

Universidade Presbiteriana Mackenzie

Escola de Engenharia

Relatório Final

ESTUDO DAS PROPRIEDADES DE COMPOSTOS DE INCLUSÃO
FORMADOS POR β -CICLODEXTRINA E COMPLEXOS DE CRÔMIO(III) COM
QUERCETINA

Profa Dra Anamaria Dias Pereira Alexiou

Pesquisador-líder

Prof. Dr. Marcelo José Pena Ferreira

Profa. Dra Miriam Oliveira Ribeiro

Profa. Dra. Paulete Romoff

Pesquisadores-colaboradores

Agosto de 2012

SUMÁRIO

Resumo do projeto	4
1. <u>Introdução</u>	5
1.1. Crômio	5
1.2. Flavonóides	6
1.3. Ciclodextrinas	7
1.4. Objetivos	8
2. <u>Parte Experimental</u>	8
2.1. Reagentes, solventes, materiais e equipamentos utilizados	8
2.2. Síntese dos complexos	9
2.2.1. Síntese do cluster trigonal de acetato de crômio (III) - $[\text{Cr}_3\text{OAc}_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Cl}$	9
2.2.2. Síntese e purificação do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2].4\text{H}_2\text{O}$	10
2.2.3. Síntese e purificação do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})].4\text{H}_2\text{O}$	11
2.2.4. Síntese do cluster $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{Q})(\text{H}_2\text{O})_2].\text{H}_2\text{O}$	12
2.3. Síntese dos compostos de inclusão	12
2.3.1. Medidas de solubilidade da fase	12
2.3.2. Método da co-precipitação	13
2.3.3. Método da liofilização (“Freeze-drying method”)	13
2.3.4. Método da trituração (“kneading”)	13
2.4. Síndrome metabólica	14
3. <u>Resultados e Discussão</u>	15
3.1. Caracterização dos complexos de crômio(III)	15
3.1.1. Análise Elementar e Medida de Condutividade Elétrica	15
3.1.2. Espectrometria de Massas	16

3.1.3. Espectroscopia Eletrônica	18
3.1.4. Análise térmica	21
3.1.5. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	23
3.1.6. Espectroscopia vibracional	24
3.1.7. Estereoisomeria do complexos formados – Cálculos teóricos	27
3.2. Caracterização dos compostos de inclusão	28
3.2.1. Medidas de solubilidade de fases	28
3.2.2. Método da co-precipitação	31
2.3.4. Método da trituração (“kneading”)	32
3.3. Síndrome metabólica	32
3.3.1. Resultados	32
3.3.2. Discussão	38
4. <u>Conclusão</u>	39
5. <u>Formação de recursos humanos</u>	40
5.1 Alunos de Iniciação Científica	40
6. <u>Produção bibliográfica referente ao projeto de pesquisa</u>	40
6.1 Comunicações em Congressos Científicos	40
Referências bibliográficas	41

Resumo do projeto

A química do crômio é marcada por controvérsias. Esse elemento existe em vários estados de oxidação, sendo que somente o Cr(III) e o Cr(VI) são suficientemente estáveis para ocorrer no ambiente. Mas, enquanto o Cr(VI) é considerado tóxico, carcinogênico e mutagênico, Cr(III) é tratado como um elemento essencial, envolvido no metabolismo de açúcares e gorduras. Trabalhos mais recentes, contudo, tem contestado a essencialidade do crômio (III), visto que a quantidade necessária na dieta humana é de 30µg/dia e assim dificilmente uma pessoa teria deficiência de crômio. No entanto, em doses farmacológicas ele pode ser benéfico, visto que estudos com animais e pacientes mostraram que o crômio em doses farmacológicas reduz os níveis de insulina, glicemia e colesterol no plasma sanguíneo, podendo apresentar potencial terapêutico na melhora dos sintomas da síndrome metabólica. Visando contribuir para o desenvolvimento de novos suplementos alimentares e de fármacos, nosso grupo tem investigado a química dos complexos de crômio ligados a flavonóides. Flavonóides são compostos polifenólicos, que possuem um sistema de três anéis hexagonais incluindo dois aromáticos ligados através de três carbonos que normalmente formam um anel heterocíclico oxigenado. Esses compostos são encontrados em plantas, alimentos e bebidas e apresentam atividade antioxidante, antitumoral e antibacteriana. Contudo, uma limitação na aplicação desses compostos em meio biológico é a baixa solubilidade dos complexos em água. Uma das maneiras utilizadas pela indústria farmacêutica para solubilizar, estabilizar e biodisponibilizar drogas consiste no encapsulamento dessas substâncias com ciclodextrinas. Ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos compostos de unidades glucopiranoase que podem ser representadas como uma estrutura de cone truncado com uma cavidade hidrofóbica e faces externas hidrofílicas. A mais extraordinária característica da ciclodextrina é sua habilidade em formar compostos de inclusão com uma grande variedade de compostos, isto é “aprisionando” moléculas (hóspedes) em sua cavidade (hospedeiro). Geralmente, moléculas hidrofóbicas ou que possuem algum resíduo hidrofóbico, presentes em solução aquosa, tem uma afinidade mais alta com a cavidade da CD. Interações não covalentes, tais como forças de van der Waals, são responsáveis pela formação de complexos estáveis. Assim, com vistas a explorar suas propriedades biológicas, neste trabalho foram sintetizados e caracterizados compostos de inclusão formados por β-ciclodextrina e complexos de crômio com quercetina. Além disso, foram testados os efeitos biológicos deste composto em um modelo animal de síndrome metabólica que consiste em hiperglicemia, obesidade, resistência à insulina e altos níveis plasmáticos de colesterol e triglicérides.

1. Introdução

1.1. Crômio

A química do crômio é marcada por controvérsias. Esse elemento existe em vários estados de oxidação, sendo que somente o Cr(III) e o Cr(VI) são suficientemente estáveis para ocorrer no ambiente (MATOS *et al.*, 2008). Mas, enquanto o Cr(VI) é considerado tóxico, carcinogênico e mutagênico, Cr(III) é tratado como um elemento essencial, envolvido no metabolismo de açúcares e gorduras. Além disso, na forma de picolinato de crômio (III) ([Cr(pic)₃]) é vendido como suplemento nutricional, desde a década de 1980, como uma forma de melhorar o metabolismo da glicose, reduzindo gorduras e aumentando a quantidade de músculos.

Trabalhos mais recentes, contudo, tem contestado a essencialidade do crômio (III), visto que a quantidade necessária na dieta humana é de 30µg/dia e assim dificilmente uma pessoa teria deficiência de crômio. No entanto, em doses farmacológicas ele pode ser benéfico, visto que estudos com animais e pacientes mostraram que o crômio em doses farmacológicas reduz os níveis de insulina, glicemia e colesterol no plasma sanguíneo, podendo apresentar potencial terapêutico na melhora dos sintomas da síndrome metabólica (VICENT, 2010).

O picolinato de crômio (III), [Cr(pic)₃], que normalmente é utilizado nas investigações das propriedades biológicas do crômio, em alta concentração é genotóxico e mutagênico, e assim novos compostos de crômio têm sido propostos. Esses incluem o propionato de crômio(III) trinuclear ([Cr₃O(OCOEt)₆(OH₂)₃]⁺), o qual reduz os níveis de colesterol e triglicérides no sangue de ratos saudáveis e diabéticos do tipo II, e tem sido proposto como um composto mimético funcional e estrutural da cromodulina, um peptídeo que contém Cr(III) (NGUYEN *et al.*, 2008).

O propionato de crômio (III) pertence a uma classe de compostos, denominados de clusters, que apresentam uma fórmula geral [M₃O(RCO₂)₆(L)₃]⁺, onde M é normalmente um metal de transição. Estes compostos apresentam uma estrutura a qual é mantida por uma ponte µ₃-oxo e seis carboxilatos em ponte (Figura 1). Completam a esfera de coordenação do metal, os ligantes L que podem ser moléculas do solvente, tais como metanol ou água, ou ligantes heterocíclicos (CANNON *et al.*, 1988; TOMA *et al.*, 2001).

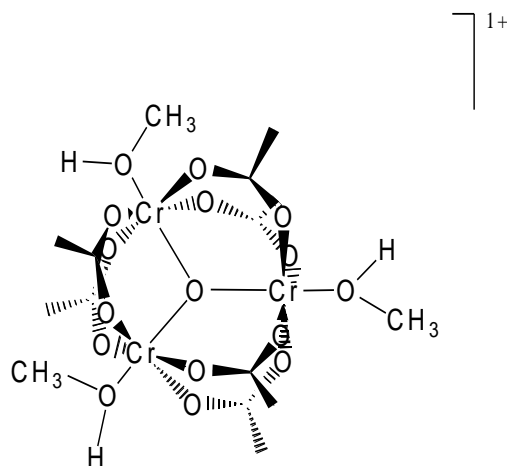


Figura 1: Representação estrutural do cluster $[Cr_3O(CH_3CO_2)_6(MeOH)_3]^+$.

Visando contribuir para o desenvolvimento de novos suplementos alimentares e de fármacos, nosso grupo tem investigado a química dos complexos de cromo ligados a flavonóides (PENACHIO *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2009, DECANDIO *et al.*, 2010; ALMEIDA *et al.*, 2010).

1.2. Flavonóides

Flavonóides são compostos polifenólicos, que possuem um sistema de três anéis hexagonais incluindo dois aromáticos ligados através de três carbonos que normalmente formam um anel heterocíclico oxigenado (figura 2). Esses compostos são encontrados em plantas, alimentos e bebidas e apresentam atividade antioxidante, antitumoral e antibacteriana (JULIAN *et al.*, 2007)

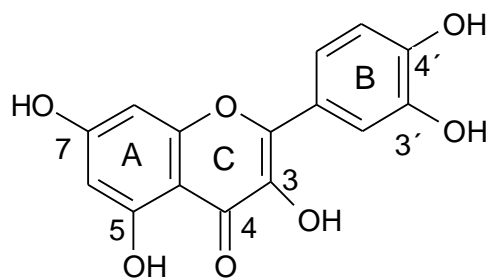


Figura 2: Representação esquemática da estrutura do flavonóide quercetina.

A quercetina, um dos flavonóides mais estudados, forma complexos com vários metais (MALEŠEV *et al.*, 2007). Trabalhos recentes tem demonstrado que a atividade antioxidante do polifenol é aumentada com a coordenação a metais (SOUZA *et al.*,

2004; CHEN *et al.*, 2009). Assim, ao coordenar metais com flavonóides, espera-se que haja um efeito sinérgico que acentue as propriedades biológicas de ambas as espécies.

Contudo, uma limitação na aplicação desses compostos em meio biológico é a baixa solubilidade dos complexos em água. Uma das maneiras utilizadas pela indústria farmacêutica para solubilizar, estabilizar e biodisponibilizar drogas consiste no encapsulamento dessas substâncias com ciclodextrinas (CUNHA-FILHO *et al.*, 2007).

1.3. Ciclodextrinas

Ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos compostos de unidades glucopiranosose que podem ser representadas como uma estrutura de cone truncado com uma cavidade hidrofóbica e faces externas hidrofílicas (figura 3). A mais extraordinária característica da ciclodextrina é sua habilidade em formar compostos de inclusão com uma grande variedade de compostos, isto é “aprisionando” moléculas (hóspedes) em sua cavidade (hospedeiro). Geralmente, moléculas hidrofóbicas ou que possuem algum resíduo hidrofóbico, presentes em solução aquosa, tem uma afinidade mais alta com a cavidade da CD (JULIAN *et al.*, 2007). Interações não covalentes, tais como forças de van der Waals, são responsáveis pela formação de complexos estáveis. (DEL VALLE, 2004)

De Giovanni e colaboradores (DIAS *et al.*, 2008) sintetizaram e caracterizaram compostos de inclusão de β -ciclodextrina com complexos de alumínio e quercetina tanto na fase líquida como sólida. Os estudos mostraram que o aumento da solubilidade dos complexos se deve a formação de compostos de inclusão na proporção de 1:1.

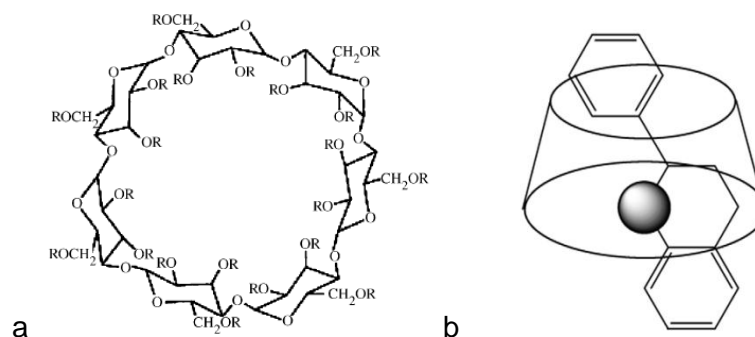


Figura 3. Representação esquemática da estrutura da a) β -ciclodextrina, onde R = H e b) de um flavonóide em seu interior (JULIAN *et al.*, 2007; CHOI, *et al.*, 2005).

1.4. Objetivos

Como mencionado acima, tanto o cromo como a quercetina tem um papel muito importante em diversos processos metabólicos. Além disso, a coordenação do cromo à quercetina aumenta sua atividade antirradicalar (CHEN *et al.*, 2009). Assim, com vistas a explorar suas propriedades biológicas, neste trabalho foram sintetizados e caracterizados compostos de inclusão formados por β -ciclodextrina e complexos de cromo com quercetina. Além disso, foram testados os efeitos biológicos deste composto em um modelo animal de síndrome metabólica que consiste em hiperglicemia, obesidade, resistência à insulina e altos níveis plasmáticos de colesterol e triglicérides.

A estratégia proposta consistiu em:

1. sintetizar e caracterizar complexos formados por quercetina e duas formas diferentes de cromo(III): o sal $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e o cluster de cromo $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{MeOH})_3]^+$ e
2. sintetizar e caracterizar compostos de inclusão formados entre os complexos do item 1 e duas formas diferentes de hospedeiro: a β -ciclodextrina e a hidroxipropil β -ciclodextrina.
3. avaliar se a forma solúvel desses complexos pode apresentar efeitos sobre a síndrome metabólica em camundongos.

2. Parte Experimental

2.1. Reagentes, solventes, materiais e equipamentos utilizados

Os reagentes quercetina diidratada, β -ciclodextrina e hidroxipropil β -ciclodextrina foram adquiridos da Aldrich, o cloreto de cromo ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) da VETEC, acetato de sódio triidratado (NaAc) e hidróxido de amônio da SYNTH. Os solventes acetato de etila (NEON), acetona (Lafan), acético glacial (Dinâmica), clorofórmio (SYNTH), diclorometano (NEON) dimetilsulfóxido (Neon), etanol (VETEC), éter dietílico (VETEC), metanol (VETEC), todos de grau analítico, foram utilizados sem purificação adicional. Nas análises de RMN foi usado dimetilsulfóxido deuterado da Tedia Brazil.

As medidas de análise elementar (%C e %H) dos complexos sintetizados foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da USP.

Para as análises por Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC) foram utilizadas placas comerciais de gel de sílica 60 F254 para cromatografia em

camada fina, sobre suporte de alumínio, da Merck. As revelações das placas em CCDC foram realizadas por visualização no ultravioleta (254 e 366nm).

Os espectros de massas foram obtidos em um espectrômetro com ionização por spray eletrostático (ESI) da Bruker Daltonics modelo Esquire 3000 Plus (Central Analítica do IQUSP) nas seguintes condições: capilar: 4000V, nebulizador 12 psi, fluxo de gás: 5,0L.min⁻¹, fluxo de injeção: 90μL.min⁻¹ e temperatura de 300°C.

As medidas de condutividade elétrica foram realizadas num condutivímetro da Digimed modelo DM-32 equipado com uma cela de condutividade (DMC-001M) com constante K=0,1 cm⁻¹, a partir de soluções 10⁻³ a 10⁻⁵ mol/L em dimetilsulfóxido ou metanol.

Na obtenção dos espectros eletrônicos utilizou-se um espectrofotômetro UV-Visível da Agilent modelo 8453. As medidas foram efetuadas na região de 190 a 1100 nm usando cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrômetro da Shimadzu modelo IRAffinity-1, no intervalo de 4000 a 400 cm⁻¹, a partir da amostra dispersa em pastilha de KBr.

Os dados de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono (RMN ¹³C) foram obtidos num espectrômetro da Bruker modelo DPX 300 (Central Analítica do IQUSP), a partir de soluções dos compostos em dimetilsulfóxido deuterado.

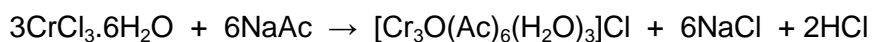
As curvas termogravimétricas foram obtidas num analisador termogravimétrico da TA Instruments, modelo Hi-Res TGA 2950 (Central Analítica - IQUSP), utilizando massa de amostra de 1 a 3 mg, cadinho de cerâmica, fluxo de nitrogênio de 50mL/min e uma taxa de aquecimento de 10°C/min. As medidas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram realizadas num DSC Q10 V9.9 Build 303 da TA Instruments usando cadinho de alumínio fechado, fluxo de nitrogênio de 50mL/min e uma taxa de aquecimento de 10°C/min.

Para os cálculos teóricos de modelagem molecular foi utilizado o programa HyperChem v. 6.03 e as respectivas conformações de menor energia dos compostos obtidas através do método semi-empírico PM3.

2.2. Síntese dos Complexos

2.2.1. Síntese do cluster trigonal de acetato de crômio (III) - [Cr₃O(Ac)₆(H₂O)₃]Cl

O cluster de partida, $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Cl}$ (onde $\text{Ac} = \text{CH}_3\text{CO}_2^-$), foi obtido a partir do procedimento desenvolvido por Uemura e colaboradores (1973), o qual envolve a reação entre cloreto de crômio (III) e acetato de sódio em uma mistura de solventes, ácido acético e etanol, conforme reação abaixo apresentada:



Num balão de fundo redondo de 250 mL adicionou-se 2,70 g (10 mmol) de $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 2,80 g (21 mmol) de $\text{NaAc} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 50ml de ácido acético glacial e 50mL de álcool etílico. Manteve-se a mistura reacional sob refluxo por quatro horas e a seguir deixou-se a solução em repouso por uma noite. Após esse tempo decantou-se e filtrou-se a solução a vácuo para separar o produto obtido dos sais indesejáveis (NaCl e NaAc). Para remoção dos solventes, o filtrado foi rotaevaporado sob baixa pressão até obtenção do sólido. Como o mesmo ainda continha ácido acético impregnado, adicionou-se 20mL de metanol ao material e o procedimento de rotaevaporação foi repetido. Ao sólido obtido, adicionou-se 200 mL acetona e a solução foi deixada em repouso durante 72 hs em temperatura ambiente. O precipitado obtido foi filtrado a vácuo e seco em dessecador contendo sílica gel. Obteve-se 0,52 g do cluster $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (8% de rendimento).

2.2.2. Síntese e purificação do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Q} = \text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_7^-$)

Num balão de fundo redondo de três bocas adicionou-se 1,6906g (5,0 mmol) de quercetina diidratada, 50 ml de etanol e o sistema foi mantido sob refluxo, em banho maria, até a dissolução do flavonóide. A seguir, colocou-se no balão 0,433 g (1,6 mmol) de cloreto de crômio (III) hexahidratado dissolvido em 10ml de etanol e o sistema continuou sob aquecimento a uma temperatura média de 80°C por aproximadamente 6 horas. Ao final deste tempo o balão foi mantido sob refrigeração (na geladeira) por dois dias. O precipitado obtido foi filtrado, lavado com água desionizada, éter dietílico e seco á vácuo em dessecador contendo sílica-gel. Obteve-se 1,0075g de um sólido marrom.

A análise do material obtido por Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC), utilizando numa primeira eluição uma mistura de diclorometano e acetato de etila na proporção de 1:1 e numa segunda éter dietílico e clorofórmio na

proporção de 2:8, mostrou a presença de resíduos de quercetina. Assim o sólido foi purificado conforme procedimento abaixo.

Num erlenmeyer de 250ml adicionou-se 1,0075g do complexo, 20ml de éter dietílico e a solução foi agitada, utilizando um agitador magnético, por aproximadamente 15 minutos. Após a solução permanecer em repouso por 10 minutos, o sobrenadante foi retirado e seu espectro eletrônico foi obtido para verificar se o procedimento estava removendo o ligante em excesso. O processo foi repetido por mais quatro vezes até que não se observou mais a presença de ligante livre. A seguir o complexo foi seco á vácuo em dessecador contendo sílica-gel. Obteve-se 0,7803g do complexo com um rendimento de 23%.

Para verificar se o procedimento foi eficiente utilizou-se novamente a CCDC, onde soluções do complexo e da quercetina foram dissolvidos em dimetissulfóxido (DMSO), aplicados em uma placa de sílica gel e eluídos com uma mistura de clorofórmio e metanol na proporção de 7:3. Após visualização das placas com luz ultravioleta (254 e 366nm) foi constatado que o complexo não apresentava mais ligante livre.

2.2.3. Síntese e purificação do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})].4\text{H}_2\text{O}$

Num balão de 125mL adicionou-se 1,6906g (5,00 mmol) de quercetina diidratada, 60mL de etanol (VETEC) e iniciou-se o aquecimento do balão em banho maria à 85°C até dissolução total do flavonóide, que ocorreu após 2h de refluxo. A seguir, adicionou-se 0,6660g (2,50 mmol) de $\text{CrCl}_3.6\text{H}_2\text{O}$ e logo após a adição do sal, a solução adquiriu uma coloração marrom esverdeado, mas ainda sem a presença de precipitado. Após 1h de refluxo observou-se a presença de um precipitado, mas mesmo assim, seguindo o procedimento descrito na literatura (SUN *et al.*, 2008), continuou-se o refluxo por mais 5 horas. A seguir transferiu-se a solução, com o precipitado, para um erlenmeyer de 500mL contendo 300mL de H_2O destilada, e o sistema permaneceu em repouso, no escuro, por 2 dias. Logo após, centrifugou-se a solução a 5000 rpm por 30minutos, removeu-se o sobrenadante e lavou-se o sólido com uma mistura de água e metanol (na proporção de 3:1). O procedimento foi repetido por mais duas vezes e depois por mais três vezes usando somente água. O sólido obtido foi seco à vácuo em dessecador contendo sílica-gel.

O sólido obtido também continha flavonóide livre e foi purificado da mesma forma que o complexo do item 2.2.2. Obteve-se 0,6142g de complexo com um rendimento total de 31%.

2.2.4. Síntese do cluster $[\text{Cr}_3\text{OAc}_6(\text{Q})(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$

Num balão de fundo redondo de 3 bocas de 125 mL adicionou-se 0,8895g (2,63 mmol) de quercetina (Aldrich), 25 mL de etanol (Vetec) e o sistema foi mantido sob refluxo e aquecimento (75°C) até a dissolução da quercetina. A seguir, adicionou-se 2,1765 g (3,50 mmol) do cluster $[\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Cl}$, em 10 mL de etanol e reiniciou-se o refluxo, o qual foi mantido por 7 dias. Ao final deste tempo adicionou-se éter etílico para promover a precipitação do complexo. O precipitado formado de cor marrom foi filtrado e seco à vácuo em dessecador contendo sílica gel.

O sólido obtido também continha flavonóide livre e foi purificado de modo análogo ao do complexo do item 2.2.2. Após a lavagem com éter etílico, o sólido obtido foi lavado com água destilada para remover qualquer traço de acetato de sódio. Obteve-se 0,6142g de complexo com um rendimento total de 10%.

2.3. Síntese dos compostos de inclusão

2.3.1. Medidas de solubilidade da fase

Os estudos sobre a influência da ciclodextrina na solubilidade da quercetina e do complexo foram realizados com base em procedimentos descritos na literatura (LUCAS-ABELLÁN *et al.*, 2008; ZHENG *et al.*, 2005). Assim, 10mL de soluções de diferentes concentrações de β -ciclodextrina ($2,5 \cdot 10^{-3}$ a $10 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹) foram adicionadas a frascos contendo a quercetina ou o complexo de crômio em excesso (~10mg). Após a mistura permanecer a temperatura ambiente em banho de ultrassom por 1 hora, os tubos contendo as soluções foram centrifugados a 2500 rpm por 5 minutos. A seguir filtrou-se a solução sobrenadante usando filtros Millex HV (PVDF) de 0,45 μm (Millipore), e seus espectros eletrônicos foram obtidos para determinar a concentração da quercetina ou do complexo dissolvidos.

A constante de estabilidade aparente (K_s) foi calculada a partir da expressão:

$$K_s = a / \{b(1-a)\}$$

onde a e b são, respectivamente, os coeficientes angular e linear obtidos a partir da regressão linear do diagrama de fases (Gráfico da concentração da quercetina ou do complexo x concentração da ciclodextrina). A solubilidade dos compostos na ausência de ciclodextrina é dada pelo coeficiente linear.

2.3.2. Método da co-precipitação

O complexo de inclusão entre quercetina e β -ciclodextrina na forma sólida foi obtido a partir do método da co-precipitação (DEL VALLE, 2004). Em um béquer de 125 mL colocou-se 1,135g (1mmol) de β -ciclodextrina e 60 mL de água deionizada, pouco a pouco, mantendo sempre a solução sobre agitação. A seguir adicionou-se uma solução contendo 0,3393g (1mmol) de quercetina dissolvida em 30mL de etanol. Imediatamente observou-se a formação de um precipitado aparentemente coloidal. A solução foi mantida sob agitação por uma hora, e depois resfriada em refrigerador por 24h. O sólido obtido foi filtrado, lavado com uma mistura 1:1 de água e metanol e seco à vácuo em dessecador contendo sílica-gel.

2.3.3. Método da liofilização (“Freeze-drying method”)

Na busca do processo mais adequado para obter os compostos de inclusão realizou-se um procedimento baseado no descrito por Pralhad e Rajendrakumar, (2004).

Em um béquer colocou-se 0,302g de quercetina (0,89 mmol), 1,5ml de NH_4OH 28% e misturou-se bem a fim de obter uma pasta homogênea. Em seguida, colocou-se 70 ml de água deionizada, 1,135g (1 mmol) de β -ciclodextrina e deixou-se a solução sob agitação magnética por duas horas. Após a agitação o béquer foi levado à geladeira onde o composto permaneceu por 42 horas. Como não houve formação de precipitado adicionou-se mais 2 mL de solução de NH_4OH 28% e a mesma foi novamente resfriada. Após uma semana, as soluções foram congeladas e liofilizadas.

2.3.4. Método da trituração (“kneading”)

Um método alternativo para isolar compostos de inclusão foi descrito por Calabro e colaboradores (2004).

Num almofariz adicionou-se 0,0508g de quercetina (0,15mmol), 0,1680g (0,15mmol) de β -ciclodextrina e triturou-se os sólidos por 20 minutos. A seguir colocou-se 2mL de uma mistura 1:1 de água deionizada e metanol e a pasta obtida foi triturada por 10 minutos. Em seguida, secou-se a pasta num dessecador contendo sílica-gel.

2.4. Síndrome metabólica

O complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ foi administrado por gavagem a animais tratados com dieta rica em gordura (40%) por 3 semanas. A dieta rica em gordura induz ao estado conhecido como síndrome metabólica que consiste em aumento no peso corporal, aumento na massa gorda, aumento nos níveis plasmáticos de colesterol, triglicérides e glicose, hipertensão e resistência à insulina.

No ensaio foram utilizados camundongos machos C57 com peso inicial em torno de 25g provenientes do biotério da Faculdade de Medicina da USP e o procedimento a seguir descrito foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética da UPM sob o nº CEUA Nº 080/04/2011. Os animais foram mantidos no biotério da Universidade Presbiteriana Mackenzie em gaiolas coletivas com não mais de 5 animais cada, acondicionados em biotério termorregulado ($23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$), com ciclo claro/escuro 12/12 horas (início do período claro às 6h00min) e com água e alimentação ad libitum. O controle de ventilação, de luminosidade e de temperatura foi feito automaticamente por um sistema central (Argon Flex, Sistema VMA 40/02, Smaflex, Piedade, SP). Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais:

- (I) Controle (n=8): camundongos sem qualquer tratamento recebendo água e ração comercial;
- (II) Dieta (n=8): camundongos sem qualquer tratamento recebendo dieta hipercalórica, conforme descrito abaixo, por 3 semanas;
- (III) Dieta + CrQ (n=8): camundongos recebendo dieta hipercalórica e o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ nas doses 500, 1000 e 1500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ PC por dia por meio de gavagem durante 3 semanas.

Todas as drogas utilizadas nesse estudo foram obtidas da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

O peso corpóreo e o consumo de comida dos animais foram acompanhados diariamente. Ao final do protocolo, os animais foram submetidos aos testes de tolerância à glicose e à insulina conforme descritos abaixo. Após a realização dos testes, os animais, alimentados durante a noite anterior, foram submetidos à eutanásia por dessangramento sob anestesia utilizando-se anestésico Uretana (1200mg/Kg P.C.) e o sangue foi coletado em tubo de ensaio contendo EDTA 10% e centrifugado a 10000 RPM durante 20 minutos para extração do plasma. Esse, por sua vez, será

congelado para posterior análise dos níveis de colesterol plasmático total e triglicérides.

Procedimentos:

- Dieta hipercalórica: A dieta hipercalórica rica em gordura é produzida pela Rhoster Ind. e Com. Ltda. (Rhoster Ltda - Araçoiaba da Serra, SP, Brasil) e é constituída de 26% de carboidrato, 24% de proteína e 40% de gordura, totalizando ~ 7,4 Cal/g. A dieta padrão apresenta 1,8 Cal/g.

- Teste de Tolerância à Glicose (GTT): Os animais foram submetidos ao jejum por 12 horas na noite anterior. Entre 9h e 10h foi administrada glicose (2g/ kg P.C.) por meio de injeção intraperitoneal e amostras de sangue foram coletadas da cauda dos animais em intervalos de 30 minutos durante 2 horas. A leitura da glicemia foi determinada em medidor de glicose (Johnson & Johnson, One Touch Ultra, Milpitas, Califórnia, USA).

- Teste de Tolerância à Insulina (ITT): A ração padrão e a dieta hipercalórica foram removidas pela manhã, 6 horas antes da realização do experimento. Entre 14h e 15h, foi administrada Insulina (0.5 U/kg) por injeção intraperitoneal e amostras de sangue foram coletadas da cauda dos animais em intervalos de 15 minutos durante 1 hora. A leitura da glicemia foi determinada conforme a descrita para curva de GTT.

- Dosagem de colesterol total: A dosagem foi feita em plasma por colorimetria, utilizando-se de kit enzimático comercial (Roche Diagnóstica-Manheim, Alemanha), de acordo com as indicações do fabricante.

- Dosagem de triglicérides: A dosagem de triglicérides foi realizada em plasma, por colorimetria, utilizando-se kit enzimático comercial (Merck-Darmstadt),

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização dos complexos de crômio (III)

3.1.1. Análise Elementar e Medida de Condutividade Elétrica

A partir da reação entre cloreto de crômio(III) e quercetina foi possível isolar dois complexos contendo diferentes quantidades de ligante, cujos dados de análise elementar encontram-se na tabela 1.

O complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ (onde $\text{Q}=\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_7^-$) já se encontrava descrito na literatura (SUN *et al.*, 2008), mas o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ foi sintetizado pela

primeira vez nesse trabalho. Complexos desse tipo $[M(L)Cl_2(H_2O)_2]$ são encontrados para manganês e cobalto (BRAVO *et al* 2001).

O valor de condutividade molar obtido para os complexos mononucleares (tabela 1) encontra-se um pouco abaixo da faixa esperada para eletrólitos 1:1 que é de 20 a 62 $S.cm^2.mol^{-1}$ (VELHO, 2006), indicando que em DMSO deve ocorrer substituição parcial de um dos cloretos pelas moléculas do solvente.

Tabela 1: Dados experimentais e calculados (entre parênteses) de análise elementar e de condutividade molar, Λ_M , ($S.cm^2.mol^{-1}$) dos complexos obtidos.

Composto	%C	%H	Λ_M
Complexos mononucleares			
$[Cr(Q)Cl_2(H_2O)_2].4H_2O$	32,47 (33,85)	3,70 (3,98)	18 ^a
$[Cr(Q)_2(H_2O)Cl].4H_2O$	46,55 (46,20)	3,97 (3,62)	14 ^a
Complexos trinucleares			
$[Cr_3OAc_6(H_2O)_3]Cl.3H_2O$	22,06 (22,11)	4,36 (4,33)	74 ^b
$[{Cr_3O(Ac)_6(H_2O)_2}_3(HQ)]Cl_3.12H_2O$	25,31 (26,50)	4,33 (4,36)	-

^a em dimetilsulfóxido; ^b em metanol.

A solução do cluster de partida $[Cr_3OAc_6(H_2O)_3]Cl$ em metanol apresentou um valor de condutividade molar igual a 74 $S.cm^2.mol^{-1}$, valor esse que se situa na faixa de eletrólito 1:1 (62-123 $S.cm^2.mol^{-1}$, VELHO, 2006).

O produto obtido a partir da reação entre o cluster $[Cr_3OAc_6(H_2O)_3]Cl$ e a quercetina ($HQ=C_{15}H_{10}O_7$) aparentemente tem mais de uma unidade de cluster ligado a quercetina. Os dados de análise elementar ajustam-se melhor a uma proporção de 3:1 unidades de cluster:quercetina.

3.1.2. Espectrometria de Massas

No espectro de massas do complexo $[Cr(Q)Cl_2(H_2O)_2]$ (figura 4) não foi possível observar a presença do íon molecular, mas os picos com m/z igual a 437 e 455 foram, tentativamente, atribuídos as espécies $[Cr(C_{15}H_8O_7)Cl(H_2O)(CH_3OH)]^+$ ($m/z = 437,7$) e $[Cr(C_{15}H_8O_7)Cl_2(CH_3OH)]^+$ ($m/z = 455,2$). O pico base com $m/z = 381$ foi

também observado no espectro de complexos de alumínio com quercetina (DENG e VAN BERKEL, 1998), mas nenhuma atribuição foi feita ao mesmo.

Os fragmentos acima foram propostos assumindo que durante o preparo da amostra uma das moléculas de água coordenada ao crômio foi substituída por uma de solvente (CH₃OH). Na espécie [Cr(C₁₅H₈O₇)Cl₂(CH₃OH)(H₂O)]⁺, de massa m/z=473, o flavonoide pode sofrer uma fragmentação do tipo retro-Diels-Alder, com formação do íon característico da fragmentação clássica para o anel A, e perda de 151 unidades de massa (AGRAWAL, 1989). Esse fragmento gerado mais duas moléculas de água e um íon sódio originaria o pico base observado em m/z= 381 com provável fórmula Na[Cr(C₇HO₄)Cl₂(CH₃OH)(H₂O)₃]. Tal observação sugere a coordenação do metal nas posições 4-ceto-5-oxi, uma vez que esses grupamentos foram preservados ligados ao crômio quando o flavonóide sofreu a fragmentação do tipo retro-Diels-Alder.

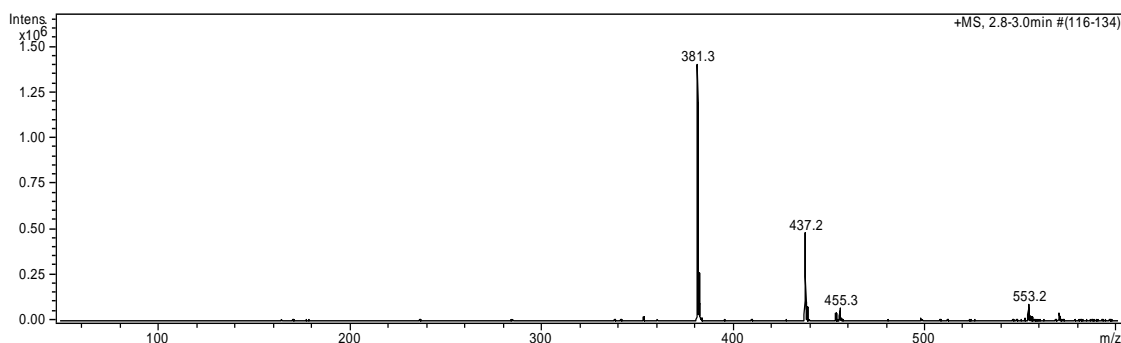


Figura 4. Espectro de massas do complexo [Cr(Q)Cl₂(H₂O)₂] em uma mistura de MeOH:H₂O na proporção de 1:1.

Na figura 5 encontra-se o espectro de massas do complexo [Cr(Q)₂(H₂O)Cl] onde se pode observar que o pico base corresponde ao íon molecular associado com uma molécula de solvente. ([M-CH₃OH]⁺).

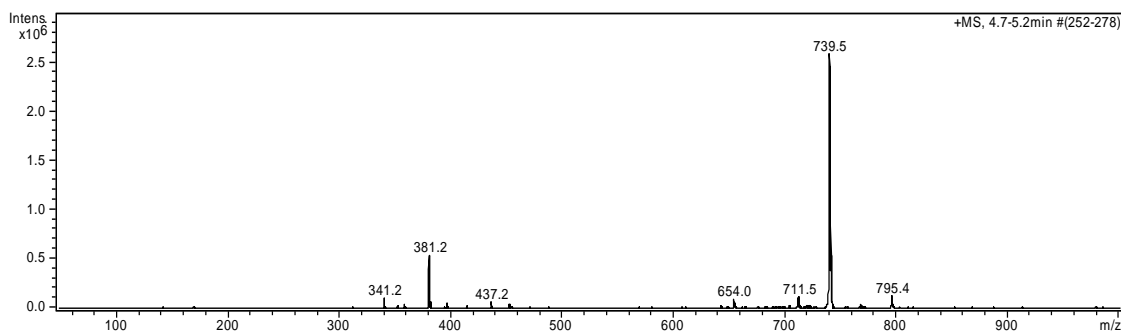


Figura 5. Espectro de massas do complexo [Cr(Q)₂(H₂O)Cl] em uma mistura de MeOH:H₂O na proporção de 1:1.

Não foi possível obter o espectro de massas do cluster $[\{Cr_3O(CH_3CO_2)_6(H_2O)_2\}_3(HQ)]Cl_3 \cdot 12H_2O$, pois a amostra enviada a Central Analítica do IQUSP não ionizou por ESI. Para confirmar a identidade do produto obtido, pretende-se tentar a técnica de MALDI-TOF, assim que a matriz adequada for encontrada.

3.1.3. Espectroscopia Eletrônica

O espectro eletrônico da quercetina em DMSO (figura 6) apresenta duas bandas em 379nm e 261nm que são atribuídas, respectivamente, as transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ envolvendo o anel B (sistema cinamóilico) e o anel A (sistema benzoílico) do flavonóide (ZHOU *et al.*, 2001), conforme mostrado no detalhe da Figura 6. A posição dessas bandas não se altera muito, quando se muda o solvente de água para DMSO (vide tabela 2).

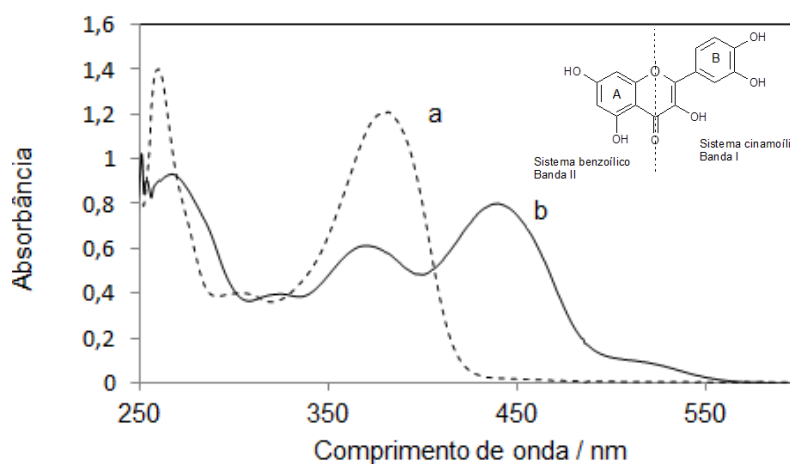


Figura 6. Espectros eletrônicos de soluções $50\mu\text{mol.L}^{-1}$ da quercetina (a) e $45,5\mu\text{mol.L}^{-1}$ do complexo $[Cr(Q)Cl_2(H_2O)_2]$ (b) em DMSO. No detalhe encontra-se uma representação dos sistemas cinamóilico e benzoílico da quercetina.

O espectro eletrônico do complexo $[Cr(Q)Cl_2(H_2O)_2]$ em DMSO (figura 7a) apresenta três bandas em 440, 370 e 267 nm e dois ombros em 519nm e 326nm, cujos valores de absorvância molar encontram-se na tabela 2.

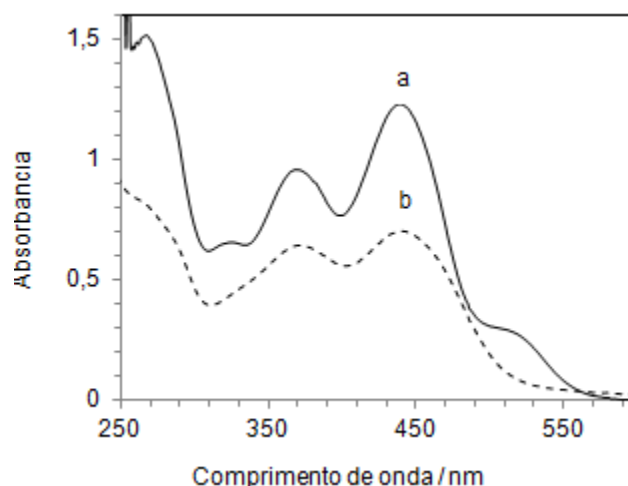


Figura 7. Espectros eletrônicos de soluções do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ em (a) DMSO ($69 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e (b) em água ($7,5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)

Tabela 2. Valores de comprimento de onda (nm) e de épsilon ($10^4 \text{ cm}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{L}$) das bandas observadas no espectro eletrônico da quercetina livre e dos complexos $[\text{CrQ}(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_2]$ e $[\text{CrQ}_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$.

Composto	${}^4\text{T}_{2g} \leftarrow {}^4\text{A}_{2g}$	${}^4\text{T}_{1g} \leftarrow {}^4\text{A}_{2g}$	Banda I	Banda II	λ
Quercetina ^a			379 ($2,41 \pm 0,01$)	261 ($2,7 \pm 0,2$)	304 ($0,8 \pm 0,02$)
Quercetina ^b			372 ($1,81 \pm 0,02$)	254 ($1,99 \pm 0,02$)	
$[\text{CrQ}(\text{H}_2\text{O})_2\text{Cl}_2]^{\text{a}}$	480 ($0,67 \pm 0,02$)	326 ($0,96 \pm 0,01$)	440 ($1,84 \pm 0,03$)	370 ($1,42 \pm 0,02$)	267 ($2,19 \pm 0,02$)
$[\text{CrQ}_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^{\text{a}}$	511(?)	321 ($1,74 \pm 0,02$)	439 ($3,25 \pm 0,07$)	368 ($2,52 \pm 0,05$)	266 ($3,83 \pm 0,05$)
$[\text{CrQ}_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]^{\text{b}}$		323 ($1,43 \pm 0,07$)	447 ($2,25 \pm 0,07$)	369 ($1,58 \pm 0,06$)	268 ($2,84 \pm 0,09$)

^a em dimetilsulfóxido; ^b em água

As bandas em 440nm e 370nm foram atribuídas a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ da quercetina, por analogia com os dados obtidos por Sun e colaboradores (2008) ao

estudar o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$. Assim, observa-se que as bandas do flavonóide apresentam um deslocamento para comprimentos de onda maiores com a coordenação, sendo que a alteração na banda II ($\Delta\lambda=111\text{nm}$) é maior, sugerindo que a coordenação ao metal ocorre via grupos 4-ceto-5-oxo. A banda em 267nm também deve ser relativa ao flavonoide, pois sua intensidade é próxima à observada para as outras transições da quercetina.

O espectro eletrônico de complexos octaédricos de cromo (III) apresentam normalmente duas bandas devidas as transições de campo ligante, que no caso do complexo *trans*- $[\text{Cr}(\text{cyclam})(\text{nic-O})_2]\text{ClO}_4$ situam-se em 503 e 356 nm (CHOI, 2009). Assim, por analogia as bandas em 519 e 326 nm foram atribuídas as transições ${}^4\text{T}_{2g} \leftarrow {}^4\text{A}_{2g}$ e ${}^4\text{T}_{1g} \leftarrow {}^4\text{A}_{2g}$ respectivamente. Em meio aquoso (figura 5b) não se observa a presença da banda em 519 nm, provavelmente devido a substituição de um ou dois cloretos pelas moléculas de água e deslocamento da banda para comprimentos de onda menores, onde ela ficaria encoberta pela banda em 440nm.

O espectro eletrônico do cluster $[\text{Cr}_3\text{OAc}_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Cl}$ apresenta uma série de bandas de campo ligante na região do visível (figura 8a), que são atribuídas de acordo com o diagrama de níveis de energia do íon de cromo numa simetria C_{4v} (CATTERICK e THOMTON, 1977). Assim, a banda em 588 nm com um ombro ao redor de 670 nm é atribuída às transições ${}^4\text{B}_1 \rightarrow {}^4\text{E}$ (${}^4\text{T}_{2g}$) e ${}^4\text{B}_1 \rightarrow {}^4\text{B}_2$ (${}^4\text{T}_{2g}$), enquanto a banda ao redor de 441 nm aos componentes ${}^4\text{E}$ e ${}^4\text{A}_2$, não resolvidos, provenientes do estado octaédrico ${}^4\text{T}_{1g}(\text{F})$.

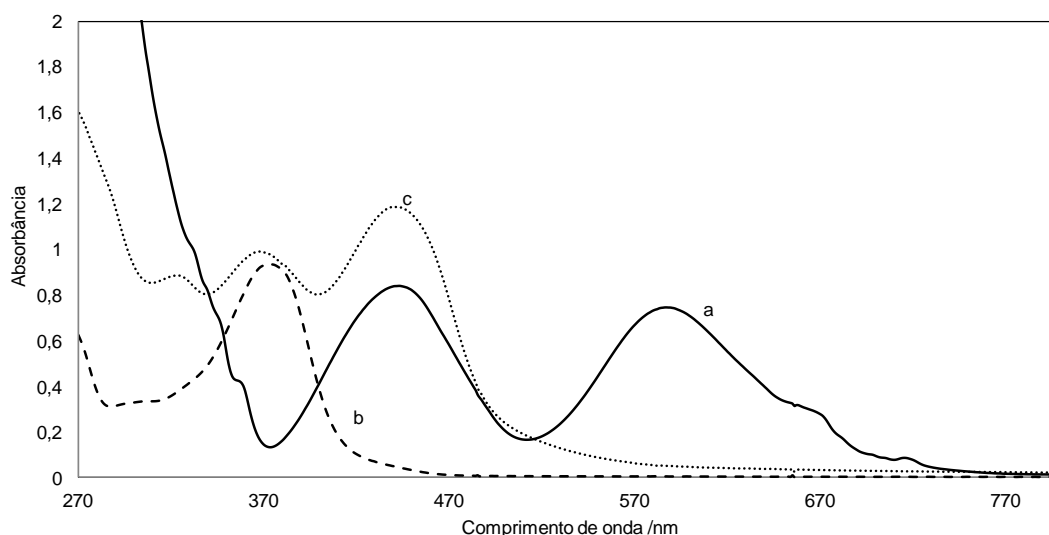


Figura 8. Espectros eletrônicos de soluções (a) cluster $[\text{Cr}_3\text{OAc}_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Cl}$ (em metanol), (b) da quercetina (em metanol) e (c) do cluster $[\{\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{H}_2\text{O})_2\}_3(\text{HQ})]\text{Cl}_3$ (em DMSO)

As bandas de campo ligante do cluster tem um valor de absorvidade molar 400 vezes menor que a da quercetina e são assim encobertas pela banda do flavonoide, que no espectro eletrônico do cluster $[\{Cr_3O(Ac)_6(H_2O)_2\}_3(HQ)]Cl_3$ (figura 8c) são encontradas em 440, 367 e 322nm. A alteração no espectro eletrônico, tanto do flavonoide quanto do cluster de partida, confirma que um novo composto foi formado.

3.1.4. Análise térmica

Na figura 9 encontram-se as curvas termogravimétricas (TG) e de calorimetria exploratória diferencial (DSC) da quercetina e de seus complexos obtidas sob atmosfera de nitrogênio.

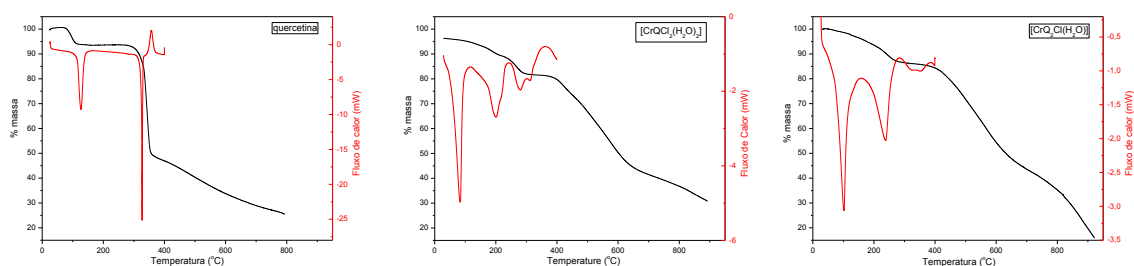


Figura 9. Curvas termogravimétricas (em preto) e de calorimetria exploratória diferencial (em vermelho) da quercetina e dos complexos $[CrQCl_2(H_2O)_2].4H_2O$ e $[CrQCl(H_2O)].4H_2O$.

A curva TG mostra que a quercetina decompõe-se em três etapas: a primeira de 25 a 134°C ocorre com uma perda de massa de 6,3%, a segunda de 134 a 350°C com ~45% de perda de massa e a última de 380 a 900°C. A curva DSC mostra que os processos de decomposição são acompanhados de picos endotérmicos em 127°C e 327°C e exotérmico em 357°C. Um comportamento similar foi observado por Costa e colaboradores (2002) que estudaram o comportamento térmico da quercetina e atribuíram a primeira etapa a perda das moléculas de água de hidratação, o pico em 327°C ao processo de fusão da quercetina e o pico em 357°C ao início do processo de decomposição do flavonóide.

Nos complexos as etapas de decomposição se sucedem e o processo não finaliza até 900°C. Uma atribuição tentativa do comportamento térmico dos complexos encontra-se na tabela 3. De um modo geral os complexos perdem as moléculas de

água de hidratação e os cloretos na forma de HCl até aproximadamente 290°C. A partir dessa temperatura ocorre a saída do restante dos ligantes coordenados.

As etapas de saída dos ligantes durante a decomposição térmica do cluster $[\{Cr_3O(Ac)_6(H_2O)_2\}_3(HQ)]Cl_3 \cdot 12H_2O$ (figura 10) são ainda menos nítidas do que a observada para os complexos mononucleares. Provavelmente, há inicialmente a saída das moléculas de água, seguida da decomposição dos acetatos e da quercetina. A curva DSC mostra dois picos em 168°C, 299°C e um ombro em 268°C, valores esses diferentes dos observados nos complexos anteriores, o que reforça a ideia de termos um novo composto.

Tabela 3. Dados dos processos de decomposição térmica da quercetina e de seus complexos.

	Q.2H ₂ O	[CrQCl ₂ (H ₂ O) ₂].4H ₂ O	[CrQCl(H ₂ O)].4H ₂ O
ΔT_1 (°C)	25-134	25-210	25-285
%m ₁ *	6,3 (5,3)	10,5 (10,2)	4,0 (4,6)
DSC _{max} (°C)	127	84 e 201	102
Atribuição	-H ₂ O	-3 H ₂ O	-2H ₂ O
ΔT_2 (°C)	134-354	210-290	160-285
%m ₂ *	44,0	7,1 (6,8)	9,2 (9,3)
DSC _{max} (°C)	327	278	238
Atribuição	-intermediários	-HCl	-(HCl+2H ₂ O)
ΔT_3 (°C)	354-900	290-892	285-930
%m ₃	24,2	51,6	70,9
DSC _{max} (°C)	-	314	-

*Valores calculados entre parênteses.

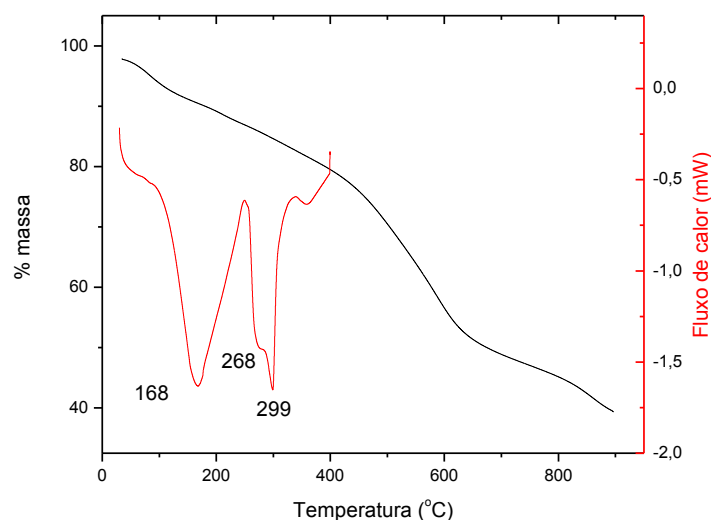
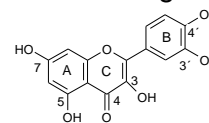


Figura 10. Curvas termogravimétrica (preto) e de calorimetria exploratória diferencial (vermelho) para o cluster $[\{Cr_3O(Ac)_6(H_2O)_2\}_3(HQ)]Cl_3 \cdot 12H_2O$.

3.1.5. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

O espectro de RMN de 1H da quercetina (figura 11) apresenta sinais na região de 12,5 a 8,3 ppm que são devidos aos grupos hidroxílicos e outros na faixa entre 6,2 e 7,7 ppm que são devidos aos hidrogênios aromáticos (SOUZA *et al.*, 2003).



Espectros de ressonância magnética nuclear de complexos de crômio(III) são difíceis de serem observados (GLASS *et al.*, 1993) devido ao fato do metal apresentar três elétrons desemparelhados. Esses elétrons interagem com os spins nucleares e interferem nos mecanismos de relaxação, fazendo com que eles percam energia a partir do estado excitado sem emitir sinal de RMN (IGGO, 1999).

No espectro do complexo (figura 11) há um sinal em δ 1,21 ppm que deve ser devido ao hidrogênio (6-H) mais próximo do metal, que se desloca para menores frequências devido ao paramagnetismo do íon Cr(III). Efeito análogo foi observado em derivados de piridina ligados a clusters de rutênio, onde a anisotropia paramagnética da unidade Ru_3O também desloca os sinais do anel heterocíclico para regiões mais protegidas (ALEXIOU e TOMA, 1997). Os demais sinais entre δ 8 e 10 devem ser devido aos grupos hidroxílicos não envolvidos na coordenação com o metal e aos hidrogênios aromáticos mais distantes. Um comportamento análogo foi observado para o complexo $[Cr(Q)Cl_2(H_2O)_2]$ com sinais em 1,04 ppm (6-H) e entre 8 e 10 ppm.

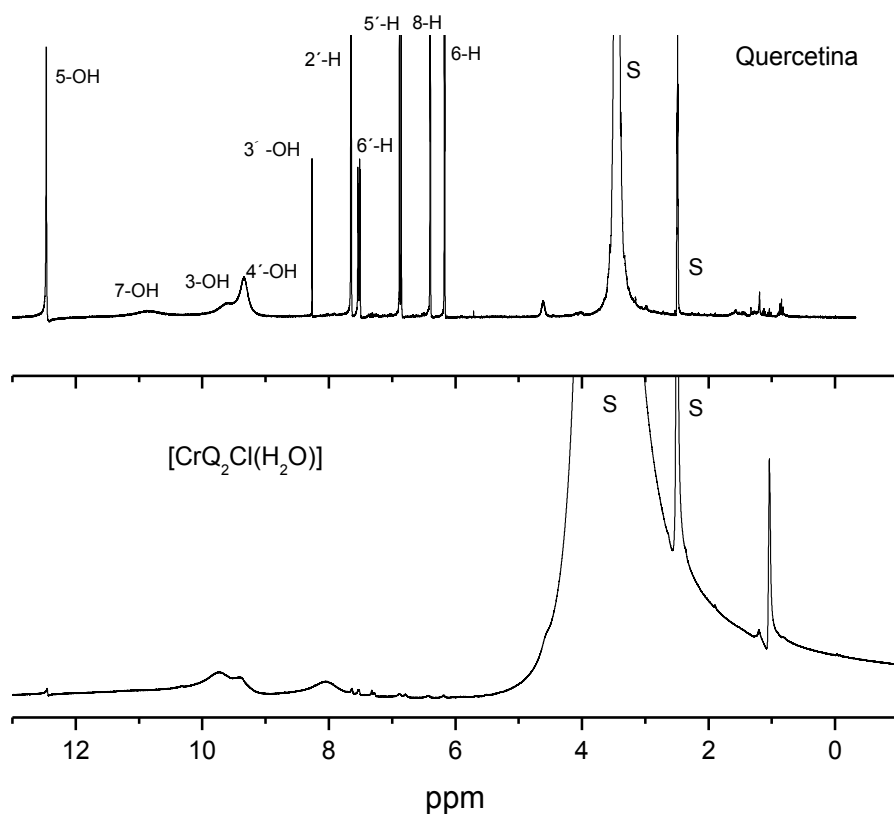


Figura 11. Espectros de RMN de ^1H da quercetina e do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ em DMSO-d^6 . Em ambos os espectros os sinais demarcados com S referem-se a sinais dos solventes.

Não foi possível obter até o momento o espectro de RMN ^1H do cluster $[\{\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{H}_2\text{O})_2\}_3(\text{HQ})]\text{Cl}_3$

3.1.6. Espectroscopia vibracional

Os espectros vibracionais na região do infravermelho da quercetina e dos complexos $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ e $[\text{Cr}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ são mostrados na figura 10 e os valores de números de onda das principais bandas são apresentados na tabela 4.

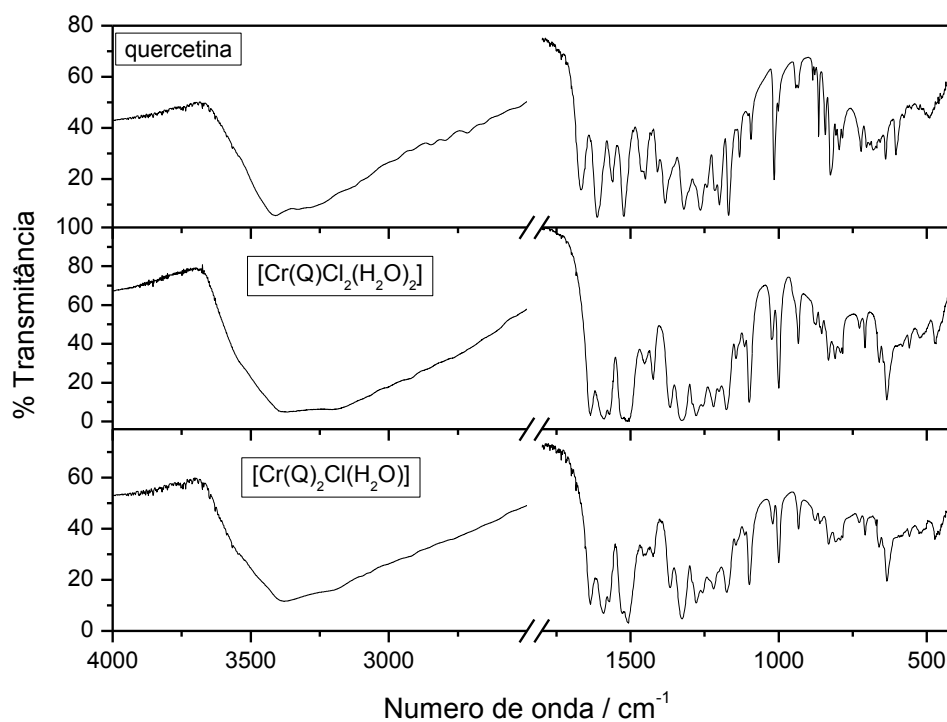


Figura 10. Espectros vibracionais na região do infravermelho da quercetina e dos complexos $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ e $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$

Tabela 4: Valores de número de onda (cm^{-1}) das principais bandas observadas no espectro infravermelho da quercetina livre e dos complexos $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ e $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$.

Quercetina	$[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	$[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$		Atribuição tentativa
		Este trabalho	(SUN et al.,2008)	
3407vs	3376vs	3378vs	3379	v(OH)
3328sh	3191sh	3202sh		
3283sh				
1667s	1636vs	1636vs	1635	v(C=O)
1613vs	1590vs	1592vs	1591	v (C ₂ =C ₃)
1383s	1366s	1367s	1374	v (C ₃ -OH)
1320s	1327vs	1327vs	—	v (C ₅ -OH)
1264s	1279s	1279m	1276	v (C-O-C)
—	473w	472w	473	v (Cr-O)

Abreviaturas: vs=muito forte; s=forte; m=média; w=fraca; vw=muito fraca; v=estiramento; as=assimétrico; s = simétrico.

Na região ao redor de 3300 cm^{-1} pode-se observar no espectro da quercetina (figura 10) a presença de uma banda muito intensa e larga, que é devida ao estiramento OH das moléculas de água de hidratação e dos grupos hidroxílicos (SOUZA e De GIOVANNI, 2005). Nos complexos essa banda intensifica-se devido à presença das moléculas de água coordenadas.

Contudo os dados de espectroscopia eletrônica, de espectrometria de massas e os cálculos teóricos sugerem que a coordenação deve ocorrer via grupos 4-ceto-5-oxi, pois há formação de um anel de seis membros que é mais estável que um de cinco.

A vibração ao redor de 472 cm^{-1} observada nos espectros dos complexos foi atribuída ao estiramento metal-oxigênio $\nu(\text{Cr-O})$ com base no trabalho de Sun e colaboradores (2008).

O espectro vibracional do cluster $[\{\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{H}_2\text{O})_2\}_3(\text{HQ})]\text{Cl}_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (figura 11) apresenta na região de 3700 a 2500 cm^{-1} uma banda larga e intensa devido aos estiramentos $\nu(\text{OH})$ das moléculas de água e quercetina, além dos estiramentos $\nu(\text{CH})$ do flavonoide. Na região do estiramento do grupo carbonílico, observa-se uma banda intensa em 1600 cm^{-1} com ombros em 1632 e 1576 cm^{-1} , que tanto são devidos ao grupo $\text{C}=\text{O}$ das unidades de acetato quanto a quercetina. Observa-se na figura 11 um maior número de bandas em relação ao cluster de partida, o que confirma a presença da quercetina nesse composto.

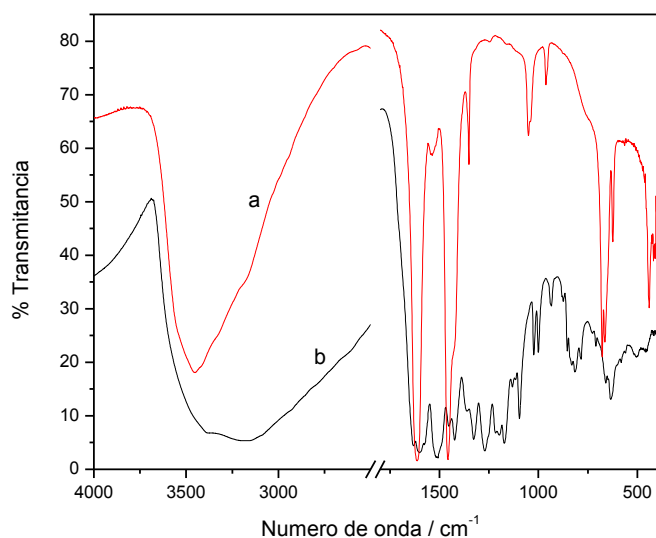


Figura 11. Espectro vibracional na região do infravermelho dos clusters (a) $[\text{Cr}_3\text{OAc}_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e (b) $[\{\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{H}_2\text{O})_2\}_3(\text{HQ})]\text{Cl}_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

O cluster $[\{Cr_3O(Ac)_6(H_2O)_2\}_3(HQ)]Cl_3 \cdot 12H_2O$ deve apresentar vibrações características das unidades Cr_3O e CrO_4 . Das vibrações esperadas para a unidade Cr_3O (NAKAMOTO, 1978; JOHNSON et al, 1981) somente foi observado o estiramento assimétrico CrO_3 em 632 cm^{-1} , os outros dois modos devem ocorrer fora da faixa estudada. Da mesma forma, somente encontrou-se o estiramento CrO_4 em 455 e 501 cm^{-1} .

3.1.7. Estereoisomeria do complexos formados – Cálculos teóricos

Como mencionado anteriormente, a quercetina pode se coordenar ao crômio via grupos 4-oxo-5-oxi ou 4-oxo-3-oxi. Além disso, o complexo $[Cr(Q)Cl_2(H_2O)_2]$ pode apresentar os cloretos ou as moléculas de água em *trans* ou um cloreto *trans* a uma molécula de água. Assim, há seis possíveis estereoisômeros: que tiveram suas estruturas representadas e submetidas ao cálculo teórico de modelagem molecular onde foram obtidas suas respectivas conformações de menor energia (Figura 12).

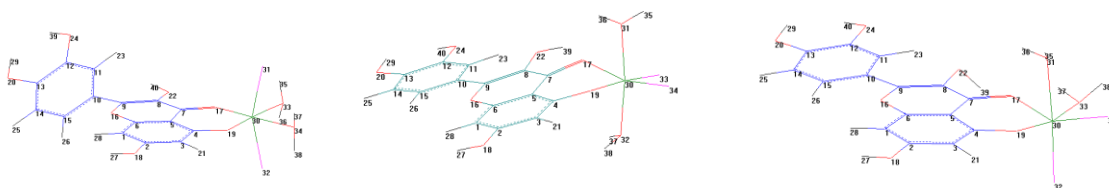


Figura 12. Estereoisômeros possíveis para o complexo $[Cr(Q)Cl_2(H_2O)_2]$ com a coordenação da quercetina ao metal via grupos 4-oxo-5-oxi.

Na Tabela 5 são apresentadas as energias totais dos complexos e o calor de formação dos isômeros. A partir desses dados pode-se observar que o estereoisômero que apresenta os cloretos em *trans* e a coordenação via grupos 4-oxo-5-oxi é o isômero mais estável e cuja formação é mais favorecida.

O mesmo tratamento foi efetuado para o complexo $[Cr(Q)_2(H_2O)Cl]$ e os dados obtidos (tabela 5) indicam que o estereoisômero mais estável é o que apresenta o cloreto *trans* a molécula de água e a coordenação via grupos 4-oxo-5-oxi. Esses dados estão de acordo com o proposto por Chen e colaboradores (2009).

Com base nos dados obtidos até o momento podemos fazer algumas suposições sobre o processo de formação dos complexos. O sal de partida, cloreto de crômio(III), pode existir como uma mistura de isômeros, sendo que a forma mais comum é o *trans*- $[CrCl_2(H_2O)_4]Cl \cdot 2H_2O$ (GREENWOOD e EARNSHAW, 1997). A reação desse sal

com a quercetina leva inicialmente a formação do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ e depois com a adição de mais uma molécula de quercetina e de água em excesso ao complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$, conforme figura abaixo.

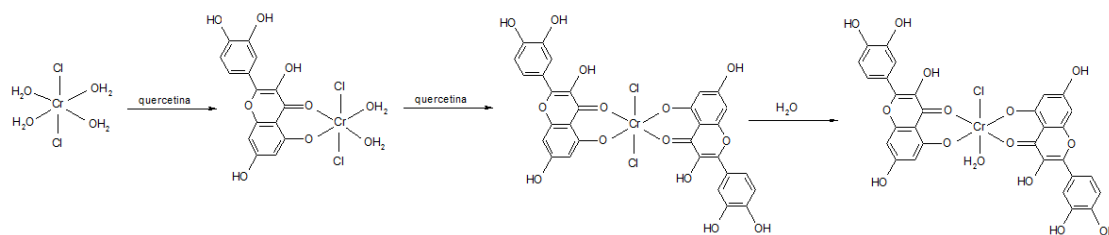


Figura 13. Mecanismo proposto da formação dos complexos $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ e $[\text{Cr}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$.

Tabela 5. Valores teóricos de energia total e calor de formação obtidos para os complexos $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ e $[\text{Cr}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$.

Complexo	Energia Total (Kcal.mol ⁻¹)	Calor de formação (Kcal.mol ⁻¹)
$[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$		
coordenação via 4-oxo-5-oxi		
<i>trans</i>-Cl⁻	-126984,6	-433,7802
<i>trans</i> -Cl ⁻ H ₂ O	-126981,0	-430,1460
<i>trans</i> -H ₂ O	-126978,0	-427,1476
coordenação via 4-oxo-3-oxi		
<i>trans</i> -Cl ⁻	-126981,3	-430,4424
<i>trans</i> -Cl ⁻ H ₂ O	-126980,1	-429,2828
<i>trans</i> -H ₂ O	-126976,6	-425,7861
$[\text{Cr}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$		
coordenação via 4-oxo-5-oxi		
<i>trans</i> Cl H₂O	-203764,3	-604,1866
<i>cis</i> Cl H ₂ O	-203761,8	-601,6693
coordenação via 4-oxo-3-oxi		
<i>trans</i> Cl H ₂ O	-203718,5	-558,4362
<i>cis</i> Cl H ₂ O	-203722,0	-561,9373

3.2. Caracterização dos compostos de inclusão

3.2.1. Medidas de solubilidade de fases

A constante de estabilidade aparente entre a quercetina e a β -ciclodextrina encontra-se descrita na literatura (LUCAS-ABELLÁN *et al.*, 2008; ZHENG *et al.*, 2005), mas o procedimento foi repetido para avaliar se o método é reproduzível nas nossas condições.

As bandas da quercetina (figura 14) apresentam um pequeno deslocamento para maiores comprimentos de onda na presença da β -ciclodextrina. A partir da medida de absorbância em 372nm e da absorvidade molar da quercetina em água ($(1,81 \pm 0,02) \cdot 10^4 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$) determinou-se a concentração do flavonoide na solução e construiu-se um gráfico da [quercetina] x [β -ciclodextrina] (figura 15). O valor da constante de estabilidade aparente, K_s , obtido foi de $417 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$, muito próximo ao calculado por LUCAS-ABELLÁN e colaboradores (2008), que é igual a $426 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L}$.

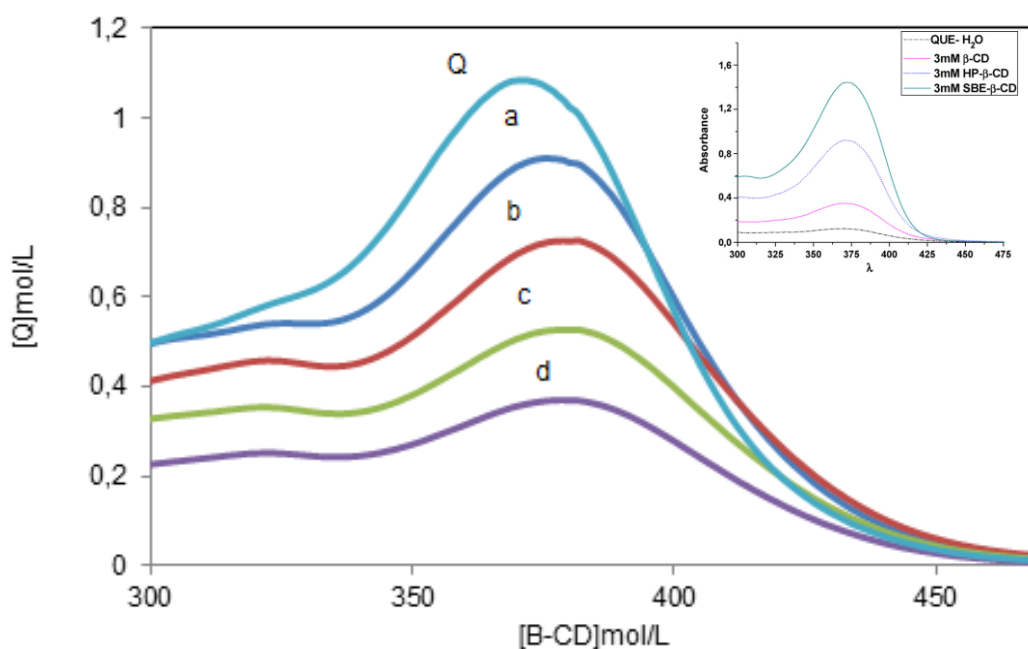


Figura 14: Espectro eletrônico de uma solução $1,18 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ da quercetina (Q) em solução aquosa e na presença de β -ciclodextrina em diferentes concentrações: (a) $4,93 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (b) $3,87 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (c) $2,81 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; (d) $1,98 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. No detalhe os dados obtidos por Julian e colaboradores (2007).

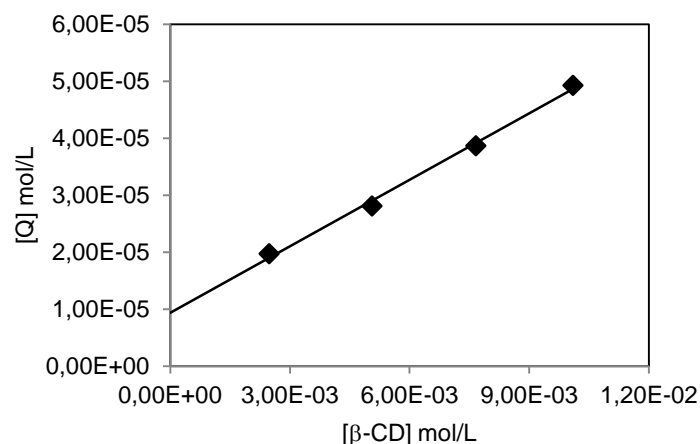


Figura 15. Gráfico da concentração da quercetina versus a da β-ciclodextrina.

O espectro eletrônico do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ sofre mudanças profundas, quando na presença de β-ciclodextrina (figura 16), apresentando bandas em 330, 295 e 255nm. Essas bandas podem ser devidas a um ou mais produtos da decomposição da quercetina. Zheng e colaboradores (2005) observaram que a quercetina em meio básico decompõe-se, devido a um ataque do íon hidróxido ao anel C, gerando como produto ácido 3,4-dihidroxibenzóico, que apresenta bandas em 294, 260 e 220nm.

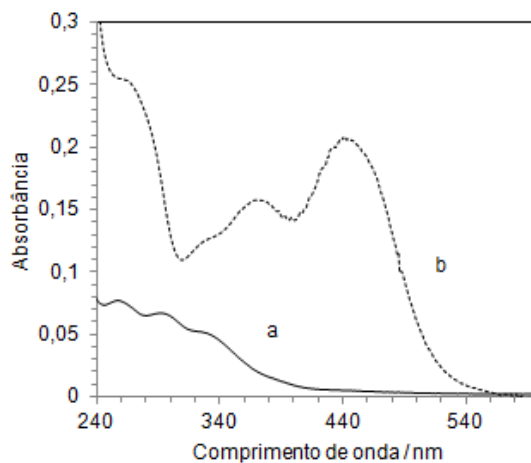


Figura 16. Espectro eletrônico de soluções do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ na (a) presença e na (b) ausência de β-ciclodextrina

Um comportamento similar foi observado para o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}]$ (figura 17), cujo espectro eletrônico sofre uma alteração profunda quando na presença de β-ciclodextrina, apresentando bandas em 290 e 258nm. Nos experimentos

realizados foi observado que o cluster $[\{Cr_3O(Ac)_6(H_2O)_2\}_3(HQ)]Cl_3$ também sofre decomposição na presença de β -ciclodextrina.

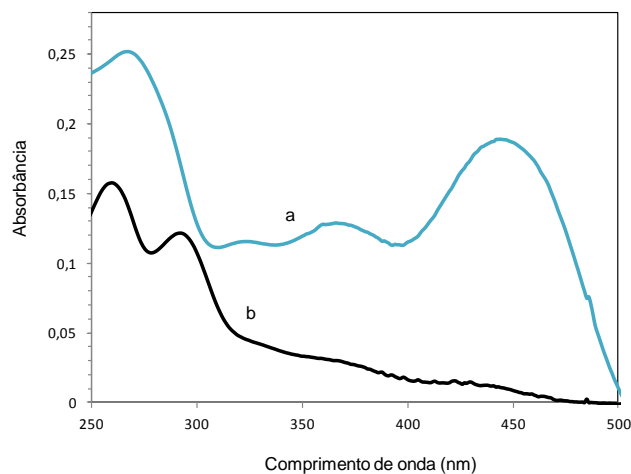


Figura 17. Espectro eletrônico de uma solução aquosa do complexo $[Cr(Q)_2(H_2O)Cl]$ (a) na ausência e (b) na presença de β -ciclodextrina.

Nesse trabalho, em diversas vezes observou-se que a quercetina na presença de β -ciclodextrina sofre decomposição, ao contrário do relatado na literatura (ZHENG et al, 2005). Após várias tentativas foi possível acertar as condições experimentais para determinar o Ks da quercetina, mas até o momento ainda não foi possível fazer o mesmo para os complexos. Novos experimentos serão realizados em meio ácido (tampão acetato) seguindo o procedimento descrito por LUCAS-ABELLÁN e colaboradores (2008).

3.2.2. Método da co-precipitação

O teor de carbono e hidrogênio do sólido obtido a partir da inclusão da quercetina em β -ciclodextrina pelo método da co-precipitação foi igual a 53,19 e 4,07. A partir desses dados estimou-se o teor de cada componente no composto de inclusão como sendo aproximadamente igual a 1β -CD:10Q (teórico: %C = 55,47 e %H = 4,12). Como esse procedimento não se mostrou adequado, visto que o ideal é uma proporção de 1:1, tentou-se outros métodos.

2.3.3. Método da liofilização (“Freeze-drying method”)

Segundo Kurozumi e colaboradores (1975), o método de liofilização (“Freeze-drying method”) é melhor que o da co-precipitação, mas nossos dados indicam que a degradação da quercetina foi mais intensa. Isso deve ser devido à adição de hidróxido de amônio a mistura.

2.3.4. Método da trituração (“kneading”)

O espectro eletrônico do sólido obtido a partir da mistura da quercetina com β -ciclodextrina também mostrou um alto grau de decomposição do flavonoide. Assim, novos estudos estão sendo efetuados para minimizar a degradação da quercetina e dos complexos.

3.3. Síndrome metabólica

3.3.1. Resultados

Com a finalidade de avaliar se o uso do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ poderia alterar e/ou reverter a obesidade induzida pela dieta, foram tratados camundongos machos C57 com dieta rica em gordura 40% e submetidos a injeções de gavagem diária do complexo. Para tanto, tratamos os animais por 3 semanas com a dieta rica em gordura apenas para estabelecer a obesidade. Após esse período prévio, iniciamos o tratamento com o complexo.

Como podemos observar na figura 18, a dieta rica em gordura induziu o aumento significativo no peso corporal quando comparado aos animais-controle. O tratamento com o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ em todas as doses utilizadas impediu a evolução do ganho de peso corporal induzido pela dieta rica em gordura. O tratamento com o composto na dose de 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ demorou mais a apresentar efeito sobre o ganho de peso, mas reduziu a progressão da obesidade a partir do vigésimo dia de tratamento.

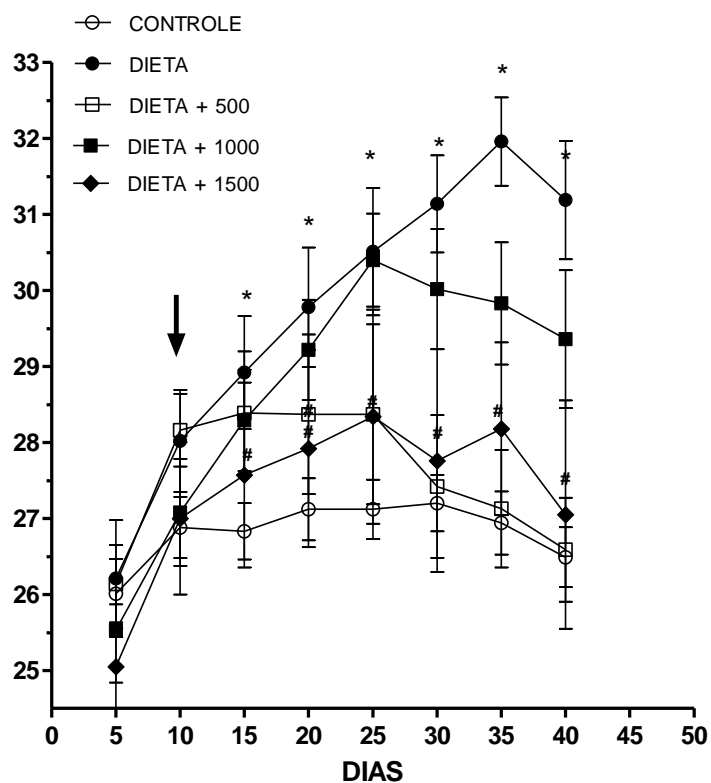


Figura 18: Peso corporal dos animais submetidos à dieta rica em gordura e tratados com complexo $[Cr(Q)_2Cl(H_2O)]$ nas doses 500, 1000 e 1500 mg/Kg P.C. A flecha indica o início do tratamento com o complexo. Os valores estão expressos com as médias \pm EP (n=5). *vs. Controle $p < 0.001$; # vs. Dieta, $p < 0.001$

Quando avaliamos a variação do peso corpóreo dos grupos estudados a partir do início do tratamento com a dieta rica em gordura (Figura 19), observamos que a dose de 500mg/kg foi muito eficiente em reverter a obesidade induzida pela dieta, mas as outras doses não apresentaram efeito significativo. É possível que um tempo maior de tratamento pudesse levar a redução do peso corporal nas doses de 1000 e 1500 mg/kg, já que no gráfico 18 podemos observar que a progressão da obesidade foi prevenida.

De fato, quando avaliamos a variação do peso corporal a partir do início do tratamento com o composto (Figura 20), podemos comprovar que todas as doses foram eficientes em reduzir o peso corporal.

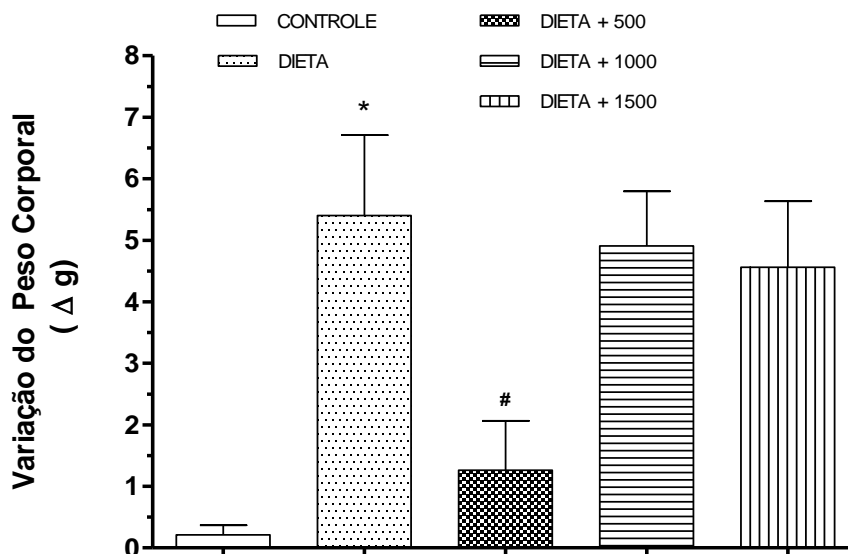


Figura 19: Variação do peso corporal de animais submetidos à dieta rica em gordura e tratados com o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ nas doses 500, 1000 e 1500 mg/Kg P.C. à partir do início do tratamento com a dieta hipercalórica. Os valores estão expressos com as médias \pm EP (n=5). * vs. Controle $p < 0.01$; # vs. Dieta, $p < 0.05$.

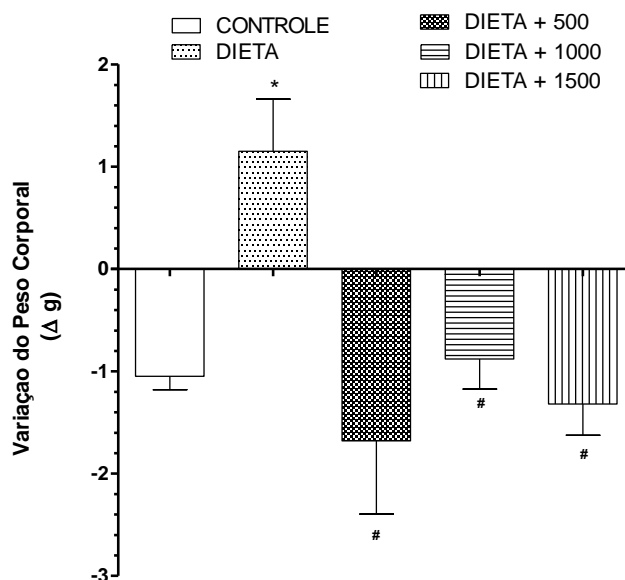


Figura 20: Variação do peso corporal de animais submetidos à dieta rica em gordura e tratados com o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ nas doses 500, 1000 e 1500 mg/Kg P.C. à partir do início do tratamento com o composto, ou seja, após o período de 3 semanas de tratamento com a dieta apenas. Os valores estão expressos com as médias \pm EP (n=5) * vs. Controle $p < 0.01$; # vs. Dieta, $p < 0.01$

A fim de determinar se a perda de peso se deveu a uma menor ingestão de calorias, foi avaliada a ingestão de comida ao longo do protocolo (Figura 21). Podemos observar que os animais do grupo Controle ingeriram maior quantidade de ração em relação aos outros quatro grupos. Esse efeito é esperado, pois os animais tendem a compensar a quantidade de calorias consumidas, reduzindo a ingestão de ração. Embora o consumo alimentar, em gramas, dos animais que receberam dieta rica em gordura tenha sido menor em relação aos animais tratados com a ração padrão, os animais que receberam a dieta rica em gordura ingeriram uma quantidade de calorias muito mais elevada do que a dos animais que receberam ração padrão, garantindo assim a sua condição hipercalórica.

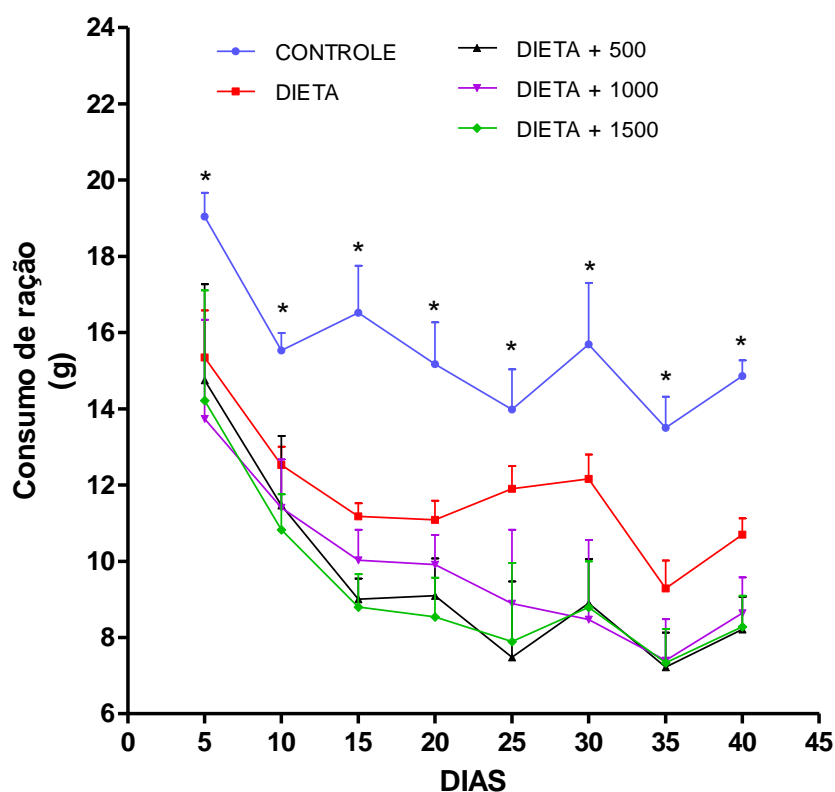


Figura 21: Consumo de Ração por Grupo. Foram feitas as médias do consumo a cada 5 dias, a partir do início do tratamento com a dieta hipercalórica até o último dia. Os valores estão expressos com as médias dos grupos e o desvio padrão de cada grupo (n=5). Os valores estão expressos com as médias \pm EP (n=5). * vs. Controle $p < 0.01$;

O tratamento com o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ parecer reduzir o consumo de ração quando comparados aos animais que comeram dieta rica em gordura apenas, embora não haja significância estatística.

O efeito do tratamento com o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ sobre o peso corporal nos levou a perguntar se outras alterações metabólicas ocasionadas pela ingestão da dieta rica em gordura também seriam corrigidas. Dessa maneira, foram avaliados os níveis de colesterol e triglicérides.

Na Figura 22 observamos que a dieta rica em gordura elevou o nível de colesterol plasmático em cerca de 25%. No entanto, o tratamento com o composto estudado não foi capaz de corrigir os níveis de colesterol plasmático.

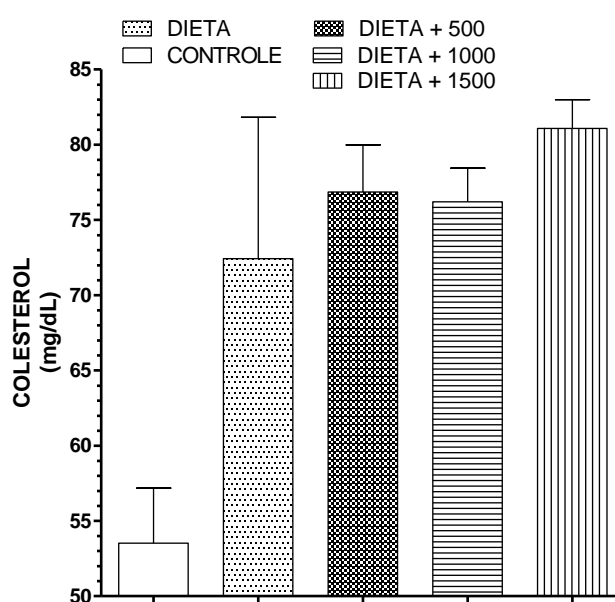


Figura 22: Dosagem de colesterol plasmático total de animais submetidos à dieta rica em gordura e tratados com o complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$. Os valores estão expressos com as médias \pm EP (n=5).

A dieta rica em gordura não foi capaz de elevar os níveis plasmáticos de triglicérides como pode ser observado na figura 23. No entanto, foram significativamente elevados no grupo DIETA + 1000 quando comparado com os demais grupos.

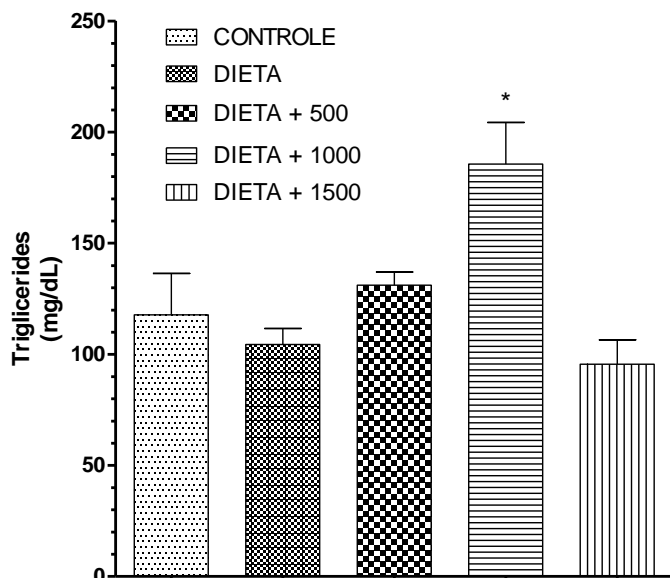


Figura 23: Dosagem de triglicérides dos animais submetidos a dieta rica em gordura e tratados com o conjugado. Os valores estão expressos como médias e o desvio padrão de cada grupo representado (n=5).

* vs todos os grupos, $p < 0.01$

A obesidade está intimamente ligada ao desenvolvimento da resistência à insulina (DAVIDSON, 1995). Assim, foi realizado o teste de tolerância a glicose (GTT) para testar se o complexo tem algum efeito sobre o metabolismo de glicose.

Inicialmente, na figura 24, podemos ver que a glicemia de jejum é significativamente mais alta nos grupos tratados com a dieta rica em gordura, quando comparados ao grupo controle. No entanto, o tratamento com o conjugado não corrigiu a resposta dos animais a sobrecarga de glicose. É interessante ainda notar que, nos animais do grupo DIETA + 500 existe uma tendência de piora na metabolização da glicose.

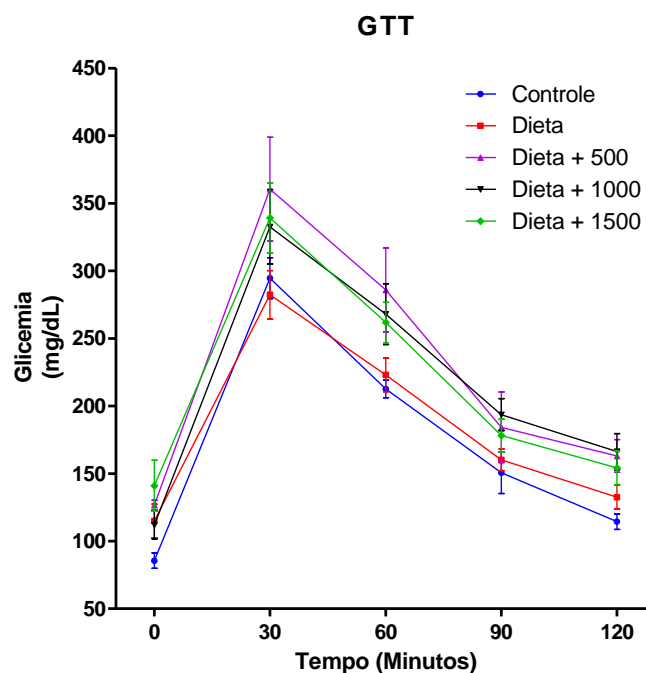


Figura 24: Teste de tolerância a glicose de animais submetidos à dieta rica em gordura e tratados com o conjugado. Os valores estão expressos como média e com desvio padrão.

3.3.2. DISCUSSÃO

A ingestão de dieta rica em gordura e, portanto, o aumento de calorias ingeridas pode levar ao ganho de peso excessivo e ao desenvolvimento de obesidade. O presente estudo avaliou o modelo de obesidade em camundongos C57 tratados com dieta rica em gordura. Esses animais apresentaram alterações metabólicas significativas, tais como o aumento no ganho do peso corporal, hiperglicemia, assim como dislipidemias, que podem ser caracterizadas como síndrome metabólica.

O tratamento com o complexo melhorou o ganho de peso corrigindo a obesidade. Algumas hipóteses podem ser levantadas para avaliar o que houve com os animais. O consumo alimentar dos animais tratados com o complexo parece ser menor apesar de não haver significância estatística. É possível que o complexo reduza o apetite por uma ação no hipotálamo, mas não temos evidências experimentais no presente estudo para suportar essa hipótese.

Como o peso corporal começou a apresentar uma queda no final do experimento, é possível que um tempo maior de tratamento possa levar à redução do peso corporal mais acentuada.

As outras alterações causadas pela síndrome metabólica, tais como hiperglicemia e hipercolesterolemia não foram corrigidas pelo tratamento com o complexo. Da mesma forma, é provável que o tempo de tratamento não tenha sido o suficiente para corrigir essas anormalidades.

4. Conclusão

A reação entre cloreto de crômio(III) e quercetina levou a formação de dois produtos um contendo somente uma molécula de quercetina ($[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) e outro com duas ($[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). As medidas espectroscópicas sugerem que a coordenação ao metal ocorre via grupos 4-ceto-5-oxi. Cálculos de modelagem molecular sugerem que a forma mais estável do complexo ($[\text{Cr}(\text{Q})\text{Cl}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$) é a que apresenta os cloretos em *trans*. O complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ já se encontrava descrito na literatura e sua forma mais estável apresenta o íon cloreto *trans* a molécula de água.

Medidas de análise elementar e de espectroscopia eletrônica e vibracional sugerem que o produto da reação entre o cluster $[\text{Cr}_3\text{OAc}_6(\text{H}_2\text{O})_3]\text{Cl}$ e a quercetina é uma espécie polinuclear contendo três unidades de cluster para uma de quercetina $[\{\text{Cr}_3\text{O}(\text{Ac})_6(\text{H}_2\text{O})_2\}_3(\text{HQ})]\text{Cl}_3$.

O estudo da formação dos compostos de inclusão com quercetina se mostrou muito problemático. Apesar dos diversos trabalhos descritos na literatura sobre esse tema, na prática é muito difícil obter resultados confiáveis, onde a degradação da quercetina e dos complexos seja a mínima possível. Após várias tentativas foi possível acertar as condições para determinar o K_s da quercetina, mas até o momento ainda não foi possível fazer o mesmo para os complexos.

Com relação à Síndrome metabólica, nosso estudo mostrou que a utilização do complexo $[\text{Cr}(\text{Q})_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ tem um efeito de reduzir o peso corporal, mas não apresenta efeito direto sobre o metabolismo de lipídeos e da glicose. É possível que a ausência de efeitos seja devida ao curto tempo de estudo. Assim tratamentos mais prolongados podem apresentar êxito em corrigir o peso corporal e as alterações causadas pela obesidade.

5. Formação de recursos humanos

5.1 Alunos de Iniciação Científica

5.1.1 André Luis Damasceno dos Santos

Curso – Química, 2º e 3º semestres

Agência de Fomento para bolsa de estudo: PIBIC Mackenzie/MackPesquisa

5.1.2. Heloísa Lombardi

Curso – Química, 2º e 3º semestres.

Agência de Fomento para bolsa de estudo: MACKPESQUISA.

5.1.3. Sabrina da Nóbrega Almeida

Curso – Química, 7º e 8º semestres

Agência de Fomento para bolsa de estudo: MACKPESQUISA

5.1.4. Vinicius Lanzotti Alves

Curso – Biologia, 7º e 8º semestres

Agência de Fomento para bolsa de estudo: MACKPESQUISA

6. Produção bibliográfica referente ao projeto de pesquisa

6.1 Comunicações em Congressos Científicos

6.1.1. Avaliação da atividade antinociceptiva de um complexo de crômio com quercetina.

Autores: S. N. Almeida, D. O. Toyama, M. J. P. Ferreira, P. Romoff, A. D. P. Alexiou.

Evento: 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Local: Águas de Lindóia, SP; Data: 28 a 31 de maio de 2012.

6.1.2. Study of the effect of chromium (III) complex with quercetin in biological parameters of obese mice.

Autores: S.N. Almeida, V. L. Alves, M. J. P. Ferreira, P. Romoff, M. O. Ribeiro, A. D. P. Alexiou.

Local: Florianópolis, SC; Data: 13 a 17 de agosto de 2012.

Referências Bibliográficas

- AGRAWAL, P.K. Carbon-13 NMR of flavonoids. Elsevier, Amsterdam, 1989.
- ALEXIOU, A. D. P.; TOMA, H. E. NMR Spectroscopic correlations for a series of triangular μ -oxoruthenium acetate clusters containing substituted pyridine ligands. *Journal of Chemical Research (S)*, p. 338-339, 1997.
- ALMEIDA, S. N.; PENA FERREIRA, M. J.; ROMOFF, P.; ALEXIOU, A. D. P. Síntese e caracterização de um novo complexo de crômio(III) com quercetina. *Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia, SP. 2010.
- BRAVO, A.; ANACONA, J. R. Metal complexes of the flavonoid quercetin: antibacterial properties. *Transition Metal Chemistry*, v 26, p. 20-23, 2001.
- CALABRÒ, M. L.; TOMMASINI, S.; DONATO, P.; RANERI, D.; STANCANELLI, R.; FICARRA, P.; FICARRA, R.; COSTA, C.; CATANIA, S.; RUSTICHELLI, C.; GAMBERINI, G.; Effects of α - and β -cyclodextrin complexation on the physico-chemical properties and antioxidant activity of some 3-hydroxyflavones. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.35, p. 365–377, 2004.
- CANNON, R.D.; WHITE, R.P. Chemical and physical properties of triangular bridged metal complexes. *Progress in Inorganic Chemistry*, v. 36, p. 195-298, 1988.
- CATTERICK, J.; THOMTON, P., Structures and physical properties of polynuclear carboxylates. *Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry*, 292-362, 1977.
- CHEN, W.; SUN, S.; CAO, W.; LIANG, Y.; SONG, J. Antioxidant property of quercetin-Cr(III) complex: The role of Cr(III) ion. *Journal of Molecular Structure*, v. 918, p. 194-197, 2009.
- CHOI, Y.; LEE, J.; CHO, K. W.; HWANG, S.; JEONG, K.; JUNG, S. Binding geometry of inclusion complex as a determinant factor for aqueous solubility of the flavonoid/ β -cyclodextrin complexes based on molecular dynamics simulations. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, v. 26, p. 1203-1208, 2005.
- CHOI, J.-H. Crystal structure and spectroscopic properties of trans-bis(nicotinato)(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane)chromium(III) perchlorate. *Inorganica Chimica Acta*, v. 362, p. 4231–4236, 2009.
- CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 28, n.1, p.1-9, 2007.

DECANDIO, C. C.; SILVA, D. D. E.; COSTA, M. R. L.; GOMES, C. F.; PENA FERREIRA, M. J.; ROMOFF, P.; ALEXIOU, A. D. P. Síntese e caracterização de um complexo de crômio(III) com 3,7-diidroxiflavona. *Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Águas de Lindóia, SP, 2010.

DEL VALLE, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, v. 39, p. 1033–1046, 2004.

DENG, H.; VAN BERKEL, G. J. Electrospray mass spectrometry and uv/visible spectrophotometry studies of aluminum(III) flavonoid complexes. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 33, p. 1080-1087, 1998.

DIAS, K.; NIKOLAOU, S.; DE GIOVANI, W. F. Synthesis and spectral investigation of Al(III) catechin/ β -cyclodextrin inclusion compounds. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 70, p. 154-161, 2008.

GLASS, M. M.; BELMORE, K.; VINCENT, J. B. Nuclear magnetic resonance studies of multinuclear chromium assemblies. *Polyhedron*, v. 12, n. 2, p. 133-140, 1993.

GREENWOOD, N.N.; EARNSHAW, A. *Chemistry of the Elements*. Pergamon Press, 2^a edição, 1997.

IGGO, J. A. *NMR Spectroscopy in Inorganic Chemistry*. New York: Oxford University Press, 90p., 1999.

JOHNSON, M. K.; POWELL, D. B. e CANNON, R.D. Vibrational spectra of carboxylato complexes – III. Trinuclear 'basic' acetates and formates of chromium(III), iron(III) and transition metals. *Spectrochimica Acta*, v. 37A, p. 995-1006, 1981.

JULIAN, C.; MOYANO, L.; YANEZ, C.; OLEA-AZAR, C. Complexation of quercetin with three kinds of cyclodextrins: An oxidant study. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 67, p. 230-234, 2007.

KUROZUMI, M.; NAMBU, N.; NAGAI, T. Inclusion compounds of non-steroidal antiinflammatory and other slightly water soluble drugs with α - and β - cyclodextrins in powdered form. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, v. 23, p. 3062-3068.

LUCAS-ABELLÁN, C.; FORTEA, I.; GABALDÓN, J. A.; NÚÑEZ-DELICADO, E. Encapsulation of quercetin and myricetin in cyclodextrins at acidic pH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 255–259, 2008.

- MALEŠEV, D.; KUNTIĆ, V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids *via* metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of Serbian Chemical Society*, v.72, p. 921-939, 2007.
- MATOS, W. O.; NÓBREGA, J. A.; SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A. Especificação redox de cromo em solo acidentalmente contaminado com solução sulfocrômica. *Química Nova*, v. 31, n.6, p. 1450-1454, 2008.
- NAKAMOTO, K. *Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds*. John Wiley & Sons, 3ª edição 1978.
- NGUYEN, A.; MULYANI, I.; LEVINA, A.; LAY, P.A. Reactivity of chromium (III) nutritional supplements in biological media: an x-ray absorption spectroscopic study. *Inorganic Chemistry*, v. 47, p. 4299-4309, 2008.
- PENACHIO Jr., J; ALEXIOU, A.D.P.; ROMOFF, P.; LAGO, J.H.G. Efeito do pH na interação do flavonóide quercetina com o cluster de crômio $[Cr_3O(CH_3CO_2)_6(MeOH)_3]Cl$. *Livro de Resumos do V Encontro de Iniciação Científica e VIII Mostra de Pós Graduação da Universidade Presbiteriana Mackenzie*, 2004.
- PRALHAD, T.; RAJENDRAKUMAR, K. Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v 34, p. 333-339, 2004.
- SILVA, D. D. E.; JARMENDIA, E. T. S.; ALMEIDA, S. N.; ROMOFF, P.; FERREIRA, M. J. P.; ALEXIOU, A. D. P. Estudo do efeito do íon crômio nas propriedades eletrônicas e antioxidantes do flavonóide quercetina. *Anais da 32ª. Reunião Anual da SBQ*, QI-035, 2009.
- SOUZA, R. F. V.; SUSSUCHI, E. M.; De GIOVANI W. F. Synthesis, electrochemical, spectral, and antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*. v. 33, n. 7, p. 1125–1144, 2003.
- SOUZA, R. F. V.; De GIOVANNI, W. F. Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. *Redox Report*, v.9, n. 1, 2004.
- SOUZA, R. F. V.; De GIOVANNI, W. F. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. *Spectrochimica Acta Part A*, v. 61, p. 1985–1990, 2005.
- SUN, S.; CHEN, W.; CAO, W.; ZHANG, F.; SONG, J.; TIAN, C. Research on the chelation between quercetin and Cr(III) ion by Density Functional Theory (DFT) method. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, v. 860, p. 40-44, 2008.

TOMA, H.E.; ARAKI, K.; ALEXIOU, A.D.P.; NIKOLAOU, S.; DOVIDAUSKAS, S. Monomeric and extended oxo-centered triruthenium clusters. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 219-221, p. 187-234, 2001.

UEMURA, S.; SPENCER, A.; WILKINSON, G. μ_3 -Oxotrimetal acetato-complexes of chromium, manganese, iron, cobalt, rhodium and iridium. *Journal of Chemical Society, Dalton Transactions*, p. 2565-2571, 1973.

VELHO, R.G. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico. Dissertação de Mestrado apresentada no Instituto de Química da Universidade de São Carlos, 2006.

VICENT, J. B. Chromium: celebrating 50 years as an essential element? *Dalton Transactions*, v. 39, p. 3787, 2010.

ZHENG, Y.; HAWORTH, I. S.; ZUO, Z.; CHOW, M. S.S.; CHOW, A. H. L. Physicochemical and structural characterization of quercetin- β -cyclodextrin complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 94, n. 5, p. 1079-1089, 2005.

ZHOU, J., WANG, L.-f., WANG, J.-y. E TANG, N. Synthesis, characterization, antioxidative and antitumor activities of solid quercetin rare earth(III) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v. 83, p. 41-48, 2001.