



Ministério da Educação  
Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química



**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS  
BASEADOS EM COBRE-AMINOÁCIDOS PARA AVALIAÇÃO  
DA ATIVIDADE LARVICIDA EM *Aedes aegypti*  
(DIPTERA: CULICIDAE)**

**CICERA MARIA DA SILVA**

Dourados – 2014



Ministério da Educação  
Universidade Federal da Grande Dourados  
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química



**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS  
BASEADOS EM COBRE-AMINOÁCIDOS PARA AVALIAÇÃO  
DA ATIVIDADE LARVICIDA EM *Aedes aegypti*  
(DIPTERA: CULICIDAE)**

**CICERA MARIA DA SILVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo José de Arruda-FACET/ UFGD

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade- IB/ UNICAMP

Dourados – 2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

S586s	<p>Silva, Cicera Maria da. Síntese e caracterização de complexos metálicos baseados em cobre-aminoácidos para avaliação da atividade larvicida em <i>Aedes aegypti</i> (Diptera: Culicidae). / Cicera Maria da Silva. – Dourados, MS : UFGD, 2014. 57f.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Eduardo José de Arruda. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Manejo. 2. Inseto vetor. 3. Metalto-inseticida. I. Título.</p> <p>CDD – 616.921</p>
-------	---

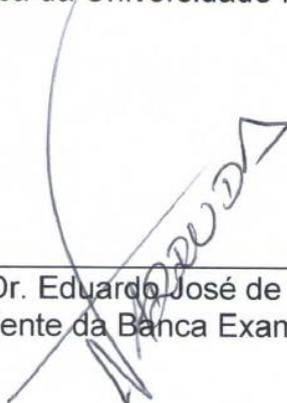
**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

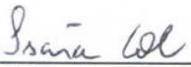
**©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.**

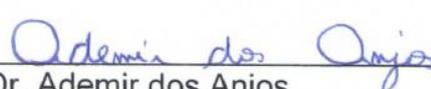


## Termo de Aprovação

Após a apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: "Síntese e Caracterização de Complexos Metálicos Baseados em Cobre-Aminoácidos Para Avaliação da Atividade Larvicida em *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae)", de autoria de Cicera Maria da Silva, apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Federal da Grande Dourados.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Eduardo José de Arruda (Orientador-UFGD)  
Presidente da Banca Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Isaiás Cabrini  
Membro Examinador (UFMS)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ademir dos Anjos  
Membro Examinador (UEMS)

Dourados/MS, 28 de fevereiro de 2014

*Isto é uma ordem: Sê forte e corajoso; não temas,  
nem te espantes, porque o Senhor, teu Deus,  
é contigo por onde quer que andares.*

**Josué 1:9**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha mãe Paula, meus irmãos queridos Solange e Valdeir, ao companheiro Leone, meu filho Douglas e a minha amiga irmã Uendinara Bilibio, pessoas que demonstram(ram) por mim, um grande amor e que são responsáveis por mais esta conquista.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus que nunca me abandonou e que me proporcionou alcançar meus objetivos durante o mestrado, construir novas amizades e ousar conquistas.

Agradeço pela compreensão, paciência e incentivo a minha família Paula, Solange, Valdeir, Leone e Douglas presente em todos os momentos.

Aos Professores Dr. Eduardo José de Arruda, Dr. Carlos Fernando Salgueirosa de Andrade (IB/UNICAMP), Dr. Isaías Cabrini (PNPD-FACET) e Doutoranda Magda Mattos Fernandes (LIVE-FCBA) pela orientação, incentivo, preocupação, instruções, análise e discussões dos resultados, e oportunidade para o desenvolvimento/realização deste projeto.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Química - PPGQ, em especial aos professores responsáveis pelas disciplinas cursadas, Dr. Cláudio Teodoro de Carvalho, Dr. Andrelson Wellington Rinaldi e Dr. Gleison Antônio Casagrande, Dra. Adriana Evaristo de Carvalho, Dra. Simone Delezuk Inglez, e outros não nominados, mas que foram importantes e serão sempre lembrados com carinho.

Aos amigos que foram responsáveis (uma palavra amiga, carinho, compreensão, ajuda, ensinamentos...) pela realização desse projeto e me apoiaram e incentivarão nos momentos que precisei: minha eterna amiga Uendinara e seus familiares, Robson, Eric, Tiago Tavares, Lis, Alessandra, Carol, Teresa, Mika, Vanessa, Iulle, Carlão, Cristiane, Luiz Fernando (PIBIC – EM), Geziel, Rafael, Hellenicy, Tiago Dinizz, Fabiano, Chirlei e Amanda.

À Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD, FUNDECT, CAPES-PROCAD NF 2008, e CNPq.

Enfim, a todos meus sinceros agradecimentos.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Bti</b>	<i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>
<b>CL</b>	Concentração letal
<b>DMSO</b>	Dimetilsufóxido
<b>EDTA</b>	Etilenodiamintetracético
<b>EROs</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>Fe<sup>III</sup></b>	Íon Ferro (III)
<b>His</b>	Histidina
<b>IV</b>	Infravermelho
<b>LIVE</b>	Laboratório de Insetos Vetores
<b>Met</b>	Metionina
<b>mg L<sup>-1</sup></b>	Miligrama por litro
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mmol</b>	Milimol
<b>ppm</b>	Partes por milhão (mg L <sup>-1</sup> )
<b>SD</b>	Sistema Digestório
<b>Tau</b>	Taurina
<b>TCML</b>	Transferência de carga metal para o ligante
<b>TCLM</b>	Transferência de carga do ligante para o metal
<b>TG</b>	Termogravimetria
<b>Trp</b>	Triptofano
<b>UBV</b>	Ultrabaixo-volume
<b>UV-Vis.</b>	Ultravioleta – visível
<b>MM</b>	Massa Molecular (g mol <sup>-1</sup> )

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Principais bandas e atribuições, em $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros no infravermelho para o aminoácido Trp e complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp: Dados da literatura e resultados experimentais da pesquisa .....	37
<b>Tabela 2</b> – Principais bandas e atribuições, em $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros no infravermelho para o aminoácido His e complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His: Dados da literatura e resultados experimentais da pesquisa .....	39
<b>Tabela 3</b> – Principais bandas e atribuições, em $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros no infravermelho para o aminoácido Met e complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met: Dados da literatura e resultados experimentais da pesquisa .....	40
<b>Tabela 4</b> – Principais bandas e atribuições, em $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros no infravermelho para o aminoácido Tau e complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau: Dados da literatura e resultados experimentais da pesquisa .....	42
<b>Tabela 5</b> - Análise Elementar (AE) de C, H, N para os complexos $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp, $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His, $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau .....	43
<b>Tabela 6</b> - Proposta de massa molecular (MM) e fórmula molecular dos complexos $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp, $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His, $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau .....	43
<b>Tabela 7</b> - Porcentagem de mortalidade média (%) ( $\pm$ DP) de larvas <i>Aedes aegypti</i> - linhagem Rockefeller em 8 e 24 horas de exposição aos complexos $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp, $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau.....	48
<b>Tabela 8</b> - Concentração Letal $\text{CL}_{10}$ , $\text{CL}_{50}$ e $\text{CL}_{90}$ do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau para larvas <i>Aedes aegypti</i> -Rockefeller .....	49

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura geral dos aminoácidos .....	19
<b>Figura 2</b> - Estrutura molecular do aminoácido Trp .....	20
<b>Figura 3</b> - Estrutura molecular do aminoácido His .....	21
<b>Figura 4</b> - Estrutura molecular do aminoácido Met .....	22
<b>Figura 5</b> - Estrutura molecular do aminoácido Tau .....	22
<b>Figura 6</b> - Ciclo de vida do vetor <i>Aedes aegypti</i> .....	25
<b>Figura 7</b> - Espectro de absorção no UV-Vis. do Trp, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp .....	32
<b>Figura 8</b> - Espectro de absorção no UV-Vis. da His, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His .....	33
<b>Figura 9</b> - Espectro de absorção no UV-Vis. da Met, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met .....	34
<b>Figura 10</b> - Espectro de absorção no UV-Vis. da Tau, $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau .....	35
<b>Figura 11</b> - Espectros de IV do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp e aminoácido Trp .....	36
<b>Figura 12</b> - Espectros de IV do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His e aminoácido His .....	38
<b>Figura 13</b> - Espectros de IV do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e aminoácido Met .....	40
<b>Figura 14</b> - Espectros de IV do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau e aminoácido Tau .....	41
<b>Figura 15</b> - Curva TG do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp .....	44
<b>Figura 16</b> - Curva TG do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His .....	45
<b>Figura 17</b> - Curva TG do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met .....	46
<b>Figura 18</b> - Curva TG do complexo $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau .....	47

## RESUMO

A dengue é uma arbovirose de alta incidência nos países tropicais e com notificações crescentes de agravamento nos países (sub)tropicais. O controle do vetor *Aedes aegypti* transmissor da dengue está fundamentado no uso de inseticidas químicos convencionais como organofosforados, piretroides, dentre outros disponíveis. A aplicação excessiva e contínua desses inseticidas possibilitou ao inseto vetor o desenvolvimento de resistência, logo o monitoramento e o manejo da resistência são elementos que devem ser considerados, além da proposta de uso de substâncias com modos de ação diferentes dos inseticidas convencionais, por exemplo, os complexos de cobre (metalo-inseticidas). Neste intuito foi avaliada a atividade tóxica dos complexos de cobre com os aminoácidos triptofano, histidina, metionina e taurina em larvas de *Aedes aegypti* linhagem Rockefeller. Dentre os complexos, apenas o  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Taurina apresentou atividade tóxica acentuada para larvas de *Aedes aegypti* possibilitando 100% de mortalidade em 24 horas na menor concentração testada sendo esta 50 ppm. O complexo de  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Histidina não apresentou atividade larvicida nas concentrações de até 1000 ppm. Para os complexos  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Triptofano e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Metionina as porcentagens de mortalidade variaram entre 3,16%- 46,55% e 5,46%- 12,42% respectivamente. Considerando a concentração de 1000 ppm para 24 horas de exposição das larvas aos complexos, pode-se propor a seguinte série de toxicidade  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Taurina >>  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Triptofano >  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Metionina>>>  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Histidina.

**Palavras chave:** Manejo, inseto vetor, metalo-inseticida.

## ABSTRACT

Dengue is an arbovirus that has high incidence in tropical countries and recently is of worsening increasing in (sub)tropical countries. The dengue's transmitter (*Aedes aegypti*) control is mainly based on the use of conventional chemical insecticides such as organophosphates, pyrethroids, among others. Excessive and continuous application of these insecticides enabled resistance insect vector's development, therefore, monitoring and resistance management are elements that should be considered. In this context, were evaluated the toxic activity of copper complexes with amino acids tryptophan, histidine, methionine and taurine on *Aedes aegypti*, Rockefeller strain. Among the complexes, only the Cu<sup>II</sup>-Taurine showed strong toxic activity allowing 100% of mortality within 24 hours in the lowest concentration being 50 ppm. The complex Cu<sup>II</sup>-Histidine didn't show any larvicidal activity at the tested concentrations to 1000 ppm. For Cu<sup>II</sup>-Tryptophan and Cu<sup>II</sup>-Methionine complexes, the percentages of mortality ranged from 3.16% to 46.55% and 5.46% to 12.42% respectively. Considering the concentration of 1000 ppm for 24 hours of exposure to the larvae complexes can be proposed the following of toxicity series. The toxicity series to metal-amino acid is: Cu<sup>II</sup>-Taurine >> Cu<sup>II</sup>-Tryptophan > Cu<sup>II</sup>-Methionine >> Cu<sup>II</sup>-Histidine

**Keywords:** Management, insect vector, metallo-insecticide.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>17</b>
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
3.1 Cobre.....	18
3.2 Aminoácidos.....	19
3.2.1 Triptofano (Trp) .....	20
3.2.2 Histidina (His) .....	21
3.2.3 Metionina (Met) .....	22
3.2.4 Taurina (Tau) .....	22
3.3 Complexo de cobre com Aminoácidos.....	23
3.3.1 Complexo de cobre com aminoácido Triptofano (Trp) .....	23
3.3.2 Complexo de cobre com aminoácido Histidina (His) .....	24
3.3.3 Complexo de cobre com aminoácido Metionina (Met).....	24
3.3.4 Complexo de cobre com aminoácido Taurina (Tau) .....	24
3.4 Dengue e <i>Aedes aegypti</i> .....	24
3.4.1 Estratégias de controle do vetor <i>Aedes aegypti</i> .....	26
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
4.1 Sínteses dos complexos.....	27
4.1.1 Cu <sup>II</sup> -Trp .....	27
4.1.2 Cu <sup>II</sup> -His.....	27
4.1.3 Cu <sup>II</sup> -Met.....	27
4.1.4 Cu <sup>II</sup> -Tau.....	28
4.2 Espectroscopia de absorção na Região do Ultravioleta - Visível (UV-Vis.) .....	28
4.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV) .....	28
4.4 Análise Elementar .....	29
4.5 Análise Termogravimétrica (TG) .....	29
4.6 Teste de suscetibilidade dos complexos em larvas de <i>Aedes aegypti</i> - linhagem Rockefeller.....	29
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>

5.1 Sínteses dos complexos metal-aminoácidos.....	31
5.1.1 Cu <sup>II</sup> -Trp.....	31
5.1.2 Cu <sup>II</sup> -His.....	31
5.1.3 Cu <sup>II</sup> -Met.....	31
5.1.4 Cu <sup>II</sup> -Tau.....	31
5.2 Espectroscopia de absorção na região do Ultravioleta - visível (UV-Vis).....	32
5.3 Espectroscopia vibracional de absorção na região do Infravermelho (IV).....	35
5.4 Análise elementar (AE).....	42
5.5 Análise termogravimétrica (TG).....	44
5.6 Teste de suscetibilidade dos complexos em larvas de <i>Aedes aegypti</i> - linhagem Rockfeller.....	47
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>51</b>
<b>7 SUGESTÕES E PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>52</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A dengue é uma arbovirose que apresenta alta incidência nos países tropicais e notificações crescentes nos países subtropicais. A transmissão e a persistência da dengue estão associadas às condições ecológicas e socioambientais que propiciam a criação do vetor *Aedes aegypti* e conseqüentemente seu contato com o homem. Como uma vacina ainda não está disponível, o controle da dengue se baseia principalmente no controle do vetor e o uso de inseticidas químicos (controle químico) continua sendo essencial nos programas de controle integrado [1].

No entanto a eficácia do controle químico está ameaçada, pois o uso excessivo e contínuo de inseticidas possibilitou ao inseto vetor o desenvolvimento de resistência. O número de casos de resistência relatados para inseticidas tem sido crescente em vários países. No Brasil, por exemplo, a resistência de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós é descrito para os Estados da Paraíba [2], Distrito federal [3], São Paulo [1, 4], Espírito Santo [5], Rio de Janeiro [5], Mato Grosso do Sul [6, 7], dentre outros.

Apesar da impossibilidade para evitar o desenvolvimento de resistência em populações de insetos expostas aos inseticidas, é possível retardar esse processo com medidas de manejo de resistência como, por exemplo, implementação de estratégia do controle integrado que restrinja o máximo possível o uso de métodos químicos para o controle vetorial; também é aconselhável o planejamento do ativo inseticida usado no controle químico, empregando metodologias que retardam o processo de resistência, como por exemplo, o uso de sinergistas, aplicação de inseticidas em mosaico, uso de misturas e rotações de inseticidas [8].

Devido os inseticidas químicos representar uma ferramenta importante nos programas integrados de controle, o monitoramento e o manejo da resistência são elementos que devem ser considerados. Outra proposta para o manejo de resistência seria o uso de substâncias com modos de ação diferentes dos inseticidas químicos convencionais (organofosforados, piretroides, dentre outros), esses inseticidas convencionais tem como alvo o sistema nervoso central e/ou periférico e/ou inibição enzimática alterando o metabolismo do inseto [9].

Os inseticidas biológicos, baseados em toxinas de microorganismos (bactérias e fungos) diferem dos inseticidas convencionais, pois possuem atividade tóxica, principalmente, para o sistema digestório do inseto (SD). Propostas de inseticidas/larvicidas baseados no íon

metálico  $\text{Cu}^{\text{II}}$  possui modo de ação também para SD, porém na forma de complexos a porcentagem de mortalidade de larvas mostrou-se superior, ou seja, os ligantes comportam-se como carreadores ativos de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  possibilitando uma maior toxicidade para o sistema digestório (SD), com a desorganização da matriz peritrófica (primeira linha de defesa) e conseqüentemente causando “*in vivo*” e “*in situ*” danos celulares intensos e continuados por reações de estresse oxidativo e morte das larvas [10]. Estudo histopatológico revelou que os danos celulares e metabólicos induzidos pelo íon complexo  $[\text{Cu}(\text{EDTA})]$ , por exemplo ocorrem com maior intensidade no SD de larvas de *Aedes aegypti* com o aumento da concentração deste íon complexo (dose-dependente) [11, 12].

Os complexos de cobre(II) com os aminoácidos ácidos glutâmico (Glut) e aspártico (Asp) também apresentam toxicidade para larvas de *Aedes aegypti* no final de 3º e início de 4º estágio de desenvolvimento, os resultados obtidos para concentração letal de 50% ( $\text{CL}_{50}$ ) de mortalidade foi de 53,40 ppm para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Glutamato ( $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Glut) e 100,25 ppm para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Aspartato ( $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Asp) [13].

Com a apresentação de atividade tóxica dos complexos anteriormente citados, pode-se inferir que complexos de cobre com aminoácidos triptofano (Trp), histidina (His), metionina (Met) ou taurina (Tau) também poderiam apresentar toxicidade para larvas de *Aedes aegypti*, vetor da dengue no Brasil. Estes aminoácidos essenciais e não essenciais seriam/poderiam ser carreadores e ligantes metabólicos para o exercício da toxicidade do íon  $\text{Cu}^{\text{II}}$ , além de terem funções biológicas importantes e/ou estimular o metabolismo para intensificação da atividade de estresse oxidativo e potencialização da toxicidade induzida. Esses estudos complementam estudos anteriores que foram realizados com a utilização de diversas classes de complexos metálicos (aminopolicarboxilatos, alcaloides, polissacarídeos, lipídios fenólicos, coloides inorgânicos, entre outros) e permitem o entendimento da função biológica, da complexação e da elucidação da atividade metabólica e/ou tóxica de complexos metálicos no organismo dos insetos. Podem ainda permitir a proposta de novas classes de inseticidas com a possibilidade de serem mais eficientes e abrangentes/ multifuncionais (metalo-inseticidas), de menor custo e impacto ambiental (auto-recicláveis).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais

Avaliação da toxicidade dos complexos metálicos de cobre(II) com os aminoácidos triptofano (Trp), histidina (His), metionina (Met) e taurina (Tau) em larvas de *Aedes aegypti*, linhagem Rockefeller (linhagem susceptível).

### 2.2 Objetivos específicos

- Síntese dos complexos metálicos cobre (II)- aminoácidos;
- Caracterização dos complexos metálicos pelas técnicas de espectroscopia vibracional de absorção na região do Infravermelho (IV), espectroscopia de absorção na região do ultravioleta – visível (UV-Vis.), análise elementar (AE) e análise termogravimétrica (TG);
- Avaliação da suscetibilidade de larvas de início de 3º e final de 4º estágio de *Aedes aegypti*, linhagem Rockefeller aos complexos formados e aos aminoácidos metionina (Met), triptofano (Trp), histidina (His) e Taurina (Tau).

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 Cobre

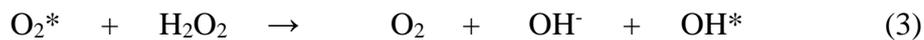
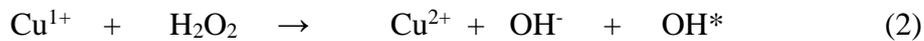
O cobre é um elemento químico que apresenta configuração eletrônica  $3d^{10}4s^1$ , possui duas formas iônicas mais usuais o íon cobre (I) ( $Cu^I$ ) com configuração  $3d^{10}$  e o íon cobre (II) ( $Cu^{II}$ ) com configuração  $3d^9$ , sendo o último o estado de oxidação mais estável. Compostos formados com a configuração eletrônica  $d^{10}$ , ou seja,  $Cu^I$ , geralmente são incolores e adotam preferencialmente a geometria tetraédrica [14]. A configuração eletrônica  $d^9$  dá origem a compostos de  $Cu^{II}$  colorido resultado das transições d-d, a geometria adotada pode ser quadrada planar, bipirâmide trigonal ou octaédrica para o número de coordenação 4, 5 ou 6 respectivamente. Neste estado de oxidação o  $Cu^{II}$  é uma espécie capaz de aceitar elétrons do ligante originando a transferência de carga do ligante para o metal (TCLM) [14, 15].

O cobre está envolvido em inúmeros processos biológicos vitais sendo um micronutriente e constituinte importante de um grande número de proteínas e enzimas. Devido ao seu elevado potencial redox, torna-se essencial nas reações de fotossíntese, respiração, formação de tecido conjuntivo, metabolismo do ferro e na função neurológica [16].

Além da sua importância nesses processos, alterações do metabolismo do cobre, como por exemplo, o acúmulo de armazenamento no fígado provocam distúrbios que se manifestam através de cirrose hepática aguda, danos aos túbulos renais, danos cerebral, podendo haver evolução para estados de coma, necrose hepática e morte. Em relação às doenças que envolvem o cobre tem-se a de Menkes e de Wilson. A doença de Menkes é uma doença hereditária provocada pela deficiência de cobre, o que possibilita um desenvolvimento neurológico anormal sendo mais comum em homens e tem seu surgimento na infância. Causa deterioração do sistema nervoso (atraso mental) e fraqueza muscular [17]. Já a doença de Wilson é de origem hereditária autossômica recessiva, provocada pela deficiência da excreção biliar o que ocasiona o acúmulo excessivo de cobre no cérebro, rins e córnea. Os sintomas da doença incluem tremores ou distonia, perda de movimentos e mudanças comportamentais [18].

O cobre também está envolvido na formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). Tanto o íon cúprico,  $Cu^{II}$ , como o íon cuproso,  $Cu^I$ , podem atuar em reações de redox. Na presença de superóxido ( $*O_2^-$ ) o íon cúprico pode ser reduzido ao íon cuproso (equação 1), o qual é capaz de catalisar a formação de radicais hidroxila ( $OH^*$ ) a partir do peróxido de

hidrogênio (Equação 2) [19]. A reação líquida destas duas reações é nomeada de Reação de Haber Weiss (equação 3).

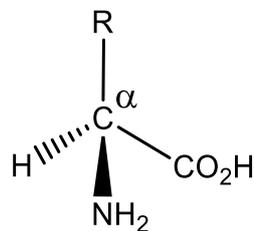


O radical hidroxila é um potente oxidante, capaz de reagir com todas as moléculas biológicas, podendo gerar intensos danos através da clivagem de ligações, ligações cruzadas e consequentemente causar a morte celular e danos continuados e irreversíveis nos tecidos.

### 3.2 Aminoácidos

Os aminoácidos (monômeros de proteínas) apresentam uma estrutura geral que consiste num grupo amino, um grupo carboxílico e um grupo variável R (cadeia lateral), ligados a um átomo de carbono alfa ( $\text{C}_\alpha$ ). A estrutura geral dos aminoácidos está ilustrada na Figura 1.

**Figura 1** - Estrutura geral dos aminoácidos



Todos os aminoácidos contêm em sua estrutura carbono, hidrogênio, azoto (nitrogênio) e oxigênio, além de dois aminoácidos que também contêm enxofre (metionina e cisteína). A especificidade de cada aminoácido é atribuída às características variáveis na cadeia lateral R. Em solução, os aminoácidos comportam-se como ácidos ou bases fracas, devido ao carácter ácido do grupo carboxílico ( $\text{COOH}$ ) e básico do grupo amina ( $\text{NH}_2$ ). Na faixa de pH de 1 a 14, estes grupos apresentam uma série de equilíbrios, envolvendo a ligação e a dissociação de um próton. O estado de ionização varia com o pH, assim em meio ácido, o grupo carboxílico está neutro ( $\text{COOH}$ ) e o grupo amina está ionizado ( $\text{NH}_3^+$ ), enquanto que em solução básica, o grupo carboxílico está ionizado ( $\text{COO}^-$ ) e o grupo amina está neutro ( $\text{NH}_2$ ). Em pH igual a 7, os aminoácidos existem na forma de íons dipolares, ou seja, existem na forma zwitteriônica, com o grupo amina protonado ( $\text{NH}_3^+$ ) e o grupo carboxílico na forma

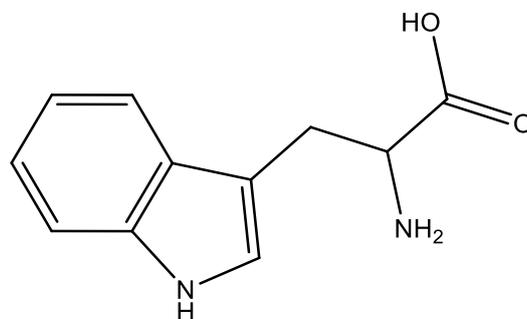
ionizado ( $\text{COO}^-$ ). Do mesmo modo, a cadeia lateral R pode conter grupos funcionais com caráter doador ou receptor de prótons, o que, no caso de alguns aminoácidos como a arginina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutâmico, histidina, lisina, tirosina, envolve um valor de pKa adicional [20]. A acidez pode ser expressa pelo pKa. Quanto menor o valor de pKa maior a acidez do ácido considerado; quanto maior valor de pKa, menor a extensão da dissociação que este ácido sofre em meio aquoso (equação Henderson–Hasselbalch). Um ácido fraco tem um valor de pKa na faixa de aproximadamente (-)2 a 12 em água. Ácidos com um valor de pKa menor que aproximadamente (-)2 são ditos como sendo ácidos fortes; um ácido forte é quase totalmente dissociado em solução aquosa, na medida em que a concentração do ácido não dissociado torna-se indetectável.

Os aminoácidos podem ser essenciais ou não essenciais, um aminoácido essencial é aquele que o organismo considerado (normalmente, o organismo humano) não é capaz de sintetizar, mas é necessário para o seu funcionamento. O organismo humano é incapaz de sintetizar cerca de metade dos vinte aminoácidos mais comuns, assim os obtêm através da dieta, pela ingestão de alimentos ricos em proteínas. Os aminoácidos não essenciais são necessários para o bom funcionamento do organismo, mas podem ser sintetizados *in vivo* a partir de metabólitos.

### 3.2.1 Aminoácido triptofano (Trp)

O triptofano (Trp) (aminoácido essencial) conhecido como ácido (S)-2-Amino-3-(indol-3-yl)-propiónico (Número CAS: 73-22-3) possui a fórmula química  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ , massa molar (MM):  $204,21 \text{ g mol}^{-1}$  e ponto de fusão (PF):  $290\text{-}295^\circ\text{C}$ . A Figura 2 ilustra a estrutura molecular do Trp.

**Figura 2**-Estrutura molecular do aminoácido Trp.



É um dos aminoácidos aromático codificados pelo metabolismo, portanto um dos componentes das proteínas nos seres vivos, responsável pela promoção da sensação do bem-

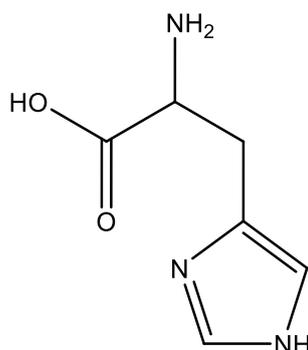
estar é usado como ingrediente ativo em antidepressivos e hipnóticos assim como nutriente para alimentação animal [21].

O Trp é um aminoácido importante para o cérebro e para síntese da serotonina, além de um neurotransmissor nos processos bioquímicos do sono e do humor. Embora o Trp eleve os níveis de serotonina, o excesso de Trp não tem efeito significativo sobre a síntese de serotonina no sistema nervoso central devido à competição dos aminoácidos no processo de digestão/absorção, mas a falta deste está correlacionada à depressão e distúrbios serotoninérgicos [22]. A toxicidade  $DL_{50}$  é maior que  $16.000 \text{ mg kg}^{-1}$  (Rato, via oral) [23].

### 3.2.2 Aminoácido histidina (His)

A estrutura da histidina (His) está representada na Figura 3. Possui a fórmula química  $C_6H_9N_3O_2$ , massa molar (MM):  $155,15 \text{ g mol}^{-1}$  e ponto de fusão (PF):  $272-273^\circ\text{C}$ . É um dos aminoácidos essenciais para organismos humanos e de outros mamíferos. Em sua estrutura apresenta um grupo imidazol, este aminoácido está envolvido nas ligações dos grupos prostéticos e encontra-se na maioria dos sítios ativos de enzimas. É provavelmente o mais importante ligante no sítio ativo metálico de sistemas biológicos. O grupo imidazol está coordenado a metais de transição em várias moléculas de importância biológica, como por exemplo, nos sistemas ferro-heme, vitamina  $B_{12}$  e seus derivados e outras metalo-proteínas. A His tem três pontos de coordenação o oxigênio grupo carboxílico e dois nitrogênio um do grupo amina e outro do grupo imidazol que podem ser utilizados dependendo do pH, da presença de outros ligantes e da geometria de coordenação do metal [24].

**Figura 3**-Estrutura molecular do aminoácido His.



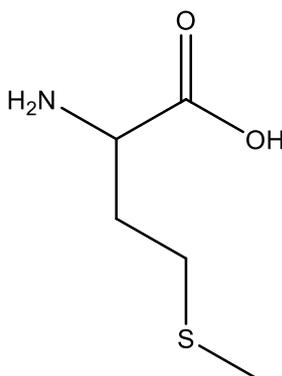
A His desempenha papel essencial no crescimento de mamíferos, reparação dos tecidos, controla o transporte de íons metálicos em bases biologicamente importantes e minimiza o sangramento interno de pequenos traumas. No entanto altos níveis de histidina

podem resultar em intoxicação e distúrbios psicológicos [25] e baixos níveis podem induzir doenças como Epilepsia e Parkinson [26].

### 3.2.3 Aminoácido metionina (Met)

A Met (Ácido (S)-2-amino-4-(metil sulfonil)-butanóico) (aminoácido essencial), possui a fórmula química  $C_5H_{11}NO_2S$ , massa molar (MM):  $149,21 \text{ g mol}^{-1}$  e ponto de fusão (PF):  $280-285^\circ\text{C}$ . A Met é um aminoácido essencial que contém um átomo de enxofre (S) em sua estrutura molecular como ilustrado na Figura 4, considerado precursor do aminoácido cisteína e homocisteína e também contribui para a síntese de colina, participa na formação de componentes não-proteicos celulares e apresenta propriedades neurotóxicas, possibilitando o desenvolvimento de doenças como a esquizofrenia, a doença de Parkinson e o Alzheimer. Devido à suscetibilidade à oxidação “*in vivo*” o aminoácido Met está envolvido nas reações de estresse oxidativo [27].

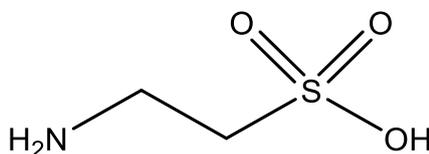
**Figura 4-** Estrutura molecular do aminoácido Met.



### 3.2.4 Aminoácido taurina (Tau)

A estrutura do aminoácido Tau (ácido 2-aminoetanossulfônico), ilustrada na Figura 5, possui a fórmula química  $C_2H_7NO_3S$ , massa molar (MM):  $125,15 \text{ g mol}^{-1}$  e ponto de fusão (PF)  $320^\circ\text{C}$ . O aminoácido Tau é considerado um  $\beta$ -aminoácido, devido o grupo amino estar ligado ao carbono beta ( $C_\beta$ ) e não ao carbono alfa ( $C_\alpha$ ) e contém o grupo sulfônico ( $SO_3H$ ) em substituição ao grupo COOH diferindo estruturalmente da maioria dos aminoácidos [28, 29].

**Figura 5-** Estrutura molecular do aminoácido Tau.



Outra característica que a diferencia dos demais aminoácidos é que a Tau não está incorporada às proteínas, existindo em sua forma livre na maioria dos tecidos animais, ocorrendo abundantemente no músculo, plaquetas e no sistema nervoso em desenvolvimento [30]. É um aminoácido considerado não-essencial e essencial, pois pode ser obtido pela biossíntese a partir dos aminoácidos metionina e cisteína ou através da alimentação dos produtos de origem animal (principalmente peixes e frutos do mar) e bebidas energéticas. A Tau está envolvida em vários processos biológicos como a formação de sais biliares, inibição do estresse oxidativo, possui ação anti-inflamatória e anti-hipertensiva, dentre outros [31, 32].

### 3.3 Complexos de cobre com aminoácidos

O primeiro complexo preparado entre um metal e aminoácido foi obtido através da reação do cobre com a leucina ( $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Leu}$ ) e posteriormente foi sintetizado o complexo de cobre com a glicina ( $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Gli}$ ). Desde então a síntese de complexos binários, ternários, dentre outros entre íons metálicos com aminoácidos são descritos na literatura, seja para determinar: as constantes de formação através da utilização de técnicas polarográfica e espectrofotométrica [33], a estrutura molecular e propriedades magnéticas [34], o equilíbrio de formação do complexo em pH fisiológico [35], propriedades ácido-base [36], comparar os modos de coordenação em meio aquoso [37], dentre outras propriedades.

O interesse pelo estudo da complexação do íon cobre ( $\text{Cu}^{\text{II}}$ ) com os aminoácidos Trp, His, Met e Tau pode ser atribuída ao fato desses aminoácidos exibirem a tendência quelante em meio biológico, carreadores e/ou permitem entender as interações dos aminoácidos com metal, pois estes constituem modelos de metalo-proteínas e metalo-enzimas [34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41].

#### 3.3.1 Complexos de cobre(II) com aminoácido triptofano

O complexo binário de fórmula molecular  $\text{Cu}(\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2)_2$  de coloração azul foi obtido através da reação do cloreto de cobre dihidratado  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  com aminoácido Trp. Os resultados da técnica análise elementar indicaram as porcentagens de carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N) iguais à 56.1%, 4.8% e 11.8% respectivamente, o que está de acordo com os valores de porcentagens calculadas para o C de 56.2%, H 4.7% e N 11.9% [42].

A literatura [43] relata a obtenção do complexo ternário de coloração violeta e fórmula molecular  $\text{Cu}_2(\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{PO}_7)(\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , este complexo foi obtido através da reação do nitrato de cobre ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ) com aminoácido Trp e o nucleotídeo adenosina 5'-fosfato (5'-AMP). A análise elementar forneceu as porcentagens de C, H e N de 41.6%, 4.1% e 13.7%

respectivamente, o que está de acordo com os valores de porcentagens calculadas para o C de 41.8%, H de 4.3% e N de 13.7%.

### 3.3.2 Complexo de cobre(II) com aminoácido histidina

A His pode ligar-se ao cobre de forma bidentada pelos átomos N do grupo amino e O do grupo carboxílico ou tridentada utilizando esses mesmos átomos mais o N do grupo imidazol, podendo formar complexos binário ou ternário. O complexo binário de coloração azul-violeta e fórmula molecular  $[\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2)_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_2$  exibe a coordenação bidentada da His [44]. A literatura [45] relata que dependendo do pH o aminoácido His exibe os dois modos de coordenação, resultando em um complexo binário de coloração azul e geometria quadrado planar para coordenação bidentada ou geometria pirâmide de base quadrada distorcida para coordenação tridentada.

Dois exemplos de complexos ternário de coloração marrom escuro contendo His coordenada tridentamente e o ácido hipúrico diferem apenas na água de hidratação como demonstrado nas fórmulas moleculares  $[\text{Cu}_2(\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_2)_2-\mu-(\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_2].2\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Cu}_2(\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_3\text{O}_2)_2-\mu-(\text{C}_9\text{H}_8\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})_2]$ , esses complexos são binucleares em que o ácido hipúrico se comporta como um ligante ponte. A estrutura pirâmide de base quadrada também é sugerida para ambos os complexos [46].

### 3.3.3 Complexo de cobre(II) com aminoácido metionina

O complexo binário de fórmula molecular  $\text{Cu}(\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2)_2$  e coloração azul escuro é formado pela reação da Met com o íon metálico cobre (II) independente da razão estequiométrica, ordem de adição dos reagentes e solvente [47]. A geometria proposta para este complexo é octaédrica distorcida, formada pela coordenação de duas Met com os átomos de N e O de cada e duas ligações da Met vizinha através do O do grupo carboxílico [47, 34]. Um produto comercial nomeado de Copamin apresenta 40% deste complexo é usado para suplementação animal na Coreia [48].

### 3.3.4 Complexo de cobre(II) com aminoácido taurina

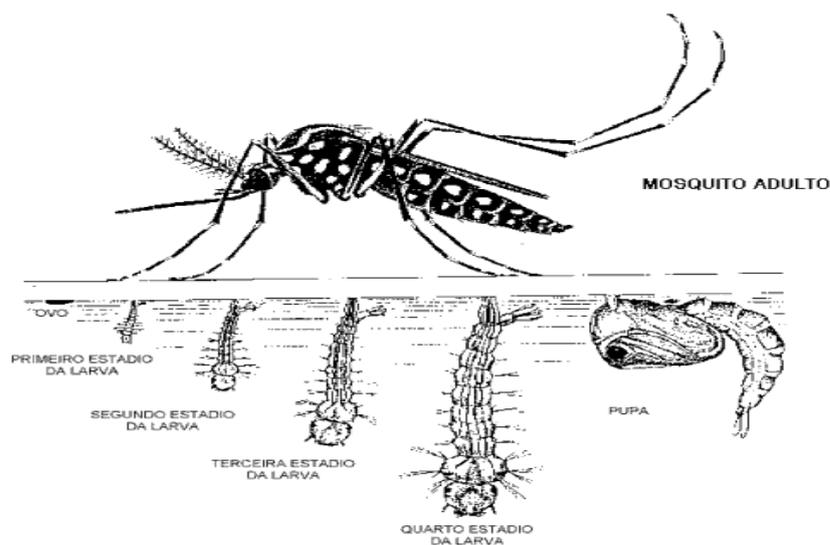
O complexo de coloração azul e fórmula molecular  $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_6\text{NO}_3\text{S})_2.2\text{H}_2\text{O}$  é obtido pela reação estequiométrica 1:2 ( $\text{Cu}^{\text{II}}:\text{Tau}$ ). A geometria octaédrica distorcida é proposta devido cada ligante Tau coordenar-se ao cobre pelos átomos de N e O totalizando quatro ligações. O restante das ligações são atribuídas aos átomos de O de duas moléculas de água coordenante [49].

### 3.4 Dengue e *Aedes aegypti*

A dengue é considerada uma das mais preocupantes doenças virais transmitida por mosquito. A doença é endêmica em mais de 100 países para os quais anualmente são estimadas de 50 a 100 milhões de novas infecções e mais de 25000 mortes [50]. Considerado um grave problema de saúde pública exige esforços e investimentos cada vez mais onerosos. Com exceção da Europa, a doença atinge todos os continentes em que os países possuem climas tropicais ou subtropicais, onde as condições como mudanças climáticas (aumento da temperatura, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar) [51] e urbanização não planejada (falta de infraestrutura e saneamento) [52] favorecem o desenvolvimento/ antropofilização do mosquito *Aedes aegypti* transmissor dos cinco sorotipos do vírus da dengue.

O *Aedes aegypti* é um mosquito doméstico, antropofílico, com atividade hematofágica diurna (amanhecer e entardecer), possui o ciclo de vida dividido em quatro fases (Figura 6): ovo, larva, pupa e inseto adulto. As fêmeas de *Aedes aegypti* depositam os ovos próximos à superfície d'água. O contato dos ovos com a água por dois a três dias a depender das condições (temperatura e umidade) possibilita a eclosão das larvas. Na natureza os ovos de *Aedes aegypti* podem permanecer viáveis por até 450 dias [53].

**Figura 6-** Ciclo de vida do vetor *Aedes aegypti*.



Fonte: Literatura [53]

Na fase larval ocorrem quatro estádios de desenvolvimento, a alimentação é baseada em detritos orgânicos e microrganismos disponíveis nos criadouros. A pupa possui formato de

vírgula, não requer alimento, movimenta-se rapidamente na água, seu desenvolvimento dura em média três dias e após este período o inseto adulto emerge. Este se alimenta de fontes que possuam carboidratos; porém a fêmea além de consumir esta fonte de alimento também irá se alimentar frequentemente de sangue (repasto sanguíneo; hematofagia), essencial para a vitelogênese e conseqüentemente para continuidade do ciclo reprodutivo [53].

### 3.4.1 Estratégias de controle do vetor *Aedes aegypti*

As estratégias de controle do vetor *Aedes aegypti* são classificadas em controle mecânico, biológico, legal e químico. O controle mecânico consiste em práticas direcionadas aos criadouros como a proteção ou destruição ou destinação adequada de recipientes que possam acumular água. O controle biológico é baseado na utilização de inimigos naturais ou patógenos como agentes de controle e dentre as alternativas disponíveis destaca-se o *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)*. O *Bti* tem elevada propriedade larvicida e seu mecanismo de atuação baseia-se na produção de endotoxinas proteicas que são ingeridas pelas larvas e conseqüentemente provoca sua morte. Este inseticida biológico e outros vem sendo utilizado nos municípios que foram detectados resistência aos inseticidas organofosforados [54].

O controle legal consiste na aplicação de normas e leis que regulamentam determinadas ações como, por exemplo, responsabilizar o proprietário pela manutenção e limpeza de terrenos baldios, assegurar a visita domiciliar do agente de controle de endemias aos imóveis fechados, abandonados e/ou onde exista recusa à inspeção [55].

O controle químico, o mais utilizado, consiste no uso de substâncias químicas para o controle do vetor nas fases larvária e adulta. A utilização de inseticidas em saúde pública tem por base normas técnicas e operacionais desenvolvida pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que preconiza os princípios ativos e recomenda as doses desses produtos para os tipos de tratamento disponíveis [56].

A aplicação de inseticidas para o controle do *Aedes aegypti* pode ser feito através do tratamento focal, tratamento perifocal e da aspersão aeroespacial em ultrabaixo-volume (UBV). O tratamento focal consiste na aplicação de um produto larvicida nos depósitos que não possam ser eliminado. O tratamento perifocal consiste na aplicação de uma camada de inseticida de ação residual nas paredes externas dos recipientes que possam servir de criadouros situados em pontos estratégicos como, por exemplo, borracharias e ferro-velho. O tratamento de aspersão aeroespacial de inseticidas UBV deve ser utilizada somente para bloqueio de transmissão e para controle de surtos ou epidemias e tem como função a eliminação por ação de contato dos mosquitos que estiverem voando no local [56].

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Sínteses dos complexos Cu<sup>II</sup>-aminoácidos

#### 4.1.1 Cu<sup>II</sup>-Trp

A síntese do complexo Cu<sup>II</sup>-Trp foi realizada conforme procedimento da literatura<sup>42</sup>. Em um béquer de 50 mL contendo 10 mL de água destilada, adicionou-se 2 mmol de Trp. Esse foi levado ao aquecimento até aproximadamente 50°C e sob agitação constante em agitador magnético. Após a solubilização adicionou-se com pipeta Pasteur 1 mmol de cloreto de cobre (II) (CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O) previamente solubilizado em 10 mL de água destilada. Essa solução foi mantida sob agitação e aquecimento por 15 minutos. Após este período deixou-se a solução esfriar naturalmente até a temperatura ambiente, filtrou-se e lavou-se o precipitado com 80 mL água destilada e reservou-se em dessecador por 18 horas. Após este período transferiu-se o precipitado para um recipiente envolto em papel alumínio e devidamente rotulado no dessecador para caracterização e posterior utilização.

#### 4.1.2 Cu<sup>II</sup>-His

A síntese foi realizada conforme procedimento da literatura<sup>46</sup>. Em um béquer contendo 40 mL de metanol em agitação, adicionou-se 1 mmol de His, em seguida adicionou-se com uma pipeta Pasteur 1 mmol CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O previamente solubilizado, deixando em agitação por uma hora. Após este período o béquer foi tapado com parafilme (Parafilm<sup>®</sup>) com pequenos orifícios. Ao final obteve-se um sólido que foi transferido para um recipiente e este foi guardado em dessecador para caracterização e posterior utilização.

#### 4.1.3 Cu<sup>II</sup>-Met

A síntese foi realizada conforme procedimento descrito na literatura<sup>43</sup> com algumas modificações. Em um béquer contendo 60 mL de água destilada, adicionou-se 2 mmol de Met, e aqueceu-se até aproximadamente 80°C sob agitação constante. Após a solubilização adicionou-se com pipeta Pasteur gota-a-gota 1 mmol CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O previamente solubilizado em 10 mL de água destilada. Manteve-se sob agitação e aquecimento por 45 minutos. Após este período deixou-se a solução esfriar naturalmente até atingir a temperatura ambiente, filtrou-se e lavou-se o precipitado com aproximadamente 80 mL água destilada e reservou em dessecador por 18 horas. Após este período transferiu-se o precipitado para um recipiente

envolto em papel alumínio e rotulado. Este recipiente foi reservado no dessecador para caracterização e posterior utilização.

#### **4.1.4 Cu<sup>II</sup>-Tau**

A síntese foi realizada conforme procedimento da literatura<sup>50</sup>, com algumas modificações. Em um balão de fundo redondo contendo 50 mL de metanol em agitação adicionou-se 2 mmol de Tau e 2 mmol de hidróxido de sódio deixou em agitação por aproximadamente 10 minutos, após este período adicionou-se 1 mmol CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O previamente solubilizado em metanol, colocou-se a reação em sistema de refluxo por 8 horas. Após este período deixou-se a solução atingir temperatura ambiente, filtrou-se e lavou-se o precipitado com metanol, deixou-se secar naturalmente. Depois de seco reservou em recipiente envolto em papel alumínio e rotulado no dessecador para caracterização e posterior utilização.

#### **4.2 Espectroscopia de absorção na Região do Ultravioleta - Visível (UV-Vis.)**

Os espectros de absorção no ultravioleta e no visível foram obtidos em um espectrofotômetro Cary 50 Conc/Varian. A faixa de varredura utilizada foi de 200 a 1000 nm. Utilizou-se o solvente DMSO para preparar as soluções de CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Trp e Cu<sup>II</sup>-Trp nas concentrações de 3,6.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, 3,0.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> e 3,3.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Soluções aquosas acidificadas com 1 mL de HCl 0,1M foram preparadas nas concentrações de 8,6.10<sup>-3</sup>mol L<sup>-1</sup>, 8,3.10<sup>-3</sup>mol L<sup>-1</sup> e 8,1.10<sup>-3</sup>mol L<sup>-1</sup> para Met, CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O e Cu<sup>II</sup>-Met respectivamente. Para His, Cu<sup>II</sup>-His e CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O soluções aquosas foram preparadas nas concentrações de 1,2.10<sup>-2</sup>mol L<sup>-1</sup>, 1,0.10<sup>-2</sup>mol L<sup>-1</sup> e 1,4.10<sup>-2</sup>mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Soluções aquosas também foram preparadas para Tau, Cu<sup>II</sup>-Tau e CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O nas concentrações de 1,7.10<sup>-2</sup>mol L<sup>-1</sup>, 1,9.10<sup>-2</sup>mol L<sup>-1</sup> e 1,1.10<sup>-2</sup>mol L<sup>-1</sup>, respectivamente.

#### **4.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)**

Os espectros vibracionais na região do Infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro FTIR 4100 - Jasco. Utilizando janela espectral de 400 a 4000 cm<sup>-1</sup> e pastilhas de brometo de potássio (KBr).

#### **4.4 Análise Elementar**

A análise elementar de carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N) foram obtidas para os complexos Cu<sup>II</sup>-Trp, Cu<sup>II</sup>-His, Cu<sup>II</sup>-Met e Cu<sup>II</sup>-Tau utilizando Analisador Elementar

de CHN Perkin Elmer modelo 2400 da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (Central Analítica–IQ/USP).

#### **4.5 Análise Termogravimétrica (TG)**

A análise termogravimétrica (TG) foi obtida para os complexos Cu<sup>II</sup>-Trp, Cu<sup>II</sup>-His, Cu<sup>II</sup>-Met e Cu<sup>II</sup>-Tau em um termoanalisador Universal V4. 1D TA Instruments, no Laboratório de Análise Térmica Ivo Giolito da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho-UNESP/Araraquara-SP pelo Professor Dr. Claudio Teodoro de Carvalho/UFGD.

As condições experimentais para realização das curvas foram: intervalo de aquecimento entre 30 à 1000°C, razão de aquecimento de 20°C min<sup>-1</sup>, atmosfera de ar sintético com fluxo de 100 mL min<sup>-1</sup> e cadinho de platina como suporte. As massas utilizadas para TG foram 3,0883 mg para o complexo Cu<sup>II</sup>-Trp, 3,0892 mg para Cu<sup>II</sup>-His, 2,8969 mg para Cu<sup>II</sup>-Met e 3,3191 mg para o Cu<sup>II</sup>-Tau.

#### **4.6 Teste de suscetibilidade dos complexos em larvas de *Aedes aegypti* (linhagem Rockfeller)**

Os bioensaios de toxicidade foram realizados no insetário do Laboratório de Insetos Vetores (LIVE) da Faculdade de Ciências Biológicas (FCBA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Nos experimentos foram utilizadas larvas de *Aedes aegypti* (Rockfeller) no final de 3º estágio e início de 4º estágio de desenvolvimento. Primeiramente os ovos foram colocados em bandeja plástica na qual se adicionou água destilada e ração para peixe macerada para a alimentação das larvas e estímulo a eclosão. Monitorou-se a eclosão e o desenvolvimento das larvas até atingirem o final do 3º e início do 4º estágio. Após este período transferiu-se 20 larvas com auxílio de uma pipeta de Pasteur para o recipiente (béquer e copo descartável) contendo 20 mL de água destilada. Este procedimento foi repetido em octuplicata para as seis concentrações de His, Cu<sup>II</sup>-His, Tau, Cu<sup>II</sup>-Tau, Trp, Cu<sup>II</sup>-Trp, Met e Cu<sup>II</sup>-Met e para os três grupos testemunhas (água, ácido clorídrico (HCl) e dimetilsulfóxido (DMSO)).

Para os testes de suscetibilidade foi estabelecido a concentração de 1000 ppm (1000 mg L<sup>-1</sup>) como limite de toxicidade para todos os aminoácidos e complexos. Preparou-se individualmente uma solução estoque na concentração de 13.200 ppm (mg L<sup>-1</sup>) de His, Tau, Cu<sup>II</sup>-His e Cu<sup>II</sup>-Tau utilizando água destilada. A partir desta realizou-se as diluições para produzir as concentrações de 50 ppm, 91 ppm, 165 ppm, 301 ppm, 549 ppm e 998 ppm nos recipientes contendo as larvas de *Aedes aegypti*. Este procedimento foi repetido para a Met e

Cu<sup>II</sup>-Met, porém sendo necessário aquecimento da primeira e adição de 1 mL de ácido clorídrico (HCl) 0,1M na segunda.

Foram preparadas duas soluções estoque na concentração de 28.450ppm, sendo a do complexo preparada em DMSO e do aminoácido Trp preparada em água destilada com aquecimento de aproximadamente 55°C e agitação. Destas soluções realizaram-se seis diluições para produzir as concentrações de 200 ppm, 276 ppm, 381 ppm, 526 ppm, 725 ppm e 1000 ppm nos recipientes contendo as larvas de *Aedes aegypti* final de 3º e início de 4º estágio de desenvolvimento.

Leituras de mortalidade foram feitas com 2, 4, 6, 8 e 24 horas de exposição. Adotou-se como critério de mortalidade a incapacidade das larvas alcançarem a superfície e reagirem ao estímulo de toque com pincel (sensibilidade ao toque). Para a determinação das concentrações letais (CL) de 10%, 50% e 90%, os dados foram submetidos à análise de Probit utilizando-se o *software* Polo-PC [57].

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Sínteses dos complexos metal-aminoácidos

#### 5.1.1 Cu<sup>II</sup>-Trp

O precipitado obtido possui a coloração violeta é insolúvel em água, metanol, etanol, dimetilformamida, tetrahydrofurano, dentre outros, mesmo utilizando-se de aquecimento ou ultrassom, apresentando-se solúvel apenas em DMSO, o qual apresenta uma solução translúcida de coloração azulada, com ocorrência da formação de aglomerados de coloração azul após aproximadamente 2 meses. O rendimento encontrado da reação foi de 87%. Pode-se considerar um valor razoavelmente satisfatório, devido a possibilidade da ocorrência de perdas do CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O para o béquer em que foi preparado e também para pipeta Pasteur.

#### 5.1.2 Cu<sup>II</sup>-His

Com a adição do CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O na solução de His ocorre a mudança da coloração que anteriormente era incolor para azul claro, sem a presença de precipitado. O sólido obtido após evaporação do metanol apresenta coloração azul claro e é solúvel em água. O rendimento da reação foi de 82%.

#### 5.1.3 Cu<sup>II</sup>-Met

O precipitado obtido da reação entre o CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O e o aminoácido Met apresenta coloração violeta e é insolúvel em água, metanol, etanol, dimetilformamida, tetrahydrofurano, dimetilsulfóxido, acetona, dentre outros, mesmo utilizando-se de aquecimento ou ultrassom, apresentou-se solúvel apenas em água levemente acidificada com ácido clorídrico (HCl), após aproximadamente 3 semanas de solubilização ocorre a formação de aglomerados de coloração azul. O rendimento encontrado da reação foi de 78%. Pode-se considerar um valor razoavelmente satisfatório, devido a possibilidade da ocorrência de perdas do CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O para o bequer em que foi preparado e também para pipeta Pauster.

#### 5.1.4 Cu<sup>II</sup>-Tau

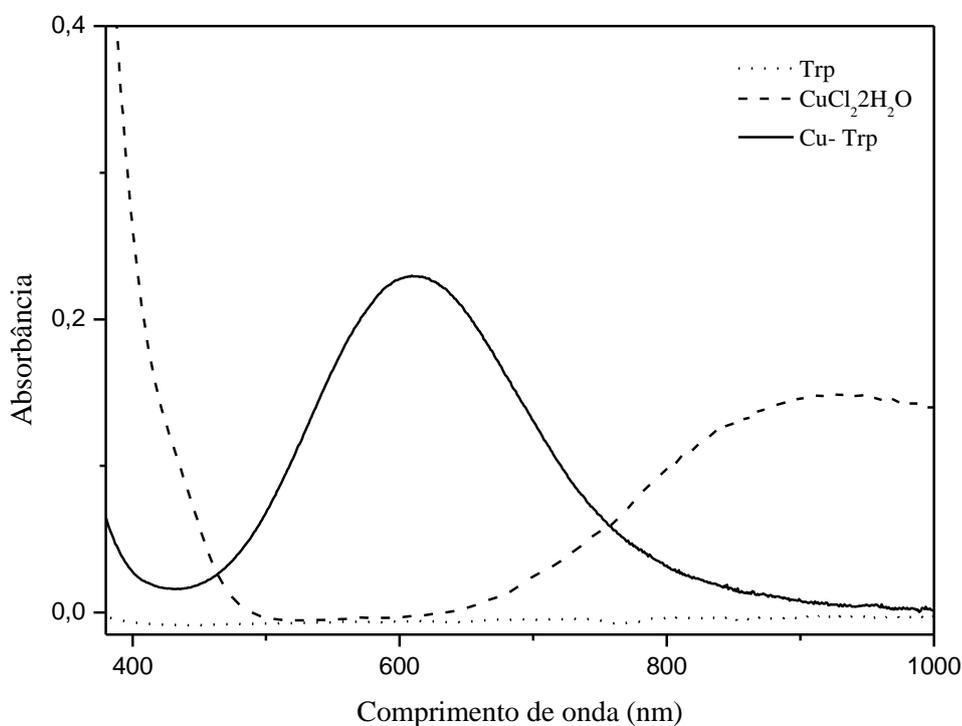
Com a adição do CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O na solução metanólica de Tau, observou-se a formação de sólidos de coloração azul claro. Este precipitado é insolúvel em acetona, diclorometano, clorofórmio, metanol mesmo com aquecimento e ultrassom. Solúvel em DMSO, água e em mistura de 2 DMSO: 3 água. Também é solúvel em solução aquosa levemente acidificada. A reação apresentou 85% de rendimento.

## 5.2 Espectroscopia de absorção na região do Ultravioleta – visível (UV-Vis.)

Os métodos de espectroscopia de absorção utilizam a radiação eletromagnética absorvida por uma molécula, em uma frequência característica, que corresponde à energia de uma transição entre níveis de energia vibracional ou eletrônica. A intensidade de absorção está relacionada com a probabilidade de ocorrer uma transição [58].

Um dos aspectos característicos dos complexos de cobre é a sua variedade de cores que são atribuídas aos tipos de transições que ocorrem na região do visível, sendo elas: transição d-d que se originam das transições eletrônicas localizadas essencialmente no íon metálico, transferência de carga metal para o ligante (TCML), transferência de carga ligante para o metal (TCLM) [59]. Existem também as transições intraligantes que exibem uma transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  na região do ultravioleta, porém não contribui para explicar as variedades de cores dos complexos de cobre por não absorver luz na região do visível. Normalmente essas absorções revelam pouquíssimo sobre o centro metálico e são atribuídas aos ligantes [59]. A Figura 7 corresponde aos espectros de absorção no UV-Vis. do aminoácido Trp (pontilhado),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (tracejado) e complexo Cu-Trp (contínuo).

**Figura 7-** Espectro de absorção no UV-Vis. do Trp,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp.



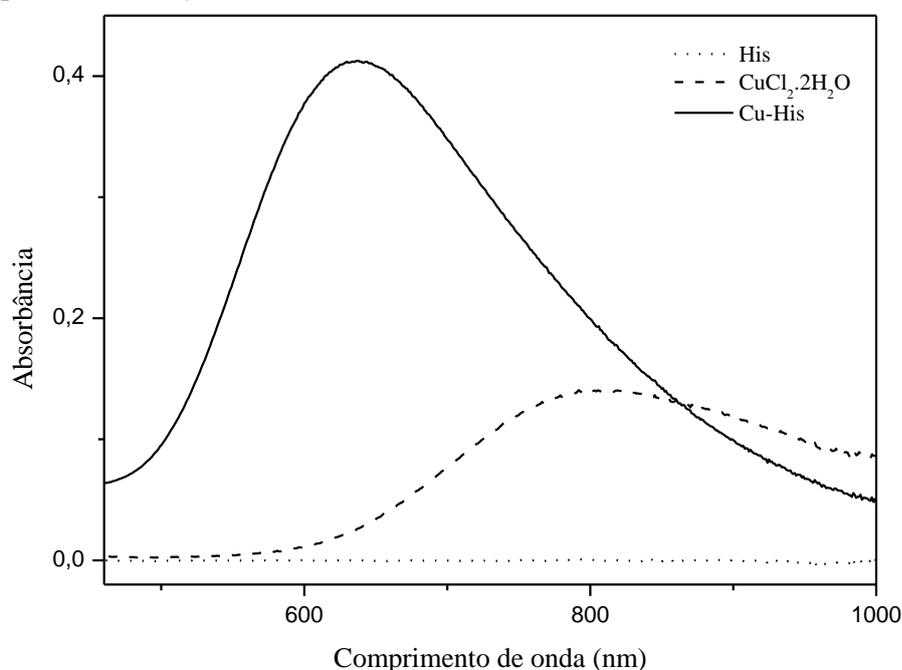
Para o espectro do  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  observa-se o início de uma banda em aproximadamente 650 nm que continua após 1000 nm, não sendo possível determinar o final da mesma, devido ao parâmetro faixa de varredura utilizado para obtenção dos espectros na

região do UV-Vis. Para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Trp}$  o espectro apresenta uma banda com absorção máxima no comprimento de onda em aproximadamente 610 nm. Em ambos resultados as bandas são atribuídas a transição eletrônica nos orbitais d-d do íon metálico cobre. Para o aminoácido Trp, o espectro não apresentou bandas de absorção no comprimento de onda de 420nm a 1000nm, devido este apresentar apenas transições na região do ultravioleta (UV).

Comparando as bandas de absorção atribuída ao complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Trp}$  e ao  $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  observa-se que se trata de dois compostos diferentes, pois exibem absorção máxima em comprimento de ondas diferentes, observando um deslocamento para menor comprimento de onda (maior energia) para o complexo. Este efeito é denominado deslocamento hipsocrômico (deslocamento para azul). Sugere-se que ocorreu uma alteração no ambiente de coordenação do íon cobre ( $\text{Cu}^{\text{II}}$ ) com a formação do complexo, devido provavelmente ao aminoácido Trp ser um ligante de campo mais forte.

Os resultados dos espectros de absorção no UV-Vis. do aminoácido His (pontilhado),  $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (tracejado) e  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-His}$  (contínuo) estão ilustrado na Figura 8. Observa-se que os espectros apresentam perfis semelhantes aos ilustrados na Figura 7. Assim a justificativa apresentada para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Trp}$  pode ser atribuída para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-His}$ .

**Figura 8-** Espectro de absorção no UV-Vis. da His,  $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-His}$ .

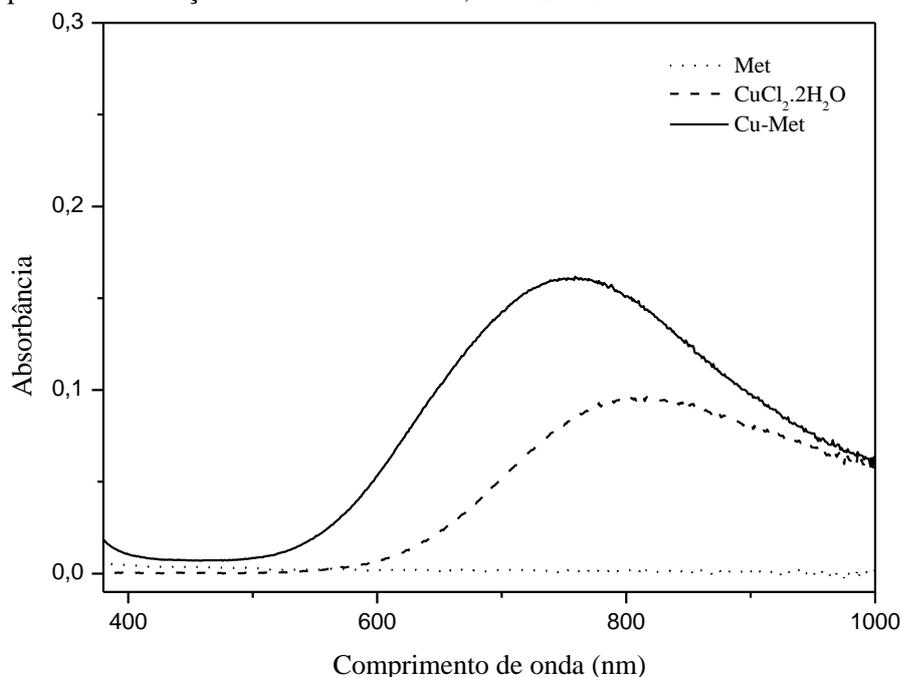


A Figura 9 corresponde aos espectros de absorção no UV-Vis. da Met (pontilhado),  $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (tracejado) e  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Met}$  (contínuo). Para o espectro do  $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  observa-se uma banda com absorbância máxima em aproximadamente 813nm. Para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Met}$

o espectro apresenta uma banda com absorção máxima no comprimento de onda em aproximadamente 760 nm. Para o aminoácido Met, o espectro não apresenta banda de absorção no comprimento de onda de 380 nm a 1000 nm.

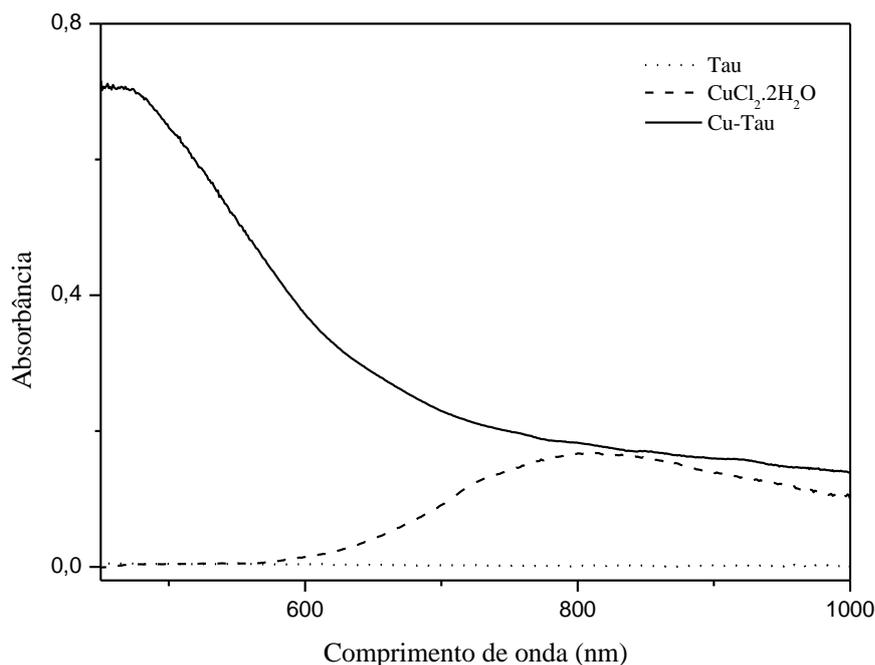
Comparando as bandas de absorção atribuída ao complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e ao  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  observa-se que ambos exibem absorção máxima em comprimento de ondas diferentes, apresentando um deslocamento de aproximadamente 53 nm para menor comprimento de onda (maior energia) para o complexo, este efeito é denominado deslocamento hipsocrômico (deslocamento para o azul). Sugere-se ocorreu uma alteração no ambiente de coordenação do íon cobre ( $\text{Cu}^{\text{II}}$ ) com a formação do  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met, devido, provavelmente, ao aminoácido Met ser um ligante de campo mais forte.

**Figura 9-** Espectro de absorção no UV-Vis. da Met,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met.



Os resultados dos espectros de absorção no UV-Vis. do aminoácido Tau (pontilhado),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (tracejado) e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau (contínuo) estão ilustrado na Figura 10. Para o espectro do  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  observa-se uma banda com absorbância máxima em aproximadamente 818nm referente a transição eletrônica entre os orbitais d do íon metálico. Para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau o espectro apresenta um perfil diferenciado dos demais complexos, metade de uma banda de absorção entre 450 nm e 770 nm pode ser observada. Esta é atribuída também à transição eletrônica entre os orbitais d do íon metálico cobre (II).

**Figura 10-** Espectro de absorção no UV-Vis. da Tau,  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau.



Comparando as bandas de absorção atribuída ao complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau e ao  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  observa-se um deslocamento para menor comprimento de onda (maior energia) para o complexo, este efeito é denominado deslocamento hipsocrômico (deslocamento para o azul). Sugere-se que ocorreu uma alteração no ambiente de coordenação do íon cobre com a formação do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau, devido provavelmente ao aminoácido Tau ser um ligante de campo mais forte. Para o aminoácido Tau, o espectro não apresenta banda de absorção no comprimento de onda de 450 nm a 1000 nm.

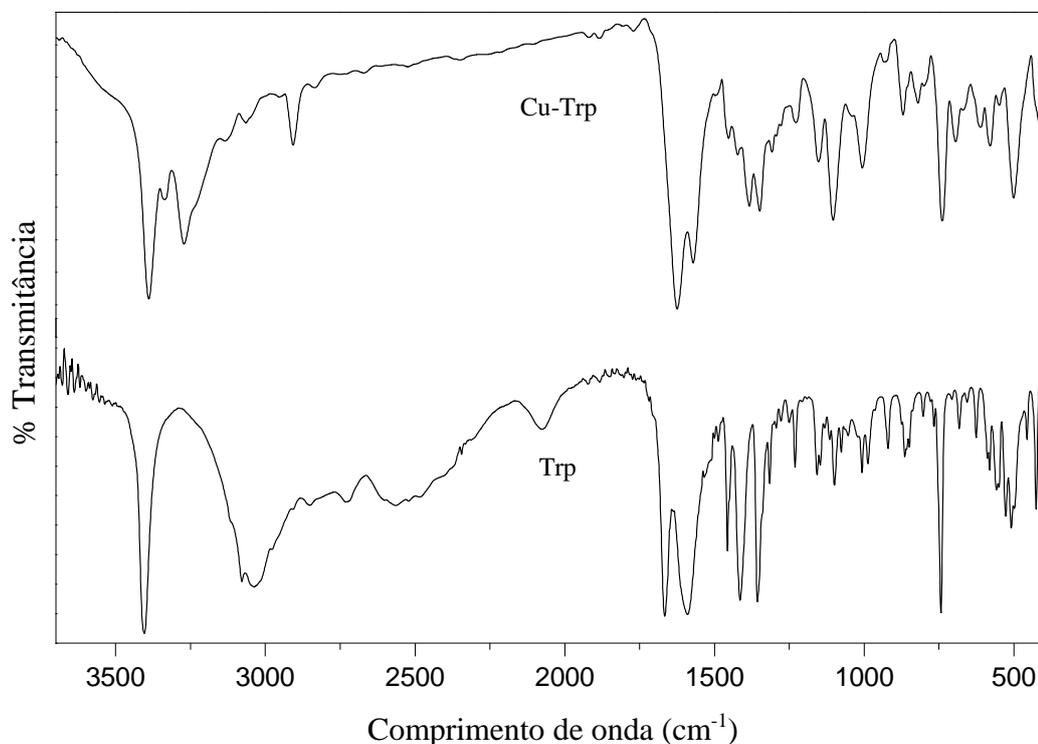
### 5.3 Espectroscopia vibracional de absorção na região do Infravermelho (IV)

A radiação no infravermelho (IV) fornece energia que tende a afetar os níveis vibracionais de uma ligação química. As vibrações moleculares podem ser de dois tipos: deformações axiais (estiramento) que ocorre na direção do eixo da molécula com aumento ou diminuição alternada da ligação química e a deformação angular que correspondem ao movimento de um grupo de átomos em relação ao resto da molécula, sem que as posições relativas dos átomos do grupo se alterem, essas vibrações são chamadas de deformação angular simétrica e assimétrica no plano e deformação angular simétrica e assimétrica fora do plano [60].

As análises nos espectros de IV fornecem informações sobre a coordenação dos ligantes (Trp, His, Met e Tau) com o íon  $\text{Cu}^{\text{II}}$ . O aminoácido Trp possui um grupo carboxílico e outro grupo amino que podem se coordenar com metal, e essa interação é observada quando

comparado os espectros do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Trp}$  e do aminoácido Trp. Os espectros destes estão ilustrados na Figura 11.

**Figura 11-** Espectros de IV do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Trp}$  e do aminoácido Trp



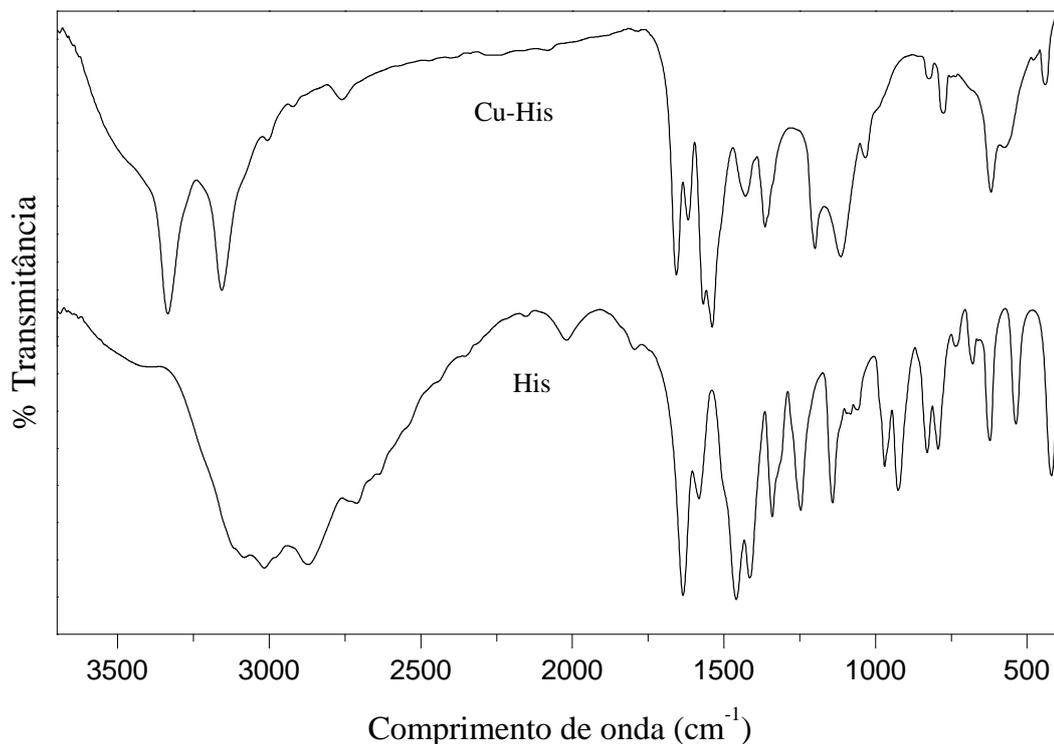
As bandas no espectro do aminoácido Trp revelam a forma zwitteriônica do aminoácido livre, pois apresentam deformações que caracterizam os grupos amina protonado ( $\text{NH}_3^+$ ) e carboxílico desprotonado ( $\text{COO}^-$ ). Segundo a literatura [60] os aminoácidos apresenta uma banda larga e intensa entre  $3100\text{ cm}^{-1}$  e  $2600\text{ cm}^{-1}$  característica da deformação axial do grupo  $\text{NH}_3^+$  e combinação das vibrações estende esta banda até  $2000\text{ cm}^{-1}$  e em  $500\text{ cm}^{-1}$  ocorre vibrações de torção do grupo  $\text{NH}_3^+$ . Para este grupo também apresenta deformação angular simétrica entre  $1550\text{-}1485\text{ cm}^{-1}$  e assimétrica entre  $1660\text{-}1610\text{ cm}^{-1}$ . Para o grupo  $\text{COO}^-$  apresenta duas bandas atribuídas às deformações axiais assimétrica e simétrica, uma forte entre  $1600\text{ a }1590\text{ cm}^{-1}$  e outra fraca em  $1400\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Os resultados obtidos nesta pesquisa e os encontrados na literatura [42] pela técnica de IV para o aminoácido Trp e para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Trp}$  estão listados na Tabela 1.

**Tabela 1-** Principais bandas e atribuições, em  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros no infravermelho para o aminoácido Trp e complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp: Dados da literatura e resultados experimentais da pesquisa.

Grupo	Aminoácido		Complexo metálico	
	Nº de onda literatura	Nº de onda pesquisa	Nº de onda literatura	Nº de onda pesquisa
$\nu_{\text{as}}\text{NH}_3^+$	3094	3082	-	-
$\nu_{\text{s}}\text{NH}_3^+$	3027	3017	-	-
$\delta\text{NH}_3^+$	1668	1663	-	-
$\delta\text{NH}_3^+$	1493	1486	-	-
$\nu_{\text{as}}\text{COO}^-$	1589	1584	-	-
$\nu_{\text{s}}\text{COO}^-$	1412	1418	-	-
$\nu\text{ N-H(indol)}$	3403	3408	3390	3379
$\nu\text{C=O}$	-	-	1578	1571
$\nu_{\text{as}}\text{NH}_2$	-	-	3336	3333
$\nu_{\text{s}}\text{NH}_2$	-	-	3272	3287

Os resultados obtidos nesta pesquisa estão de acordo com a literatura. Logo a ausência das bandas que são atribuídas aos grupos  $\text{NH}_3^+$  e  $\text{COO}^-$  no espectro do complexo é indicativo da coordenação dos grupos amina e carboxílico ao metal. Outro indicativo da complexação do metal com esses grupos é o surgimento de bandas atribuídas aos grupos  $\text{NH}_2$  e carboxila ( $\text{C=O}$ ), pois estes inexitem no aminoácido livre devido sua forma zwitteriônica. A presença de banda referente às vibrações da  $\text{C=O}$  é devido à reconstrução da dupla. Assim sugere-se que o aminoácido Trp esteja coordenado bidentalmente ao íon cobre pelo átomo de nitrogênio do grupo amina e o átomo de oxigênio do grupo carboxílico, ou seja, na forma de quelato.

Para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His e aminoácido His os resultados dos espectros de IV estão ilustrados na Figura 12. A His possui grupos amina e carboxílico que podem se coordenar com metal e essa interação pode ser verificada quando se compara os espectros, devido principalmente ao aumento ou diminuição de vibrações características de cada grupo funcionais.

**Figura 12-** Espectro de IV do aminoácido His e do complexo Cu<sup>II</sup>-His

Ao analisar os espectros observa-se que as bandas de vibrações referentes aos grupos carboxílico e amino do aminoácido His apresentaram deslocamento significativo, no espectro do Cu<sup>II</sup>-His, indicativo da coordenação destes grupos funcionais ao íon cobre.

Verifica-se no espectro do Cu<sup>II</sup>-His a apresentação de dois picos em 3157 cm<sup>-1</sup> e 3334 cm<sup>-1</sup> atribuído ao grupo NH<sub>2</sub> e o deslocamento das vibrações do grupo COO<sup>-</sup> para 1427 cm<sup>-1</sup> e 1351 cm<sup>-1</sup> quando comparado ao espectro da His.

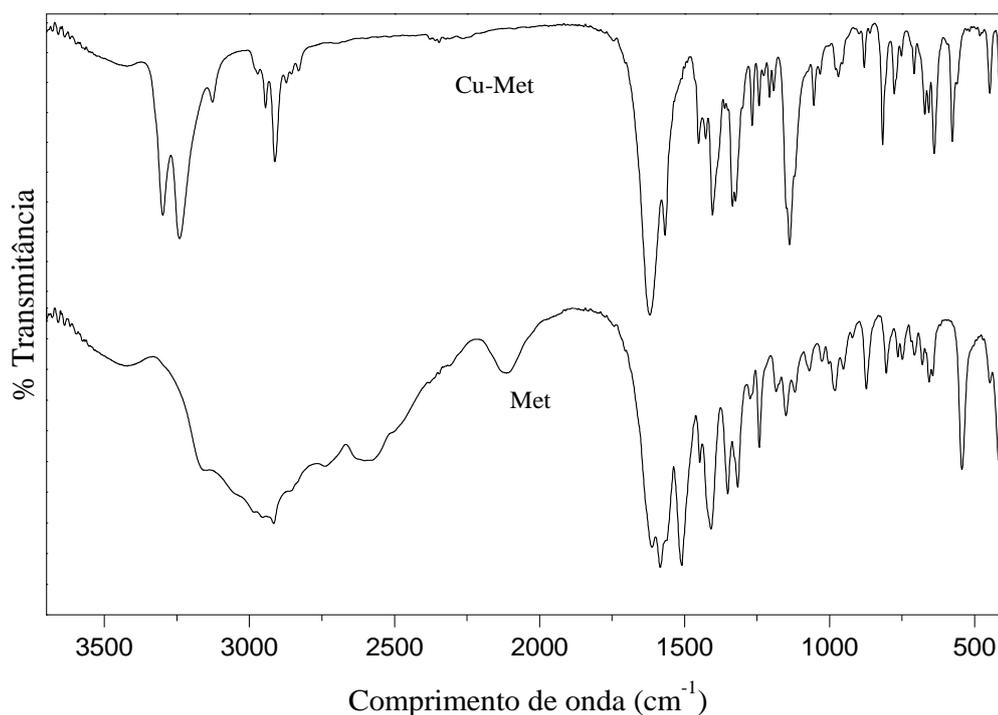
Na Tabela 2 estão apresentados os valores de número de onda das principais vibrações para a His e o complexo Cu<sup>II</sup>-His obtidos nesta pesquisa e encontrados na literatura [61]. Os resultados obtidos são condizentes com os resultados da literatura. Para o grupo imidazol as vibrações ocorrem na região de 3082 cm<sup>-1</sup> a 2866 cm<sup>-1</sup>, porém são encobertas pelas vibrações do grupo NH<sup>+3</sup> no espectro do aminoácido His, quando coordenado ao cobre estas vibrações também são encobertas pelas bandas atribuídas ao grupo NH<sub>2</sub> no espectro do complexo Cu<sup>II</sup>-His.

**Tabela 2-** Principais bandas e atribuições, em  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros no infravermelho para o aminoácido His e complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His: Dados da literatura e resultados experimentais da pesquisa.

Grupo	Aminoácido		Complexo metálico	
	Nº de onda literatura	Nº de onda pesquisa	Nº de onda literatura	Nº de onda pesquisa
$\nu_{\text{as}}\text{NH}_3^+$	3.025	3015	-	-
$\nu_{\text{s}}\text{NH}_3^+$	2860	2870	-	-
$\delta\text{NH}_3^+$	1590	1582	-	-
$\delta\text{NH}_3^+$	1456	1458	-	-
$\nu_{\text{as}}\text{COO}^-$	1635	1633	1428	1427
$\nu_{\text{s}}\text{COO}^-$	1415	1415	1344	1351
$\nu_{\text{as}}\text{NH}_2$	-	-	3275	3334
$\nu_{\text{s}}\text{NH}_2$	-	-	3134	3157
$\delta_{\text{as}}\text{NH}_2$	-	-	1613	1617
$\delta_{\text{as}}\text{NH}_2$	-	-	1395	1340

Para o aminoácido Met e o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met os espectros do IV estão apresentadas na Figura 13. O aminoácido Met também possui um grupo carboxílico e um grupo amino que podem se coordenar com metal e essa interação é observada quando comparado os espectros. A presença de vibrações características do grupo  $\text{NH}_3^+$  em  $3155\text{ cm}^{-1}$ ,  $1611\text{ cm}^{-1}$ ,  $1150\text{ cm}^{-1}$  e do grupo  $\text{COO}^-$  em  $1581\text{ cm}^{-1}$ ,  $1413\text{ cm}^{-1}$  no espectro do aminoácido Met são atribuídas à forma zwitteriônica. Portanto um deslocamento ou mudança no perfil dessas bandas no espectro do complexo são esperados e observados nesta pesquisa, devido à coordenação desses grupos ao íon metálico.

No espectro do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met duas vibrações em  $3300\text{ cm}^{-1}$  e  $3238\text{ cm}^{-1}$  se destacam e são atribuídas ao grupo  $\text{NH}_2$ . Na região de aproximadamente  $1700\text{ cm}^{-1}$  a  $1000\text{ cm}^{-1}$  apresenta vibrações bem definidas, as quais, não são perceptíveis no espectro do aminoácido Met. Na Tabela 3 estão descritas as principais vibrações para o aminoácido Met e o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met obtidos nesta pesquisa e encontrados na literatura [62].

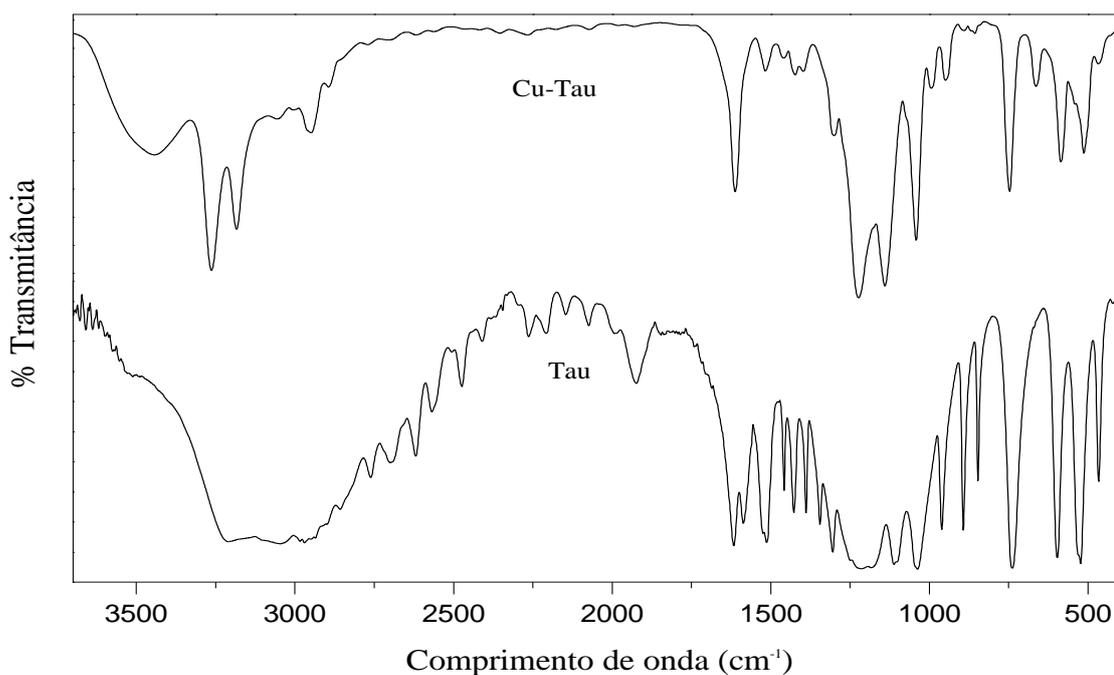
**Figura 13-** Espectro de IV do aminoácido Met e do complexo Cu<sup>II</sup>-Met**Tabela 3-** Principais bandas e atribuições, em cm<sup>-1</sup>, dos espectros no infravermelho para o aminoácido Met e complexo Cu<sup>II</sup>-Met: Dados da literatura e resultados experimentais da pesquisa.

Grupo	Aminoácido		Complexo metálico	
	Nº de onda literatura	Nº de onda pesquisa	Nº de onda literatura	Nº de onda pesquisa
$\nu_{as}NH_2$	-	-	3298	3300
$\nu NH_2$	-	-	3241	3238
$\nu C=O$	-	-	1569	1573
$\delta NH_2$	-	-	1620	1618
$\nu_{as}NH_3^+$	3159	3115	-	-
$\nu_{as} COO^-$	1583/1559	1510	-	-
$\nu_s COO^-$	1409	1413	-	-
$\nu C-O$	-	-	1404	1442
$\nu C-N$	1071	1073	1054	1053
$\nu Cu-N$	-	-	475	455

Os resultados apresentados são condizentes com os resultados da literatura. Assim sugere que cada aminoácido Met esteja coordenado na forma de quelato ao íon cobre pelo átomo de nitrogênio do grupo amino e o átomo de oxigênio do grupo carboxílico.

Para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau e o aminoácido Tau os espectros do IV estão apresentadas na Figura 14. O aminoácido Tau possui um grupo sulfônico e um grupo amino que podem se coordenar com metal e essa interação é observada quando comparado os espectros de IV, devido à coordenação desses grupos ao metal. A presença de vibrações características do grupo  $\text{NH}_3^+$  entre  $3210 \text{ cm}^{-1}$  a  $2465 \text{ cm}^{-1}$  e do grupo  $\text{SO}_3^-$  entre  $1260 \text{ cm}^{-1}$  a  $1106 \text{ cm}^{-1}$  no espectro da Tau é atribuída à forma zwitteriônica deste aminoácido. Portanto, um deslocamento ou mudança no perfil dessas bandas no espectro do complexo são esperados e observados nesta pesquisa, devido à coordenação desses grupos ao íon metálico.

**Figura 14-** Espectro de IV do aminoácido Tau e do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau.



No espectro do complexo a região de vibrações entre  $3260 \text{ cm}^{-1}$  a  $3000 \text{ cm}^{-1}$  com apresentação de dois picos em aproximadamente  $3250 \text{ cm}^{-1}$  e  $3171 \text{ cm}^{-1}$  diferindo do espectro da Tau corresponde a coordenação do grupo amino ao metal. Na Tabela 4 estão descritas as principais vibrações para a Tau e o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau obtidos nesta pesquisa e encontrados na literatura [49].

**Tabela 4-** Principais bandas e atribuições, em  $\text{cm}^{-1}$ , dos espectros no infravermelho para o aminoácido Tau e complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau: Dados da literatura e resultados experimentais da pesquisa.

Grupo	Aminoácido		Complexo metálico	
	Nº de onda literatura	Nº de onda pesquisa	Nº de onda literatura	Nº de onda pesquisa
$\text{NH}_3^+$	3200-2475	3210-2465	-	-
$\text{SO}_3^-$	1250-1110	1260-1106	-	-
$\text{SO}_2$	-	-	1227 (não coordenado)	1229 (não coordenado)
SO	-	-	1142	1136
$\text{NH}_2$	-	-	-	3250-3171
Cu-O	-	-	507	503

Os resultados apresentados/encontrados são condizentes com os da literatura, porém para o grupo  $\text{NH}_2$  coordenado ao metal a literatura não relata valores, e sim a ocorrência de diminuição de intensidade das bandas referente a Tau não coordenada. Assim sugere-se que o aminoácido Tau está coordenado na forma de quelato ao íon cobre ( $\text{Cu}^{\text{II}}$ ) pelo átomo de nitrogênio do grupo amino e o átomo de oxigênio do grupo sulfônico.

#### 5.4 Análise elementar (AE)

A análise Elementar é uma técnica utilizada para obter indícios da fórmula química de uma substância. O resultado é obtido através da combustão da amostra em oxigênio puro a uma temperatura em torno de  $925^\circ\text{C}$ . Para compostos orgânicos e organometálicos, o carbono é convertido em dióxido de carbono, o hidrogênio é convertido em água e o nitrogênio em gás nitrogênio. Os produtos obtidos são quantificados e conseqüentemente as porcentagens relativas de cada elemento podem ser calculadas. Os valores em porcentagem obtidos teoricamente e experimentalmente para carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N) dos complexos estão dispostos na Tabela 5.

**Tabela 5** - Análise elementar de C, H, N para os complexos Cu<sup>II</sup>-aminoácidos.

Complexo	% C		% H		% N	
	Teórico	Experimental	Teórico	Experimental	Teórico	Experimental
Cu <sup>II</sup> -Trp	56,22	56,34	4,72	4,52	11,92	11,93
Cu <sup>II</sup> -His	23,43	23,50	3,60	3,09	13,65	13,64
Cu <sup>II</sup> -Met	33,37	33,44	5,60	5,48	7,78	7,59
Cu <sup>II</sup> -Tau	15,41	15,77	3,88	3,92	8,98	8,93

Com os dados de porcentagens de C, H e N pode-se fazer uma relação matemática considerando as massas atômicas e a quantidade de átomos para propor uma fórmula molecular e conseqüentemente a massa molar dos complexos, sendo essas apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 6**- Proposta para massa molecular e fórmula molecular dos complexos Cu<sup>II</sup>-aminoácidos

Complexo	Massa molecular	Fórmula molecular
Cu <sup>II</sup> -Trp	469,988 g.mol <sup>-1</sup>	Cu(C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>
Cu <sup>II</sup> -His	307,624 g.mol <sup>-1</sup>	[Cu(C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) H <sub>2</sub> O]Cl <sub>2</sub>
Cu <sup>II</sup> -Met	359,958 g.mol <sup>-1</sup>	Cu(C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> NO <sub>2</sub> S) <sub>2</sub>
Cu <sup>II</sup> -Tau	311,826 g.mol <sup>-1</sup>	Cu(C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> NO <sub>3</sub> S) <sub>2</sub>

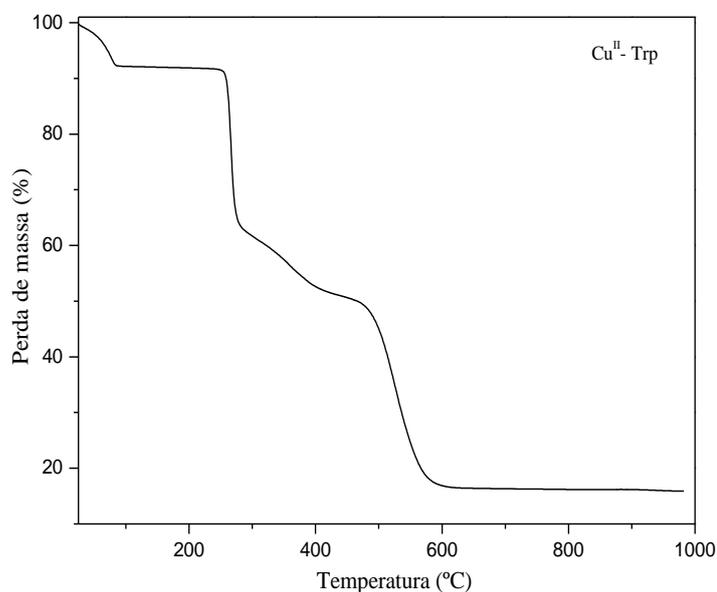
Pode ser observado que as fórmulas moleculares dos complexos Cu<sup>II</sup>-Trp, Cu<sup>II</sup>-His e Cu<sup>II</sup>-Tau, apresentam duas moléculas dos aminoácidos Trp, His e Tau respectivamente, concordando com a razão 1:2 metal: aminoácidos utilizados na síntese dos complexos. Observa-se também que os aminoácidos estão na forma dissociada, ou seja, o grupo carboxílico possui carga de menos (-)1, assim os complexos apresentam-se neutros, pois, o íon cobre apresentar carga de mais (+) 2. Para o complexo Cu<sup>II</sup>-His a fórmula molecular sugere que a His possui carga neutra e como conseqüência dois átomos de cloro (contra íons) são necessários para estabilizar as duas cargas positivas do íon cobre.

### 5.5 Análise Termogravimétrica (TG)

A análise termogravimétrica (TG) constitui uma técnica em que a variação da massa de uma amostra é continuamente medida enquanto esta é submetida a um programa controlado de temperatura. A curva TG obtida desta análise informa a percentagem da perda de massa em função da temperatura. A análise termogravimétrica dos complexos  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau foram realizadas com o intuito de identificar hidratação, estabilidade térmica, etapas de degradação e a possibilidade de fornecer uma provável estrutura através de cálculos estequiométricos utilizando a percentagem dos resíduos óxidos obtidos.

A Figura 15 ilustra a curva TG para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp, observa-se uma perda de massa de 7,70% no início da curva em aproximadamente  $30^{\circ}\text{C}$  e termina em  $81^{\circ}\text{C}$ , sendo esta atribuída provavelmente a duas moléculas de água fracamente absorvida, após esta temperatura o complexo exibe estabilidade térmica até  $248^{\circ}\text{C}$ . Entre esta temperatura até aproximadamente  $615^{\circ}\text{C}$  ocorre uma acentuada perda de massa de 76,20%, atribuída à degradação do aminoácido Trp. Após esta temperatura ocorre a formação do resíduo óxido de cobre ( $\text{CuO}$ ) que representa aproximadamente 16,10% da massa inicial, o resíduo apresenta-se estável até no final da curva ( $1000^{\circ}\text{C}$ ).

**Figura 15-** Curva TG do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp.

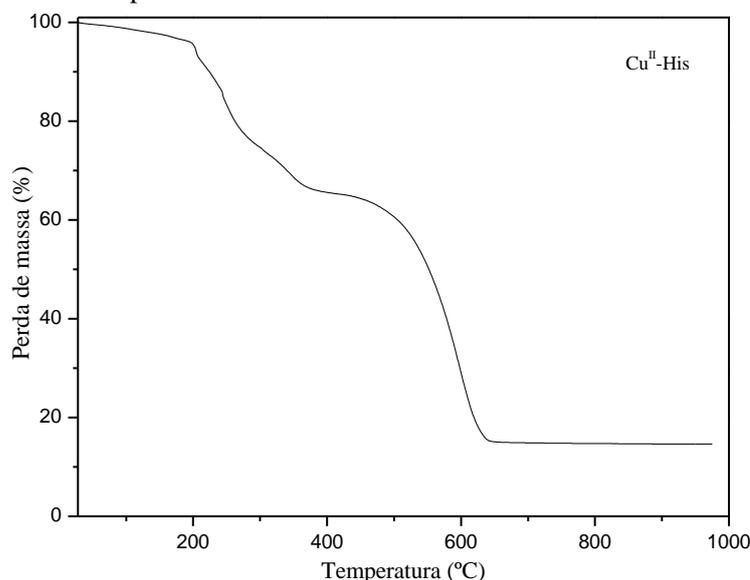


Utilizando de cálculos estequiométricos relacionando a massa molecular do provável composto formado  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp e do composto final obtido  $\text{CuO}$ , obteve teoricamente a perda total da massa de aproximadamente 84%, o que está de acordo com o valor experimental, assim pode ser sugerida a fórmula molecular  $\text{Cu}(\text{Trp})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  para o complexo. Porém, considerou-se que estas duas moléculas de água não fazem parte da fórmula molecular e são

consideradas água de umidade (água fracamente ligada), pois são retiradas do complexo a uma temperatura que varia entre 27°C a 81°C, sendo esta temperatura ineficaz para retirar água de hidratação ou coordenação. Assim, sugere-se a provável fórmula molecular  $\text{Cu}(\text{Trp})_2$  para o complexo.

A Figura 16 ilustra a curva TG para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-His}$ . Verifica-se uma perda de massa de 5,79 % do início da curva até 202°C sendo esta atribuída a uma molécula de água, após esta temperatura ocorre uma acentuada perda de massa de 79,80 % até a temperatura de 653 °C, sendo esta atribuída à degradação térmica do complexo. Após esta temperatura ocorre a formação do resíduo  $\text{CuO}$  que representa aproximadamente 14,40% da massa inicial, o resíduo apresenta-se estável até no final da curva (1000°C).

**Figura 16-** Curva TG do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-His}$ .



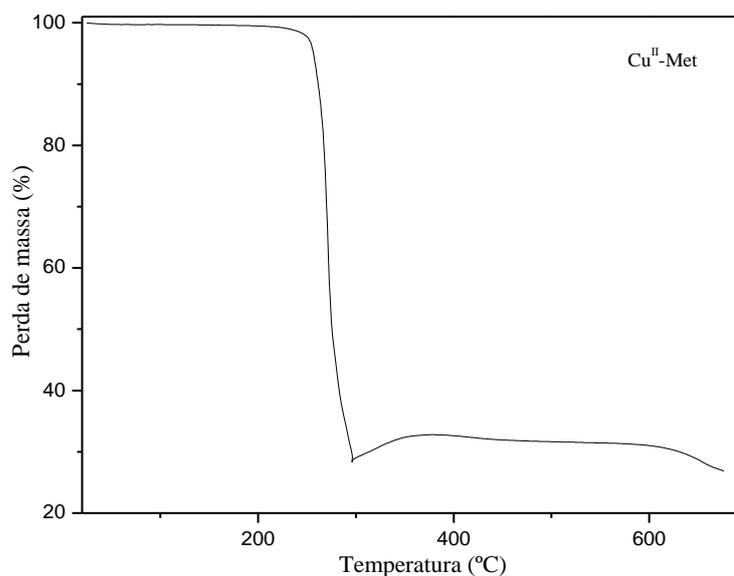
Utilizando de cálculos estequiométricos relacionando a porcentagem de perda de massa com a massa molecular do provável composto formado  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-His}$  e do composto final obtido  $\text{CuO}$ , obteve teoricamente a massa molecular para o resíduo de  $44,297 \text{ gmol}^{-1}$ . A massa molecular do resíduo é de  $79,55 \text{ gmol}^{-1}$ , logo o valor teórico obtido representa aproximadamente metade da massa molecular do  $\text{CuO}$  com uma diferença de 1,5%, infere-se que parte da massa do cobre foi degradada/ volatilizada com o ligante His.

Assim sugere-se a fórmula molecular  $[\text{Cu}(\text{His})\text{H}_2\text{O}]\text{Cl}_2$  para o complexo formado entre o cobre e o aminoácido His, esta fórmula também é sugerida pela caracterização da técnica de análise elementar.

A Figura 17 ilustra a curva TG para o complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Met}$ . O complexo é estável até aproximadamente 250°C, ou seja, não apresenta degradação térmica. Entre 250°C e 300°C,

ocorre uma abrupta perda de massa de 71,32% atribuída à degradação térmica do aminoácido Met. Após esta temperatura ocorre um aumento de massa de 4,02%, atribuída a oxidação do composto que provavelmente formará o resíduo. Após 630°C verifica-se novamente perda de massa, chegando à formação provavelmente do resíduo de 26,88%.

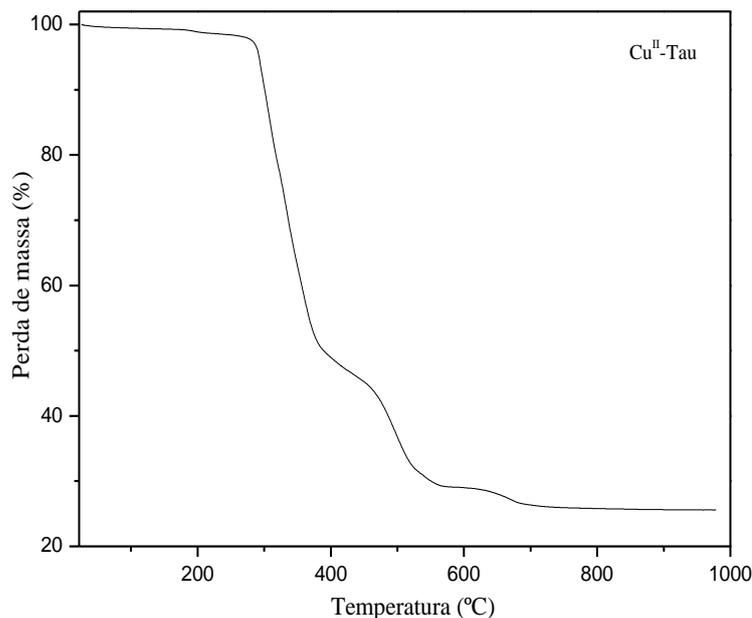
**Figura 17-** Curva TG do complexo Cu<sup>II</sup>-Met.



Como observado na figura 17, foi possível fazer a TG deste complexo até 700°C, devido á problemas elétricos, acarretando a não obtenção da porcentagem real do provável resíduo CuO e consequentemente propor uma fórmula molecular para o complexo .

A Figura 18 ilustra a curva TG para o complexo Cu<sup>II</sup>-Tau. O complexo é estável até aproximadamente 283°C, ou seja, não apresenta degradação térmica. Entre 283°C e 710°C ocorre uma acentuada perda de massa de 74,43%, sendo esta atribuída à degradação térmica do aminoácido Tau. Após esta temperatura ocorre a formação do resíduo CuO que representa aproximadamente 25,57% da massa inicial, o resíduo apresenta-se estável até no final da curva (1000°C).

Através de cálculos estequiométricos relacionando a massa molecular do provável composto formado Cu<sup>II</sup>-Tau e do resíduo CuO, obteve teoricamente uma porcentagem de massa para o resíduo de 25,51%, o que está de acordo com o valor experimental da TG, assim sugere-se a fórmula molecular Cu(Tau)<sub>2</sub> para o complexo.

**Figura 18-** Curva TG do complexo Cu<sup>II</sup>-Tau.

Com as análises das curvas TG dos complexos Cu<sup>II</sup>-Trp, Cu<sup>II</sup>-His e Cu<sup>II</sup>-Tau e associando aos cálculos estequiométricos obteve-se as respectivas fórmulas moleculares Cu(C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, [Cu(C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) H<sub>2</sub>O]Cl<sub>2</sub> e Cu(C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>NO<sub>3</sub>S)<sub>2</sub>, sendo estas semelhantes às fórmulas moleculares propostas pela técnica de AE. Quanto ao complexo Cu<sup>II</sup>-Met não foi possível fornecer uma fórmula molecular pela TG.

### 5.6 Teste de suscetibilidade dos complexos em larvas de *Aedes aegypti*- linhagem Rockefeller

Os resultados dos testes de toxicidade dos complexos Cu<sup>II</sup>-Trp, Cu<sup>II</sup>-Met e Cu<sup>II</sup>-Tau em larvas de *Aedes aegypti* linhagem Rockefeller estão dispostos na Tabela 7. Os aminoácidos Trp, His, Met, Tau e o complexo Cu<sup>II</sup>-His não apresentaram atividade tóxica para larvas *Aedes aegypti* nas concentrações testadas. Também não ocorreu mortalidade das larvas expostas nas soluções controle: água, HCl e DMSO.

O complexo Cu<sup>II</sup>-Trp apresentou mortalidade para as larvas somente com 24 horas de exposição para todas as concentrações testadas, nas quais as porcentagens de mortalidade variaram entre 3,16% a 46,55%. Considera-se que esses valores não são bons resultados, devido não ocorrer mortalidade de 50% das larvas, mesmo utilizando a concentração de 1000 ppm (limite de toxicidade estabelecido).

**Tabela 7-** Porcentagem de mortalidade média (%) ( $\pm$ DP) de larvas *Aedes aegypti* – linhagem Rockefeller em 8 e 24 horas de exposição aos complexos Cu<sup>II</sup>-Trp, Cu<sup>II</sup>-Met e Cu<sup>II</sup>-Tau.

Complexo	Concentração (ppm)	Mortalidade média (%) ( $\pm$ DP)	
		8 horas	24 horas
Cu <sup>II</sup> -Trp	200	0	3,16 ( $\pm$ 2,62)
	276	0	8,18 ( $\pm$ 4,33)
	381	0	8,06 ( $\pm$ 4,55)
	526	0	10,18 ( $\pm$ 8,94)
	725	0	25,35 ( $\pm$ 6,70)
	1000	0	46,55 ( $\pm$ 8,81)
Cu <sup>II</sup> -Met	50	0	0
	91	0	0
	165	0	0
	301	0	5,54 ( $\pm$ 4,02)
	549	0	5,45 ( $\pm$ 4,78)
	998	0	12,42 ( $\pm$ 6,65)
Cu <sup>II</sup> -Tau	50	74,04 ( $\pm$ 5,14)	100
	91	80,10 ( $\pm$ 5,76)	100
	165	85,35 ( $\pm$ 9,54)	100
	301	91,51 ( $\pm$ 6,28)	100
	549	94,35 ( $\pm$ 7,32)	100
	998	96,36 ( $\pm$ 4,26)	100

O complexo Cu<sup>II</sup>-Met não apresentou mortalidade para as larvas até 8 horas de exposição e em 24 horas somente as concentrações de 301ppm, 549 ppm e 998 ppm apresentaram uma pequena porcentagem de mortalidade entre 5,54%- 12,42%. Devido à obtenção de valores baixos de mortalidade considera-se que os complexos Cu<sup>II</sup>-Trp e Cu<sup>II</sup>-Met não seriam viáveis para uso larvicida em *Aedes aegypti* em campo, pois seria necessário uma concentração aproximadamente 3 vezes maior.

Para o complexo Cu<sup>II</sup>-Tau não foi observada mortalidade de larvas em 2, 4 e 6 horas de exposição, porém com 8 horas a porcentagem de mortalidade média de larvas variou de 74,04% a 96,36% e em 24 horas de exposição o valor obtido foi de 100% de mortalidade para

todas as concentrações. Considera-se que o complexo Cu<sup>II</sup>-Tau poderia ser prospectado com um potencial larvicida. No entanto, concentrações menores devem ser avaliadas, pois podem apresentar também mortalidade, de modo que esses dados podem fornecer uma real concentração letal. O *software* Polo- PC foi utilizado para determinar as concentrações letais para 10% (CL<sub>10</sub>), 50% (CL<sub>50</sub>) e 90% (CL<sub>90</sub>) de mortalidade, para tal usou-se os valores correspondentes de mortalidade média obtidos em 8 horas de exposição, pois com 24 horas não seria possível devido ocorrer 100% de mortalidade para todas as concentrações. Os valores das concentrações letais determinados pelo *software* Polo- PC estão expostos na Tabela 8.

**Tabela 8** - Resultado da concentração letal CL<sub>10</sub>, CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> de larvas *Aedes aegypti*-Rockefeller ao complexo Cu<sup>II</sup>-Tau em 8 horas de exposição.

Concentração letal	Valor (ppm)	Limite inferior (ppm)	Limite superior (ppm)
CL <sub>10</sub>	0,344	0,030	1,351
CL <sub>50</sub>	9,516	3,026	18,428
CL <sub>90</sub>	263,143	199,088	380,834

O resultado obtido de CL<sub>50</sub> foi de 9,516 ppm com limites inferior e superior de 3,026 ppm e 18,428 ppm respectivamente para 8 horas de exposição das larvas ao complexo Cu<sup>II</sup>-Tau. O *software* Polo PC também fornece os valores de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), parâmetro t e coeficiente angular (b). O valor de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) corresponde ao ajuste dos dados ao modelo Probit, para ajuste o valor de  $\chi^2$  deve ser menor que o valor tabelado (p=0,05), o valor do parâmetro t confirma regressão linear se for maior que 1,96 e o valor do coeficiente angular (b) corresponde a homogeneidade ou heterogeneidade dos resultados.

O valor encontrado para o coeficiente angular foi de 0,8888, o que representa uma heterogeneidade na mortalidade das larvas. Para o parâmetro T o valor foi igual a 6,94 confirmando regressão linear. O qui-quadrado obtido foi de 45,5678 para 46 graus de liberdade, comparando com o valor tabelado de 67,5048 (para limite de confiança de 95% (p=0,05)) infere-se que os dados se ajustam ao modelo Probit.

De acordo com o valor b obtido para o complexo Cu<sup>II</sup>-Tau a mortalidade de larvas não ocorreu homogeneamente. Considerando que o complexo deve ser ingerido pelas larvas para a ocorrência da toxicidade, ou seja, apresentar ação abrangente no sistema digestório (SD), e possivelmente no metabolismo do inseto, principalmente, no Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Periférico (SNP), infere-se que as larvas de *Aedes aegypti*, provavelmente

não ingeriram o complexo de modo homogêneo e como consequência a mortalidade também não foi homogênea. Considerando a concentração de 1000 ppm para 24 horas de exposição das larvas de final de 3º e início de 4º estágio de *Aedes aegypti* aos complexos metálicos sintetizados, propõe-se a seguinte série de toxicidade:  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-Tau} \gg \text{Cu}^{\text{II}}\text{-Trp} > \text{Cu}^{\text{II}}\text{-Met} \gg \text{Cu}^{\text{II}}\text{-His}$ .

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados apresentados através das técnicas de caracterizações sugerem a formação dos complexos Cu<sup>II</sup>-Trp, Cu<sup>II</sup>-His, Cu<sup>II</sup>-Met e Cu<sup>II</sup>-Tau, os quais, foram sintetizados através da reação entre o cloreto de cobre e os aminoácidos Trp, His, Met e Tau, respectivamente.

Dentre os complexos metal-aminoácidos, apenas o Cu<sup>II</sup>-Tau apresentou atividade tóxica acentuada para larvas de *Aedes aegypti* linhagem Rockefeller, possibilitando 100% de mortalidade em 24 horas para todas concentrações testada.

Devido à obtenção de valores baixos de mortalidade considera-se que os complexos Cu<sup>II</sup>-Trp e Cu<sup>II</sup>-Met não seriam viáveis para uso larvicida em *Aedes aegypti* em campo.

Considerando a concentração de 1000 ppm para 24 horas de exposição das larvas de final de 3º e início de 4º estágio de *Aedes aegypti* aos complexos metálicos, propõe-se a seguinte série de toxicidade: Cu<sup>II</sup>-Tau >> Cu<sup>II</sup>-Trp > Cu<sup>II</sup>-Met>>> Cu<sup>II</sup>-His.

## 7 SUGESTÕES E PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

- Obtenção de monocristais dos complexos  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau para análise de difração de raio X.
- Avaliação da toxicidade dos complexos  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau em fungos e bactérias, pois estes fazem parte da cadeia alimentar de larvas *Aedes aegypti*.
- Determinação do tempo residual no ambiente com atividade biológica do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau em larvas de *Aedes aegypti*.
- Análise da viabilidade e/ou interferência dos complexos  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Trp,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -His,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Met e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau na eclosão dos ovos do inseto *Aedes aegypti*.
- Avaliação do manejo de outros insetos com ciclo reprodutivo semelhante.
- Avaliação da toxicidade do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Tau em larvas e adultos de *Aedes aegypti* provenientes de populações do campo.

## 8 REFERÊNCIAS

- [1]. CAMPOS, J.; ANDRADE, C.F.S. Susceptibilidade larval de duas populações de *Aedes aegypti* a inseticidas químicos. **Revista Saúde Pública**, v.35, p.232-236, 2001.
- [2]. BESERRA, E. B.; FERNANDES, C. R. M.; QUEIROGA, M. F. C.; CASTRO-JR, F. P. Resistência de Populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao Organofosforado Temefós na Paraíba. **Neotropical Entomology**, v.36, p.303-307, 2007
- [3]. CARVALHO, M. S. L.; CALDAS, E. D.; DEGALLIER, N.; VILARINHOS, P. T. R.; SOUZA, L. C. K. R.; YOSHIZAWA, M. A. C.; KNOX, M. B.; OLIVEIRA, C. Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. **Saúde Pública**, v.38, p.623-629, 2004
- [4]. MACORIS, M. L. G.; ANDRIGHETTI, M. T. M.; TAKUKU, L.; GLASSER, C. M.; GARBELOTO, V.C.; BRACCO, J. E. Resistance of *Aedes aegypti* from the state of São Paulo, Brazil, to organophosphates insecticides. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.98, p.703-708, 2003.
- [5]. LIMA, J. B. P.; DA-CUNHA, M. P.; JÚNIOR, R. C. S.; GALARDO, A. K. R.; SOARES, S. S.; BRAGA, I. A.; RAMOS, R. P.; VALLE, D. Resistance of *Aedes aegypti* to organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro and Espírito Santo, Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, v.68, p.329-333, 2003.
- [6]. SILVA, E. L. **Avaliação da susceptibilidade e resistência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) ao inseticida Natular™ (Espinosade) e aos inseticidas Temephos, Malathion e Alfacipermetrina utilizados nos municípios de Maracaju, Dourados e Naviraí, MS.** Dourados- MS, Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental–UFGD, 2012. Dissertação de Mestrado, 67p.
- [7]. FERNANDES, M. F. **Avaliação da resistência de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) a inseticidas químicos e biológicos, na cidade de Dourados-MS, Brazil.** Dourados- MS, Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade- UFGD, 2004. Dissertação de Mestrado, 41p.
- [8]. OMS - ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, SERIE DE INFORMES TÉCNICOS, N° 818. **Resistencia de vectores de enfermedades a los plaguicidas (15° Informe del Comité de Expertos de la OMS en Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial)**, 1992.
- [9]. BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência / *Aedes aegypti*: insecticides, mechanisms of action and resistance. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.16, p.279-293, 2007.
- [10]. ARRUDA, E. J.; ROSSI, A. P. L.; PORTO, K. R. A.; OLIVEIRA, L. C. S.; ARAKAKI, A. H.; SCHEIDT, G. N.; ROEL, A. R. Evaluation of toxic effects with transition metal ions, EDTA, SBTI and acrylic polymers on *Aedes aegypti* (L., 1762) (Culicidae) and *Artemia salina*(Artemidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.54, p.503-509, 2011.

- [11]. ROSSI, A.P.L. **Análise dos efeitos tóxicos de íons metálicos de transição ( $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) e EDTA em larvas de *Aedes aegypti* (Culicidae) e *Artemia salina* L., 1758 (Artemidae)**. Campo Grande - MS, Mestrado em Biotecnologia - UCDB, 2009. Dissertação de Mestrado, 60 p.
- [12]. GABAN, C.R.G. **Avaliação histopatológica de danos celulares provocados por íons e microencapsulados com quelato metálico no sistema digestório de *Aedes aegypti* (Díptera: Culicidae)**. Campo Grande - MS, Mestrado em Biotecnologia - UCDB, 2009. Dissertação de Mestrado, 65p.
- [13]. RODRIGUES, T.A.D. **Síntese e caracterização de complexos de L-Glut-Cu(II) e L-Asp-Cu(II) para controle de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**. Dourados – MS, Mestrado em Química – UFGD, 2013. Dissertação de Mestrado, 57p.
- [14]. WILLIMS, R. M.; COLA, L.; HARTL, F.; LAGREF, J. J.; PLANEIX, J. M.; CIAN, A.; HOSSEINI, M. W. Photophysical, electrochemical and electrochromic properties of copper bis (4,4'-dimethyl-6,6'-diphenyl-2,2'-bipyridine) complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v.230, p. 253-261, 2002.
- [15]. MARZANO, C.; PELLEI, M.; TISATO, F.; SANTINI, C. Copper Complexes as Anticancer Agents. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 9, p.185-211, 2009.
- [16]. VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F.; BENFATO, M.S.; MANFREDINI, V.; KUBOTA, L.T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30, p.1323-1338, 2007.
- [17]. KALLER, S. Diagnosis and therapy of Menkes syndrome, a genetic form of copper deficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.67, p.1029S-34S, 1998.
- [18]. PRADO, A. L. C.; FONSECA, D. C. B. R. P. Uma revisão sobre a doença de Wilson relato de caso. **Saúde**, v.30, p.69-75, 2004.
- [19]. BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v.29, p.113-123, 2006.
- [20]. NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**. 3ª ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- [21]. JANSMAN, A. J. M. Necesidades y utilización del triptófano en animales monogástricos. **ID TNO Animal Nutrition**, 2001.
- [22]. BAHLS, S-C. Depressão: uma breve revisão dos fundamentos biológicos e cognitivos. **InterAÇÃO**, v.3, p.49-60, 1999.
- [23]. FICHA DE DADOS DE SEGURANÇA. **Applichem**. 5p, 2012. Disponível em: [https://www.applichem.com/fileadmin/datenblaetter/A3445\\_pt\\_PT.pdf](https://www.applichem.com/fileadmin/datenblaetter/A3445_pt_PT.pdf). Acesso em: 16/09/2013
- [24]. CASELLA, L.; GULLOTTI, M. Coordination Modes of Histidine. Circular Dichroism Study of Copper(II) Complexes of the Schiff Bases Derived from (1R)-3-

(Hydroxymethylene) canthor and Histidine Derivatives. **Inorganic Chemistry**, v.20, p.1306, 1981.

[25]. LIAO, H.; ZHANG, Z.; NIE, L.; YAO, S. Electrosynthesis of imprinted polyacrylamide membranes for the stereospecific L-histidine sensor and its characterization by AC impedance spectroscopy and piezoelectric quartz crystal technique. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**. v.59, p.75–87, 2004.

[26]. RAO, M. L.; STEFAN, H.; SCHEID, C.; KUTLER, A. D.; FROSCHER, W. **Epilepsia**, v.34, p.347–354, 1993.

[27]. VARADARAJAN, S.; KANSKI, J.; AKSENOVA, M.; LAUDERBACK, C.; BUTTERFIEL, D. A. Different Mechanisms of Oxidative Stress and Neurotoxicity for Alzheimer's A $\beta$ (1–42) and A $\beta$ (25–35). **Journal of the American Chemical Society**, v.123, p.5625–5631, 2001.

[28]. HAYES, K. C.; STURMAN, J. A. Taurine in metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v.25, p.401, 1981.

[29]. REDMOND, H. P.; STAPLETON, P. P.; NEARY, P.; BOUCHIER-HAYES, D. Immuno nutrition: the role of taurine. **Nutrition**, v.14, p.599-604, 1981.

[30]. HAN, X.; PATTERS, A. B.; JONES, D. P.; ZELIKOVIC, I.; CHESNEY, R. W. The taurine transporter mechanisms of regulation. **Acta Physiol (Oxf)**, v.187, p.61-73, 2006.

[31]. BIRDSALL, T. C. Therapeutic applications of taurine. **Alternative Medicine Review**, v. 3, p. 128, 1998.

[32]. BOUCKENOOGHE, T.; REMACLE, C.; REUSENS, B. Is taurine a functional nutrient. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 9, p.728, 2006.

[33]. RAMANUJAN, V. V.; KRISHNAN, U. Studies on mixed-ligand complexes of copper (II). Copper-diamine-aminocarboxylate complexes. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, v.43, p.3407-3408, 1981.

[34]. OU, C.; POWERS, D. A.; THICHI, J. A.; FELTHOUSE, T. R.; HENDRICKSON, D. N.; POTENZA, J. A.; SCHUGAR, H. J. Molecular Structure and Magnetic Properties of *trans*-Bis(L-methioninato) copper (II), Cu(C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>2</sub>S)<sub>2</sub>. **Inorganic Chemistry**, v.17, p.34-40, 1978.

[35]. O'BRIEN, E. C.; FARKAS, E.; ROCKENBAUER, A.; NOLAN, K. B. Metal complexes of taurine. The first reported solution equilibrium studies for complex formation by taurine at physiological pH; the copper (II)-glycylglycinate-*taurine* e the copper (II)-glycylaspartate-*taurine* systems. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.77, p.135-139, 1999.

[36]. OSZ, K.; VÁRNAGY, K.; SÚLI-VARGHA, H.; CSÁMPAY, A.; MICERA, D. S. G.; SÓVÁGÓ, I. Acid–base properties and copper(II) complexes of dipeptides containing histidine and additional chelating bis(imidazol-2-yl) residues. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.98, p. 24–32, 2004.

- [37]. SZABÓ- PLÁNKA, T.; ROCKENBAUER, A.; KORECZ, L.; NAGY, D. An electron spin resonance study of coordination modes in the copper(II)-histamine and copper(II)-L-histidine systems in fluid aqueous solution. **Polyhedron**, v. 19, p. 1123–1131, 2000.
- [38]. SAJADI, S. A. A. Glycine and L-Tryptophan, a Comparative Investigation on Interactions in Cu(II) Binary and Ternary Complexes in Aqueous Solution. **American Journal of Biochemistry**, v.2, p.36-40, 2012.
- [39]. DESCHAMPS, P.; KULKARNI, P. P.; SARKAR, B. The Crystal Structure of a Novel Copper(II) Complex with Asymmetric Ligand Derived from L-Histidine. **Inorganic Chemistry**, v.42, p.366-7368, 2003.
- [40]. RUBINO, J. T.; CHENKIN, M. P.; KELLER, M.; RIGGS-GELASCO, P.; FRANZ, K. J. A comparison of methionine, histidine and cysteine in copper(I)-binding peptides reveals differences relevant to copper uptake by organisms in diverse environments. **Metallomics**, v.3, p.61–73, 2011.
- [41]. MITTAL, R. K.; CHANDRA, M.; DEY, A. K. Binary Copper(II) and Uranyl(VI) Complexes of Glycocyamine, Taurine and Pyridoxal and Ternary Complexes Involving 2,2'-Bipyridine, 1,10-Phenanthroline or Nitrilotriacetic Acid. **Monatshefte für Chemie**, v.109, p.953-960, 1978.
- [42]. WAGNER, C. C.; BARAN, E. J. Spectroscopic and Magnetic Behaviour of the Copper (II) Complex of L-Tryptophan. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.23, p.339-42, 2004.
- [43]. ONOA, B.; MORENO, V. Nickel(II) and copper(II)  $\pm$  L-cysteine, L-methionine, L-tryptophan-nucleotide ternary complexes. **Transition Metal Chemistry**, v.23, p.485-490, 1998.
- [44]. BERNDT, E. The Crystal Structure of Bis-L-histidinecopper(II) Dinitrate Dihydrate. **Acta Crystallographica Section B**, v.25, p.30, 1969.
- [45]. DESCHAMPS, P.; KULKARNI, P. P.; SARKAR, B. X-ray Structure of Physiological Copper(II)-Bis(L-histidinato) Complex. **Inorganic Chemistry**, v.43, p.3338-3340, 2004.
- [46]. KUMAR, G. Synthesis and characterization of mixed ligand copper(II) complexes of histidine and hippuric acid. **Chemistry**, v.20, p.1-8, 2011.
- [47]. AULIFFE, C. A. M.; QUAGLIANO, J. V.; VALLARINO, A. L. M. Metal Complexes of the Amino Acid DL- Methionine. **Inorganic chemistry**, v.5, p.1996, 2003.
- [48]. HAN, J.; CHI, Y. S.; SHIN, B.; KIM, S. K.; PAIK, I. K. FT-IR and XRD Analyses of Commercial Methionine-Mineral Chelates. **Agricultural Chemistry & Biotechnology**, v.49, p.8-10, 2006.
- [49]. KELLA, S.; ANASTASSOPOULOU, J.; THEOPHANIDES, T. A molecular study of copper ion complexes with antioxidant taurine as ligand. **Metal Ions in Biology and Medicine**, v.10, p.269-273, 2008.
- [50]. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global strategy for dengue prevention and control** - 2012-2020.2012. Disponível em:

([http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75303/1/9789241504034\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75303/1/9789241504034_eng.pdf)). Acesso em: 08/04/2013

- [51]. RIBEIRO, A. F.; MARQUES, G. R. A. M.; VOLTOLINI, J. C.; CONDINO, M. L. F. Associação entre incidência de dengue e variáveis climáticas. **Revista Saúde Pública**, v.40, p.671-676, 2006.
- [52]. FORATTINI, O. P; BRITO, M. Reservatórios domiciliares de água e controle do *Aedes aegypti*. **Revista Saúde Pública**, v.37, p.676-677, 2003.
- [53]. SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE. SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Dengue: orientações técnicas para pessoal de campo**. Florianópolis (SC): Secretaria de Estado de Saúde de Santa Catarina; 2007.
- [54]. DIRETRIZES NACIONAIS PARA PREVENÇÃO E CONTROLE DE EPIDEMIAS DE DENGUE. In Departamento de Vigilância Epidemiológica, **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2009b, Brasília-DF, p.160.
- [55]. PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DA DENGUE: Amparo legal à execução das ações de campo - imóveis fechados, abandonados ou com acesso não permitido pelo morador In Secretaria de Vigilância em Saúde, **Ministério da Saúde**, 2006, Brasília-DF.
- [56]. MINISTÉRIO DA SAÚDE-MS. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE-SVS. **Nota técnica: O uso racional de inseticidas no controle do *Aedes aegypti* e sua utilização oportuna em áreas com transmissão de dengue**. Brasília. 2010.
- [57]. **POLO PC: probit or logit analysis [computer program]**. Berkeley (California); LeOra Software,1987.
- [58]. SHRIVER, D. F. **Química Inorgânica**, 4<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Bookmam, 2008, p. 195-197.
- [59]. CHRIS, J. A. **Química dos elementos dos blocos d e f**, 1<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Bookman, 2002, p.139 - 140.
- [60]. SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**, 7<sup>a</sup> ed. New York, EUA: John Wiley & Sons, 2005, p.102.
- [61]. GAO, S. L.; CHEN, S.;LIU, H.; HOU, R.; JI, Q. Study of copper chloride coordination with L- $\alpha$ -histidine. **Russian Journal of General Chemistry**, v.74, p.371-375, 2004.
- [62]. WAGNER, C. C.; BARAN. E. J. Vibrational Spectra of Bis(L-Methioninato) Copper(II). **Acta Farm. Bonaerense**. v.21, p.287- 290, 2002.