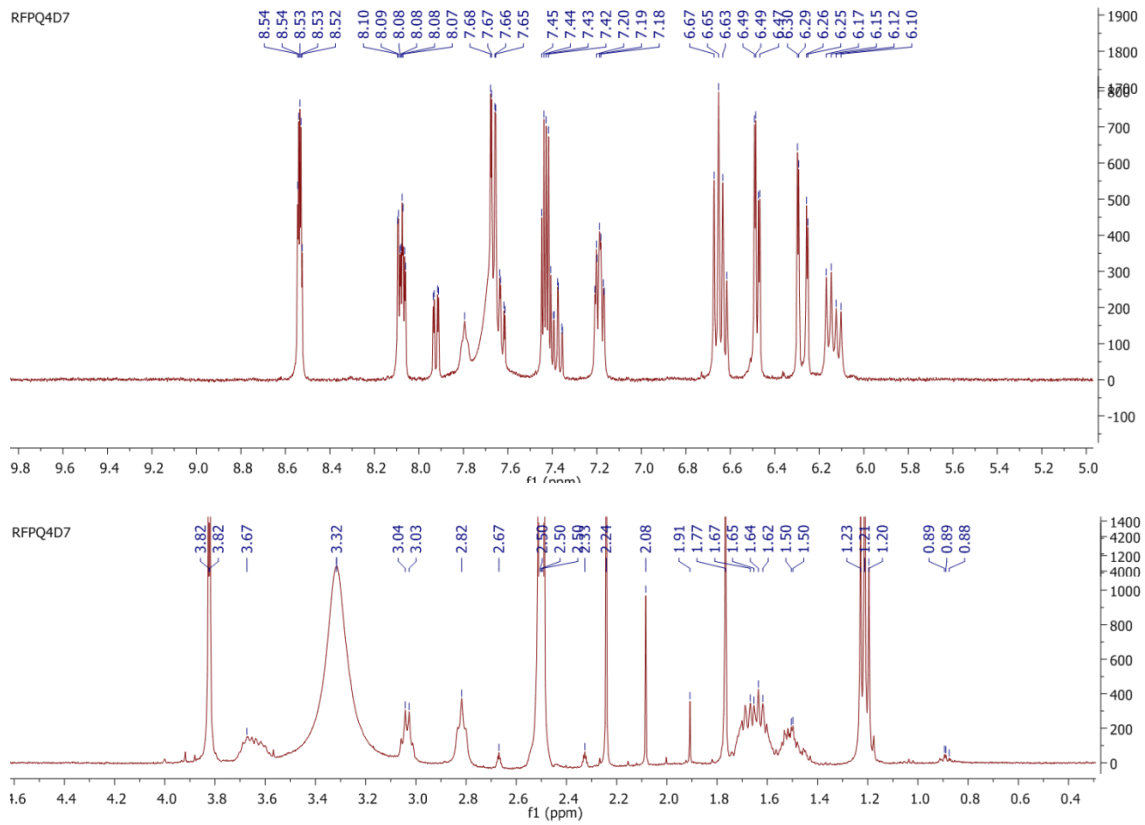


Figura 25 - Espectro de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto [PQ][AA] (dia 7).

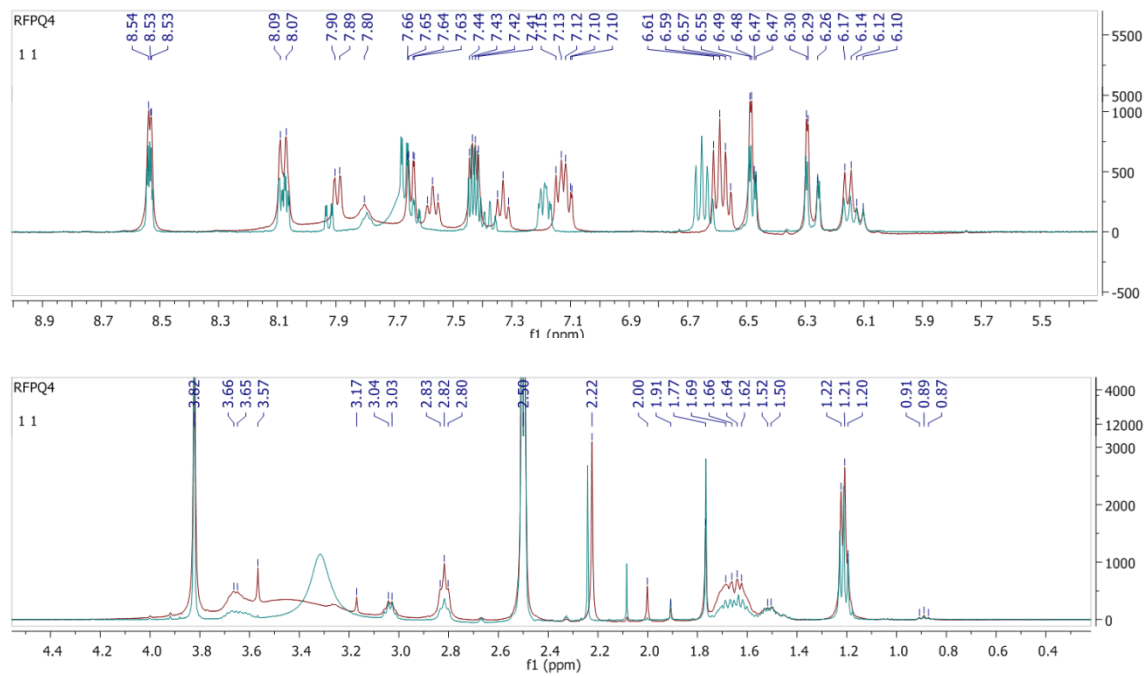


Figura 26 – Sobreposição dos espectros de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) dos compostos [PQ][AA] (dia 1 e dia 7).

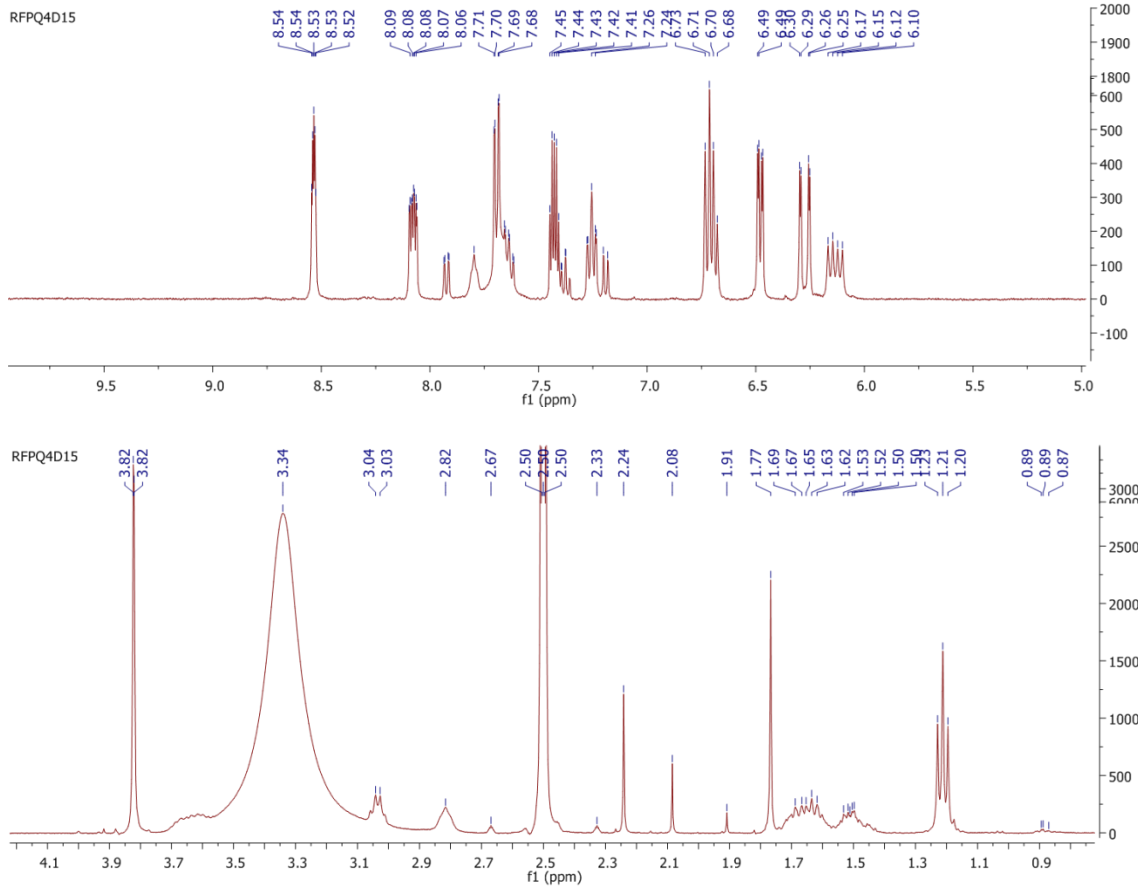


Figura 27 - Espectro de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto [PQ][AA] (dia 15).

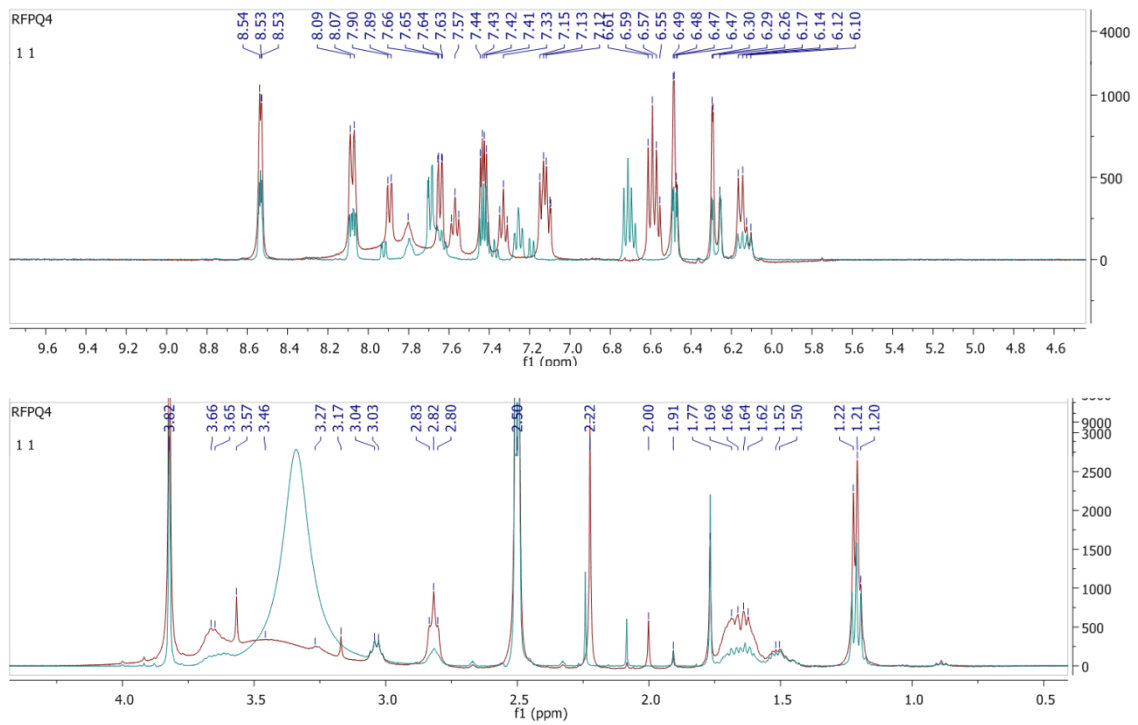


Figura 28 – Sobreposição dos espectro de RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) do composto [PQ][AA] (dia 1 e dia 15).

Como se pode ver na figura 24, já se consegue observar ligeiras diferenças ao terceiro dia. À medida que o tempo passava, mais o composto se degradava, logo o espectro ia sofrendo mais alterações. Estas alterações no espectro observam-se principalmente entre 5,9 e 8,7 ppm (hidrólise do acetilsalicilato, formando o salicilato). Porém não foi apenas pelos espectros, mas a própria cor do composto modificou-se, passando do habitual amarelo para verde.

Esta degradação não era inesperada, Bica *et al.* ²⁴ já tinham descrito esta degradação no líquido iónico acetilsalicilato de lidocaína, que quando armazenado à temperatura ambiente e ao abrigo do ar, lentamente degrada-se. Bica *et al.* chegaram à conclusão que 33 % do composto hidrolisa-se ao seu salicilato correspondente, no período de uma semana.

4.2. Análise biológica dos ILs derivados da primaquina

Aos sais orgânicos sintetizados a partir da PQ no âmbito deste trabalho foram realizadas análises biológicas para duas fases da infeção: sanguínea e gametocida. Estes compostos foram avaliados *in vitro* para as suas atividades biológicas contra as formas do *P. falciparum*. De seguida vamos analisar os resultados obtidos nestas análises.

4.2.1. Fase sanguínea

Como já foi descrito na seção 3.3., as análises biológicas da fase sanguínea foram realizadas no Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa, pela Doutora Fátima Nogueira.

A tabela 4 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 4 – Resultados na fase sanguínea, *in vitro* para 8 ILs derivados da PQ sintetizados, contra o *Plasmodium falciparum* estirpe 3D7 e o Dd2 (resistente à cloroquina).

Compostos	Estrutura	3D7 ^[a] IC50 (μM)	Dd2 ^[b] IC50 (μM)
Primaquina [PQ]		3,11 ^[c]	1,12 ^[c]
[PQ][AT]		<u>0,95</u>	<u>0,81</u>
[PQ][AO]		<u>1,01</u>	<u>0,81</u>
[PQ][ACI]		1,13	1,38
[PQ][ACI2]		0,94	1,40
[PQ][ACI3]		1,68	1,18
[PQ][ACI4]		1,26	1,16
[PQ][ACI5]		3,40	<u>1,08</u>
[PQ][ACI6]		<u>1,56</u>	<u>0,69</u>

[a] estirpe de *P. falciparum* sensível à cloroquina; [b] estirpe de *P. falciparum* resistente à cloroquina; [c] valores de literatura para a primaquina (doi:10.1016/j.ijmm.2013.07.005);

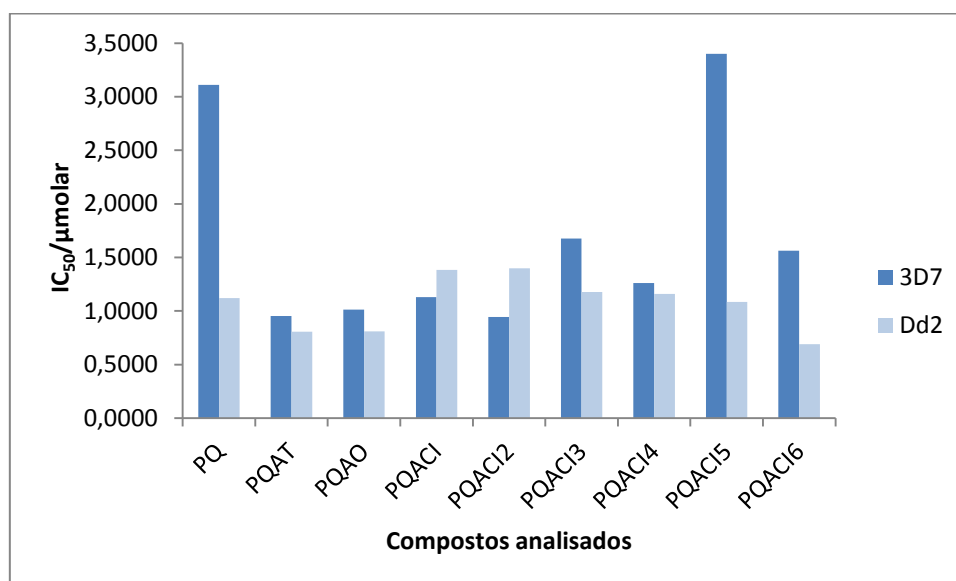


Figura 29 – Resultados da análise biológica para os líquidos iónicos derivados da PQ sintetizados, com os valores de IC_{50} respetivos e contra o *P. falciparum* 3D7 e Dd2.

Como se pode observar na tabela 4 e na figura 29 os valores de IC_{50} para a estirpe 3D7 (estirpe sensível a cloroquina), são superiores aos valores da média de IC_{50} para a estirpe Dd2 (estirpe resistente a cloroquina), tal como esperado, já que Delves *et al.*⁸⁸ recentemente descobriram que as estirpes sensíveis à cloroquina (como as estirpes D6, NF54, 3D7) apresentam valores de IC_{50} mais elevados para a primaquina e para outros 8-aminoquinolinas, do que para as estirpes resistentes (como as estirpes W2, Dd2).

Comparou-se os resultados obtidos para estes novos compostos com os valores obtidos na literatura⁸⁹ para a primaquina, contra a estirpe 3D7 e a Dd2. Relativamente à estirpe 3D7 e com base nos resultados obtidos, podemos afirmar que conseguimos reduzir em média os valores de IC_{50} , no geral, para cerca de 1/3 do IC_{50} para a primaquina (IC_{50} (3D7) = 3,11 μ M). Quase todos os líquidos iónicos derivados da primaquina que foram submetidos a esta análise biológica obtiveram uma média de IC_{50} inferior à da primaquina. Sendo assim, o composto **[PQ][AT]** foi aquele com a média de IC_{50} mais baixa (IC_{50} (3D7) = 0,95 μ M), e em contrapartida, o **[PQ][AC15]** (IC_{50} (3D7) = 3,40 μ M) foi o único composto com uma média ligeiramente mais elevada que a da primaquina.

Dos compostos sintetizados, aqueles com os melhores resultados para a estirpe Dd2 foram o **[PQ][AT]** (IC_{50} (Dd2) = 0,81 μ M), o **[PQ][AO]** (IC_{50} (Dd2) = 0,81 μ M), o **[PQ][AC15]** (IC_{50} (Dd2) = 1,08 μ M) e o **[PQ][AC16]** (IC_{50} (Dd2) = 0,69 μ M),

quando comparados com o valor de literatura do IC₅₀ para a primaquina (IC₅₀ (Dd2) = 1,12 µM). Entre estes quatro resultados, o composto que baixou mais o valor de IC₅₀ foi o [PQ][AC6], em que o seu valor de IC₅₀ foi reduzido para quase metade do valor de IC₅₀ da primaquina livre.

Podemos concluir assim que com os compostos analisados obtivemos valores de IC₅₀ comparáveis aos valores já descritos na literatura contra a estirpe resistente à cloroquina (Dd2) e baixamos o IC₅₀ para a estirpe 3D7, o que demonstrou a mais-valia desta inovadora gama de sais orgânicos.

De maneira a complementar a caracterização biológica para a fase sanguínea da infeção, os ácidos carboxílicos utilizados em cada um dos compostos analisados nesta fase, também foram avaliados quanto às suas atividades biológicas contra estas estirpes do *P. falciparum*. Os resultados demonstraram, que os ácidos carboxílicos de partida não tinham atividade contra estas estirpes nesta fase, concluindo assim, que os resultados das análises biológicas aos líquidos iónicos, não provêm dos ácidos utilizados, mas das duas conjugações com a primaquina.

4.2.2. Atividade gametocida

Com base no que já foi descrito na secção 3.3., as análises biológicas na fase dos gametócitos foram realizadas no Departamento de Ciência Farmacológica e Biomolecular da Universidade de Milão, pela Doutora Silvia Parapini.

Neste estudo, foi possível comparar a atividade biológica de alguns compostos sintetizados nesta dissertação (com ligação iónica), com os compostos anteriormente sintetizados no grupo investigação (com ligação covalente – ligação amida)⁵⁶. Estes últimos compostos, as primacinas, foram sintetizados previamente, no decorrer de um projeto de investigação no nosso grupo, que foi desenvolvido pela então aluna de doutoramento Bianca Pérez.

Na Figura 30 podemos visualizar as primacinas utilizadas para esta análise.

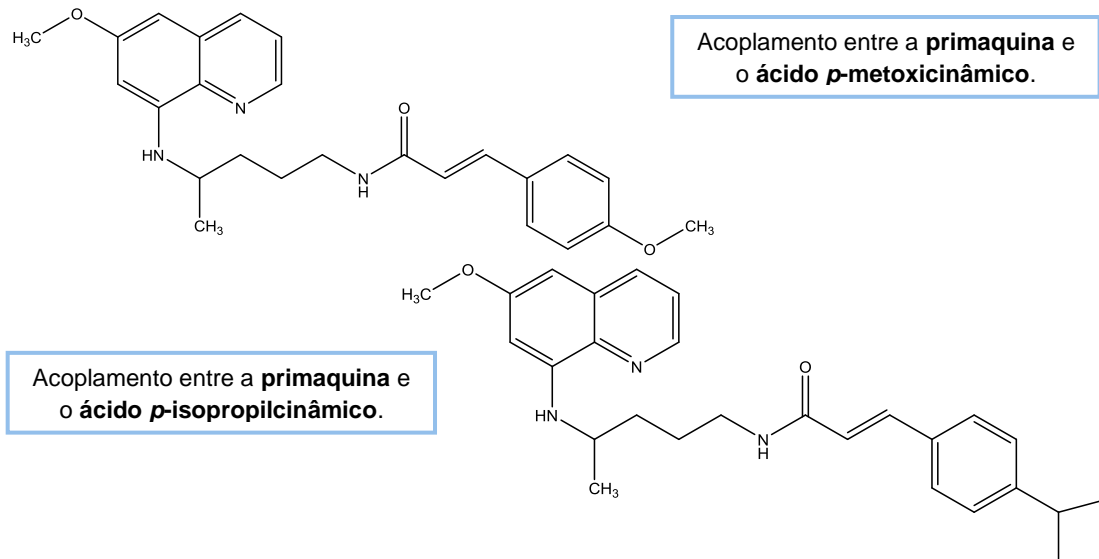
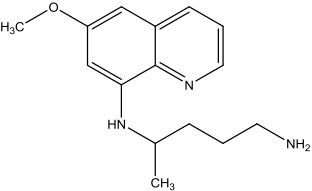
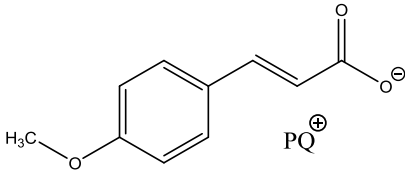
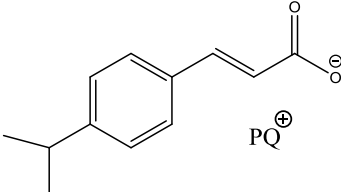
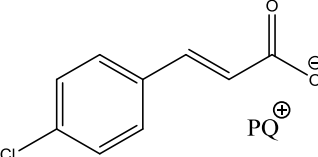
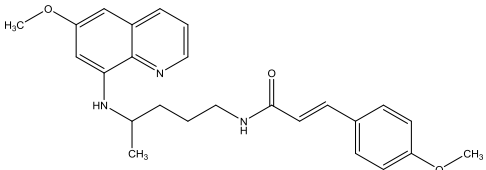
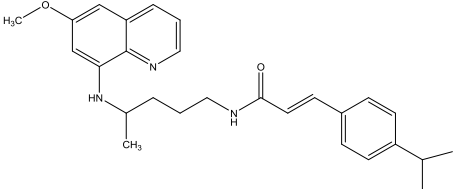


Figura 30 – Primacinas, compostos derivados da primaquina acoplados com ácidos cinâmicos, utilizados para comparação, por análise biológica, com os líquidos iônicos sintetizados respetivos.

Para esta análise biológica, os compostos analisados foram testados contra a fase dos gametócitos do parasita humano, o *P. falciparum*. Os resultados obtidos podem ser visualizados através da Tabela 5.

Tabela 5 - Dados *in vitro* da atividade antimalárica contra a fase dos gametócitos no *P. falciparum* a partir de uma linhagem transgênica 3D7.

Compostos	Estrutura	Gametócitos transgênicos da estirpe 3D7 IC ₅₀ (μM)
Primaquina [PQ]		19,7 ± 4,8
[PQ][ACI4]		<u>18,4 ± 2,9</u>
[PQ][ACI5]		10,1 ± 2,5
[PQ][ACI6]		>20,0
BPI-115 [a]		16,5 ± 4,4
BPI-112 [a]		>20,0

[a] Primacinas referidas na Figura 30.

A Figura 31 apresenta os resultados em forma de gráfico de barras.

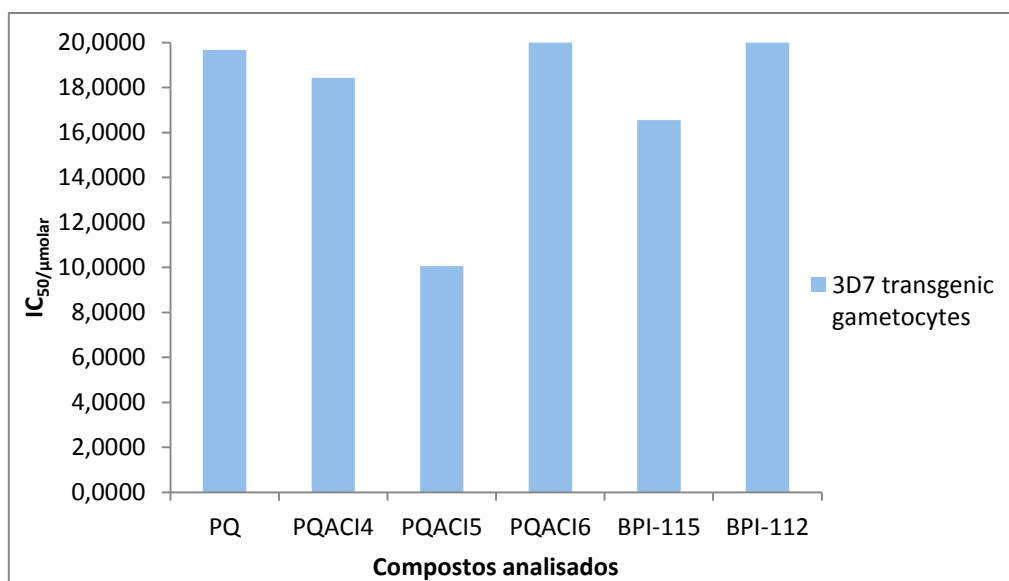


Figura 31 - IC₅₀ dos compostos analisados contra a fase dos gametócitos no *P. falciparum* 3D7

P. falciparum a partir de uma linhagem transgênica 3D7.

Pela análise da Tabela 5 e da Figura 31 concluímos que os resultados obtidos mostram que, no geral, os nossos compostos têm melhor atividade biológica que o resultado da primaquina e que pelo menos um dos sais orgânicos sintetizados neste projeto conseguiu baixar significativamente a sua atividade gametocida, quando comparado com a primaquina. Dos três líquidos iônicos derivados da primaquina, que foram analisados para esta fase da infecção, o **[PQ][ACI5]** (IC_{50} (3D7) = 10,1 µM ± 2,5) foi o que obteve o resultado mais baixo relativamente ao fármaco (IC_{50} (3D7) = 19,7 µM ± 4,8). Em contrapartida, o **[PQ][ACI6]** foi o composto que obteve menor atividade de inibição do que a primaquina livre, com um IC_{50} superior a 20,0 µM.

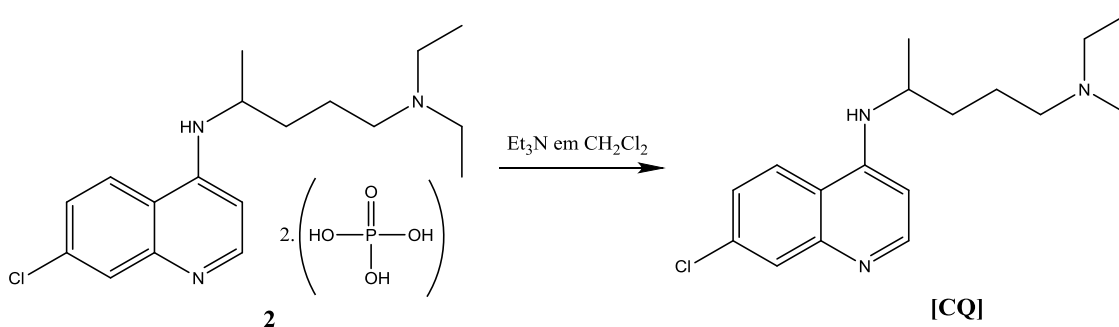
Com base na Tabela 5, conseguimos observar as diferenças entre os valores de IC_{50} , para a fase gametocida, de dois dos líquidos iônicos sintetizados derivados da primaquina e de duas primacinas correspondentes. Por intermédio destes valores, pretendemos estabelecer uma comparação entre os nossos compostos com uma ligação iónica e as primacinas com uma ligação amida, de modo a concluir qual destas ligações beneficia a atividade biológica.

A partir dos compostos de partida utilizados comparámos o resultado do **[PQ][ACI4]** com o resultado do **BPI-115** e o resultado do **[PQ][ACI5]** com o resultado do **BPI-112**. Assim sendo, podemos concluir que apenas o **[PQ][ACI5]** (IC_{50} (3D7) = 10,1 µM ± 2,5) demonstrou ter uma melhor atividade biológica que o **BPI-112** (IC_{50} (3D7) = >20,0 µM), mostrando que uma ligação iónica entre o ácido *p*-

isopropilcinâmico e a primaquina beneficia a atividade do composto. No entanto, o mesmo não se pode concluir do IC_{50} obtido para o composto **[PQ][ACI4]** (IC_{50} (3D7) = $18,4 \mu\text{M} \pm 2,9$), que revelou um valor inferior de atividade biológica, quando comparado com o valor para o composto com uma ligação amida entre a primaquina e o ácido *p*-metoxicinâmico, o **BPI-115** (IC_{50} (3D7) = $16,5 \mu\text{M} \pm 4,4$).

4.3. Síntese dos ILs derivados da cloroquina (B)

4.3.1. Remoção do grupo fosfato do difosfato de CQ

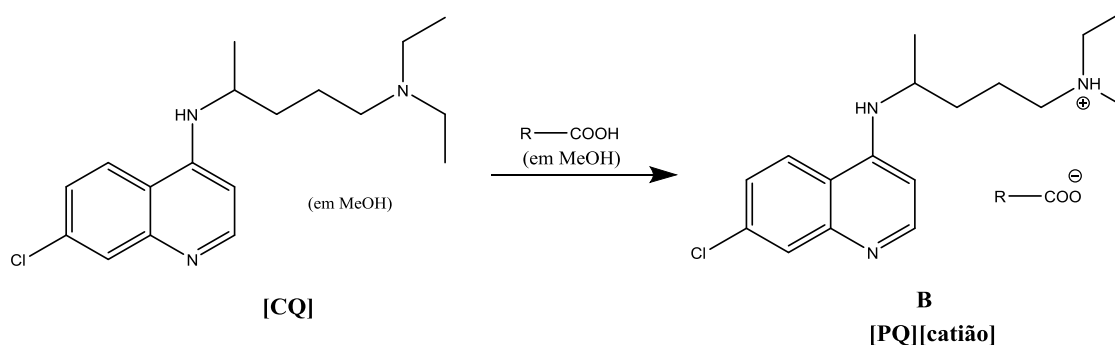


Esquema 24 – Representação esquemática da remoção do bisfosfato do sal.

Tal como aconteceu para a primaquina, primeiro tivemos que remover o grupo fosfato da cloroquina.

O produto obtido apresentou-se na forma de um óleo e os dados de Ressonância Magnética Nuclear de protão (RMN ¹H) estavam de acordo com o esperado. O rendimento obtido foi de 97,4%. Assim como na remoção anterior, a estrutura química do produto obtido foi confirmada através da análise por RMN ¹H. Os dados espectroscópicos estão descritos na Parte Experimental desta dissertação.

4.3.2. Preparação dos líquidos iônicos



Esquema 25 – Representação geral da síntese de líquidos iónicos derivados da cloroquina.

Tal como esperado as reações decorreram sem problemas. Foi possível obter ILs da cloroquina utilizando o método desenvolvido para a primaquina.

Para a síntese destes líquidos iónicos, a base utilizada foi sempre a cloroquina. Neste caso optou-se por escolher 4 dos 10 ácidos carboxílicos utilizados: o ácido tartárico, o ácido oleico, o ácido *p*-isopropilcinâmico e o ácido *p*-clorocinâmico. Os ILs da primaquina com estes ácidos tiveram o valor mais baixo de IC₅₀ na fase sanguínea.

A Tabela 6 apresenta os rendimentos obtidos para cada uma das sínteses efetuadas.

Tabela 6 – Dados das sínteses dos compostos finais, ILs derivados da CQ.

Compostos finais	MM (g/mol)	Massa obtida (g)	Rendimento (%)
CQAT	469,96	0,0734	98,3
CQAO	602,34	0,0898	95,2
CQACI5	510,11	0,0811	98,8
CQACI6	502,48	0,0739	92,6

A confirmação da obtenção dos produtos finais foi obtida por espectroscopia de RMN (¹H e ¹³C) e espectrometria de massa (ESI-IT MS). A análise espectral foi feita de maneira semelhante à dos compostos derivados da primaquina.

5. Conclusão e Perspetivas Futuras

Conclusão e Perspetivas Futuras

Este trabalho pretendia desenvolver um método que possibilitasse a síntese de líquidos iónicos baseados nos antimaláricos primaquina e cloroquina.

O método mostrou ser eficaz, tendo sido produzidos catorze líquidos iónicos, apresentando valores de rendimento acima dos 90%, para a grande maioria deles. Sendo assim, pode-se afirmar que o método de neutralização foi a metodologia mais indicada para estas sínteses, não havendo nenhuma complicação durante a sua execução e favorecendo os resultados desejados.

Dos catorze compostos sintetizados, apenas o 2-acetilsalicilato de 4-((6-metoxiquinolin-8-ilo)amino)pentan-1-amínio ([PQ][AA]) era instável, como já tinha sido referido por Bica *et. al.*²⁴.

Alguns dos líquidos iónicos derivados da primaquina foram avaliados *in vitro* para as suas atividades de inibição contra as formas do *P. falciparum*, para a estirpe 3D7 e para a estirpe Dd2, em duas fases da infeção: sanguínea e gametocida. Todas as análises biológicas revelaram resultados interessantes. Para a fase sanguínea, em comparação com as atividades de inibição da primaquina, os compostos sintetizados com melhores atividades para ambas as estirpes foram o [PQ][AT], o [PQ][AO] e o [PQ][ACI6]. Além disso, apesar do composto [PQ][ACI5] ter um valor de IC₅₀ mais elevado para a estirpe 3D7, este obteve um dos melhores valores contra a Dd2, estirpe resistente à cloroquina. Relativamente aos resultados obtidos para a fase dos gametócitos, o composto que registou menor valor de IC₅₀ foi o [PQ][ACI5], apesar do resultado para o [PQ][ACI4] também não ser desfavorável. Assim sendo, no geral alguns líquidos iónicos sintetizados nesta dissertação, têm uma atividade mais elevada do que a própria primaquina.

No que concerne à comparação entre os resultados para a atividade biológica na fase gametocida para dois líquidos iónicos sintetizados e duas primacinas, ambas com os ácidos *p*-isopropilcinâmico e *p*-metoxicinâmico como compostos de partida, podemos concluir que apenas o composto [PQ][ACI5] mostrou ter melhor atividade biológica do que o composto BPI-112. Portanto, não é possível concluir que no geral uma ligação iónica da primaquina com o ácido cinâmico ou um dos seus derivados mostra melhor atividade, que uma ligação amida entre estes dois compostos.

Para finalizar, quanto à conclusão do trabalho, podemos concluir que os objetivos principais do projeto proposto para esta dissertação foram alcançados de uma forma eficaz na obtenção dos líquidos iónicos pretendidos, não só em termos da sua qualidade, mas também em termos da sua rentabilidade.

Relativamente às perspetivas futuras, inicialmente pretende-se analisar os resultados que futuramente vamos receber para a caracterização de alguns líquidos iónicos derivados da primaquina numa terceira fase da infecção do parasita humano, a fase hepática. Estas análises serão feitas por colaboradores externos. Além disso, a evolução deste projeto também visa estudar as análises físico-químicas, para alguns líquidos iónicos derivados da primaquina, que já foram iniciadas por colaboradores da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Estas últimas análises englobam o estudo do efeito destes líquidos iónicos nas membranas de modelo lipídico.

Em relação aos líquidos iónicos derivados da cloroquina, também se pretende efetuar um estudo da caracterização biológica destes compostos, para as diferentes fases da infecção do parasita. Ainda relativamente a estes derivados, tenciona-se fazer um estudo comparativo entre os compostos sintetizados e os mesmos compostos com ligações amidas.

Referências Bibliográficas

- [1] R. Ferraz, L. C. Branco, C. Prudêncio, J. P. Noronha and Ž. Petrovski, *Chem. Med. Chem.*, 2011, **6**, 975-985.
- [2] R. Ferraz, L. C. Branco, I. M. Marrucho, J. M. M. Araujo, L. P. N. Rebelo, M. N. da Ponte, C. Prudêncio, J. P. Noronha and Ž. Petrovski, *Medchemcomm*, 2012, **3**, 494-497.
- [3] K. R. Seddon, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 1997, **68**, 351-356.
- [4] R. Ratti, *Advances in Chemistry*, 2014, **2014**, 1-16.
- [5] M. J. Earle and K. R. Seddon, *Pure and Applied Chemistry*, 2000, **72**, 1391-1398.
- [6] T. Torimoto, T. Tsuda, K. Okazaki and S. Kuwabata, *Adv. Mater.*, 2010, **22**, 1196-1221.
- [7] C. P. Frizzo, I. M. Gindri, A. Z. Tier, L. Buriol, D. N. Moreira and M. A. P. Martins, *Pharmaceutical Salts: Solids to Liquids by Using Ionic Liquid Design*, 2013.
- [8] D. R. MacFarlane and K. R. Seddon, *Aust. J. Chem.*, **2007**, 60, 3-5.
- [9] C. Yue, D. Fang, L. Liu and T.-F. Yi, *Journal of Molecular Liquids*, 2011, **163**, 99-121.
- [10] M. Pucheault and M. Vaultier, *Topics in current chemistry*, 2010, **290**, 83-126.
- [11] L. C. Branco, G. V. S. M. Carrera, J. Aires-de-Sousa, I. L. Martin, R. Frade and C. A. M. Afonso, in *Ionic Liquids: Theory, Properties, New Approaches*, ed. P. A. Kokorin, InTech, 2011, ch. Chapter 3.
- [12] S. Sowmiah, V. Srinivasadesikan, M. C. Tseug and Y. H. Chu, *Molecules*, 2009, **14**, 3780-3813.
- [13] J. S. Wilkes, *Green Chemistry*, 2002, **4**, 73-80.
- [14] A. Berthod and S. Carda-Broch, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2003, **26**, 1493-1508.

- [15] P. Wasserscheid and W. Keim, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2000, **39**, 3772-3789.
- [16] J. S. Wilkes and M. J. Zaworotko, *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications*, 1992, 965-967.
- [17] A. Costa, A. Forte, K. Zalewska, G. Tiago, Ž Petrovski and L. C. Branco, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 2015, **8**, 8-12.
- [18] R. D. Rogers and G. A. Voth, *Accounts of Chemical Research*, 2007, **40**, 1077-1078.
- [19] H. Mizuuchi, V. Jaitely, S. Murdan and A. T. Florence, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, **33**, 326-331.
- [20] C. Florindo, A. Costa, C. Matos, S. L. Nunes, A. N. Matias, C. M. Duarte, L. P. Rebelo, L. C. Branco and I. M. Marrucho, *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, **469**, 179-189.
- [21] I. M. Marrucho, L. C. Branco and L. P. N. Rebelo, *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, Vol 5*, 2014, **5**, 527-546.
- [22] W. L. Hough, M. Smiglak, H. Rodriguez, R. P. Swatloski, S. K. Spear, D. T. Daly, J. Pernak, J. E. Grisel, R. D. Carliss, M. D. Soutullo, J. H. Davis and R. D. Rogers, *New Journal of Chemistry*, 2007, **31**, 1429-1436.
- [23] P. H. Stahl and C. G. Wermuth, *Handbook of Pharmaceutical Salts Properties, Selection, and Use*, Wiley, 2008.
- [24] K. Bica, C. Rijksen, M. Nieuwenhuysena and R. D. Rogers, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2010, **12**, 2011–2017.
- [25] J. Stoimenovski, D. R. MacFarlane, K. Bica and R. D. Rogers, *Pharmaceutical Research*, 2010, **27**, 521-526.
- [26] Bauer, J. F., *Journal of Validation Technology*, **2008**, 15-23.
- [27] J. N. Pendleton and B. F. Gilmore, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2015, **46**, 131-139.
- [28] B. F. Gilmore, in *Ionic Liquids: Applications and Perspectives*, ed. A. Kokorin, InTech, 2011, ch. Chapter 26.

- [29] N. Iwai, K. Nakayama and T. Kitazume, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2011, **21**, 1728-1730.
- [30] E. P. Camargo, *Ciência e Cultura*, 2003, **55**, 26-29.
- [31] S. Paracer and V. Ahmadjian, *Symbiosis: an introduction to biological associations*, Oxford University Press Oxford, 2000.
- [32] M. Prudencio, A. Rodriguez and M. M. Mota, *Nature Reviews Microbiology*, 2006, **4**, 849-856.
- [33] <http://www.who.int/ith/diseases/malaria/en/> [WHO, aceso a 08/08/15].
- [34] N. J. White., Editorial Comment, *CID*, 2008;46 (15 January), 172-175.
- [35] Hughes, C. K., Janes, S., Communicable and infectious disease. In: Fan, H. Y., Conner, R. F., Villareal, L. P., *AIDS: Science and Society*, 3rd edition, Jones & Bartlett Learning, LLC, 2014.
- [36] E. Hsu, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2006, **61**, 666-670.
- [37] J. Achan, A. Talisuna, A. Erhart, A. Yeka, J. Tibenderana, F. Baliraine, P. Rosenthal and U. D'Alessandro, *Malaria Journal*, 2011, **10**, 144.
- [38] WHO. *Global Technical Strategy for Malaria*. [Online] 2015. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241564991/en/> [Aceso a 09/08/15].
- [39] J. L. Gallup and J. D. Sachs, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2001, **64**, 85-96.
- [40] J. A. Patz and S. H. Olson, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, **103**, 5635-5636.
- [41] <http://www.cdc.gov/malaria/about/distribution.html> [CDC, aceso a 13/08/15].
- [42] J. Schantz-Dunn and N. M. Nour, *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, 2009, **2**, 186-192.
- [43] http://www.who.int/features/factfiles/malaria/malaria_facts/en/index1.html [WHO, aceso a 13/08/15].
- [44] WHO, World Malaria Report 2014, Geneva, Switzerland: World Health Organization.

- [45] The Pharmaceutical Journal. Malaria eradication: blocking transmission to mosquitoes. [Online] 2015. Disponível em: <http://www.pharmaceutical-journal.com/news-and-analysis/features/malaria-eradication-blocking-transmission-to-mosquitoes/20067483.article> [Acedido a 14/08/15].
- [46] B. C. Pérez, C. Teixeira, I. S. Albuquerque, J. Gut, P. J. Rosenthal, J. R. B. Gomes, M. Prudêncio and P. Gomes, *J. Med. Chem.*, 2013, **56**, 556-567.
- [47] S. Manguin, P. Carnevale and J. Mouchet, *Biodiversity of Malaria in the world*, John Libbey Eurotext, 2008.
- [48] A. M. Vaughan, S. A. Mikolajczak, E. M. Wilson, M. Grompe, A. Kaushansky, N. Camargo, J. Bial, A. Ploss and S. H. I. Kappe, *The Journal of Clinical Investigation*, 2012, **122**, 3618-3628.
- [49] T. Rodrigues, M. Prudêncio, R. Moreira, M. M. Mota and F. Lopes, *J. Med. Chem.*, 2012, **55**, 995-1012.
- [50] F. E. G., Cox, *Parasites & Vectors*, 2010, **3**, 1-9.
- [51] A. W. Taylor-Robinson, *International Journal of Immunology*, 2014, **2**, 31-39.
- [52] F. C. Fang, *Nitric Oxide and Infection*, Springer US, 2007.
- [53] K. Haldara and N. Mohandas, *Current Opinion in Hematology*, 2007, **14**, 203-209
- [54] B. Pérez, C. Teixeira, J. Gut, P. J. Rosenthal, J. R. B. Gomes and P. Gomes, *Chem. Med. Chem.*, 2012, **7**, 1537-1540.
- [55] C. Teixeira, J. R. B. Gomes and P. Gomes, *Curr. Med. Chem.*, 2011, **18**, 1555-1572.
- [56] B. Pérez, C. Teixeira, I. S. Albuquerque, J. Gut, P. J. Rosenthal, M. Prudencio and P. Gomes, *Med. Chem. Commun.*, 2012, **3**, 1170-1172.
- [57] T. N. C. Wells, J. N. Burrows and J. K. Baird, *Trends in Parasitology*, 2010, **26**, 145-151.
- [58] N. J. White, *The Journal of Clinical Investigation*, 2004, **113**, 1084-1092.
- [59] T. Rodrigues, R. Moreira and F. Lopes, *Future Medical Chemistry*, 2011, **3**, 1-3.

- [60] WHO, *Global plan for artemisinin resistance containment (GPARC)*. [Online] 2011. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241500838/en/> [Acedido a 21/08/15].
- [61] Y. Lubell, A. Dondorp, P. J. Guérin, T. Drake, S. Meek, E. Ashley, N. P. J. Day, N. J. White and L. J. White, *Malaria Journal*, 2014, **13**, 452.
- [62] N. Vale, R. Moreira and P. Gomes, *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, **44**, 937-53.
- [63] W. Peters and W. H. G. Richards, *Antimalarial Drug II: Current Antimalarial and New Drug Developments*, Springer Science & Business Media, 2012.
- [64] A. L. Peters and C. J. F. Van Noorden, *J. Histochem. Cytochem.*, 2009, **57**(11), 1003-1011
- [65] WHO. *Policy brief on single-dose primaquine as a gametocytocide in Plasmodium falciparum malaria*. [Online] 2015. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/publications/atoz/policy-brief-single-dose-primaquine-pf/en/> [Acedido a 21/08/15].
- [66] D. Fernando, C. Robrigo and S. Rajapakse, *Malaria Journal*, 2011, **10**, 351.
- [67] J. F. Snell, J. W. Corcoran, K. L. Arora and F. E. Hahn, *Mechanism of Action of Antimicrobial and Antitumor Agents*, Springer Berlin Heidelberg, 2012.
- [68] P. O'Neill, V. Barton, S. Ward and J. Chadwick, in *Treatment and Prevention of Malaria*, eds. H. M. Staines and S. Krishna, Springer Basel, 2012, ch. 2, pp. 19-44.
- [69] E. Schwartz, *Tropical Diseases in Travelers*, Wiley, 2009.
- [70] T. E. Wellems and C. V. Plowe, *The Journal of Infectious Diseases*, 2001, **184**, 170-176.
- [71] D. Payne, *Parasitol Today*, 1987, **3**, 241-246.
- [72] J. Papakrivos, J. Sá and T. E. Wellems, *PloS one*, 2012, **7**, e39569.
- [73] C. Setthaudom, P. Tan-ariya, N. Sitthichot, R. Khositnithikul, N. Suwandittakul, S. Leelayoova and M. Mungthin, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2012, **85**, 606-61.
- [74] PATH. *Malaria vaccine candidate reduces disease over 18 months of follow-up in late-stage study of more than 15,000 infants and young children*. [Online] 2013. Disponível em: <http://www.path.org/news/press-room/651/> [Acedido a 09/08/15].

- [75] GSK. *GSK's malaria candidate vaccine, Mosquirix™ (RTS,S), receives positive opinion from European regulators for the prevention of malaria in young children in sub-Saharan Africa*. [Online] 2015. Disponível em: <http://ie.gsk.com/ie/media/press-releases/2015/gsk-s-malaria-candidate-vaccine-mosquirixtm-rtss-receives-positive-opinion-from-european-regulators-for-the-prevention-of-malaria-in-young-children-in-sub-saharan-africa/> [Acedido a 12/08/15].
- [76] The Global Fund. *New Malaria Vaccine: Potential to Save Lives*. [Online] 2015. Disponível em: http://www.theglobalfund.org/en/blog/2015-07-24_New_Malaria_Vaccine_Potential_to_Save_Lives/ [Acedido a 12/08/15].
- [77] A. V. S. Hill, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2011, **366**, 2806-2814.
- [78] C. M. Gordon, M. J. Muldoon, M. Wagner, C. Hilgers, J. H. Davis and P. Wasserscheid, in *Ionic Liquids in Synthesis*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008, pp. 7-55.
- [79] R. Ferraz, C. Prudêncio, M. Vieira, R. Fernandes, J. P. Noronha and Ž. Petrovski, *Organic Chem. Curr. Res.*, 2015, **4**, 1.
- [80] J. Kärkkäinen, *Preparation and Characterization of Some Ionic Liquids and Their Use in the Dimerization Reaction of 2-methylpropene*, University of Oulu, 2007.
- [81] J. M. Earle and R. K. Seddon, *United States Pat.*, 6939974, 2005.
- [82] H. Srour, H. Rouault, C. C. Santini and Y. Chauvin, *Green Chemistry*, 2013, **15**, 1341-1347.
- [83] B. Kirchner and B. Clare, *Ionic Liquids*, Springer, 2009.
- [84] E. Alcalde, I. Dinarès, A. Ibanez and N. Mesquida, *Chemical Communications*, 2011, **47**, 3266-3268.
- [85] H. Ohno and M. Yoshizawa, *Solid State Ionics*, 2002, **154**, 303-309.
- [86] I. Dinarès, C. G. de Miguel, A. Ibáñez, N. Mesquita and E. Alcalde, *Green Chemistry*, 2009, **11**, 1507-1510.
- [87] K. Fukumoto, M. Yoshizawa and H. Ohno, *Journal of the American Chemical Society*, 2005, **127**, 2398-2399.
- [88] M. Delves, D. Plouffe, C. Scheurer, S. Meister, S. Wittlin, E. A. Winzeler, R. E. Sinden and D. Leroy, *PLoS Med*, 2012, **9**, e1001169.

- [89] M. Lodige, M. D. Lewis, E. S. Paulsen, H. L. Esch, G. Pradel, L. Lehmann, R. Brun, G. Bringmann, and A. K. Mueller, *Internacional Journal of Medical Microbiology*, **303**, 2013, 539-547.