

**Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Exatas  
Programa de Pós-Graduação em Química**

Alexandre Bizzotto de Carvalho

**COMPLEXOS DE In(III) COM LIGANTES BIOATIVOS: propriedades físico-químicas e atividade antineoplásica de alguns complexos**

**Belo Horizonte  
2024**

UFMG-ICEx /DQ-1.630<sup>a</sup>  
T. 743

Alexandre Bizzotto de Carvalho

**COMPLEXOS DE In(III) COM LIGANTES BIOATIVOS: propriedades físico-químicas e atividade antineoplásica de alguns complexos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências – Química.  
Orientadora: Profa. Dra. Heloisa de Oliveira Beraldo

**Belo Horizonte  
2024**

Ficha Catalográfica

C331c  
2024  
T

Carvalho, Alexandre Bizzotto de.  
Complexos de In(III) com ligantes bioativos [manuscrito] : propriedades físico-químicas e atividade antineoplásica de alguns complexos / Alexandre Bizzotto de Carvalho. 2024.  
185 f. : il., gráfs., tabs.

Orientadora: Heloisa de Oliveira Beraldo.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química.  
Inclui bibliografia.  
Apêndices: f. 153-185.

1. Química inorgânica – Teses. 2. Índio (Química) – Teses. 3. Ligantes (Bioquímica) – Teses. 4. Agentes antineoplásicos – Teses. 5. Citotoxicidade de mediação celular – Teses. 6. Funcionais de densidade – Teses. 7. Química farmacêutica – Teses. 8. Complexos metálicos – Teses. I. Beraldo, Heloisa de Oliveira, Orientadora. II. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**"Complexos de In(III) com Ligantes Bioativos: Propriedades Físico-químicas e Atividade Antineoplásica de Alguns Complexos"**

**Alexandre Bizzotto de Carvalho**

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Heloisa de Oliveira Beraldo - Orientadora  
UFMG

Prof. Angel Amado Recio Despaigne  
UFV

Prof. Antonio Carlos Doriguetto  
UNIFAL-MG

Profa. Dayse Carvalho da Silva Martins  
UFMG

Prof. Thiago Teixeira Tasso  
UFMG

Belo Horizonte, 06 de novembro de 2024.

---



Documento assinado eletronicamente por **Thiago Teixeira Tasso, Professor do Magistério Superior**, em 07/11/2024, às 16:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Heloisa de Oliveira Beraldo, Professora do Magistério Superior**, em 07/11/2024, às 16:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Dayse Carvalho da Silva Martins, Professora do Magistério Superior**, em 07/11/2024, às 18:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antônio Carlos Doriguetto, Usuário Externo**, em 08/11/2024, às 06:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Angel Amado Recio Despaigne, Usuário Externo**, em 08/11/2024, às 11:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3699053** e o código CRC **A6DD8418**.

O trabalho descrito nesta tese foi realizado sob a orientação da Profa. Dra. Heloisa de Oliveira Beraldo.

*Esse trabalho é dedicado aos meus pais, Alexandre Dolabela de Carvalho e Paula Bizzotto Rodrigues, e também à minha querida avó Suzana Bizzotto que uma vez sabiamente me transmitiu com muita ternura: “Não tenha medo do desconhecido, a vida terrena é escola”.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por toda iluminação e proteção nessa trajetória tão importante da minha vida.

Aos meus pais, Paula e Alexandre, pela educação, amor e carinho incondicionais que foram muito importantes na minha trajetória de vida e profissional. Agradeço também às minhas irmãs Clara e Alice pelo amor e pela confiança de sempre e minha querida prima Camila Bizzotto pelo carinho e proteção.

Agradeço à minha orientadora, Profa. Heloisa Beraldo, por todo conhecimento transmitido, amizade e paciência. Desde o início desse sonho que integra tarefas árduas e resiliência, nunca deixou de acreditar em mim sempre me cativando nos momentos mais difíceis, obrigado por acreditar no meu potencial nessa ciência apaixonante que é a Química.

Aos colaboradores deste trabalho: Prof. Dr. Bernardo Lages Rodrigues, Profa. Dra. Renata Diniz, Profa. Dra. Elaine Maria Souza-Fagundes, Prof. Dr. Hélio Anderson Duarte e Profa. Dra. Maria Helena de Araújo. Obrigado pela parceria e pelas contribuições.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Química da UFMG, por todo conhecimento transmitido do qual levarei com muito carinho.

Aos meus colegas de laboratório da UFMG: Bruna e Andrea, e também aos alunos de iniciação científica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos. Às agências de fomento: CNPq, FAPEMIG e Finep e aos laboratórios: LAREMAR, LabCri, Laboratório de Proteômica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG.

À UFMG, ao Departamento de Química pela infraestrutura disponível para realização deste trabalho.

*“Não existem garantias. Sob a perspectiva do medo, nada é suficientemente seguro. Sob a perspectiva do amor, nada é necessário.”*

(Emmanuel, por Chico Xavier)

## Resumo

No presente trabalho foram feitas sínteses e determinadas propriedades físico-químicas de complexos de índio(III) com os ligantes lapachol (lap), lausona (lau), naringenina (nar) e hidrazonas derivadas de 2-formil-8-hidroxiquinolina. Foram também estudados os efeitos antineoplásicos de alguns complexos em células de tumores mamários. Foram obtidos complexos inéditos:  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1),  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (2),  $[\text{In}(\text{lap})_3]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (3), *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (4), bipy=2,2'-bipiridina e *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5) phen=1,10-fenantrolina. O lapachol não demonstrou citotoxicidade significativa contra células de câncer de mama MCF-7 e MDA-MB-231 nas condições experimentais utilizadas no presente trabalho. Após a coordenação do lapachol com o índio(III) nos complexos (1-3), os efeitos citotóxicos não aumentaram. Entretanto, a citotoxicidade aumentou significativamente com a coordenação do lapachol com índio(III) e a 1,10-fenantrolina no complexo *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5). Embora a 1,10-fenantrolina por si só tenha exibido citotoxicidade contra ambas as linhagens celulares, o complexo *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5) foi três vezes mais ativo nas células MCF-7. No ensaio de clonogenicidade, ao contrário da 1,10-fenantrolina, o complexo *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5) reduziu significativamente a formação de colônias de células MDA-MB-231. O complexo *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5) mostrou efeitos citotóxicos contra células não malignas HEK-293, mas seu índice de seletividade foi trinta e três vezes maior do que o controle doxorrubicina nas células MCF-7 e sete vezes maior do que o da doxorrubicina nas células MDA-MB-231. Ambos os complexos *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (4) e *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5) interagiram *in vitro* com o DNA de modo intercalativo, mas apenas o complexo *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5) mostrou citotoxicidade significativa, sugerindo que a 1,10-fenantrolina desempenha um papel crucial nos efeitos citotóxicos deste complexo. Assim, a inclusão da 1,10-fenantrolina como co-ligante revelou-se uma estratégia valiosa para aumentar a citotoxicidade, provavelmente devido aos seus efeitos citotóxicos, bem como à sua capacidade de direcionar o complexo ao DNA. Foram obtidos dois complexos inéditos de índio(III) à base do ligante lausona (lau). Foram sintetizados os complexos:  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7). A estrutura cristalina do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) foi determinada. Foram sintetizados os complexos inéditos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (8) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (9). A reação de  $\text{InCl}_3$  com 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitroimidazol hidrazona ( $\text{H}_2\text{L1}$ ) em etanol produziu  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ , complexo (10). A reação com 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitrobenzeno hidrazona ( $\text{H}_2\text{L2}$ ) em metanol resultou em

[In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)], complexo (11), enquanto [In(HL2)Cl<sub>2</sub>]·CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, complexo (12), foi formado utilizando etanol como solvente. A estrutura cristalina do complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11) foi determinada. Resultados experimentais e cálculos teóricos de DFT sugeriram que o complexo [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (10) apresenta número de coordenação (NC) 8, com um ligante neutro e um aniônico coordenados ao centro metálico através do sistema quelante tridentado O-Npy-N, juntamente com dois íons cloreto. Dados experimentais indicaram que nos complexos [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11) e [In(HL2)Cl<sub>2</sub>]·CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (12) um ligante aniônico está ligado ao centro de índio(III) através do sistema quelante tetradentado O-Npy-N-O, juntamente com dois cloretos. Uma molécula de metanol coordenada completa a esfera de coordenação do índio(III) no complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11). Cálculos de DFT revelaram que o complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11) apresenta NC = 7, com comprimentos de ligação em conformidade com os valores experimentais. Os espectros eletrônicos calculados dos complexos [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (10) e [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11) estão de acordo com os espectros experimentais e permitiram a atribuição das bandas de absorção às transições  $\pi - \pi^*$ . O presente trabalho constitui uma importante contribuição ao entendimento da química de coordenação de índio(III) em termos estruturais e das propriedades antitumorais de seus complexos.

Palavras-chave: complexos de índio(III); lapachol; lausona; naringenina; atividade citotóxica; hidrazonas derivadas de 2-formil-8-hidroxiquinolina.

## Abstract

In the present work indium(III) complexes with the ligands lapachol (lap), lausone (lau), naringenin (nar) and 2-formyl-8-hydroxyquinoline-derived hydrazones were obtained and their physico-chemical properties were investigated. The antineoplastic effects of selected complexes against breast tumor cells were evaluated. Novel complexes  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**1**),  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**),  $[\text{In}(\text{lap})_3]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**3**), *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) bipy = 2,2'-bipyridine and *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) phen = 1,10-phenanthroline were synthesized. Lapachol did not show significant cytotoxic effects against MCF-7 and MDA-MB-231 tumor cells. The cytotoxic effects did not increase upon coordination to indium(III) in complexes (**1-3**), but significantly increased in complex *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**). Although both complexes (**4**) and (**5**) interacted with DNA *in vitro* by an intercalative mode, only (**5**) exhibited cytotoxicity against MCF-7 and MDA-MB breast tumor cells. 1,10-phenanthroline and complex (**5**) presented cytotoxic effects against MCF-7 and MDA-MB cells, with complex (**5**) being three-fold more active than 1,10-phenanthroline on MCF-7 cells. In addition, complex (**5**) significantly reduced the formation of MDA-MB-231 colonies in a clonogenicity assay. *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) showed cytotoxic effects against non-malignant HEK-293 cells, but its selectivity index, was 30-fold higher than that of doxorubicin used as control on MCF-7 and 7-fold more active than doxorubicin against MDA-MB-231 cells. The results suggest that the presence of 1,10-phenanthroline exerted a crucial role in the cytotoxic effects of complex (**5**) and that the inclusion of 1,10-phenanthroline as co-ligand proved to be a valuable strategy for increasing cytotoxicity due to its own cytotoxic effects and to its ability to vectorize the complex to DNA. Complexes  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) and  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) were synthesized with lausone. The crystal structure of  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) was determined. Complexes  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) and  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) with naringenin were obtained as well. The reaction of indium(III) chloride with 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitroimidazole hydrazone (H<sub>2</sub>L1) in ethanol gave  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ , complex (**1**) as the product. The reaction with 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitrobenzene hydrazone (H<sub>2</sub>L2) in methanol gave  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]_2$ , complex (**2**), as the product while  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2]\cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}_2$ , complex (**3**), was formed as the product using ethanol as solvent. The crystal structure of the complex  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**2**) was determined. Theoretical DFT calculations suggested that complex  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**1**) presents coordination number (CN) 8, with one neutral and one anionic ligand coordinated to the metal center through the O-Npy-N tridentate chelating system together with two chloride ions. Experimental data

indicated that in complexes  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**2**) and  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**3**) one anionic ligand is attached to the indium(III) center through the O-Npy-N-O tetradentate chelating system along with two chlorides. A coordinated methanol molecule completes the indium(III) coordination sphere in complex  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2\text{CH}_3\text{OH}]$  (**2**). DFT calculations revealed that complex  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**2**) presents CN 7, with bond lengths in accordance with the experimental values. The calculated electronic spectra of complexes  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}1)(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (**1**) and  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**2**) were in agreement with the experimental spectra and allowed the attribution of the absorption peaks to  $\pi - \pi^*$  transitions. The present work is an important contribution to understanding indium(III) coordination chemistry and the antitumoral properties of indium(III) complexes.

Keywords: indium(III) complexes; lapachol; lausone; naringenin; cytotoxic effects; 2-formyl-8-hidroxiquinoline-derived hydrazones.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Representação estrutural do complexo cis[diamindicloretoplatina(II)], mais conhecido como cisplatina.....	31
<b>Figura 1.2.</b> Comportamento da cisplatina após aplicação intravenosa.....	33
<b>Figura 1.3.</b> Estruturas químicas dos fármacos à base de platina com atividade antitumoral.	34
<b>Figura 1.4.</b> Exemplos de derivados de $^{111}\text{In}$ utilizados em Medicina Diagnóstica: a) $^{111}\text{In}$ -tropolone, b) $^{111}\text{In}$ -oxine.....	36
<b>Figura 1.5.</b> Estrutura química da enterobactina.....	38
<b>Figura 1.6.</b> Complexo de índio(III) de 2-acetilpiridina tiossemicarbazonas.....	39
<b>Figura 1.7.</b> Estruturas e classificação das quinonas. ....	40
<b>Figura 1.8.</b> Representação da estrutura química do lapachol. ....	41
<b>Figura 1.9.</b> Representação da estrutura química da lausona.....	42
<b>Figura 1.10.</b> Representação das estruturas químicas dos flavonóides.....	44
<b>Figura 1.11.</b> Representação das estruturas químicas da naringenina e hesperetina. ....	45
<b>Figura 1.12.</b> Representação das estruturas químicas da 8-hidroquinolina e de seus complexos. de antimônio(III) com hidrazonas derivadas da 8-hidroxiquinolina. ....	47
<b>Figura 2.1.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (1). ....	55
<b>Figura 2.2.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ (2). ....	56
<b>Figura 2.3.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (3).....	56
<b>Figura 2.4.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4). ....	57
<b>Figura 2.5.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5).....	57
<b>Figura 2.6.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (6). ....	58
<b>Figura 2.7.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (7).....	59
<b>Figura 2.8.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (8).....	60
<b>Figura 2.9.</b> Esquema de síntese do complexo $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ (9).....	60
<b>Figura 2.10.</b> Esquema das sínteses dos complexos $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ (10), $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$ (11) e $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (12).....	62
<b>Figura 3.1.</b> Representações estruturais propostas para os complexos (1-5). ....	64
<b>Figura 3.2.</b> Curva termogravimétrica do complexo $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (1) obtida em atmosfera dinâmica de ar, com fluxo de $50 \text{ mL min}^{-1}$ e razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . A faixa de temperatura utilizada foi de 25 a $900 \text{ }^\circ\text{C}$ . ....	66

<b>Figura 3.3.</b> Espectro de infravermelho do lapachol e do complexo $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1).	68
<b>Figura 3.4.</b> Espectro de infravermelho do lapachol e do complexo $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3).	68
<b>Figura 3.5.</b> Espectro de infravermelho do lapachol, 2,2'-bipiridina e do complexo $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4).	69
<b>Figura 3.6.</b> Monocristais dos complexos $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4) (A) e $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5).	70
<b>Figura 3.7.</b> Representações das estruturas cristalinas dos complexos cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4) (a) e cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5) (b) do tipo ORTEP. Os elipsóides foram desenhados com um nível de probabilidade de 50%. Desenhos dos poliedros dos complexos $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4) (c) e $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5) (d).	71
<b>Figura 3.8.</b> Rede tridimensional de ligações de hidrogênio para os complexos cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4) e cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5) ao longo do eixo a (a) e c e a (b).	76
<b>Figura 3.9.</b> Redes de ligação de hidrogênio para os complexos cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4) e cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5): vista ao longo dos eixos a, b e c (a) para o complexo cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4), e ao longo do eixo b e c (b) para o complexo cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5).	77
<b>Figura 3.10.</b> Espectros eletrônicos dos complexos cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4) e cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5) e seus respectivos ligantes livres em DMSO em uma concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .	78
<b>Figura 3.11.</b> Espectro eletrônico em função do tempo do complexo cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4) em uma concentração de $10^{-3} \text{ M}$ em 1% DMSO/ tris-HCl tampão em pH = 7,4.	80
<b>Figura 3.12.</b> Espectro eletrônico em função do tempo do complexo cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5) em uma concentração de $10^{-3} \text{ M}$ em 1% DMSO/ tris-HCl tampão em pH = 7,4.	81
<b>Figura 3.13.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1).	82
<b>Figura 3.14.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ (2).	83
<b>Figura 3.15.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3).	84
<b>Figura 3.16.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo cis- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4).	85
<b>Figura 3.17.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5).	86
<b>Figura 3.18.</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ do lapachol e do complexo $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ (2) em DMSO- $d_6$ .	87
<b>Figura 3.19.</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ do lapachol e do complexo $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3) em DMSO- $d_6$ .	87
<b>Figura 3.20.</b> Espectros de RMN de $^1\text{H}$ do lapachol, 1,10'-fenantrolina e do complexo cis-	

[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	88
<b>Figura 3.21.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do ligante lapachol e do complexo [In(lap) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N (2) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	90
<b>Figura 3.22.</b> Espectro de DEPT-135 do complexo [In(lap) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N (2) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	90
<b>Figura 3.23.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do ligante lapachol e do complexo [In(lap) <sub>3</sub> ] · 2H <sub>2</sub> O (3) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	91
<b>Figura 3.24.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do ligante lapachol, 1,10'-fenantrolina e do complexo [In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	91
<b>Figura 3.25.</b> (a) Espectros de emissão do sistema BE-DNA na ausência (---) e na presença (___) de quantidades crescentes dos complexos cis-[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4) e cis-[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5). As amostras foram solubilizadas em DMSO a 25 °C. A seta indica as mudanças espectrais ao aumentar a concentração do complexo [In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5), e a linha vertical representa λ <sub>emissão</sub> = 595 nm. (b) Efeito de concentrações crescentes dos complexos cis-[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4) e cis-[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5) na intensidade de fluorescência do sistema brometo de etídio – DNA. A linha horizontal representa 50% da fluorescência inicial. ....	95
<b>Figura 3.26.</b> Efeitos citotóxicos dos compostos contra células de câncer de mama e células não tumorais. As linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7) e as células não tumorais HEK-293 foram tratadas com compostos (10 μM) por 72 h. A viabilidade celular foi avaliada usando o ensaio MTT. Mapa de calor representativo de pelo menos três replicações realizadas em triplicata. Doxorrubicina e DMSO (0,5%) foram usados como controles positivo e negativo, respectivamente. Em verde, a viabilidade celular foi menor que 50%.....	98
<b>Figura 3.27.</b> Efeitos da 1,10'-fenantrolina e do complexo cis-[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5) na sobrevivência clonogênica das células de câncer de mama MDA-MD-231. Quatrocentas células foram semeadas em placas de 6 poços e incubadas por 4 horas para aderência a 37°C (5% de CO <sub>2</sub> ) e, em seguida, tratadas com Phen e complexo cis-[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5) (em seus respectivos valores de IC <sub>50</sub> ) por 16 horas. As células foram lavadas com PBS e o meio foi substituído por meio suplementado, sendo incubadas por 14 dias. Após a incubação, as células foram fixadas e coradas com cristal de violeta, e o número de colônias foi quantificado. *Os dados são representativos de três experimentos independentes realizados em triplicata (p < 0,05).....	101
<b>Figura 4.1.</b> Representação estrutural dos complexos [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6) e [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (7).	102
<b>Figura 4.2.</b> Espectro de infravermelho da lausona, 2,2'-bipiridina e do complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6).....	104

<b>Figura 4.3.</b> Espectro de infravermelho da lausona, 2,2'-bipiridina e do complexo [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (7). .....	105
<b>Figura 4.4.</b> Monocristal do complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6). .....	106
<b>Figura 4.5.</b> A molécula do complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6) com uma estrutura com coordenação octaédrica com relação ao centro metálico de In(III) e uma molécula de metanol desordenada (A). Empacotamento indicando a bipiridina vizinha (A e A') e lausona (B e B') (B). .....	107
<b>Figura 4.6.</b> Espectro eletrônico em função do tempo do complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6) em uma concentração de 10 <sup>-3</sup> M em 3% DMSO/tris-HCl tampão em pH= 7,4. ....	111
<b>Figura 4.7.</b> Espectro eletrônico em função do tempo do complexo [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (7) em uma concentração de 10 <sup>-3</sup> M em 3% DMSO/tris-HCl tampão em pH= 7,4. ....	111
<b>Figura 4.8.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (7). ....	113
<b>Figura 4.9.</b> Espectros de RMN de <sup>1</sup> H da lausona, 2,2'-bipiridina e do complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6) em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	114
<b>Figura 4.10.</b> Espectros de RMN de <sup>1</sup> H da lausona, 1,10- fenantrolina e do complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (7) em DMF-d <sub>7</sub> . ....	114
<b>Figura 4.11.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C da 2,2'-bipiridina, lausona e do complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6) em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	117
<b>Figura 4.12.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C da 1,10'-fenantrolina, lausona e do complexo [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (7) em DMF-d <sub>7</sub> . ....	117
<b>Figura 5.1.</b> Representação estrutural dos complexos [In(nar)Cl <sub>2</sub> ] · 6 H <sub>2</sub> O (8) e [In(nar) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N (9). 121	
<b>Figura 5.2.</b> Espectro eletrônico ao longo do tempo do complexo [In(nar)Cl <sub>2</sub> ] · 6H <sub>2</sub> O (8) em uma concentração de 1x10 <sup>-3</sup> molL <sup>-1</sup> uma solução em 5% DMSO/Tris-HCl, pH = 7,2. ....	124
<b>Figura 5.3.</b> Espectros de RMN de <sup>1</sup> H da naringenina e do complexo [In(nar)Cl <sub>2</sub> ] · 6H <sub>2</sub> O (8) em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	125
<b>Figura 5.4.</b> Espectros de RMN de <sup>1</sup> H da naringenina e do complexo [In(nar) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N (9) em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	125
<b>Figura 5.5.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C da naringenina e do complexo [In(nar)Cl <sub>2</sub> ] · 6H <sub>2</sub> O (8) em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	128
<b>Figura 5.6.</b> Espectros de RMN de <sup>13</sup> C da naringenina e do complexo [In(nar) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N (9) em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	128
<b>Figura 6.1.</b> Representação estrutural dos precursores H <sub>2</sub> L1, H <sub>2</sub> L2 e dos complexos [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] (10), [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] (11) e [In(HL2)Cl <sub>2</sub> ]·CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH(12). 130	

<b>Figura 6.2.</b> Espectro vibracional do ligante H <sub>2</sub> L1 e do complexo [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ). .....	132
<b>Figura 6.3.</b> Espectro vibracional do ligante H <sub>2</sub> L2 e do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). .....	132
<b>Figura 6.4.</b> Espectro vibracional do ligante H <sub>2</sub> L2 e do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> ]·CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH ( <b>12</b> ). .....	133
<b>Figura 6.5.</b> Monocristais do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). .....	134
<b>Figura 6.6.</b> Estrutura cristalográfica do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). .....	135
<b>Figura 6.7.</b> Espectros de Uv-vis dos ligantes H <sub>2</sub> L1, H <sub>2</sub> L1 e dos complexos [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ) e [In(HL2)Cl <sub>2</sub> ]·CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH ( <b>12</b> ) em DMSO a 10 <sup>-3</sup> M. ....	138
<b>Figura 6.8.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ). .....	139
<b>Figura 6.9.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). ....	139
<b>Figura 6.10.</b> Espectro de massas MALDI-TOF do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> ]·CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH ( <b>12</b> ). .....	140
<b>Figura 6.11.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do ligante H <sub>2</sub> L1 e do complexo [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ) em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	141
<b>Figura 6.12.</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do ligante H <sub>2</sub> L2 e do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ) em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	142
<b>Figura 6.13.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do ligante H <sub>2</sub> L1 e do complexo [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ) em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	144
<b>Figura 6.14.</b> Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do ligante H <sub>2</sub> L2 e do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	144
<b>Figura 6.15.</b> Geometria otimizada PBE0/TZVPP de a) [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ) e b) [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). Os elementos em verde são cloretos, em vermelho são oxigênios, os azuis são nitrogênios, os pretos são carbonos e os brancos são hidrogênios. ....	147
<b>Figura 6.16.</b> Estrutura otimizada para a espécie [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)] <sup>2+</sup> , utilizando o método PBE0/def2-TZVPP .....	148
<b>Figura 6.17.</b> Cálculos de TD-DFT no nível de teoria PBE0 para a) [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ) e b) [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). Espectros eletrônicos experimentais (linha cheia) e teóricos (linha tracejada). .....	149
<b>Figura 6.18.</b> Orbitais moleculares envolvidos nas transições eletrônicas do complexo [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ). .....	149

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1.</b> Atribuições de tipo de eletrólito em solução.....	50
<b>Tabela 3.1.</b> Dados das análises elementares e condutividade molar em DMSO para os complexos (1-5). 65	65
<b>Tabela 3.2.</b> Valores de números de onda das bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros IV dos complexos (1-5) e seus respectivos precursores, lapachol, 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ) em pastilha de KBr e ATR.....	67
<b>Tabela 3.3.</b> Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento para os complexos cis-[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4) e cis-[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5).....	72
<b>Tabela 3.4.</b> Distâncias e ângulos de ligações selecionados e parâmetros geométricos de ligações de hidrogênio para os complexos cis-[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4) e cis-[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5). .....	74
<b>Tabela 3.5.</b> Dados de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e tentativa de atribuição de bandas.....	79
<b>Tabela 3.6.</b> Atribuição do número de hidrogênios, deslocamento químico $\delta$ (ppm), multiplicidade (M)* dos sinais nos espectros de RMN de <sup>1</sup> H dos ligantes lapachol, 2,2'-bipiridina (bipy), 1,10'-fenantrolina (phen) e dos complexos (1-5). Os espectros foram obtidos em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	89
<b>Tabela 3.7.</b> Atribuição dos sinais de RMN de <sup>13</sup> C dos ligantes lapachol, 2,2'-bipiridina (Bipy), 1,10'- fenantrolina (Phen) e dos complexos (1-5) em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	93
<b>Tabela 3.8.</b> Concentração necessária para reduzir 50% da fluorescência do sistema brometo de etídeo – DNA (C <sub>50</sub> ) e constante de ligação aparente (K <sub>app</sub> ) para a ligação competitiva entre o brometo de etídeo ligado ao DNA e os complexos de índio(III) (4) e (5). .....	96
<b>Tabela 3.9.</b> Concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC <sub>50</sub> ) após um tratamento de células de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7) e células não tumorais (HEK-293). .....	99
<b>Tabela 4.1.</b> Dados de análises elementares, ponto de fusão e condutividade molar dos complexos mensurada em DMSO para os complexos [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6) e [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (7). 103	103
<b>Tabela 4.2.</b> Valores de números de onda das bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ), dos complexos [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6) e [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (7) e seus precursores, lausona, 2,2-bipiridina (bipy) e 1,10'-fenantrolina (phen) ( $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ ). As análises foram realizadas em ATR.....	104
<b>Tabela 4.3.</b> Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento para os complexos [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6). .....	108
<b>Tabela 4.4.</b> Distâncias e ângulos de ligação selecionados, e parâmetros geométricos de ligações	

para o complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>6</b> ). .....	109
<b>Tabela 4.5.</b> Dados de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) a 3% DMSO/tris-HCl tampão em pH= 7,4 e tentativas de atribuição de bandas. ....	112
<b>Tabela 4.6.</b> Atribuição do número de hidrogênios, deslocamento químico $\delta$ (ppm), multiplicidade (M)* dos sinais nos espectros de RMN de <sup>1</sup> H dos ligantes lausona e 2,2'-bipiridina (bipy) e do complexo [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>6</b> ) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	115
<b>Tabela 4.7.</b> Atribuição dos hidrogênios, deslocamento químico $\delta$ (ppm), dos sinais de RMN de <sup>1</sup> H dos ligantes: lausona e 1,10'-fenantrolina (phen) e do complexo [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>7</b> ) em DMF-d <sub>7</sub> .....	116
<b>Tabela 4.8.</b> Atribuição dos sinais de RMN de <sup>13</sup> C dos ligantes lausona, 2,2'-bipiridina (Bipy), 1,10'- fenantrolina (Phen) e dos complexos [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>6</b> ) e [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>7</b> ) em DMF- d <sub>7</sub> e em DMSO-d <sub>6</sub> (valores em parêntesis).....	119
<b>Tabela 5.1.</b> Análises elementares, ponto de fusão e condutividade molar em DMSO dos complexos [In(nar)Cl <sub>2</sub> ] · 6 H <sub>2</sub> O ( <b>8</b> ) e [In(nar) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] · Et <sub>3</sub> N ( <b>9</b> ). .....	122
<b>Tabela 5.2.</b> Números de onda das bandas (cm <sup>-1</sup> ), dos complexos [In(nar)Cl <sub>2</sub> ] · 6H <sub>2</sub> O ( <b>8</b> ) e [In(nar) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N ( <b>9</b> ) e o ligante naringenina (4000 – 400 cm <sup>-1</sup> ). ....	122
<b>Tabela 5.3.</b> Atribuição de número de hidrogênios (N° de H), deslocamento químico $\delta$ (ppm) e multiplicidade dos sinais de RMN de <sup>1</sup> H da naringenina livre e dos complexos [In(nar)Cl <sub>2</sub> ] · 6H <sub>2</sub> O ( <b>8</b> ) e [In(nar) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N ( <b>9</b> ). ....	126
<b>Tabela 5.4.</b> Atribuição dos sinais de RMN de <sup>13</sup> C da naringenina livre e dos complexos de índio(III): [In(nar)Cl <sub>2</sub> ] · 6H <sub>2</sub> O ( <b>8</b> ) e [In(nar) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N ( <b>9</b> ) e sinais de DEPT-135 do complexo [In(nar) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N ( <b>9</b> ) em DMSO-d <sub>6</sub> .....	127
<b>Tabela 6.1.</b> Análises elementares, ponto de fusão e condutividade molar em DMSO dos complexos [In(H <sub>2</sub> L1)(HL1)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>10</b> ), [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ) e [In(HL2)Cl <sub>2</sub> ] · CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH ( <b>12</b> ). .....	131
<b>Tabela 6.3.</b> Valores de números de onda das bandas (cm <sup>-1</sup> ), do complexo ( <b>10-12</b> ) e seus respectivos precursores: H <sub>2</sub> L1 e H <sub>2</sub> L2 (4000 – 400 cm <sup>-1</sup> ). ....	134
<b>Tabela 6.4.</b> Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligações de hidrogênio do complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ) .....	136
<b>Tabela 6.5.</b> Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento para o complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). ....	136
Cont. <b>Tabela 6.6.</b> Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento para o complexo [In(HL2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] ( <b>11</b> ). ....	137
<b>Tabela 6.7.</b> Atribuição do deslocamento químico $\delta$ (ppm) e multiplicidade dos sinais de RMN	

de  $^1\text{H}$  dos ligantes  $\text{H}_2\text{L1}$ ,  $\text{H}_2\text{L2}$  e dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**),  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**)..... 143

**Tabela 6.8.** Atribuição dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes  $\text{H}_2\text{L1}$ ,  $\text{H}_2\text{L2}$  e dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**),  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**)..... 145

Cont. **Tabela 6.9.** Atribuição dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes  $\text{H}_2\text{L1}$ ,  $\text{H}_2\text{L2}$  e dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**),  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**). ..... 146

**Tabela 6.10.** Distâncias de ligação calculadas pelo método PBE0/TZVPP (valores experimentais em parêntesis)..... 148

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
BE	Brometo de Etídio
Bipy	2,2-bipiridina
CI <sub>50</sub>	Concentração inibitória de 50% do crescimento celular
cisplatina	<i>cis</i> -diaminodicloroplatina(II)
CT-DNA	<i>cal</i> <i>thymus</i> DNA
d	Dupleto
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DEPT-135	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DFT	<i>Density Functional Theory</i>
DMF	Dimetilformamida
DMF-d <sub>7</sub>	Dimetilformamida deuterada
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dppm	bis(difenilfosfina)metano
DTPA	<i>Diethylenetriaminepentaacetic acid</i>
F	Banda na região do infravermelho com intensidade forte
f	Banda na região do infravermelho com intensidade fraca
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
H <sub>2</sub> L1	2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitroimidazol
H <sub>2</sub> L2	2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitrobenzeno
IS	Índice de seletividade

IV	Infravermelho
Lap	Lapachol
Lau	Lausona
m	Multiplete, quando relacionado a espectroscopia RMN
m	Banda na região do infravermelho com intensidade média
MALDI-TOF	<i>Matrix Associated Laser Desorption-Time of Flight</i>
M	Massa molar
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltriazólio)
Nar	Naringenina
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
Phen	1,10-fenantrolina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Simpleto
SAR	<i>Structure – activity relationship studies</i>
s-DHB	ácido super-2-hidroxi-5-metóxi-benzóico
TG	Análise termogravimétrica
v	Número de onda
$\delta$	Deslocamento químico
$\Lambda M$	Condutividade molar
8-HQ	8-hidroxiquinolina

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>Capítulo 1 – Introdução.....</b>	<b>28</b>
1.1. Química Medicinal e seu contexto histórico.....	28
1.2. Química Inorgânica Medicinal .....	30
1.3. Complexos de índio(III): Aspectos químicos e aplicações na Medicina Nuclear .....	35
1.4. Complexos de índio(III) com ligantes que possuem atividade biológica.....	37
1.5. Lapachol como ligante bioativo para síntese de complexos metálicos de índio(III).....	40
1.6. Flavonóides como ligantes bioativos para síntese de complexos metálicos.....	43
1.7. Hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina como ligantes na síntese de complexos metálicos .....	46
1.8. Objetivos do presente trabalho .....	48
<b>Capítulo 2 – Parte Experimental.....</b>	<b>49</b>
2.1. Reagentes e solventes .....	49
2.2. Técnicas experimentais.....	49
2.2.1. Pesagens .....	49
2.2.2 Temperaturas de fusão/decomposição .....	49
2.2.3. Análise elementar (CHN) .....	49
2.2.4. Análise de condutividade molar .....	50
2.2.5. Termogravimetria (TG) .....	50
2.2.6. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV) .....	50
2.2.7. Espectrometria de Massas .....	51
2.2.8. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	51
2.2.9. Espectroscopia de absorção eletrônica na região do Ultravioleta-visível .....	51
2.2.10. Medidas de difração de raios X por monocristal.....	52
2.2.11. Culturas de células.....	53

2.2.12. Testes de citotoxicidade.....	53
2.2.13. Ensaio do efeito dos complexos de índio(III) em células clonogênicos .....	54
2.2.14. Estudos de interação com DNA .....	54
2.3. Sínteses de complexos índio(III) .....	55
2.3.1. Sínteses de complexos de índio(III) com lapachol.....	55
2.3.2. Sínteses de complexos de índio(III) com lausona .....	58
2.3.3. Sínteses de complexos de índio(III) com naringenina.....	59
2.3.4. Sínteses de complexos de índio(III) com hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina .....	61
<b>Capítulo 3 – Resultados e discussão: Complexos de índio(III) com lapachol.....</b>	<b>63</b>
3.1. Análises elementar e condutividade molar .....	64
3.2. Análise Termogravimétrica .....	65
3.3. Espectroscopia IV .....	66
3.4. Medidas de difração de raios X por monocristal.....	70
3.5. Espectroscopia de absorção eletrônica na região do Uv-vís.....	77
3.5.1. Testes de estabilidade .....	79
3.6. Espectrometria de Massas – MALDI-TOF .....	81
3.7. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	86
3.8. Avaliação da competição entre brometo de etídeo (BE) e os complexos <i>cis</i> -[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4) e <i>cis</i> -[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5).....	93
3.9. Testes de citotoxicidade dos complexos [In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4) e [In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5).....	97
3.9.1. Impacto da 1,10'-fenantrolina e do complexo <i>cis</i> -[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5) na sobrevivência de células clonogênicas do tipo MDA-MB-231 .....	100
3.10. Conclusões.....	101
<b>Capítulo 4 – Resultados e discussão: Complexos de índio(III) com lausona.....</b>	<b>102</b>
4.1. Análise Elementar, Condutividade molar e Ponto de Fusão/Decomposição .....	102
4.3. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV).....	103

4.4. Medidas de difração de raios X por monocristal.....	106
4.5. Testes de Estabilidade - Espectroscopia de absorção eletrônica na região do Uv-vís	110
4.6. Espectrometria de Massas MALDI-TOF .....	112
4.7. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	113
<b>Capítulo 5 – Resultados e discussão: Complexos de índio(III) com naringenina.....</b>	<b>121</b>
5.1. Análise Elementar, Análise de Condutividade Molar e Ponto de Fusão/Decomposição.....	121
5.2. Análise Termogravimétrica .....	122
5.3. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV).....	122
5.4. Testes de Estabilidade .....	123
5.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	124
5.6. Conclusões.....	129
<b>Capítulo 6 – Resultados e discussão: Complexos de índio(III) com hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina.....</b>	<b>130</b>
6.1. Análises elementares, Condutividade Molar e Ponto de Fusão/Decomposição.....	131
6.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV).....	131
6.3. Medidas de difração de raios X por monocristal.....	134
6.4. Espectroscopia de absorção eletrônica na região do Uv-vís.....	137
6.5. Espectrometria de Massas – MALDI-TOF .....	138
6.6. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	140
6.7. Estudos Teóricos .....	146
6.8. Conclusões.....	150
<b>Capítulo 7 - Conclusões Gerais.....</b>	<b>151</b>
<b>APÊNDICE I - Artigos publicados.....</b>	<b>153</b>
<b>APÊNDICE II: Trabalho apresentado em congresso.....</b>	<b>173</b>
<b>APÊNDICE III: Curvas termogravimétricas, espectros de infravermelho, RMN e UV-Vís.....</b>	<b>175</b>

## Capítulo 1 – Introdução

### 1.1. Química Medicinal e seu contexto histórico

A Química Medicinal é uma importante área de conhecimento que envolve o planejamento, desenvolvimento e síntese de novos fármacos para atuarem na terapêutica. A integração de conhecimentos da química, e suas áreas correlatas, juntamente com a farmacologia, mostra-se imprescindível no planejamento e na preparação de novos compostos químicos, sejam eles à base de produtos naturais ou compostos estritamente sintéticos. A Química Medicinal também se dedica à investigação dos mecanismos de ação de candidatos a protótipos de fármacos, almejando sempre o aperfeiçoamento destes para contornar problemas já conhecidos no tratamento de algumas enfermidades, seja minimizando efeitos adversos ou ainda diversificando recursos terapêuticos previamente desenvolvidos.<sup>1</sup>

A Química Medicinal faz parte da civilização humana desde os seus primórdios. Uma evidência da prática da Química Medicinal nos tempos antigos é o manuscrito denominado *Papiro Ebers*, datado de aproximadamente 1550 a.C, um dos mais remotos tratados médicos conhecidos. Nesse documento constam prescrições que utilizavam produtos naturais na composição de unguentos e preparações médicas para tratamento de doenças.<sup>2</sup>

O primeiro entusiasta a refletir em bases teóricas da Química Medicinal e Farmacologia, foi o médico e filósofo romano Claudio Galeno (129-200). Tanto a teoria quanto a experiência prática contribuem para o uso racional dos medicamentos por meio da interpretação dos resultados observados e experimentados: “Os empíricos afirmam que tudo é descoberto por meio da experiência. Contudo, sustentamos que a descoberta ocorre em parte pela experiência e em parte pela teoria. Nem a experiência nem a teoria, isoladamente, são aptas a descobrir tudo”.<sup>3</sup>

No século XVI, o prestigiado alquimista suíço Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493-1541), de pseudônimo Paracelso, realizou diversos estudos sobre toxicologia baseados na prática. Esses estudos impactaram substancialmente na concepção de prognósticos médicos em sua época.

---

<sup>1</sup> P. Graham. An introduction to Medicinal Chemistry. 5ª Ed. Oxford, Reino Unido. Editora Oxford, 2013.

<sup>2</sup> R. Pertile. A história das técnicas médicas a partir de ilustrações em papiros do Egito antigo. *Khronos*, 10: 79-88, 2020.

<sup>3</sup> N. Vivian. "The Chronology of Galen's Early Career". *Classical Quarterly* 23:158-171,1973.

Paracelso foi pioneiro em prescrever substâncias quimicamente definidas com tamanho sucesso, que foi acusado por inimigos profissionais como envenenador. Mediante essa acusação descabida, Paracelso defendeu-se com uma tese que se tornou um postulado em Farmacologia, em que cita: “Se quiserem explicar adequadamente o que é um veneno, o que, então, não é um veneno? Todas as coisas são veneno, e nada é sem veneno; somente a dosagem estabelece se algo não é um veneno”.<sup>4</sup>

Vale salientar que a farmacologia é uma importante base da Química Medicinal, e em sua jornada histórica, aparecem alguns personagens muito importantes na consolidação experimental dos fármacos e suas ações farmacológicas. O patologista suíço Johann Jakob Wepfer (1620-1695) foi o primeiro a experimentar medicamentos em modelos animais.<sup>5</sup> Com intuito de institucionalizar e descrever precisamente as propriedades químicas e os efeitos dos fármacos, o farmacologista alemão Rudolph Buchheim (1820-1879) fundou o primeiro Instituto de Farmacologia na Universidade de Dorpat na Estônia, em 1847, tornando a farmacologia uma matéria acadêmica independente. Buchheim pensava que: “A ciência dos medicamentos é teórica, isto é, explanatória. Ela deve oferecer conhecimentos por meio dos quais nossa opinião sobre a utilidade do medicamento pode ser validada junto ao leito do doente”.<sup>5</sup>

Ainda em termos históricos da Química Medicinal, em 1897 foi realizada a primeira modificação química de um princípio ativo derivado de um produto natural. O químico alemão Felix Hoffmann (1868-1946), funcionário da indústria farmacêutica Bayer, modificou a molécula de ácido salicílico ao reagir o mesmo com ácido acético para produzir ácido acetilsalicílico (AAS). Inicialmente os farmacologistas da Bayer demonstraram ceticismo quanto ao novo composto, mas posteriormente ao investigar a tolerabilidade e eficácia do novo fármaco, concluíram que a substância possuía atividades analgésicas, anti-inflamatórias e antipiréticas. Em comparação ao seu precursor, o ácido salicílico, o AAS produzia menos problemas estomacais com as mesmas propriedades farmacológicas, consolidando assim um avanço expressivo na Química Medicinal.<sup>6</sup>

Os fundamentos históricos, teóricos e experimentais da Química Medicinal foram e continuarão sendo muito importantes. Principalmente no que diz respeito à incessante procura por novos compostos biologicamente ativos, compostos químicos que podem ser

---

<sup>4</sup> H. Sigerest. Paracelsus. Four Treatises of Theophrastus Von Hohenheim Called Paracelsus. [S.l.]: JHU Press. (1996). 222 páginas

<sup>5</sup> H. Lüllmann, K.Mohr, L.Hein, D.Bieger. Farmacologia, Atlas. 5ªed. Porto Alegre, Artmed, (2008).

<sup>6</sup> D. R. Goldberg. Aspirin: Turn of the Century Miracle Drug. Chem. Her. Magazine, (2009) 27 (2):26-30.

fundamentais para o tratamento de diversos tipos de patologias.

## 1.2. Química Inorgânica Medicinal

A Química Inorgânica Medicinal é um campo de estudo da Química Medicinal onde são abordados temas como: sínteses de metalofármacos, design de ligantes orgânicos que atuam como sítios de coordenação para metais, inibição de metaloproteínas e desenvolvimento de agentes de terapia e diagnóstico.<sup>7</sup> A Química Inorgânica Medicinal iniciou sua importante contribuição científica, quando em 1908, o médico e bacteriologista alemão Paul Ehrlich foi laureado com prêmio Nobel em Medicina ou Fisiologia pela utilização de compostos organoarsênicos para tratamento da sífilis. O Salvarsan, assim batizado por Ehrlich, foi fundamental para o tratamento de milhares de pessoas em todo mundo, sendo o primeiro metalofármaco catalogado.<sup>8</sup> Paul Ehrlich também assinalou seu pioneirismo no estudo da relação entre as características estruturais dos compostos biologicamente ativos com suas atividades farmacológicas, campo de investigação hoje denominado SAR (*structure - activity relationship studies*).<sup>9</sup>

Em 1965, o físico americano Barnett Rosenberg e colaboradores fizeram uma importante descoberta ao acaso. Ao realizar um estudo sobre a interação do campo elétrico com soluções bacterianas de *Escherichia coli*, Rosenberg observou que a divisão celular das colônias bacterianas era inibida, e durante o processo, as células de *E. coli*, como não podiam se dividir, cresciam formando filamentos alongados. Iniciou-se então uma procura pelos possíveis compostos químicos responsáveis por este fenômeno, e alguns resultados mostraram que a platina do eletrodo dissolvia-se no meio de cultura, que continha sais de amônio, para formar espécies complexas do metal. Levou-se em consideração a hipótese de formação do sal  $(\text{NH}_4)_2[\text{PtCl}_6]$ , que foi então sintetizado e testado nas mesmas condições da experiência inicial. Com as soluções previamente preparadas, o fenômeno não se repetia, mas após alguns dias em repouso e expostas à luz, ao serem novamente testadas, as soluções causavam a filamentação das bactérias. Mais tarde mostrou-se que ocorria uma reação fotoquímica ocasionando a troca do cloreto, um ligante de caráter lábil, por  $\text{NH}_3$  na esfera de coordenação

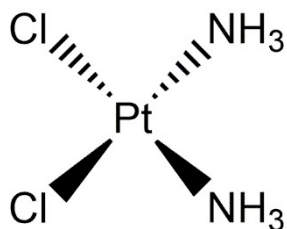
---

<sup>7</sup> C. Orvig, M. J. Abrams. Medicinal inorganic chemistry: introduction. Chem Rev. (1999) 99(9):2201-4.

<sup>8</sup> Paul Ehrlich – Facts. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach AB 2024. Tue. 30 Jan 2024. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1908/ehrlich/facts/>

<sup>9</sup> N. Lloyd, H. Morgan, B. Nicholson, R. Ronimus, S. Riethmiller. Salvarsan - the first chemotherapeutic compound. Chem. N. Z. (2005) 69.

da platina.<sup>10</sup> O composto mais ativo foi o complexo cis[diamindicloretoplatina(II)], denominado de cisplatina, cuja a representação estrutural está representada na Figura 1.1.



**Figura 1.1.** Representação estrutural do complexo cis[diamindicloretoplatina(II)], mais conhecido como cisplatina.

Em 1968, Barnett Rosenberg explica o avanço expressivo no tratamento de algumas neoplasias com a cisplatina: “O câncer testicular passou de uma doença que normalmente possuía uma letalidade de cerca de 80% dos pacientes, para uma que é curável em 90% dos casos. Este é provavelmente o desenvolvimento mais importante no tratamento de câncer nos últimos 20 anos. É agora a primeira escolha de tratamento nos cânceres de ovário, bexiga e ossos”.<sup>11</sup>

A cisplatina é um medicamento intravenoso com baixa solubilidade em água, com acumulação hepática e renal no organismo humano. O mecanismo de ação da cisplatina é entendido primeiramente pela estabilidade do complexo na corrente sanguínea, onde existe uma alta concentração de íons cloreto o que colabora para que a cisplatina permaneça em sua forma neutra. A cisplatina penetra nas células por difusão passiva e ativa.<sup>12</sup>

A cisplatina tem como principal modo de ação a capacidade de formar ligações covalentes com os átomos de nitrogênio das bases nitrogenadas do DNA, preferencialmente aos nitrogênios de duas guaninas adjacentes. A cisplatina também realiza outros tipos de ligação com o DNA, no entanto estas são mais facilmente reparáveis por mecanismos de regeneração de danos celulares.<sup>12</sup>

A cisplatina possui afinidade por proteínas responsáveis pelo transporte de cobre do

<sup>10</sup> A. M. Fuertes, J. Castilla, C. Alonso, M. J. Pérez. Cisplatin Biochemical Mechanism of Action: From Cytotoxicity to Induction of Cell Death Through Interconnections Between Apoptotic and Necrotic Pathways, *Current Medicinal Chemistry* (2003); 10 (3).

<sup>11</sup> B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas. Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature*, 205, 698–699 (1965).

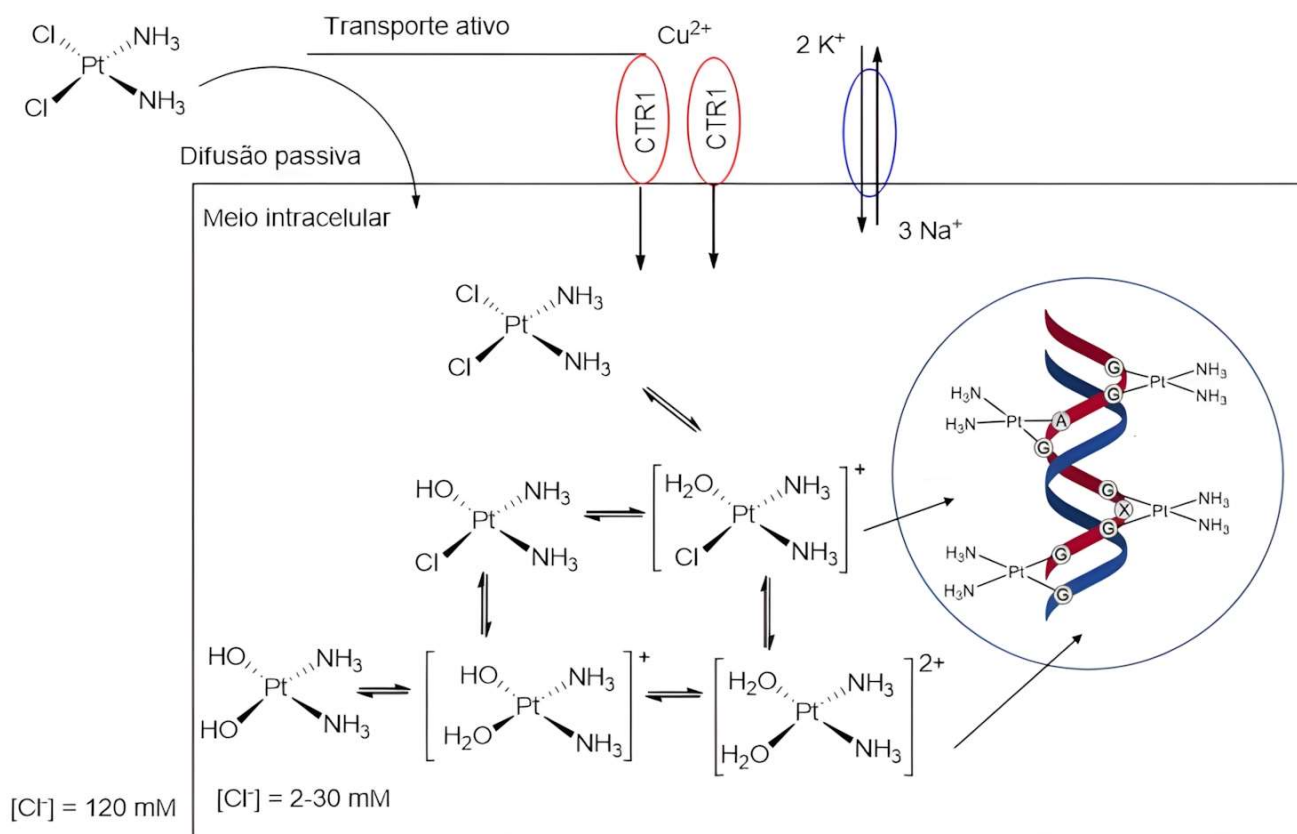
<sup>12</sup> S. Gómez-Ruiz, D. Maksimovic-Ivanic, S. Mijatovic, G. Kaluderovic. “On the Discovery, Biological Effects, and Use of Cisplatin and Metallocenes in Anticancer Chemotherapy”. *Bioinorg. Chem. Appl.* (2012), 2012:140284.

meio extracelular para o meio intracelular, tais como as proteínas transportadoras de cobre de alta afinidade codificadas pelo gene CTR1, o qual mostrou-se determinante na absorção e acumulação celular de complexos de platina. Ainda que exerça sua atividade antitumoral através da coordenação na molécula de ácido desoxirribonucléico (DNA), esse caminho é percorrido por apenas 1% das moléculas de cisplatina que perpassam a membrana celular. A coordenação ao DNA ocorre principalmente através dos átomos de nitrogênio de purinas, que não estão envolvidos em ligações de hidrogênio intermoleculares.<sup>13</sup>

Uma vez dentro das células, a cisplatina pode sofrer hidrólise. Existe um consenso de que ao penetrar no meio intracelular, a cisplatina sofre uma reação de troca de ligantes na qual os ligantes cloretos, que são lábeis, são substituídos por moléculas de água. A concentração de íons cloreto no meio extracelular é da ordem de 100 mM enquanto que no meio intracelular ela é da ordem de 3-20 mM. Essa baixa concentração intracelular de íons cloreto permite que ocorram hidrólises sucessivas na cisplatina, formando espécies que podem interagir covalentemente com o DNA, como a espécie  $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$  como ilustrado na Figura 1.2.

---

<sup>13</sup> D. Wang, S. J. Lippard. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat. Rev. Drug. Discov.* (2005) Apr;4(4):307-20.



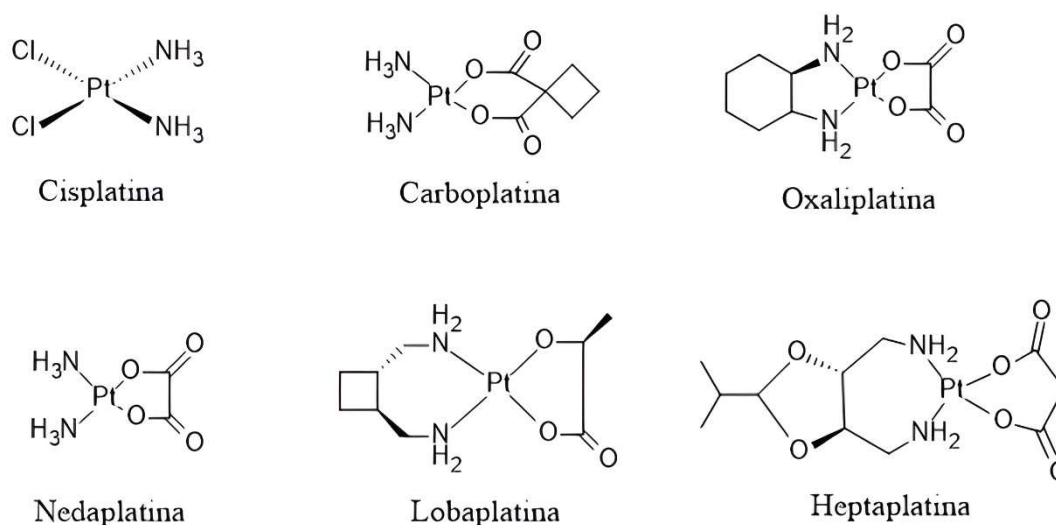
**Figura 1.2.** Comportamento da cisplatina após aplicação intravenosa.<sup>14</sup>

Os complexos de platina interagem no meio intracelular com alguns tióis como a glutathiona, e essa interação faz com que a molécula de cisplatina fique indisponível para sofrer hidrólise e consequentemente a sua interação com as bases nitrogenadas do DNA fica comprometida. O íon  $\text{Pt}(\text{II})$  é considerada um ácido macio de Pearson e, portanto, interage fortemente com bases macias como o caso dos átomos de enxofre, que apresentam alta polarizabilidade e baixa eletronegatividade.<sup>11</sup>

Devido ao aparecimento de resistência adquirida à cisplatina, sua alta toxidez e baixa solubilidade em meio aquoso, foram desenvolvidos compostos análogos à cisplatina visando reverter esses problemas. Os derivados da cisplatina apresentados na Figura 1.3, foram desenvolvidos justamente para se buscar uma diminuição da toxicidade no tratamento das neoplasias e também superar os mecanismos de resistência adquirida dos tumores.<sup>15</sup>

<sup>14</sup> J. Hildebrandt, N. Häfner, H. Görls, D. Kritsch, G. Ferraro, M. Dürst, I. B. Runnebaum, A. Merlino, W. Weigand. Platinum(II) O,S complexes as potential metallodrugs against Cisplatin resistance. Dalton Trans. (2016) 29;45(47).

<sup>15</sup> K. Mjos, C. Orvig. "Metallo drugs in Medicinal Inorganic Chemistry" Chem. Rev, (2014), 114 (8).



**Figura 1.3.** Estruturas químicas dos fármacos à base de platina com atividade antitumoral.

A carboplatina foi o segundo fármaco à base de platina a ser aprovado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 1985. A carboplatina possui ligantes do tipo carboxilato que substituem os cloretos. Os carboxilatos conferem à carboplatina uma maior solubilidade em água, o que é vantajoso em relação à cisplatina. A carboplatina possui uma menor toxicidade com relação às células normais, no entanto mostra-se menos ativa contra alguns tipos de tumores, como os de cabeça, bexiga e pescoço comparando-se com a cisplatina.<sup>16</sup>

A oxaliplatina, composto de platina(II) aprovado para uso humano, se diferencia da cisplatina pela presença dos grupos abandonadores oxalato e diaminociclohexano. A oxaliplatina possui afinidade por adutos no DNA que são distintos aos adutos em que a cisplatina atua. Este fato faz com que as enzimas reparadoras de DNA não identifiquem a oxaliplatina fazendo com que este fármaco seja ativo contra linhagens de células resistentes à cisplatina.<sup>17</sup>

Nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina têm seu uso regulamentado apenas no Japão e na Coreia do Sul. A satraplatina é um composto de platina(IV) que atua como um pró-fármaco, e que durante o metabolismo é reduzida à platina(II), o composto ativo. Atualmente a venda de compostos à base de platina correspondem a 6% do mercado total dos compostos

<sup>16</sup> L. M. Pasetto, M. R. D'Andrea, A. A. Brandes, E. Rossi, S. Monfardini. The development of platinum compounds and their possible combination. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, (2006), 60(1).

<sup>17</sup> N. Wheat, S. Walker, G. Craig, R. Oun. "The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials". *Dalton Trans.* (2010), 39(35): 8116-27.

anticâncer, com lucros que excedem o valor de 2 bilhões de dólares por ano.<sup>18</sup>

A eficácia muito promissora dos complexos de platina frente a neoplasias gerou uma verdadeira corrida científica em todo mundo com o intuito de desenvolver novos metalofármacos, agora não mais apenas à base de platina, mas também de diversos outros metais da tabela periódica, como rutênio, cobre, índio, gálio, entre outros. Além do foco em atividades antineoplásicas, surgiram também estudos de aplicações de metalofármacos contra diversos tipos de enfermidades, desde doenças parasitárias como a leishmaniose e doença de Chagas, até doenças causadas por fungos, vírus e bactérias.<sup>19</sup>

### 1.3. Complexos de índio(III): Aspectos químicos e aplicações na Medicina Nuclear

O índio encontra-se entre os elementos mais recentemente explorados na Química Inorgânica Medicinal. O elemento químico índio é pertencente ao grupo 13 da tabela periódica. Foi descoberto em 1863 por Ferdinand Reiche e Hieronymous Richter. O índio é pouco disponível na crosta terrestre, sendo um elemento de alta maleabilidade que existe como uma mistura isotópica de  $^{115}\text{In}$ , com tempo de meia vida de  $t_{1/2} = 4,41 \times 10^{14}$  anos e uma abundância de 95,7% e também como o isótopo  $^{113}\text{In}$ , com abundância de 4,3%.<sup>20</sup>

O índio é também explorado na síntese de radiofármacos, sendo um elemento químico interessante para o desenvolvimento de fármacos para diagnóstico. Complexos de índio(III) com o isótopo radioativo  $^{111}\text{In}$  possuem diversas aplicações na Medicina Nuclear Diagnóstica principalmente para a obtenção de imagens clínicas de infecções e lesões inflamatórias. A localização de tumores com linfócitos marcados com  $^{111}\text{In}$  também foi descrita em pacientes com melanoma metastático.<sup>21</sup>

O emprego do radioisótopo  $^{111}\text{In}$  na sua forma de  $\text{InCl}_3$  foi investigado no início da década de 1960 e em meados dos anos 1970, o complexo  $\text{In(III)-DTPA}$  ( $\text{DTPA} = \text{diethylenetriaminepentaacetic acid}$ ), foi desenvolvido para emprego em cisternografia isotópica, que é aplicada mais comumente na obtenção de imagem do encéfalo para verificar alterações no fluxo do líquido cefalorraquidiano. O  $^{111}\text{In}$  é de grande relevância no

---

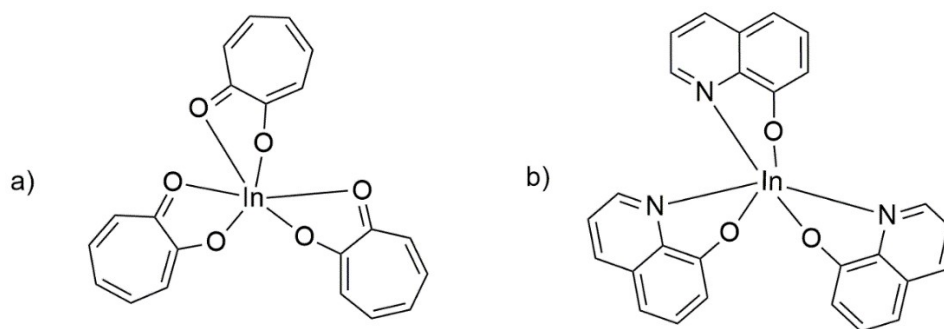
<sup>18</sup> A. Kopacz-Bednarska, T. Król. Selected platinum complexes in standard and modern anti-cancer therapies. *Nowotwory. J. Oncol* (2022), 72: 96–105.

<sup>19</sup> S. M. Cohen. New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry, *Current Opinion in Chemical Biology*, 11, (2007), 115-120.

<sup>20</sup> Disponível em: <http://www.rsc.org/periodic-table/element/49/indium>

<sup>21</sup> H. Beraldo: Pharmacological applications of non-radioactive indium(III): A field yet to be explored, *Coordination Chemistry Reviews*. 419 (2020) 213375.

desenvolvimento de complexos metálicos. Os radiofármacos de índio(III) podem em princípio ser utilizados na terapia contra neoplasias por meio de emissão de elétrons Auger, causando danos no DNA e conseqüentemente acarretando na morte celular de células tumorais.<sup>21</sup> Na Figura 1.4 estão ilustrados alguns complexos de índio(III) com aplicações em Medicina Diagnóstica.



**Figura 1.4.** Exemplos de derivados de  $^{111}\text{In}$  utilizados em Medicina Diagnóstica: a)  $^{111}\text{In}$ -tropolone, b)  $^{111}\text{In}$ -oxine.<sup>22</sup>

O  $^{111}\text{In}$ -oxine foi aprovado para uso humano para monitorar e quantificar a biodistribuição de células progenitoras de aterosclerose. O complexo  $^{111}\text{In}$ -tropolone é utilizado para marcação de plaquetas, na detecção de lesões aterotrombóticas, sendo empregado em terapia de curto prazo como um agente antiplaquetário.<sup>22</sup>

Considerando aspectos da Química de Coordenação, o íon índio(III) forma preferencialmente complexos com geometria octaédrica, podendo se unir a diversos ligantes com diferentes sítios de coordenação. Os íons do grupo 13 são considerados ácidos duros pela teoria de Pearson e apresentam grande afinidade por bases duras, como ligantes doadores de densidade eletrônica que possuem átomos de oxigênio e nitrogênio. O índio(III) forma compostos estáveis com ligantes do tipo carboxilato, fenolato e também com alguns ligantes mais macios que contém átomos de enxofre.<sup>23</sup>

Os números de coordenação dos íons do grupo 13 podem variar desde complexos hexacoordenados como  $[\text{M}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3-}$  a tetracoordenados como o  $[\text{M}(\text{OH})_4]^-$ . Para íons do grupo 13 a sucessão das reações de desprotonação leva à produção do complexo  $[\text{M}(\text{OH})_4]^-$

<sup>22</sup> M. K. Dewanjee, S. A. Rao, P. Didisheim. Indium-111 tropolone, a new high-affinity platelet label: preparation and evaluation of labeling parameters. *J. Nucl. Med.* (1981), 22(11):981-7.

<sup>23</sup> D. Merli, A. Profumo, N. Bloise N, *et al.* Indium/Gallium Maltolate Effects on Human Breast Carcinoma Cells: In Vitro Investigation on Cytotoxicity and Synergism with Mitoxantrone. *ACS Omega.* (2018) (4):4631-4640.

predominantemente em valores de pH em torno de 7,4. O índio(III) existe em meio aquoso a pH 7,4 quase inteiramente como o complexo neutro  $[\text{In}(\text{OH})_3]$ , fator que restringe sua solubilidade.<sup>24</sup>

#### 1.4. Complexos de índio(III) com ligantes que possuem atividade biológica

Diversos trabalhos reportados na literatura relatam atividades biológicas de compostos de índio(III). Em 1980, foi demonstrada a atividade antibacteriana dos compostos de índio(III) com enteroquelina frente a *Klebsiella pneumoniae*, patógeno causador da pneumonia humana.<sup>25</sup> Além disso, o complexo de índio(III) com o ligante TETA (ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetracético), provou exibir um potente efeito bactericida *in vitro* frente a *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>26</sup>

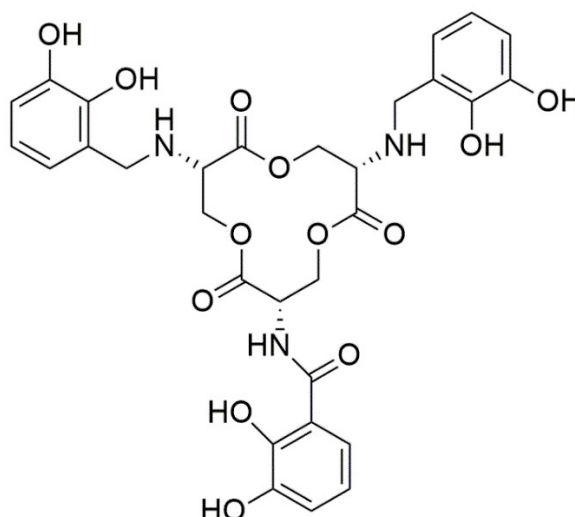
A atividade antibacteriana do índio(III) pode ser explicada pela sua interação com a enterobactina, Figura 1.5. As células bacterianas necessitam de ferro para o correto funcionamento de seu metabolismo. Para a captura do ferro livre no meio extracelular, as bactérias utilizam sideróforos, sendo o mais importante a enterobactina. O índio(III) age como um centro metálico capaz de se coordenar aos sítios de coordenação dos sideróforos e também com receptores de transferrina. Essas interações alteram a incorporação de ferro nas células resultando em morte celular.<sup>25</sup>

---

<sup>24</sup> R. H. Wesley, L. Messori, A comparative study of aluminum(III), gallium(III), indium(III), and thallium(III) binding to human serum transferrin, *Coord. Chem. Rev.* 228 (2002) 237–262.

<sup>25</sup> H. J. Rogers, C. Syngé, V. E. Woods. Antibacterial effect of scandium and indium complexes of enterochelin on *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* (1980), 18(1):63-8.

<sup>26</sup> S. David, V. Barros, C. Cruz, R. Delgado, In vitro effect of free and complexed indium(III) against *Mycobacterium tuberculosis*, *FEMS, Microbiol. Lett.* 251 (2005) 119–124.



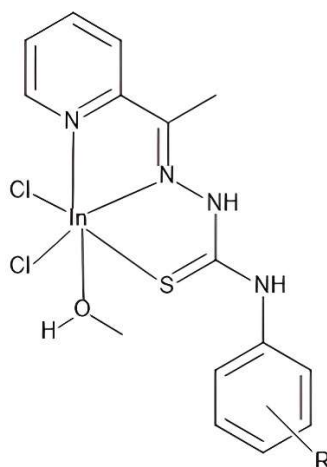
**Figura 1.5.** Estrutura química da enterobactina.

As propriedades antibacterianas de complexos de índio com (1E, 6E)-1,7-Bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,6-dieno-3,5-diona, também conhecida popularmente como curcumina, substância encontrada em algumas plantas como o açafrão da terra (*Curcuma longa*), foram demonstradas frente a uma ampla gama de cepas de bactérias. Mostrou-se que a coordenação ao centro metálico de índio(III) resulta em um aumento da atividade antibacteriana.<sup>27</sup> Os complexos de índio(III) com curcumina e também diacetilcurcumina, exibiram outras atividades biológicas, onde pode-se citar a atividade leishmanicida, que foi superior em comparação a atividade dos ligantes livres.<sup>28</sup>

Recentemente também foram desenvolvidos complexos de índio(III) com 2-acetilpiridina tiossemicarbazona, Figura 1.6, com atividade superior em comparação a cisplatina frente a células MCF-7 de câncer de mama.<sup>31</sup>

<sup>27</sup> S. Tajbakhsh, K. Mohammadi, I. Deilami, K. Zandi, M. Fouladvand, E. Ramedani, G. Asayesh, Antibacterial activity of indium curcumin and indium diacetylcurcumin, Afr. J. Biotech. 7 (2008) 3832–3835.

<sup>28</sup> M. Fouladvand, A. Barazesh, R. Tahmasebi, Evaluation of in vitro antileishmanial activity of curcumin and its derivatives “Gallium curcumin, Indium curcumin and Diacetyl curcumin”, Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 17 (2013) 3306–3308.



**Figura 1.6.** Complexo de índio(III) de 2-acetilpiridina tiossemicarbazonas.<sup>31</sup>

Esses compostos demonstraram atividades antimicrobiana e citotóxica frente a células tumorais. Uma vez irradiados por ativação neutrônica, os complexos produzem análogos contendo  $^{114m}\text{In}$ . O  $^{114m}\text{In}$  é um radionuclídeo metaestável de longa duração com tempo de meia vida estimado em 49,5 dias. O  $^{114m}\text{In}$  remanescente decai até o estado fundamental originando a espécie  $^{114}\text{In}$  emitindo radiação  $\gamma$  de 190,3 keV e uma quantidade substancial de elétrons Auger de baixa energia.<sup>29</sup> Os complexos de  $^{114m}\text{In}$  foram até 10 mil vezes mais citotóxicos frente a células MCF-7 de tumor de mama do que os análogos não radioativos. Assim, a ativação neutrônica dos complexos de In(III) com produção de análogos de  $^{114m}\text{In}$  foi uma estratégia efetiva para aumentar o índice de seletividade dos complexos de índio(III).<sup>30</sup>

Alguns resultados demonstraram uma promissora atividade citotóxica de complexos de  $^{114m}\text{In}$  com ligantes do tipo 2-acetilpiridina tiossemicarbazona frente a células de glioblastoma.<sup>31</sup>

<sup>29</sup> A. A. Oliveira, G. D. M. C. Perdigão, L. E. Rodrigues, J. G. da Silva, E. Souza-Fagundes, J. A. Takahashi, W. R. Rocha, H. Beraldo. Cytotoxic and antimicrobial effects of indium(III) with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones. *Dalton. Trans.*, (2016), 46,3.

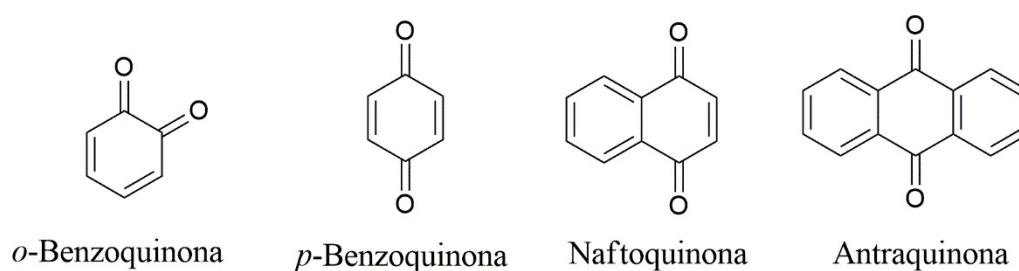
<sup>30</sup> A. A. Oliveira, L. L. Franco, R. G. Dos Santos, G. D. M. C. Perdigão, J. G. Da Silva, E. Souza Fagundes, H. Beraldo. Neutron activation of In(III) complexes with thiosemicarbazones leads to the production of potential radiopharmaceuticals for the treatment of breast cancer. *New J. Chem.*, (2017), 41, 9041-9050.

<sup>31</sup> A. R. Aguirre, G. L. Parrilha, R. Diniz, B. C. Ribeiro, R. G. Dos Santos, H. Beraldo, Cytotoxic effects of indium(III) complexes with 2-acetylpyridine-N(4)-ortho-fluorophenylthiosemicarbazone and their radioactive  $^{114m}\text{In}$  analogues against human glioma cells, *Polyhedron*, 2019, 164, 219-227.

### 1.5. Lapachol como ligante bioativo para síntese de complexos metálicos de índio(III)

Dentre os produtos naturais explorados como ligantes na Química Inorgânica Medicinal encontram-se as quinonas. As quinonas são um exemplo de produtos naturais que são encontrados em diversas espécies na natureza e apresentam uma série de propriedades biológicas. Essa classe de substâncias apresenta grande relevância em processos bioquímicos e por isso tem demonstrado grande destaque em estudos farmacológicos. Dentre as atividades biológicas mais estudadas, pode-se citar atividades antimicrobianas, viruscidas, tripanossomicidas, antitumorais e também como inibidoras de sistemas celulares reparadores.<sup>32</sup> As quinonas apresentam toxicidade para células por diversos mecanismos, tais como: arilação, intercalação e indução de quebras na estrutura do DNA e geração de radicais livres.<sup>33</sup>

De acordo com a sua estrutura molecular, as quinonas são divididas em três grupos, onde o critério dá-se pelo tipo de sistema aromático que sustenta as suas estruturas químicas. Por exemplo: nas benzoquinonas têm-se um anel benzênico; as naftoquinonas possuem um anel naftalênico e as antraquinonas um anel antracênico. Essas estruturas estão ilustradas na Figura 1.7, a seguir.<sup>33</sup>



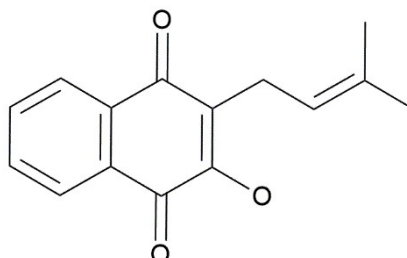
**Figura 1.7.** Estruturas e classificação das quinonas.

O lapachol (2-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il), cuja representação estrutural está ilustrada na Figura 1.8, é um produto natural derivado de 1,4-naftoquinona, originalmente isolado da *Tabebuia avellanedae* em 1882, e posteriormente encontrado em vários outros

<sup>32</sup> M. N. Silva, V. F. Ferreira, M. C. B. V. Souza. “Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na  $\beta$ -lapachona e derivados”. Quím.Nova. (2003), 26:407.

<sup>33</sup> E. L. Bonifaze, C. Rios-Luci, L.G. León, G. Burton, J. M. Padrón, R. I. Misico. “Antiproliferative activity of synthetic naphthoquinones related to lapachol. First synthesis of 5-hydroxylapachol. Bioorg. Med. Chem, (2010), 18: 2621.

gêneros.<sup>34</sup> Uma ampla gama de bioatividades foi descrita para o lapachol e seus derivados semissintéticos, tais como antileishmaniose, antitumoral, anti-inflamatória, antimalárica e antimicrobiana.<sup>34</sup>



**Figura 1.8.** Representação da estrutura química do lapachol.

O lapachol, foi testado *in vitro* contra inúmeras linhagens de células cancerígenas e *in vivo* em modelos animais. Foi demonstrado que o lapachol inibiu significativamente o crescimento do glioma do tipo C6 tanto *in vivo* quanto *in vitro*, e que o modo de ação pode estar associado à sua capacidade de inibir as atividades da topoisomerase TOPI e TOPII, bem como a expressão de TOPII<sup>35</sup>. No entanto, a ocorrência de efeitos adversos, juntamente com sua baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade, limitaram seu potencial uso clínico.<sup>36</sup>

Complexos metálicos com lapachol e seus derivados também mostram uma ampla gama de aplicações farmacológicas. Em um trabalho anterior, nosso grupo demonstrou que a coordenação do lapachol ao bismuto(III) melhora suas atividades anti-inflamatórias e antiangiogênicas.<sup>37</sup>

[M(Lap)<sub>2</sub>(phen)] M = cobre(II), cobalto(II), níquel(II), phen = 1,10-fenantrolina (phen) mostraram efeitos citotóxicos contra células HeLa de carcinoma cervical humano, HepG-2 de carcinoma hepatocelular humano e HT-29 de adenocarcinoma colorretal humano

<sup>34</sup> H. Hussain, K. Krohn, V. U. Ahmad, G. A. Miana, G. A.; Robert, I. "Lapachol: an overview". *Arkivoc*, (2007) 2: 145.

<sup>35</sup> H. Xu, Q. Chen, H. Wang, P. Xu, R. Yuan, X. Li, L. Bai, M. Xue: Inhibitory effects of lapachol on rat C6 glioma *in vitro* and *in vivo* by targeting DNA topoisomerase I and topoisomerase II, *Journal of experimental & clinical cancer research*, (2016), 35, 178.

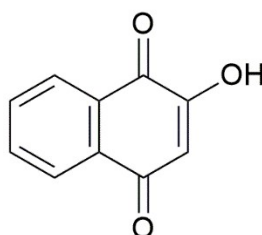
<sup>36</sup> S. E. M. Miranda, J. A. Lemos, R. S. Fernandes, J. O. Silva, F. M. Ottoni, D. M. Townsend, D. Rubello, R. J. Alves, G. D. Cassali, L. A. M. Ferreira, A. L. B. de Barros: Enhanced antitumor efficacy of lapachol-loaded nanoemulsion in breast cancer tumor model, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133 (2021), 110936.

<sup>37</sup> G. L. Parrilha, R. P. Vieira, P. P. Campos, G. D.F. Silva, L. P. Duarte, S. P. Andrade, H. Beraldo: Coordination of lapachol to bismuth(III) improves its anti-inflammatory and anti-angiogenic activities, *Biomaterials*, 25 (2012), 55-62.

em baixas concentrações.<sup>38</sup>

O complexo de rutênio(II), [Ru(Lap)(dppm)<sub>2</sub>], dppm = bis(difenilfosfina)metano, mostrou alta citotoxicidade *in vitro* contra células tumorais MDA-MB-231, um tipo de câncer de mama humano relacionado ao subtipo triplo negativo, o que significa que não expressa receptores hormonais, sendo conhecido por ser um tipo de câncer mais agressivo. A linhagem celular MCF-7, uma linhagem celular de câncer de mama que possui receptores hormonais, A549, um tipo de linhagem celular de adenocarcinoma pulmonar e a DU-145, um tipo de célula tumoral de câncer de próstata humano também foram testados frente aos complexos de rutênio(II) com lapachol. O complexo [Ru(Lap)(dppm)<sub>2</sub>] demonstrou um alto índice de seletividade contra células de câncer de mama triplo negativo MDA-MB-231.<sup>39</sup>

Outra nafotquinona que apresenta propriedades interessantes é a lausona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona), Figura 1.9, extraída das folhas de henna, principal planta do gênero *Lawsonia alba*.



**Figura 1.9.** Representação da estrutura química da lausona.

A lausona tem sido bastante explorada e pode se ligar a íons metálicos em diferentes estados de oxidação, coordenando os metais de uma forma bidentada, o que lhe permite desempenhar um papel essencial nos sistemas biológicos. Alguns estudos mostraram que complexos metálicos de lausona possuem atividade biológica aumentada em relação a lausona livre. Foram relatados na literatura complexos de lausona com rutênio(II) que demonstraram atividades frente a células de tumores de próstata.<sup>40</sup>

<sup>38</sup> L. Tabrizi, F. Talaie, H. Chiniforoshan: Copper(II), Cobalt(II) and Nickel(II) Complexes of Lapachol: Synthesis, DNA interaction and Citotoxicity, *Journal of biomolecular structure & Dynamics*, 15 (2016), 1-46.

<sup>39</sup> K. M. Oliveira, J. Honorato, F. C. Demidoff, M. S. Schultz, C. D. Netto, M. R. Cominetti, R. S. Correa, A. A. Batista: Lapachol in the Design of a New Ruthenium(II)-Diphosphine Complex as a Promising Anticancer Metallodrug, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 214 (2021), 111289.

<sup>40</sup> R. A. de Grandis, P. W. Da Silva dos Santos, K. M. de Oliveira, A. R. T. Machado, A. F. Aissa, A.A. Batista, L. M. G. Antunes, F. R. Pavan: Novel lawsone-containing ruthenium(II) complexes: Syntesis, characterization and anticancer activity on 2D and 3D spheroid models of prostate cancer cells, *Bioorganic Chemistry*, 85 (2019), 455:468.

## 1.6. Flavonóides como ligantes bioativos para síntese de complexos metálicos

Os flavonóides pertencem a um grande grupo de compostos que podem ser encontrados em frutas cítricas e vegetais.<sup>41,42</sup> São polifenóis, isto é, possuem um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes hidroxilados. Sua estrutura básica consiste em um núcleo fundamental, constituído de quinze átomos de carbono arranjados em três anéis (C6-C3-C6), sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A (Figura 1.10).<sup>43,44</sup> Os flavonóides compreendem: flavonóis, chalconas, auronas, flavanonas, flavonas, antocianidinas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, isoflavonas e neoflavonóides.<sup>45</sup> As principais classes de flavonóides são flavona, flavanona, flavonol e as isoflavonas.

---

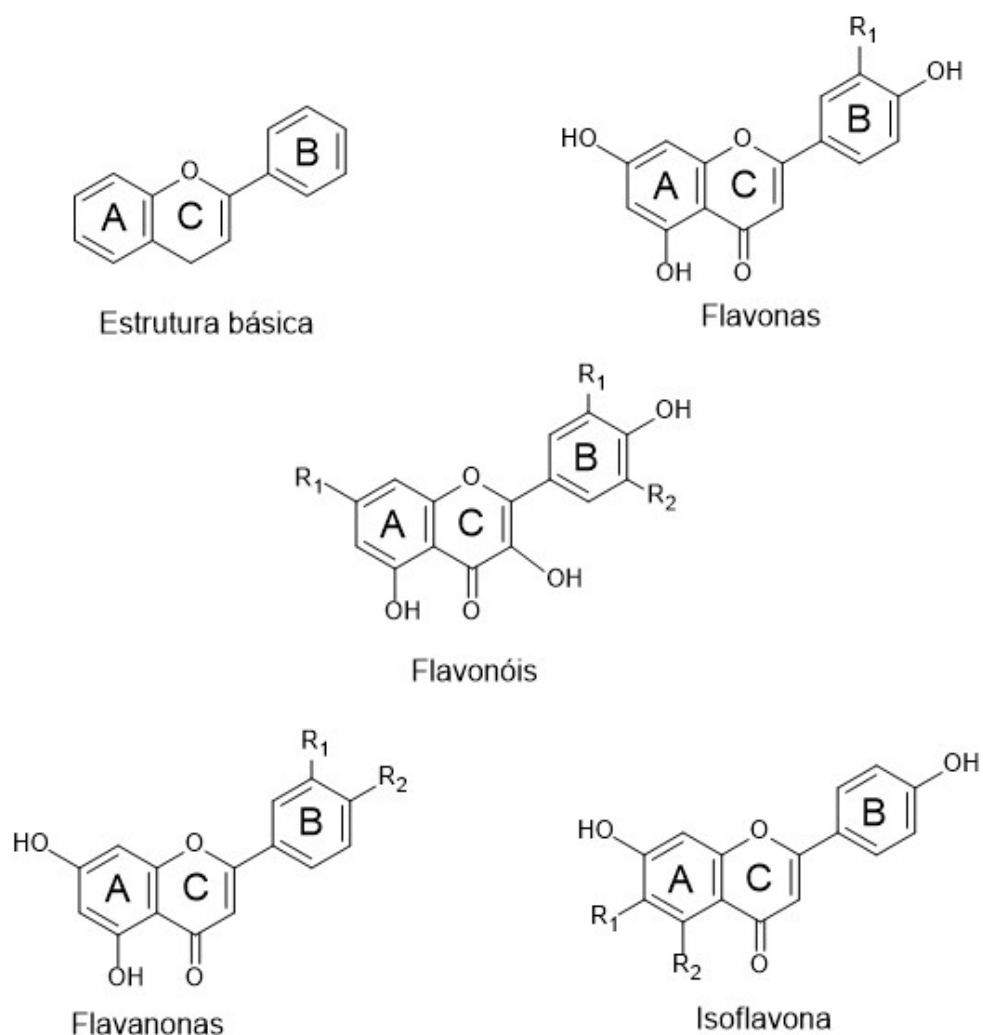
<sup>41</sup> I. Erlund. Review of the Flavonoids Quercetin, Hesperetin, and Naringenin. Dietary Sources, Bioactivities, Bioavailability and Epidemiology. *Nutrition Research*, 24, (2004), 851-874.

<sup>42</sup> A. Scalbert, I. T. Johnson, M. Saltmarsh. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr.* (2005), 81215-217.

<sup>43</sup> W. C. Dornas, T. T. Oliveira, R. G. Rodrigues das Dores, A. F. Santos, T. J. Nagem. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Rev. Ciênc. Farm. Básica. Apl.* 28 (2007) 241.

<sup>44</sup> G. Di Carlo, N. Mascolo, A. A. Izzo, F. Capasso. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* (1999), 65(4):337-53.

<sup>45</sup> Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr.Rev.* (1998) ,56 (11) 317-33.



**Figura 1.10.** Representação das estruturas químicas dos flavonóides.

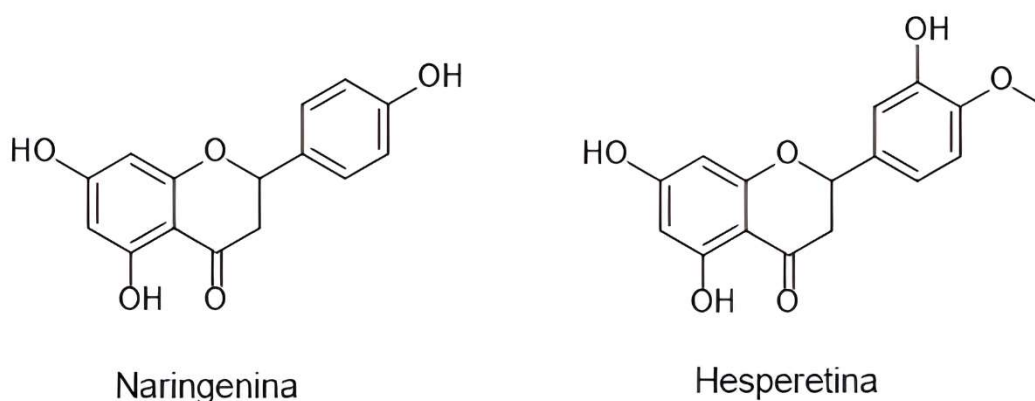
Desde a década de 1990 muitos trabalhos sobre as atividades biológicas dos compostos fenólicos têm despertado um amplo interesse, como também estudos epidemiológicos que tem sugerido que o consumo de alimentos ou bebidas ricas em polifenóis ajudam à prevenção de doenças crônicas, como câncer e doenças cardiovasculares.<sup>46,47</sup> Além disso, nos últimos anos a investigação sobre os efeitos neuro protetores dos polifenóis desenvolveu-seconsideravelmente. Esses compostos são capazes de

<sup>46</sup> C. Manach, A. Mazur, A. Scalbert. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Curr. Opin Lipidol.* (2005), 16(1):77-84.

<sup>47</sup> S. J. Duthie. Berry phytochemicals, genomic stability and cancer: evidence for chemoprotection at several stages in the carcinogenic process. *Mol. Nutr. Food. Res.* (2007), 51(6):665-74.

proteger células neuronais *in vivo* e *in vitro*.<sup>48</sup>

Os flavonóides possuem atividade antioxidante, são capazes de capturar espécies reativas de oxigênio e atuam como agentes quelantes.<sup>49</sup> O seu efeito antioxidante despertou a atenção, uma vez que existe uma relação direta na produção excessiva de espécies reativas de oxigênio com várias doenças, como por exemplo o câncer.<sup>40</sup> Os flavonóides apresentam efeitos antiproliferativos em diferentes linhagens de células tumorais e também atividades antibacteriana e antiviral.<sup>50</sup> Quercetina, morina e rutina mostram efeito hipolipidêmico, além de ação antioxidante.<sup>37</sup> A naringenina (nar) (4,5,7- trihidroxiflavanona) e a hesperetina (5,7,3-trihidroxi-4-metoxi-flavanona) (Figura 1.11) são flavononas que têm sido investigadas em razão de sua atividade anti-inflamatória<sup>51</sup>, e também com relação aos efeitos que causam no metabolismo lipídico e atividade antiproliferativa em células de tumores de mama<sup>52</sup> e de hepatoma humano HepG-2.<sup>37,53</sup>



**Figura 1.11.** Representação das estruturas químicas da naringenina e hesperetina.

A hesperetina é um composto da classe das flavonas considerado um fito estrógeno com

<sup>48</sup> C. Ramassamy. Emerging role of polyphenolic compounds in the treatment of neurodegenerative diseases: a review of their intracellular targets. *Eur. J. Pharmacol.* (2006), 545(1):51-64.

<sup>49</sup> C. Morand, V. Crespy, C. Manach, C. Besson, C. Demigné, C. Révész. Plasma metabolites of quercetin and their antioxidant properties. *Am. J. Physiol.* (1998), 275(1):212-9.

<sup>50</sup> A. V. Anand David, R. Arulmoli, S. Parasuraman. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacogn. Rev.* (2016), 10(20):84-89.

<sup>51</sup> J. A. Manthey, K. Grohmann, N. Guthrie. Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Curr. Med. Chem.* (2001), 8(2):135-53.

<sup>52</sup> B. B. Chandrika, M. Steephan, T. R. S. Kumar, A. Sabu, M. Haridas. Hesperetin and Naringenin sensitize HER2 positive cancer cells to death by serving as HER2 Tyrosine Kinase inhibitors. *Life. Sci.* (2016), 160:47-56.

<sup>53</sup> L. Qin, L. Jin, L. Lu, X. Lu, C. Zhang, F. Zhang, W. Liang. Naringenin reduces lung metastasis in a breast cancer resection model. *Protein Cell.* (2011), 2(6):507-16.

apreciáveis atividades antitumoral e antioxidante. Esta flavona, assim como o seu análogo naringenina, são empregados como ligantes devido ao fato de possuírem em sua estrutura uma porção carbonílica e uma hidroxila ligada a um anel aromático que podem agir como sítios de coordenação para metais. Estudos biológicos de complexos metálicos com flavonóides têm bastante relevância, visto que os flavonóides como a quercetina, a rutina e a epicatequina possuem um maior efeito de captura de radicais livres e efeitos anti-inflamatórios quando formam complexos com metais de transição como ferro(II, III), cobre(II) e zinco(II),<sup>39</sup> demonstrando assim propriedades para o tratamento de doenças associadas ao estresse oxidativo.<sup>40</sup>

Estudos de atividade citotóxica de complexos de cobre(II) com naringenina e hesperetina em células de carcinoma hepatocelular (HepG-2), adenocarcinoma gástrico (SGC-7901) e câncer cervical (HeLa) demonstraram seletividade frente às linhagens SGC-7901 e HepG-2, e que a complexação ao centro metálico de cobre(II) aumenta a atividade em comparação com os flavonóides livres<sup>54</sup>, mostrando a importância dos estudos de complexos metálicos com flavonóides.

Atualmente na literatura ainda não foram relatados complexos derivados da classe dos flavonóides com índio(III), o que justifica o desenvolvimento destes compostos para fins de estudos de atividades biológicas.

### **1.7. Hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina como ligantes na síntese de complexos metálicos**

A 8-hidroxiquinolina (8-HQ), é considerada uma estrutura privilegiada na Química Medicinal<sup>55</sup>, uma vez que a 8-HQ e seus derivados (Figura 1.12) apresentam um amplo espectro de aplicações farmacológicas como agentes antineoplásicos, antimicrobianos e antineurodegenerativos, entre outros. Alguns dos efeitos terapêuticos desses compostos, são atribuídos à sua capacidade de coordenar metais.<sup>56,57</sup> Demonstrou-se que os complexos de

---

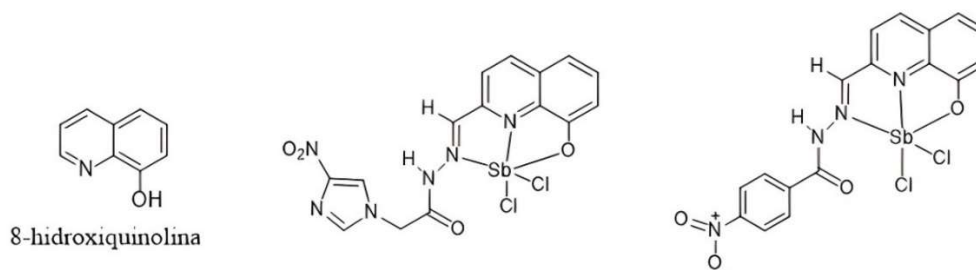
<sup>54</sup> M. Tan, J. Zhu, Y. Pan, Z. Chen, H. Liang, H. Liu, H. Wang. Synthesis, Cytotoxic Activity, and DNA binding Properties of Copper(II) Complexes with Hesperetin, Naringenin and Apigenin. *Bioinorg. Chem. Appl.* (2009) 347872.

<sup>55</sup> Y. Song, H. Xu, W. Chen, P. Zhan, X. Liu, 8 hydroxyquinoline: a privileged structure with a broad-ranging pharmacological potencial, *RSC Medicinal Chemistry*,6, 2014 ,61-74.

<sup>56</sup> V. F. S. Pape, N. V. May, G. T. Gál, I. Szatmári, F. Szeri, F. Fülöp, G. G. Szakács, É. A. Enyedy, Impact of copper and iron binding properties on the anticancer activity of 8-hydroxyquinoline derived Mannich bases, *Dalton Transaction*,47, (2018), 17032-17045.

<sup>57</sup> R. Cherdtrakulkiat, S. Boonpangrak, N. Sinthupoom, S. Prachayasittikul, S. Ruchirawat, V. Prachayasittikul, Derivatives (halogen, nitro and amino) of 8-hydroxyquinoline with highly potent antimicrobial and

antimônio(III) com derivados de 8-HQ apresentam atividade antitripanossômica.<sup>58,59</sup>



**Figura 1.12.** Representação das estruturas químicas da 8-hidroxiquinolina e de seus complexos de antimônio(III) com hidrazonas derivadas da 8-hidroxiquinolina.

A 8-HQ e seus derivados são caracterizados pela presença de um sistema quelante apropriado para interagir fortemente com íons metálicos. A grande maioria dos complexos metálicos de 8-HQ, demonstra que ele se liga de forma bidentada desprotonada.<sup>60</sup> A formação da hidrazona derivada da 2-formil-8-hidroxiquinolina aumenta os sítios de coordenação pela presença de mais um nitrogênio adjacente a nitrogênio piridínico, sendo portanto um ligante interessante para o preparo de complexos metálicos.

---

antioxidant activities, *Biochemistry and Biophysic Reports*, (2016), 6135-141.

<sup>58</sup> D. C. Reis, C. X. Pinto, E. E. Souza-Fagundes, L. F. Rocha, V. R. A. Pereira, C. M. L. Melo, H. Beraldo, Investigation on the pharmacological profile of antimony(III) complexes with hydroxyquinoline derivatives: anti-trypanosomal activity and cytotoxicity against human leukemia cell lines, *Biometals*, (2011), 24 (4), 595-601.

<sup>59</sup> A. P. A. Oliveira, A. A. Recio-Despaigne, I. P. Ferreira, R. Diniz, K.A.F. Souza, T. M. Bastos, M. B. Pereira Soares, D. R. M. Moreira, H. Beraldo, Investigation of the antitrypanosomal effects of 2-formyl-8-hydroxyquinoline-derived hydrazones and their antimony(III) and bismuth(III) complexes. *New Journal of Chemistry*, (2019), 43, 18996-19002.

<sup>60</sup> A. B. de Carvalho, Í. P. de Souza, L. Maria de Andrade, I. Binatti, E. F. Pedroso, K. Krambrock, W. X. C. Oliveira, E. C. Pereira-Maia, P. P. Silva-Caldeira, Novel copper(II) coordination polymer containing the drugs nalidixic acid and 8-hydroxyquinoline: Evaluation of the structural, magnetic, electronic, and antitumor properties, *Polyhedron*, (2018), 156, 312-319.

## 1.8. Objetivos do presente trabalho

### *Objetivos gerais*

O presente trabalho teve como objetivos a síntese e caracterização físico-química de novos complexos de índio(III) com ligantes bioativos, e também a investigação de suas atividades citotóxica contra células tumorais e de suas interações com o DNA.

### *Objetivos específicos*

- a. Síntese e caracterização físico-química de complexos de índio(III) com ligantes do tipo naftoquinonas utilizando 2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina como co-ligantes.
- b. Síntese e caracterização físico-química de complexos de índio(III) com naringenina.
- c. Síntese e caracterização físico-química de complexos de índio(III) com hidrazonas derivadas da 8-hidroxiquinolina.
- d. Avaliação dos efeitos citotóxicos em células tumorais e sadias dos complexos de índio(III) e estudo de interação dos complexos de índio(III) com DNA.

## **Capítulo 2 – Parte Experimental**

### **2.1. Reagentes e solventes**

As reações foram realizadas utilizando solventes e reagentes de alto grau de pureza adquiridos diretamente de fontes comerciais (Sigma-Aldrich, Merck, Synth e Anidrol). Os solventes deuterados são oriundos do Cambridge Isotope Laboratories, Inc (CIL). O reagente lapachol foi cedido gentilmente pela Profa. Dra. Lucienir Pains Duarte sendo este composto cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), possuindo o número de registro: AD4AD45.

### **2.2. Técnicas experimentais**

#### **2.2.1. Pesagens**

As medidas de massa foram realizadas nas balanças dos modelos Mettler AE 163 (sensibilidade de 0,00001 g) e Gehaka AG 200 (sensibilidade de 0,001 g).

#### **2.2.2 Temperaturas de fusão/decomposição**

As faixas de temperatura de fusão ou a temperatura de decomposição dos compostos foram obtidas com o aparelho de ponto de fusão da Quimis modelo Q340M.

#### **2.2.3. Análise elementar (CHN)**

As análises elementares foram realizadas no Departamento de Química da UFMG utilizando-se o equipamento CHN-2400 da Perkin Elmer com auxílio do Prof. Dr. Thiago Tasso.

#### 2.2.4. Análise de condutividade molar

As medidas de condutividade molar eletrolítica dos complexos foram realizadas em soluções de dimetilsulfóxido (DMSO), com concentração de  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  a uma temperatura de 25 °C. Utilizou-se o condutivímetro do modelo Q405M da Quimis no Departamento de Química da UFMG. Os resultados foram analisados conforme atribuições apresentadas na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1.** Atribuições de tipo de eletrólito em solução.<sup>61</sup>

Solvente	$\Lambda_M$ ( $\text{cm}^2 \Omega^{-1} \text{mol}^{-1}$ )	Tipo de eletrólito
	65-90	Não eletrolítico
DMSO	130-170	1:1
	200-240	2:1

#### 2.2.5. Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas dos complexos foram obtidas na Termobalança Shimadzu-TGA50H sob responsabilidade da Profa. Dra. Maria Helena de Araujo do Departamento de Química da UFMG. Os experimentos foram realizados em atmosfera dinâmica de ar, com fluxo de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  e razão de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . A faixa de temperatura utilizada foi de 25 a 900 °C.

#### 2.2.6. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros de infravermelho foram registrados na região de  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$  em pastilha de KBr empregando-se o método de transmitância e transformada de Fourier. Os espectros foram obtidos no espectrofotômetro Perkin Elmer FT- IR System-Spectrum GX, pertencente ao Departamento de Química da UFMG e também no espectrofotômetro Shimadzu IR Prestige-21, utilizando-se cristal de ATR do Departamento de Química do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG).

<sup>61</sup> J. W. Geary. Coord. Chem. Rev. 7 (1971) 81.

### 2.2.7. Espectrometria de Massas

As análises de espectrometria de massas foram realizadas em um espectrômetro de massas Bruker Daltonics modelo Autoflex III Smartbean MALDI-TOF/TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight*), controlado pelo software FlexControl 3.3 (Bruker Daltonics) no Laboratório de Proteômica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG sob coordenação da Profa. Dra. Mariana Torquato Quezado. As amostras foram preparadas em DMSO e misturadas com ácido super-2-hidroxi-5-metóxi-benzóico (s-DHB 5mg mL<sup>-1</sup> em acetona) (1:1 v/v) e com malononitrila 1 mg/100 µL diretamente em placas do tipo MTP AnchorChip 384 MALDI (Bruker Daltonics) e secas à temperatura ambiente. As massas foram obtidas em modo linear, empregando calibração externa do tipo Padrão de Calibração de Proteínas da Bruker Daltonics. Dois pacotes de software foram utilizados para analisar os dados de espectrometria: FlexAnalysis 3.3 (Bruker Daltonics) e mmass (ferramenta de espectrometria de massas de código aberto). A apresentação teórica dos espectros foi obtida com assistência do EnviPat<sup>62</sup>, disponível online.

### 2.2.8. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} e DEPT-135 (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer*), com tratamento de dados por transformada de Fourier, foram registrados com os solventes DMSO-d<sub>6</sub> e DMF-d<sub>7</sub>. Os espectros foram obtidos no Laboratório de Ressonância Magnética do Departamento de Química – LAREMAR onde estão alocados os espectrômetros Bruker Nanobay Avance III (400 MHz) e Bruker Ascend Neo (600 MHz).

### 2.2.9. Espectroscopia de absorção eletrônica na região do Ultravioleta-visível

Os estudos de estabilidade dos complexos em solução foram realizados por espectroscopia eletrônica, utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UV-2401 e cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico. As soluções dos complexos foram preparadas na concentração 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> em 1% de DMSO puro (grau espectroscópico). Os espectros

---

<sup>62</sup> M. Loss, C. Gerber, F. Corona, J. Hollenger, H. Singer. Accelerated isotope fine structure calculation using pruned transition trees, *Analytical Chemistry*, (2015), 87(11): 5738-5744.

eletrônicos foram registrados na faixa de 200 – 600 nm em função do tempo: 0, 30, 60, 120 minutos, 24 e 48 horas. Os espectros de fluorescência foram registrados no espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse (Agilent Technologies) do Departamento de Química da UFMG.

### 2.2.10. Medidas de difração de raios X por monocristal

Os dados para as determinações estruturais através da difração de raios-X por monocristal foram coletados no laboratório de cristalografia do Departamento de Física da UFMG (LabCri), em parceria com o Prof. Dr. Bernardo Lages Rodrigues e a Profa. Dra. Renata Diniz, ambos do Departamento de Química da UFMG. Utilizou-se o difratômetro Rigaku Sinergy utilizando radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,54184 \times 10^{-10}$ ) à temperatura ambiente (298 K) e em temperatura reduzida (125 K). A coleta de dados, refinamento de célula e redução de dados foram realizados utilizando software CrysAlispro<sup>63</sup>. As estruturas foram resolvidas por métodos diretos e refinadas pelos programas SHELX<sup>64</sup> usando o sistema OLEX<sup>65</sup>, e todos os átomos que não são de hidrogênio foram refinados com parâmetros térmicos anisotrópicos. Átomos de hidrogênio conectados a carbonos foram colocados em posições idealizadas e tratadas por modelo rígido, com  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}$  para grupos CH e  $\text{CH}_2$ , e  $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,5 U_{\text{eq}}$  para grupos metila. As figuras foram desenhadas usando os programas ORTEP-3 para Windows<sup>66</sup>, PovRay<sup>67</sup>, VESTA<sup>68</sup>, ToposPro<sup>69</sup> e Mercury<sup>70</sup>.

<sup>63</sup> CrysAlisPro. Rigaku Oxford Diffraction. CrysAlisPro. Rigaku Corporation, Tokyo, Japan. 2015.

<sup>64</sup> G. Sheldrick: Crystal structure refinement with SHELXL<sup>70</sup>, *Acta Crystallographica*, (2015) 71, 3-8.

<sup>65</sup> O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard and H. Puschmann: A Complete Structure Solution, Refinement and Analysis Program, *Journal of Applied Crystallography*, (2009), 42 339–341.

<sup>66</sup> L. J. Farrugia: ORTEP-3 for Windows – A version of ORTEP III with a Graphical User Interface (GUI), *Journal Applied Crystallography*, (1997), 30 565.

<sup>67</sup> POV-Ray for Windows- Version 3.7.0. msvc10.win64. Persistence of Vision, Williamstown, Victoria, Australia.

<sup>68</sup> K. Momma, F. Izumi: VESTA 3 for three-dimensional visualization of crystal, volumetric and morphology data, *Journal Applied Crystallography*, (2011), 44 1272-1276.

<sup>69</sup> V. A. Blatov, A. P. Shevchenko, D. M. Proserpio: Applied Topological Analysis of Crystal Structures with the Program Package ToposPro, *Crystal Growth & Design*, (2014), 14, 3576-3586.

<sup>70</sup> C. F. Macrae, I. Sovago, S. J. Cottrell, P. T. A. Galek, P. McCabe, E. Pidcock, M. Platings, G. P. Shields, J. S. Stevens, M. Towler, P. A. Wood: Mercury 4.0: from visualization to analysis, design and prediction, *Journal Applied Crystallography*, (2020), 53 226-235.

### 2.2.11. Culturas de células

As células de câncer de mama (MDA-MB-237 e MCF-7), bem como as células não tumorais HEK 293 (rim embrionário), foram gentilmente cedidas pelo Prof. Dr. Marcel Leist (Universidade de Konstanz/Alemanha). As linhagens celulares foram cultivadas em meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) com alto valor de glicose (Sigma Aldrich), suplementadas com 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina (GIBCO BRL, Grand Island, New York) e 10% soro fetal bovino (GIBCO BRL, Grand Island, New York). Todas as culturas foram mantidas a 37 °C em uma atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram divididas a cada três dias quando atingiam uma confluência superior a 80%.

### 2.2.12. Testes de citotoxicidade

As citotoxicidades dos compostos foram avaliadas por quantificação da viabilidade celular usando o ensaio MTT<sup>71</sup> com o auxílio da Profa. Dra. Elaine Maria de Souza Fagundes do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. As células de câncer de mama e HEK-293 foram inoculadas em uma placa de 96 poços (volume final de 100 µL) a uma densidade de 10.000 e 5.000 células, respectivamente, e incubadas por 24 horas nas temperaturas de 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>. Após a estabilização das culturas, os compostos foram testados em uma única concentração de 10 µM e incubadas por 72 horas. Quatro horas antes do final do experimento, o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltriazólio (MTT), a uma concentração de 0,25 µg/mL/poço foi adicionado e incubado por mais 4 horas. Os cristais de formazan produzidos pelas células viáveis foram solubilizados em uma solução ácida de isopropanol (0,04 M de HCl). As absorbâncias foram registradas utilizando-se um espectrofotômetro Varioskan da Thermo Scientific na faixa de comprimento de onda de 595 nm. A viabilidade celular foi calculada em comparação ao controle numa concentração de 5% de DMSO. Os compostos que reduziram a viabilidade celular em 50% ou mais das linhagens de câncer de mama tiveram seus valores de concentração inibitória (CI<sub>50</sub>) determinados utilizando sete diluições seriadas de duas vezes (1:2) com concentrações

---

<sup>71</sup> J. P. Ramos, M. A. L. Abdel-Salam, D. A. B. Nobre, N. Glanzmann, C. P. de Souza, E. A. Leite, P. P. de Abreu Teles, A. S. Barbosa, L. S. Barcelos, D. C. Dos Reis, G. D. Cassali, M. E. de Lima, Q. J. T. de Castro, A. Grabe-Guimarães, A. D. da Silva, E. M. de Souza-Fagundes. Acute toxicity and antitumor potential of 1,3,4- trisubstituted-1,2,3-triazol dhmt Ac-loaded liposomes on a triple-negative breast cancer model, *Archiv der Pharmazie* (2022) 355: 220004.

variando de 100 a 0,7  $\mu\text{M}$ . Os valores de  $\text{CI}_{50}$  foram calculados usando o software GraphPad Prism por regressão linear. Os experimentos foram realizados em triplicata.

### **2.2.13. Ensaio do efeito dos complexos de índio(III) em células clonogênicas**

Os compostos de índio(III) foram testados em seus respectivos valores de concentração para inibir 50% de uma cultura celular ( $\text{CI}_{50}$ ). Este estudo foi conduzido com o auxílio da Profa. Dra. Elaine Maria de Souza Fagundes do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Os compostos foram avaliados quanto ao seu efeito sobre a sobrevivência celular de células clonogênicas MDA-MB-231, conforme descrito por Franken e colaboradores.<sup>72</sup> As células foram inoculadas a uma densidade de 400 células/poço numa placa de 6 poços em meio do tipo DMEM suplementado. Em seguida, as células foram incubadas por 3 horas e tratadas ou não com compostos por 16 horas. O meio foi descartado e as células foram lavadas com PBS e um novo meio fresco suplementado foi adicionado (2 mL/poço) e incubado por 14 dias. As colônias foram lavadas com PBS, fixadas em paraformaldeído (4%) e coradas com cristal violeta a 0,3%. As colônias (até 50 células) foram contadas, e a fração de sobrevivência foi estimada em comparação com o controle em DMSO a 0,5%. Três experimentos independentes foram realizados em triplicata. Os dados obtidos foram tratados utilizando o software GraphPad Prism (GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, Estados Unidos). A significância estatística foi avaliada usando o pós teste de Bonferroni ( $p \leq 0,05$ ).

### **2.2.14. Estudos de interação com DNA**

Experimentos de intercalação competitiva com DNA foram realizados usando o intercalador brometo de etídio (BE) (Sigma Aldrich). Uma solução de trabalho contendo 10 $\mu\text{M}$  de CT-DNA com 10 $\mu\text{M}$  de BE foi preparada em tampão Tris-HCl. Durante o experimento, uma porção exata de 2 mL da solução de DNA-BE foi titulada com alíquotas repetidas dos complexos em estudo (1,5 mM, solução estoque recém preparada em DMSO),

---

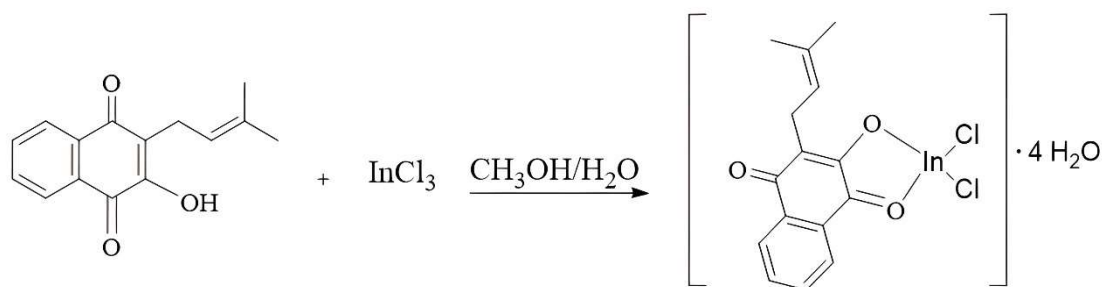
<sup>72</sup> N. A. P. Franken, H. M. Rodermond, J. Stap, J. Haveman, C. van Bree. Clonogenic assay of cells in vivo, Nature Protocols, (2006) 1: 2315-2319.

após o equilíbrio, os espectros de fluorescência foram registrados. As alterações na intensidade de fluorescência em 595 nm (excitação em 546 nm) foram medidas em relação a concentração do complexo.<sup>73</sup>

## 2.3. Sínteses de complexos índio(III)

### 2.3.1. Sínteses de complexos de índio(III) com lapachol

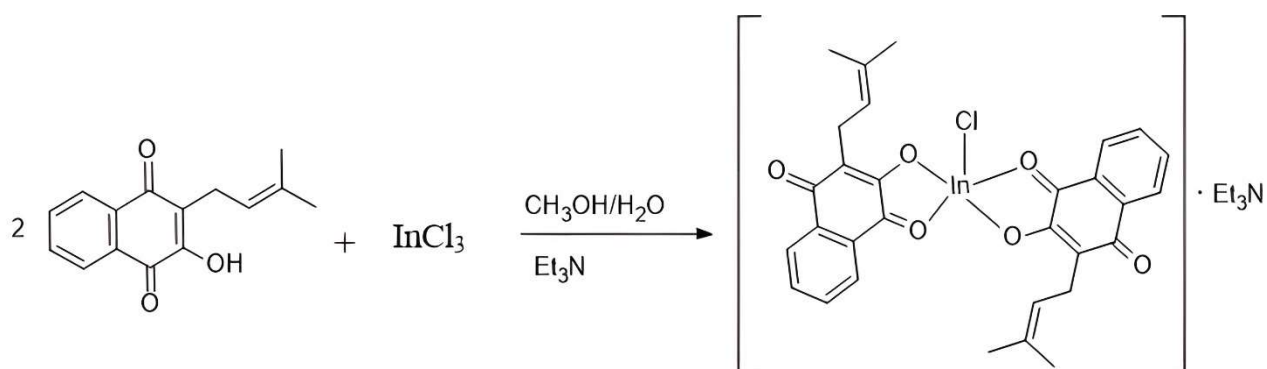
Foram preparados cinco complexos de índio(III) com o ligante lapachol. O complexo  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (**1**) foi obtido sob agitação por 4 horas em refluxo de uma solução metanólica (15 mL) de lapachol (1,5 mmol) com (0,5 mmol)  $\text{InCl}_3$ . Um sólido amarelo foi obtido e lavado com éter e seco sob pressão reduzida. O esquema de síntese está ilustrado na Figura 2.1.



**Figura 2.1.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (**1**).

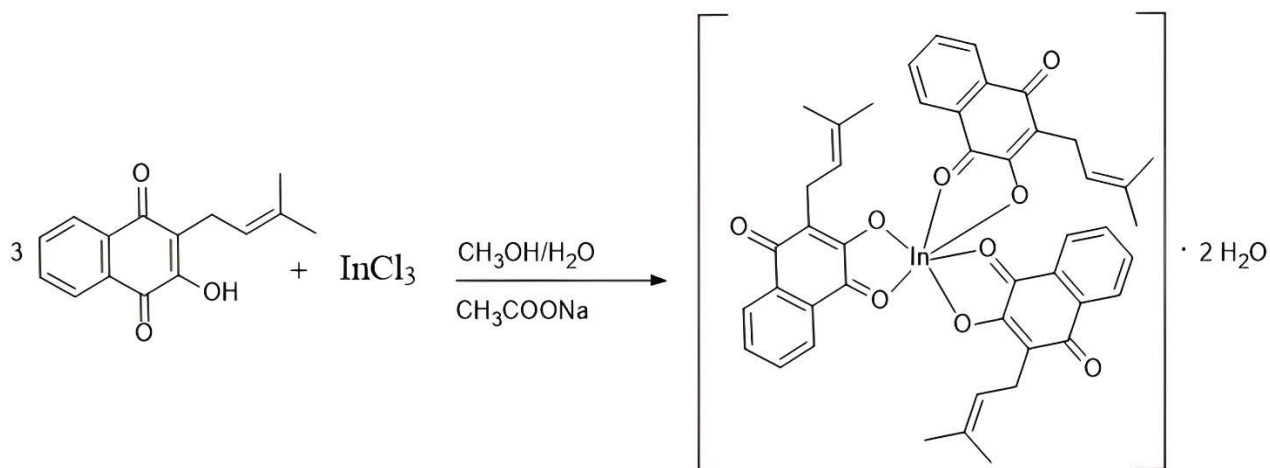
O complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**) foi obtido sob agitação por 4 horas em refluxo de uma solução metanólica (15 mL) contendo lapachol (1 mmol),  $\text{InCl}_3$  (0,3 mmol) e trietilamina (0,3 mmol) em uma proporção molar de ligante metal e trietilamina de 3:1:1. O sólido vermelho escuro foi obtido por evaporação lenta e seco sob pressão reduzida. O esquema de síntese está ilustrado na Figura 2.2.

<sup>73</sup> J. G. Da Silva, A. A. Recio Despaigne, S. R. W. Louro, C. C. Bandeira, E. M. Souza-Fagundes, H. Beraldo. Cytotoxic activity, albumin and DNA binding of new copper(II) complexes with chalcone-derived thiosemicarbazones, *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2013) 65: 415-426.



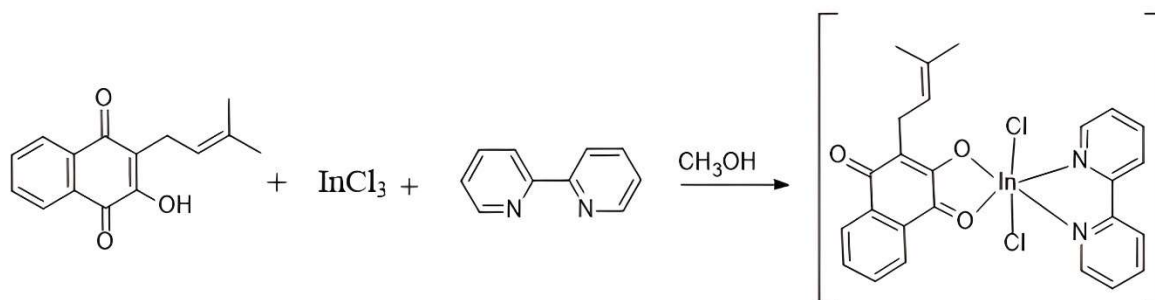
**Figura 2.2.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**).

O complexo  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (**3**) foi obtido ao agitar sob refluxo por 4 horas uma solução metanólica contendo lapachol (1 mmol),  $\text{InCl}_3$  (0,3 mmol) e acetato de sódio (0,3 mmol). O sólido amarelo obtido foi lavado com éter e seco sob pressão reduzida. O esquema de síntese está ilustrado na Figura 2.3.



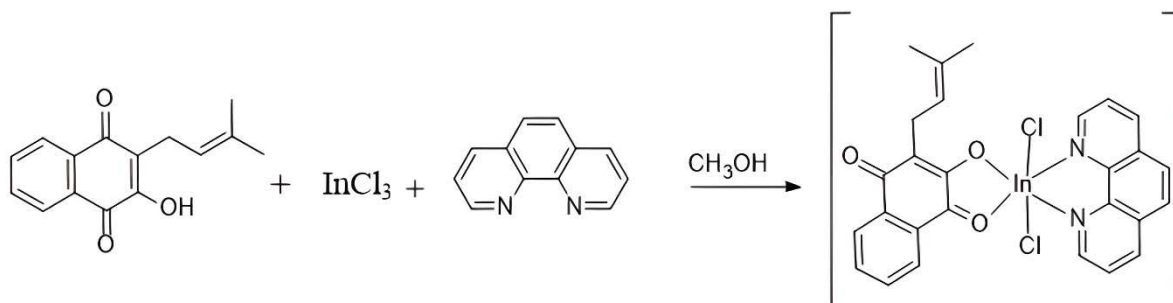
**Figura 2.3.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (**3**).

O complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) foi obtido ao agitar sob refluxo por 24 horas uma solução metanólica (30 mL) contendo lapachol (1 mmol),  $\text{InCl}_3$  (1 mmol) e 2,2'-bipiridina (1 mmol). Os cristais de coloração vermelha foram lavados com éter e secos sob pressão reduzida. O esquema de síntese está ilustrado na Figura 2.4.



**Figura 2.4.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**).

O complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) foi obtido ao agitar sob refluxo por 24 horas uma solução metanólica (30 mL) contendo lapachol (1 mmol),  $\text{InCl}_3$  (1 mmol) e 1,10'-fenantrolina (1 mmol) em uma proporção de ligante para metal para 2,2'-bipiridina de 1:1:1. Os cristais de coloração vermelha foram lavados com éter e secos sob pressão reduzida. O esquema de síntese está ilustrado na Figura 2.5.

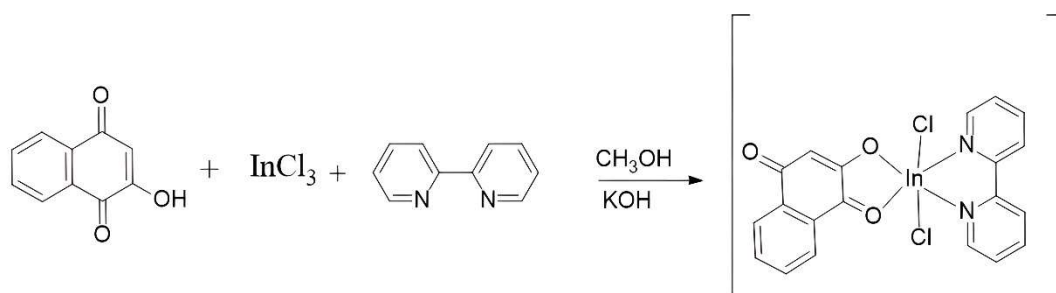


**Figura 2.5.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**).

Os complexos inéditos de índio(III) com lapachol foram caracterizados por análise elementar, temperatura de fusão, medidas de condutividade molar, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , DEPT-135, por seus espectros de absorção na região do infravermelho e UV-vís, espectrometria de massas e, no casos dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**), também por difração de raios X por monocristal.

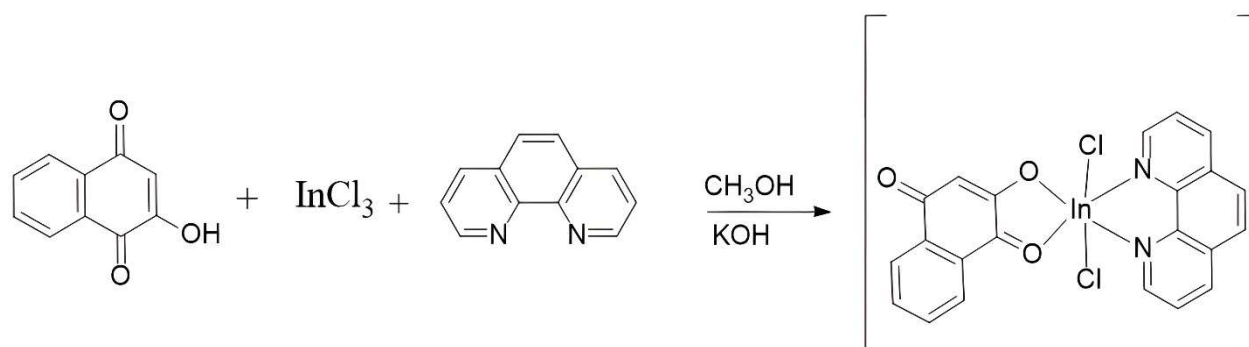
### 2.3.2. Sínteses de complexos de índio(III) com lausona

Foram preparados dois complexos inéditos de índio(III) com o ligante lausona: o complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**). O complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) foi obtido ao agitar sob refluxo por 24 horas uma solução metanólica (30 mL) contendo lausona (1 mmol),  $\text{InCl}_3$  (1 mmol) e (1 mmol). Foi utilizado 1 mmol de KOH para desprotonar a lausona. Foram adicionados (30 mL) de diclorometano à quente para solubilização de todo precipitado formado na reação. Os cristais de coloração vermelha foram obtidos por evaporação lenta e foram lavados com éter e secos sob pressão reduzida. O esquema de síntese está ilustrado na Figura 2.6.



**Figura 2.6.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**).

O complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) foi obtido ao agitar sob refluxo por 24 horas uma solução metanólica (30 mL) contendo lausona (1 mmol),  $\text{InCl}_3$  (1 mmol) e (1 mmol). Foi utilizado 1 mmol de KOH para desprotonar a lausona. Foram adicionados (30 mL) de diclorometano à quente para solubilização de todo precipitado formado na reação. Um precipitado de coloração vermelha foi obtido por evaporação lenta e foram lavados com éter e secos sob pressão reduzida. O esquema de síntese está ilustrado na Figura 2.7.



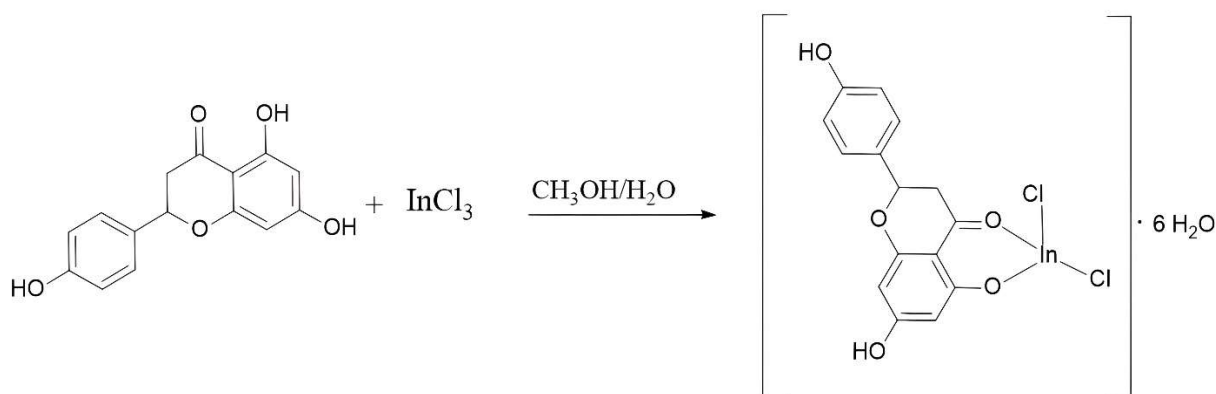
**Figura 2.7.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**).

Os complexos inéditos de índio(III) com laurona foram caracterizados por análise elementar, temperatura de fusão, medidas de condutividade molar, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , por seus espectros de absorção na região do infravermelho e UV-vís, espectrometria de massas e, no caso do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) também por difração de raios X por monocristal.

### 2.3.3. Sínteses de complexos de índio(III) com naringenina

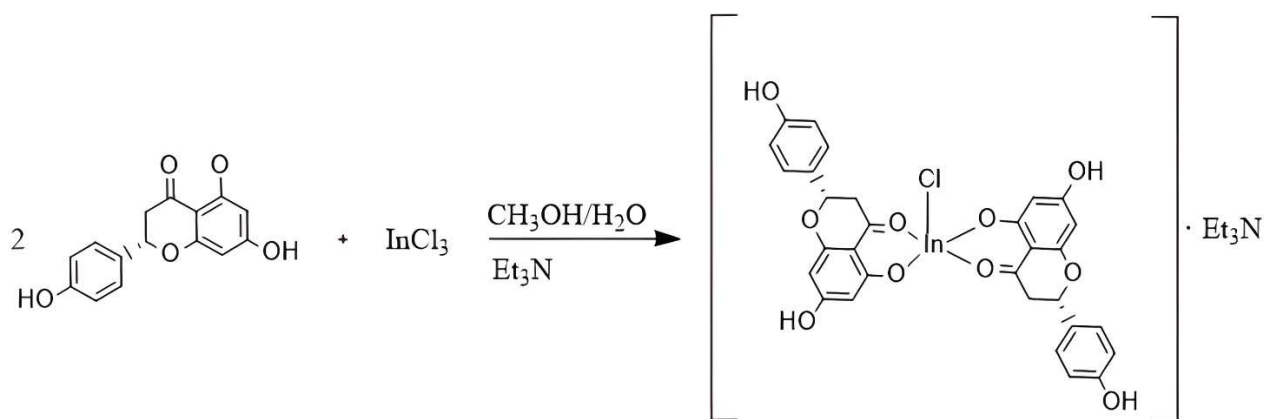
Foram preparados dois complexos inéditos de índio(III) com o ligante naringenina:

O complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) foi preparado a partir de uma solução contendo 0,9 mmol de naringenina em 15 mL de metanol, e posteriormente essa solução foi gotejada lentamente a uma solução contendo 0,3 mmol de  $\text{InCl}_3$  em 15mL de metanol. A mistura foi mantida sob agitação por 24 horas sob aquecimento. Deixou-se o sistema em evaporação lenta e obteve-se um sólido de coloração pálida, o qual foi filtrado em papel de filtro sob vácuo e lavado com éter gelado. O esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) está ilustrado na Figura 2.8.



**Figura 2.8.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**).

O complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) foi preparado a partir de uma solução contendo 0,9 mmols de naringenina e 30  $\mu\text{L}$  de trietilamina em 15 mL de metanol, e posteriormente essa solução foi gotejada lentamente a uma solução contendo 0,3 mmols de  $\text{InCl}_3$  em 15mL de metanol. A mistura foi mantida sob agitação por 24 horas sob aquecimento, deixou-se o sistema em evaporação lenta e obteve-se um sólido de coloração marrom claro, o qual foi filtrado em papel de filtro, lavado com metanol gelado, Figura 2.9.



**Figura 2.9.** Esquema de síntese do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**).

Os complexos de índio(III) com naringenina foram caracterizados por análise elementar, análise termogravimétrica, espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica na região do UV-vís e RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ .

### 2.3.4. Sínteses de complexos de índio(III) com hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina

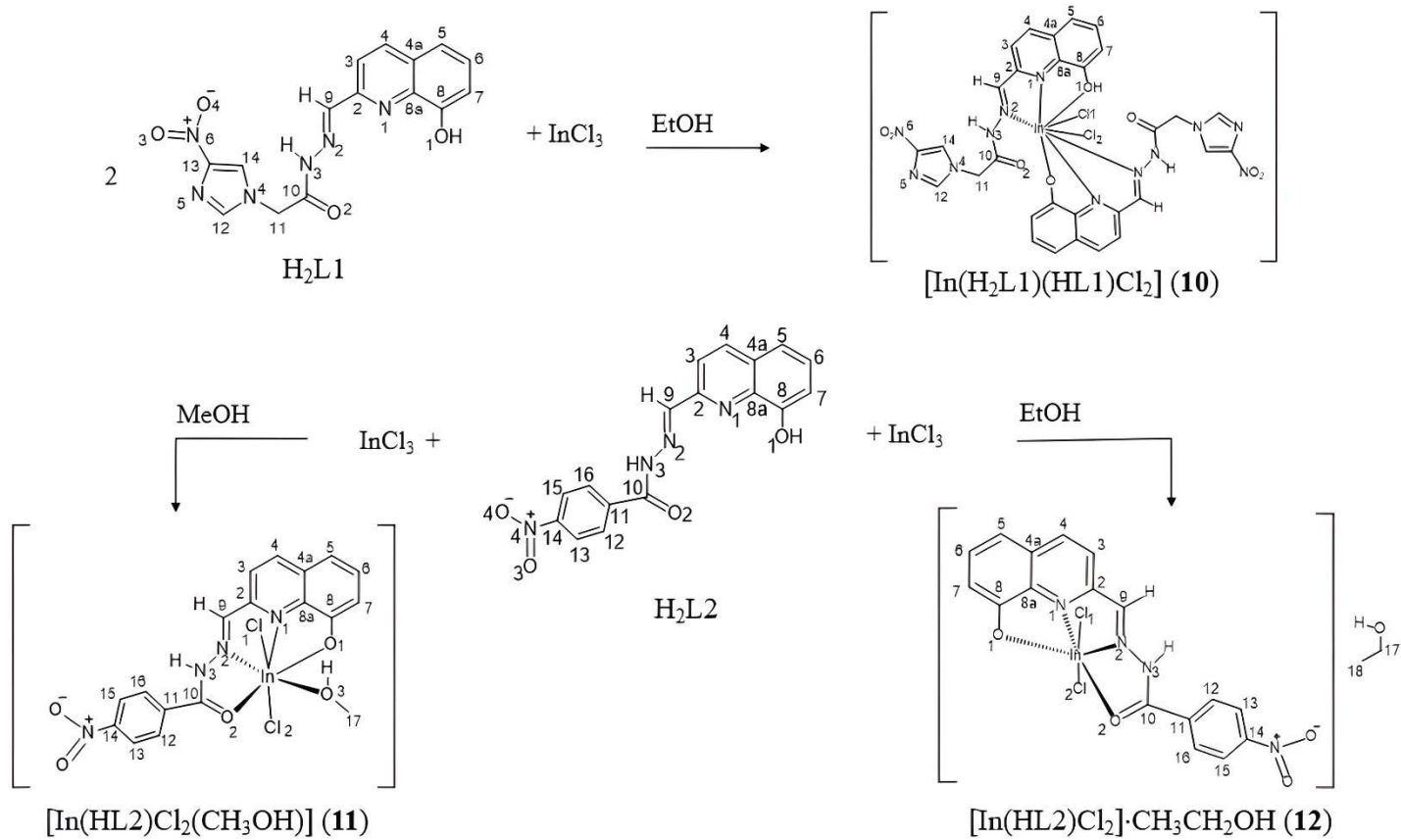
As hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina foram obtidas conforme relatado anteriormente<sup>74</sup>, misturando quantidades equimolares (1 mmol) de 8-hidroxiquinolina carboxaldeído com hidrazida de 4-nitroimidazol ou hidrazida de 4-nitrobenzeno, em metanol, com a adição de três gotas de ácido acético glacial como catalisador. A mistura reacional foi mantida em refluxo por 4 horas. Foram obtidos os compostos 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitroimidazol ( $H_2L1$ ) e 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitrobenzeno ( $H_2L2$ ). Os sólidos obtidos foram filtrados, lavados com metanol gelado e éter dietílico, e secos sob pressão reduzida.

Foram sintetizados três complexos inéditos à base de índio(III) com hidrazonas derivadas 2-formil-8-hidroxiquinolina:

O complexo  $[In(H_2L1)(HL1)Cl_2]$  (**10**) foi obtido misturando-se 2 mmol de 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitroimidazol ( $H_2L1$ ) com 1 mmol de  $InCl_3$  em etanol. O precipitado de coloração rosácea obtido foi separado e lavado com etanol gelado. O complexo  $[In(HL2)Cl_2(CH_3OH)]$  (**11**) foi sintetizado a partir da mistura de 1 mmol de 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitrobenzeno ( $H_2L2$ ) com 1 mmol de  $InCl_3$  em metanol, cristais de coloração vermelha foram obtidos a partir da solubilização da mistura reacional com diclorometano à quente com posterior evaporação lenta. O complexo  $[In(HL2)Cl_2] \cdot CH_3CH_2OH$  (**12**) foi obtido a partir da reação de quantidades equimolares de 1mmol de 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitrobenzeno ( $H_2L2$ ) com 1 mmol de  $InCl_3$  em etanol. Os esquemas de sínteses e as representações estruturais dos ligantes ( $H_2L1$ ), ( $H_2L2$ ) e dos complexos  $[In(H_2L1)(HL1)Cl_2]$  (**10**),  $[In(HL2)Cl_2(CH_3OH)]$  (**11**) e  $[In(HL2)Cl_2] \cdot CH_3CH_2OH$  (**12**) estão ilustrados na Figura 2.10.

---

<sup>74</sup> A. P. A. Oliveira, A. A. Recio-Despaigne, I. P. Ferreira, R. Diniz, K. A. F. Souza, T. M. Bastos, M. B. Pereira Soares, D. R. M. Moreira, H. Beraldo, Investigation of the antytrypanosomal effects of 2-formyl-8-hydroxyquinoline- derived hydrazones and their antimony(III) and bismuth(III) complexes. *New Journal of Chemistry*, (2019) 43 , 18996-19002.

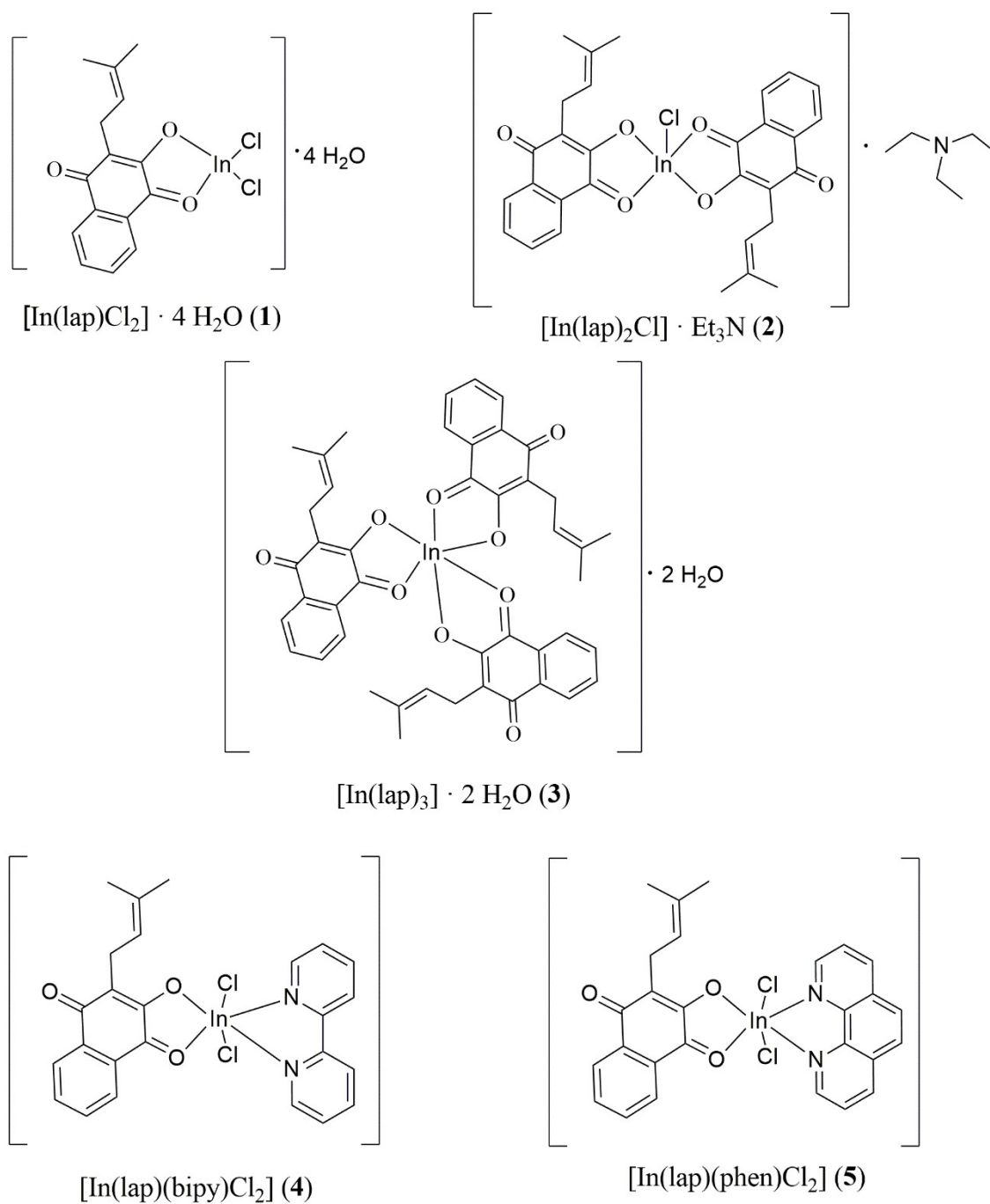


**Figura 2.10.** Esquema das sínteses dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**),  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**).

### Capítulo 3 – Resultados e discussão: Complexos de índio(III) com lapachol

#### *Caracterização físico-química*

As representações estruturais dos complexos (1-5), estão mostradas na Figura 3.1. A apresentação dos resultados inicialmente será abordada em termos de análises em estado sólido e depois será descrito o comportamento dessas substâncias em solução. Foram realizadas análise elementar e análise termogravimétrica nos casos dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (1) e  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (3), por supostamente possuírem águas de cristalização ou coordenação. Foram realizadas medidas de condutividade molar, espectroscopia vibracional, espectroscopia de ressonância magnética nuclear, espectrometria de massas, espectroscopia eletrônica e, no caso dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (4) e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5), onde foram obtidos monocristais desses complexos, também foram realizadas medidas de difração de raios X por monocristal. Também foram realizados estudos de estabilidade com espectroscopia no Uv-vís em condições que simulam a condição fisiológica para viabilizar os estudos de avaliação citotóxica.



**Figura 3.1.** Representações estruturais propostas para os complexos (1-5).

### 3.1. Análises elementar e condutividade molar

Na Tabela 3.1 estão apresentados os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio e os valores de condutividades molares para os complexos (1-5). Os teores de C, H e N obtidos

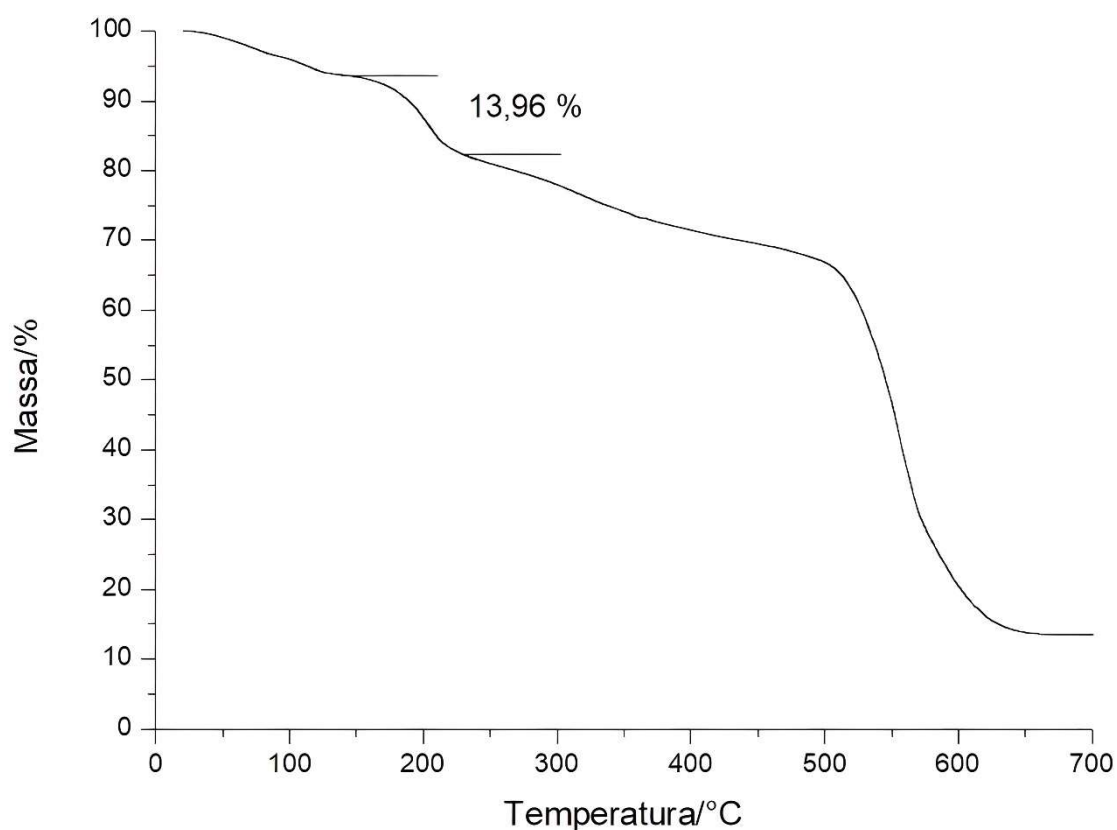
para os complexos estão de acordo com suas respectivas fórmulas moleculares. Os valores obtidos para a condutividade molar dos complexos indicam tratar-se de não eletrolíticos.

**Tabela 3.1.** Dados das análises elementares e condutividade molar em DMSO para os complexos (1-5).

Compostos	% C	% H	% N	$\Lambda_M$
	Exp. (Calc.)	Exp. (Calc.)	Exp. (Calc.)	( $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ )
<b>1-</b> $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$ FM = $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{InO}_7$ M = 499,05 g mol <sup>-1</sup>	35,82 (36,10)	4,27 (4,24)	0,00 (0,00)	10,09
<b>2-</b> $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ FM = $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{ClInNO}_6$ M = 733,98 g mol <sup>-1</sup>	58,86 (58,91)	5,54 (5,63)	1,79 (1,91)	9,55
<b>3-</b> $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ FM = $\text{C}_{45}\text{H}_{43}\text{InO}_{11}$ M = 874,63 g mol <sup>-1</sup>	62,28 (61,80)	5,14 (4,96)	0,00 (0,00)	11,82
<b>4-</b> $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ FM = $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{InN}_2\text{O}_3$ M = 583,17 g mol <sup>-1</sup>	51,45 (51,49)	3,51 (3,63)	4,75 (4,80)	10,35
<b>5-</b> $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ FM = $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{InCl}_2\text{N}_2\text{O}_3$ M = 607,19 g mol <sup>-1</sup>	53,49 (53,41)	3,30 (3,49)	3,80 (4,61)	11,13

### 3.2. Análise Termogravimétrica

A presença de água nos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{ H}_2\text{O}$  (**1**) e  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$  (**3**) foi confirmada através das curvas termogravimétricas (Figura 3.2) (Ver Figura S1, Apêndice III), respectivamente.



**Figura 3.2.** Curva termogravimétrica do complexo  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (**1**) obtida em atmosfera dinâmica de ar, com fluxo de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  e razão de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . A faixa de temperatura utilizada foi de 25 a  $900 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Na curva TG dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**1**) e  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**3**) é possível observar uma perda de massa de 13,96 % (calcd. 14,42%) e 4,56 % (calcd 4,11%), respectivamente. Essas perdas podem ser referentes a quatro moléculas de água presentes no complexo  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (**1**) e a duas moléculas de água presentes no complexo  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (**3**).

### 3.3. Espectroscopia IV

Os espectros de absorção na região do infravermelho dos complexos (**1-5**) foram obtidos e as atribuições de bandas foram baseadas em comparação com o espectro vibracional do lapachol, e no caso dos complexos heteroléticos  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) também em comparação aos ligantes 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina. As principais bandas de vibrações analisadas foram:  $\nu(\text{OH})_{\text{água}}$ ,  $\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$ ,  $\nu(\text{C=O})$ ,  $\nu(\text{C-O})$  e os seus valores estão listados na Tabela 3.2.

**Tabela 3.2.** Valores de números de onda das bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ) nos espectros IV dos complexos (1-5) e seus respectivos precursores, lapachol, 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina (4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ ) em pastilha de KBr e ATR.

Compostos	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{O-H})_{\text{água}}$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C-H})_{\text{aromatico}}$
Lapachol	3390 F	---	1676 F	2839 f
2,2'-bipiridina	---	---	---	3113 f
1,10'-fenantrolina	---	---	---	3046 f
$[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1)	3357 F	3527 m	1631 F	3005 f
$[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ (2)	---	3352 m	1634 F	3035 f
$[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (3)	3387 F	3541 m	1665 F	2966 f
$[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (4)	---	---	1637 F	3130 f
$[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (5)	---	---	1644 F	2824 f

Intensidade das bandas: F = forte, m = média, f = fraca. --- Ausência de banda.

Os espectros vibracionais dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1) e  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (3), Figura 3.3 e Figura 3.4 respectivamente, apresentam bandas  $3527 \text{ cm}^{-1}$  e  $3541 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, atribuídas ao estiramento  $\nu(\text{O-H})_{\text{água}}$ . O espectro de IV do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (2) ilustra uma banda em  $3352 \text{ cm}^{-1}$  provavelmente relacionada pela presença de água no KBr utilizado para realizar a análise. O espectro de IV do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (2) encontra-se no Apêndice III (Figura. S2).

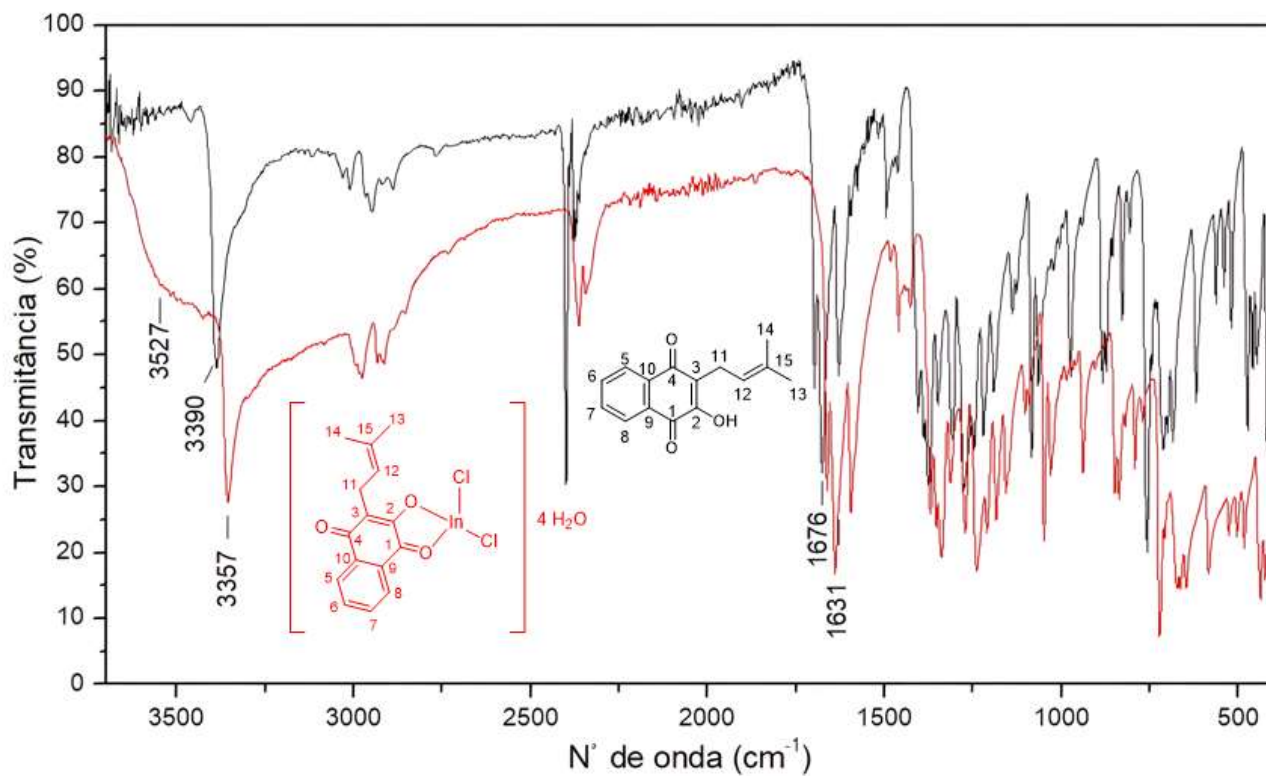


Figura 3.3. Espectro de infravermelho do lapachol e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1).

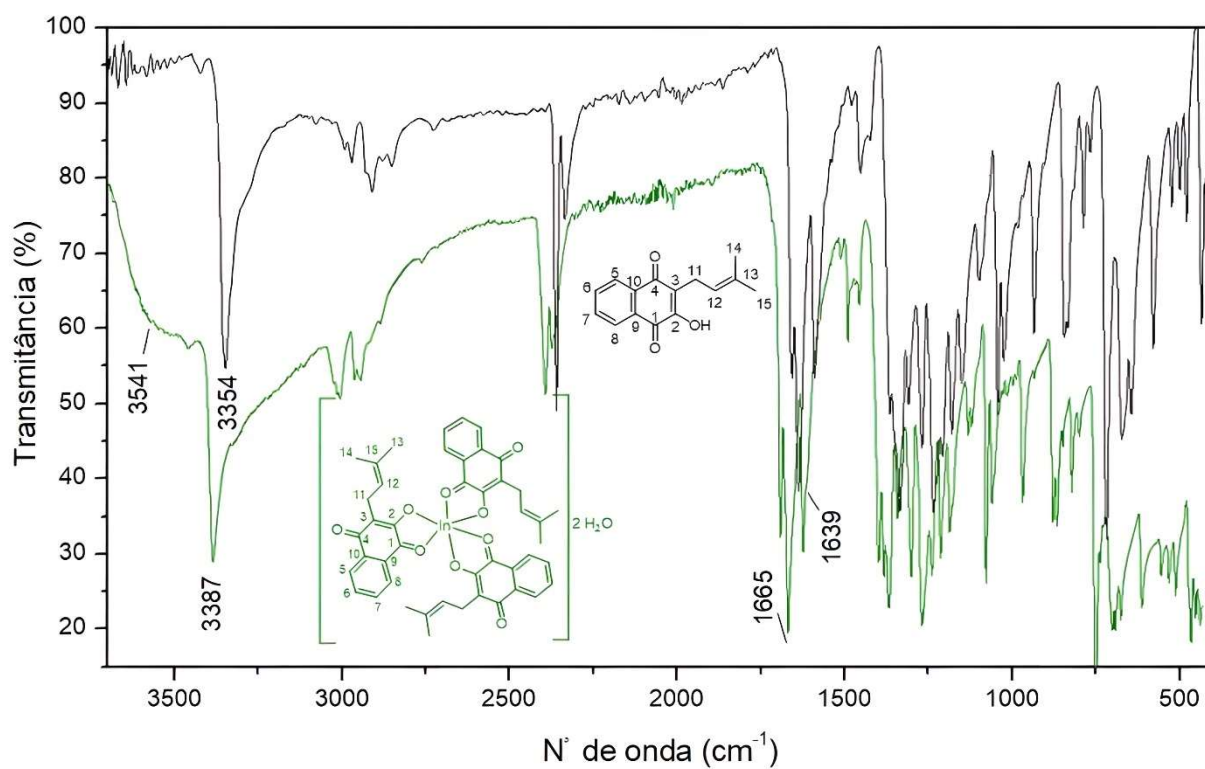
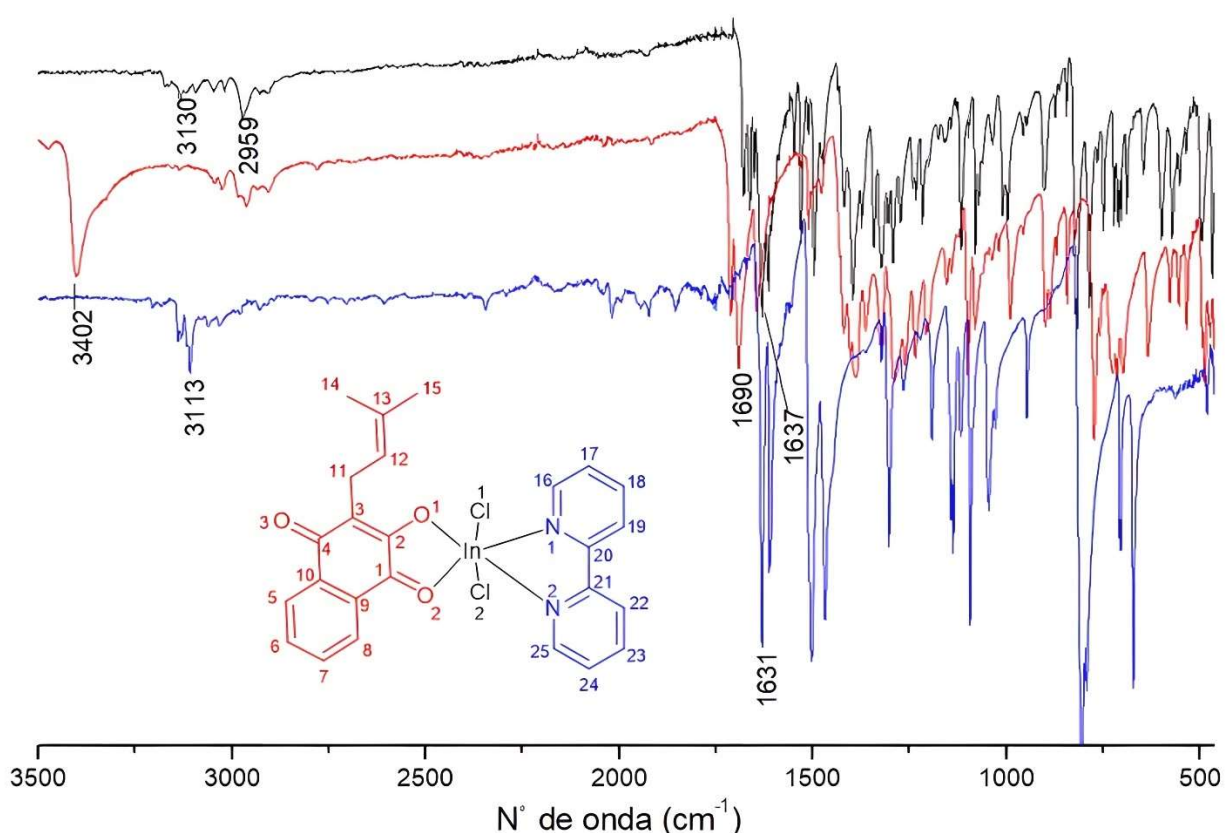


Figura 3.4. Espectro de infravermelho do lapachol e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (3).

Os espectros dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**), Figura 3.5, e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) (Apêndice III, Figura. S3), mostraram absorções em  $3050\text{ cm}^{-1}$  a  $3356\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas às vibrações  $\nu(\text{C-H})$  do lapachol, 1,10'-fenantrolina e 2,2'-bipiridina. O espectro de IR do lapachol mostra uma absorção em  $3390\text{ cm}^{-1}$  atribuída a vibração de estiramento  $\nu(\text{O-H})$ . Essa banda não é observada nos complexos  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}]\cdot\text{Et}_3\text{N}$  (**2**),  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**), indicando desprotonação, enquanto nos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2]\cdot 4\text{ H}_2\text{O}$  (**1**) e  $[\text{In}(\text{lap})_3]\cdot 2\text{ H}_2\text{O}$  (**3**), a desprotonação do grupo O-H não é observada devido à presença de águas de cristalização.



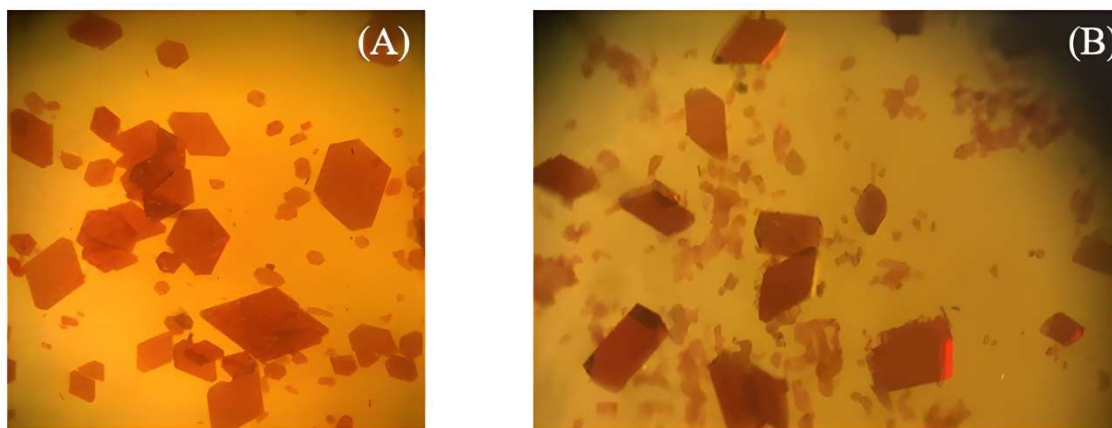
**Figura 3.5.** Espectro de infravermelho do lapachol, 2,2'-bipiridina e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**).

A vibração de estiramento  $\nu(\text{C=O})$  observada em  $1676\text{ cm}^{-1}$  no espectro de lapachol livre, desloca-se para  $1631\text{ cm}^{-1}$ ,  $1634\text{ cm}^{-1}$  e  $1665\text{ cm}^{-1}$  nos espectros dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2]\cdot 4\text{ H}_2\text{O}$  (**1**),  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}]\cdot\text{Et}_3\text{N}$  (**2**) e  $[\text{In}(\text{lap})_3]\cdot 2\text{ H}_2\text{O}$  (**3**), respectivamente, e para  $1637\text{ cm}^{-1}$  e  $1644\text{ cm}^{-1}$  nos complexos  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**), respectivamente, de acordo com a formação de uma única ligação do tipo C-O ao centro metálico de índio(III). O espectro de absorção na região do infravermelho do complexo

[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) está representado no Apêndice III (Figura. S3). As ligações In-O e In-Cl são observadas em baixas frequências na região do infravermelho não sendo possível detectá-las nas análises realizadas.<sup>75</sup>

### 3.4. Medidas de difração de raios X por monocristal

Os monocristais dos complexos [In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), Figura 3.6, foram obtidos por evaporação lenta a partir da solubilização dos compostos utilizando-se uma mistura de diclorometano e metanol em uma proporção de 2:1.

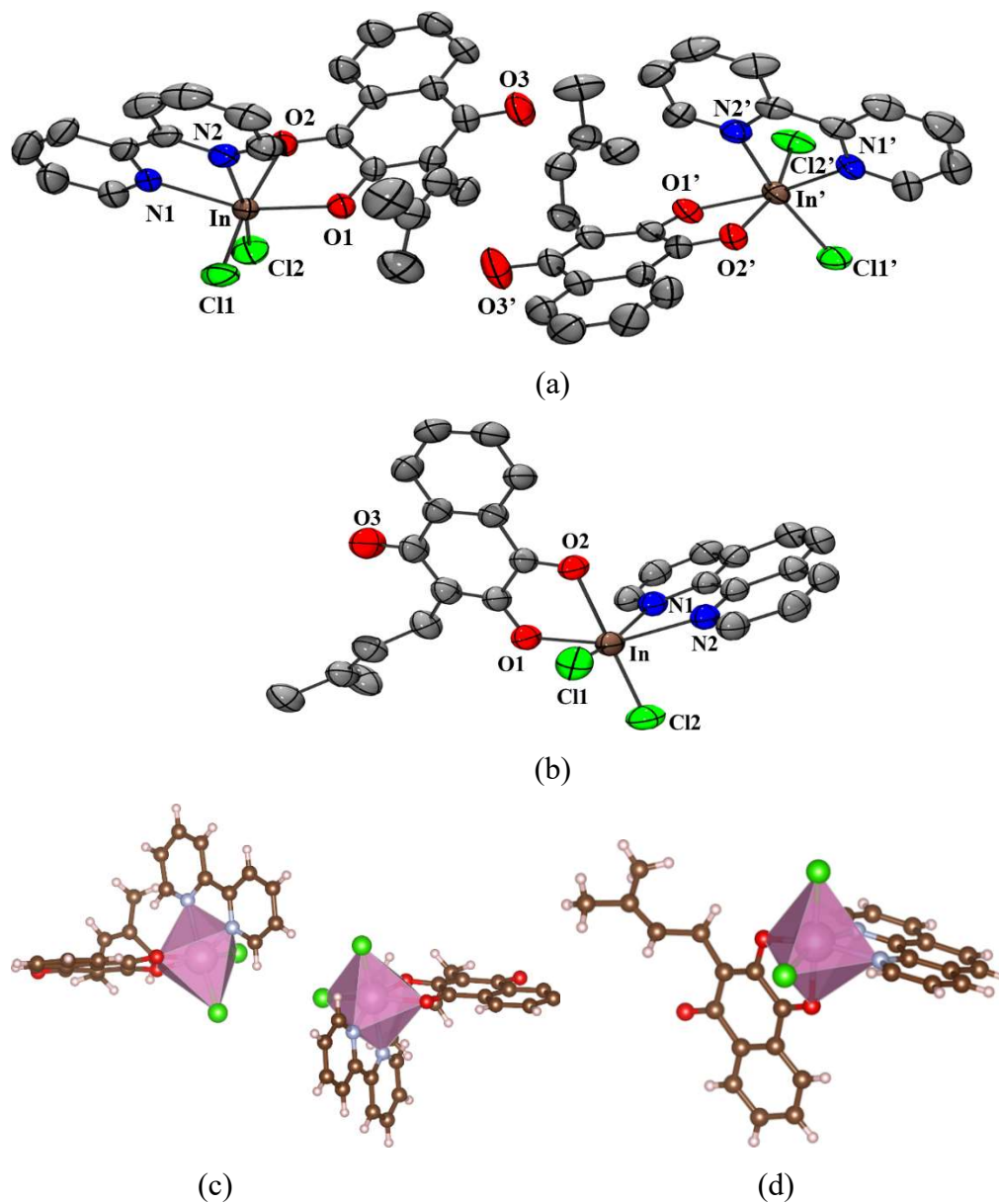


**Figura 3.6.** Monocristais dos complexos [In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) (A) e [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (B) (**5**).

O complexo [In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) cristaliza em um sistema do tipo ortorrômbico Pna21 e o complexo [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) cristaliza em um sistema do tipo triclinico P-1. Na Figura 3.7 está a representação molecular das estruturas cristalinas dos complexos (**4**) e (**5**), e a Tabela 3.3 apresenta os dados cristalográficos para esses compostos.

---

<sup>75</sup> C. Djordjevic. Metal-oxygen vibration modes in the infrared spectra of aluminum, gallium and indium tris-acetylacetonates. *Spectrochimica Acta*, (1961), 17, 448:453.



**Figura 3.7.** Representações das estruturas cristalinas dos complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) (a) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) (b) do tipo ORTEP. Os elipsóides foram desenhados com um nível de probabilidade de 50%. Desenhos dos poliedros dos complexos [In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) (c) e [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) (d).

**Tabela 3.3.** Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento para os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**).

<b>Composto</b>	<i>cis</i> -[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>4</b> )	<i>cis</i> -[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>5</b> )
Fórmula molecular	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub> In	C <sub>27</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub> In
M / g mol <sup>-1</sup>	583,16	607,18
Sistema cristalino, grupo espacial	Ortorrômico, Pna2 <sub>1</sub>	Triclínico, P-1
Temperatura / K	293	293
a / Å	16,21550 (8)	8,6184(1)
b / Å	9,61831 (5)	10,7299(1)
c / Å	31,57398 (17)	13,5910(2)
α, β, γ / °	90, 90, 90	90,444(1), 90,919(1), 102,513(1)
V / Å <sup>3</sup>	4924,47 (3)	1226,73(3)
Z	8	2
Tipo de radiação	Cu Kα	Cu Kα
μ / mm <sup>-1</sup>	9,91	9,974
Tamanho do cristal / mm	0,12 × 0,08 × 0,03	0,32 x 0,16 x 0,10
Reflexões medidas/independentes	81172 / 10541	24922 / 5193
Reflexões observadas / R <sub>int</sub>	10165 / 0,0325	4975 / 0,0594
Parâmetros	600	318
R <sub>obs</sub> , R <sub>all</sub>	0,0237, 0,0229	0,0364, 0,0374
wR <sub>abs</sub> , wR <sub>all</sub> , S	0,0644, 0,0648, 1,055	0,1025, 0,036, 1,084
Δρ <sub>max</sub> , Δρ <sub>min</sub> / e Å <sup>-3</sup>	0,959, -0,547	0,671, -0,969

O complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) cristaliza em grupo espacial não-centrossimétrico e o parâmetro de Flack no refinamento dos compostos foi de [0,0205(19)]; esse parâmetro é utilizado para avaliar a confiabilidade da determinação da configuração absoluta de uma estrutura cristalina e indica que o refinamento final para esse composto está correto. Adicionalmente, esse cristal apresenta duas moléculas na formação de uma unidade assimétrica. Para ambos os complexos, o centro metálico de índio(III) é coordenado por dois átomos de oxigênio do lapachol, dois átomos de nitrogênio da 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina, e dois ânions cloreto. Essas ligações resultam em uma geometria octaédrica distorcida (Figura 3.7). As distâncias médias das ligações In-O, In-N e In-Cl no complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) são respectivamente, 2,210(3) Å, 2,280(3) Å e 2,4146(11) Å e para o complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), 2,231(2) Å, 2,293(3) Å e 2,4060(9) Å.

Comparando a estrutura cristalina do lapachol livre<sup>76</sup> com as dos complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), a maior diferença é observada nos ângulos de torção entre os anéis aromáticos e ramificação alifática. No ligante livre, esse ângulo é menor (68,0° na forma I e 70,8° na forma II<sup>75</sup>) do que nos complexos de índio(III): *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**): 87,9° e 82,3°; *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**): 77,7°. Esses aumentos nos ângulos são provavelmente necessários para facilitar a coordenação do centro de In(III). As distâncias das ligações C=O3 não coordenadas são muito semelhantes no lapachol livre e coordenado. No entanto, as ligações C=O2 se tornaram maiores (1,226(2) na forma I e 1,237(3) Å na forma II do lapachol livre, e 1,239(5) e 1,243(4) Å em *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**), e 1,237(3) Å em *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), enquanto as distâncias das ligações C-O1 diminuíram: 1,347(2) e 1,350(4) Å nas formas I e II, respectivamente, e 1,306(5) e 1,315(5) Å em *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**), e 1,297(4) Å em [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**). A Tabela 3.4 lista os valores das distâncias de ligações, principais parâmetros geométricos e ligações de hidrogênio para os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**).

<sup>76</sup> I. K. Larsen, L. A. Andersen, B. F. Pedersen. Structures of two crystalline modifications of lapachol, Acta Crystallographica Section C, (1992) C48.

**Tabela 3.4.** Distâncias e ângulos de ligações selecionados e parâmetros geométricos de ligações de hidrogênio para os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5).

<b>Distâncias de ligação/ Å</b>				
<i>cis</i> -[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4)		<i>cis</i> -[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5)		
In-Cl1 / In'-Cl1'	2,4097(10) / 2,4098(11)	In-Cl1	2,4195(9)	
In-Cl2 / In'-Cl2'	2,4217(12) / 2,4173(12)	In-Cl2	2,3925(8)	
In-O1 / In'-O1'	2,107(3) / 2,105(3)	In-O1	2,121(2)	
In-O2 / In'-O2'	2,320(3) / 2,309(3)	In-O2	2,340(2)	
In-N1 / In'-N1'	2,267(3) / 2,259(3)	In-N1	2,315(3)	
In-N2 / In'-N2'	2,289(3) / 2,306(3)	In-N2	2,270(2)	
<b>Ângulos de ligação/ °</b>				
<i>cis</i> -[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4)		<i>cis</i> -[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5)		
C11-In-Cl2 / C11'-In'-Cl2'	99,73(4) / 100,36(5)	C11-In-Cl2	100,57(3)	
O1-In-Cl1 / O1'-In'-Cl1'	101,91(9) / 101,85(10)	O1-In-Cl1	102,29(8)	
O1-In-Cl2 / O1'-In'-Cl2'	94,99(8) / 94,78(8)	O1-In-Cl2	101,97(7)	
O1-In-O2 / O1'-In'-O2'	73,47(10) / 74,43(10)	O1-In-O2	73,24(8)	
O1-In-N2 / O1'-In'-N2'	89,44(12) / 88,49(13)	O1-In-N2	153,61(10)	
O1-In-N1 / O1'-In'-N1'	156,11(11) / 155,55(12)	O1-In-N1	86,83(9)	
O2-In-Cl1 / O2'-In'-Cl1'	91,20(8) / 89,51(9)	O2-In-Cl1	87,23(7)	
O2-In-Cl2 / O2'-In'-Cl2'	165,61(8) / 166,78(8)	O2-In-Cl2	171,67(6)	
N1-In-Cl1 / N1'-In'-Cl1'	94,40(9) / 95,20(10)	N1-In-Cl1	159,45(7)	
N1-In-Cl2 / N1'-In'-Cl2'	99,37(9) / 99,28(9)	N1-In-Cl2	95,38(7)	
N1-In-O2 / N1'-In'-O2'	89,00(10) / 88,46(10)	N1-In-O2	77,72(9)	
N1-In-N2 / N1'-In'-N2'	72,01(12) / 72,01(13)	N1-In-N2	72,76(9)	
N2-In-Cl1 / N2'-In'-Cl1'	165,16(9) / 165,47(9)	N2-In-Cl1	92,49(7)	
N2-In-Cl2 / N2'-In'-Cl2'	88,64(10) / 88,79(9)	N2-In-Cl2	96,55(7)	
N2-In-O2 / N2'-In'-O2'	82,81(12) / 83,40(12)	N2-In-O2	85,94(8)	
<b>Parâmetros de ligações de hidrogênio</b>				
D-H...A	D...A / Å	D-H / Å	H...A / Å	D-H...A / °
<i>cis</i> -[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4)				
C11-H11A...O6 <sup>i</sup>	3,489(4)	0,96	2,87	122
C14-H14A...O2 <sup>ii</sup>	3,727(4)	0,96	2,89	146

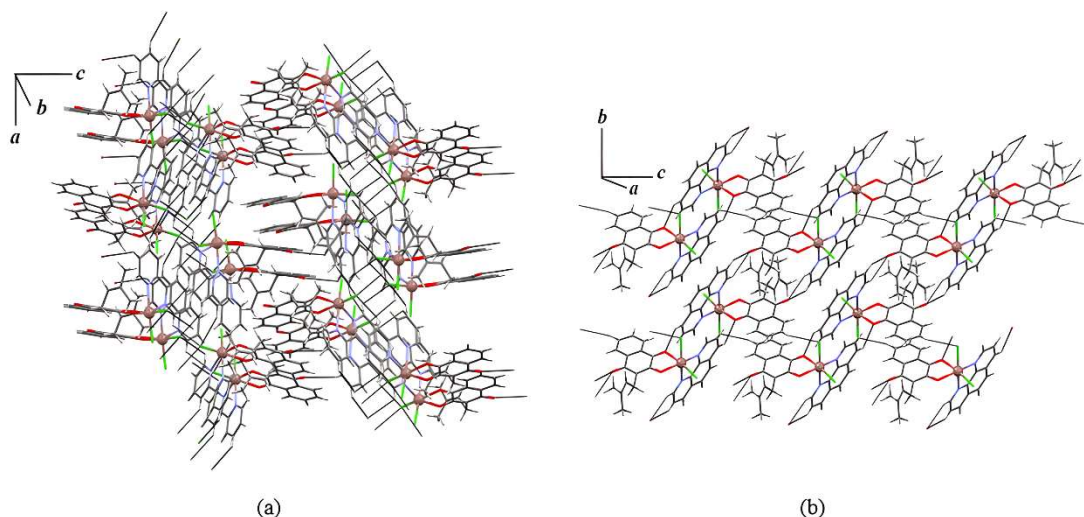
Cont. **Tabela 3.4.** Distâncias e ângulos de ligações selecionados e parâmetros geométricos de ligações de hidrogênio para os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**).

C15-H15C...O2 <sup>ii</sup>	3,723(4)	0,96	2,90	145
C16-H16...Cl2 <sup>iii</sup>	3,437(3)	0,93	2,88	120
C19-H19...Cl2 <sup>iv</sup>	3,429(3)	0,93	2,67	140
C23-H23...Cl2 <sup>v</sup>	3,691(3)	0,93	2,88	146
C15'-H15E...O2 <sup>vi</sup>	3,715(4)	0,96	2,87	147
C16'-H16'...Cl2 <sup>vii</sup>	3,437(3)	0,93	2,88	121
C19'-H19'...Cl2 <sup>viii</sup>	3,438(3)	0,93	2,68	139
C23'-H23'...Cl2 <sup>ix</sup>	3,688(3)	0,93	2,87	148
C24'-H24'...O3 <sup>ix</sup>	3,217(4)	0,93	2,84	105
<i>cis</i> -([In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>5</b> ))				
C6-H6-Cl1 <sup>i</sup>	3,699(4)	0,93	2,93	141
C16-H16-O3 <sup>ii</sup>	3,260(5)	0,93	2,63	126
C17-H17-O3 <sup>ii</sup>	3,270(5)	0,93	2,67	123
C23-H23-O2 <sup>iii</sup>	3,295(5)	0,93	2,51	142

Códigos de simetria: *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**): *i* (-½ + *x*, ½ - *y*, *z*), *ii* (*x*, 1 + *y*, *z*), *iii* (1 - *x*, -*y*, -½ + *z*), *iv* (1.5 - *x*, -½ + *y*, -½ + *z*), *v* (½ + *x*, ½ - *y*, *z*), *vi* (*x*, -1 + *y*, *z*), *vii* (1 - *x*, 1 - *y*, ½ + *z*), *viii* (1.5 - *x*, ½ + *y*, ½ + *z*), *ix* (½ + *x*, ½ - *y*, *z*). *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**): *i* (1 - *x*, -*y*, 1 - *z*), *ii* (1 - *x*, 1 - *y*, 1 - *z*), *iii* (1 - *x*, -*y*, -*z*).

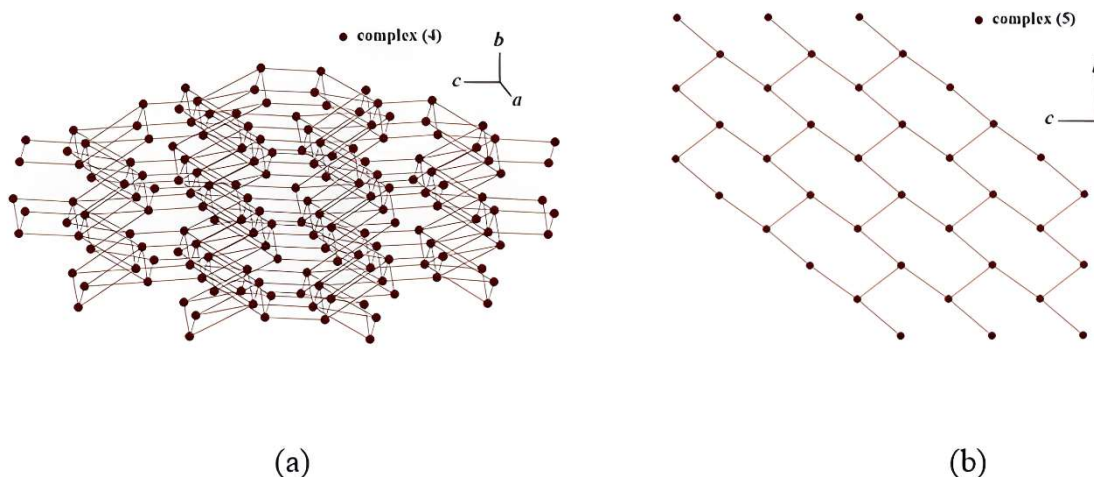
As mudanças nas distâncias e ângulos das ligações do lapachol após a coordenação são compatíveis com as variações das vibrações  $\nu(\text{C}=\text{O})$  para as frequências mais baixas observadas nos espectros de infravermelho após a complexação com a formação dos complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**).

A estabilidade das estruturas cristalinas dos complexos é compreendida pelas ligações de hidrogênio CH---Cl e CH---O que ambos estabelecem. Para o complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**), essas interações formam um arranjo tridimensional (3D) em termos da direção de crescimento da rede cristalina que está representada na Figura 3.8 (a). Por outro lado, no complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), é observado um arranjo bidimensional (2D), Figura 3.8 (b).



**Figura 3.8.** Rede tridimensional de ligações de hidrogênio para os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) ao longo do eixo *a* (a) e *c* e *a* (b).

As análises topológicas para essas ligações de hidrogênio foram realizadas utilizando-se o programa ToposPro.<sup>68</sup> A rede simplificada (Figura 3.9 (a)) para o complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) pode ser classificada como tridimensional, unimodal, sendo classificada como um sistema hexacoordenado. No complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) observa-se uma rede simplificada (Figura 3.9 (b)) que pode ser classificada como bidimensional, unimodal e com um sistema tricoordenado. Para o complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) essas redes são descritas com um símbolo de ponto [3<sup>3</sup>.4<sup>5</sup>.5<sup>6</sup>.6] do tipo *osc* com uma simetria do tipo Pnma. Para o complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**5**) as redes simplificadas apresentam um símbolo de ponto do tipo [6<sup>3</sup>] e *hcb* com uma simetria do tipo P6/mmm.



**Figura 3.9.** Redes de ligação de hidrogênio para os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**): vista ao longo dos eixos a, b e c (a) para o complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**), e ao longo do eixo b e c (b) para o complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**).

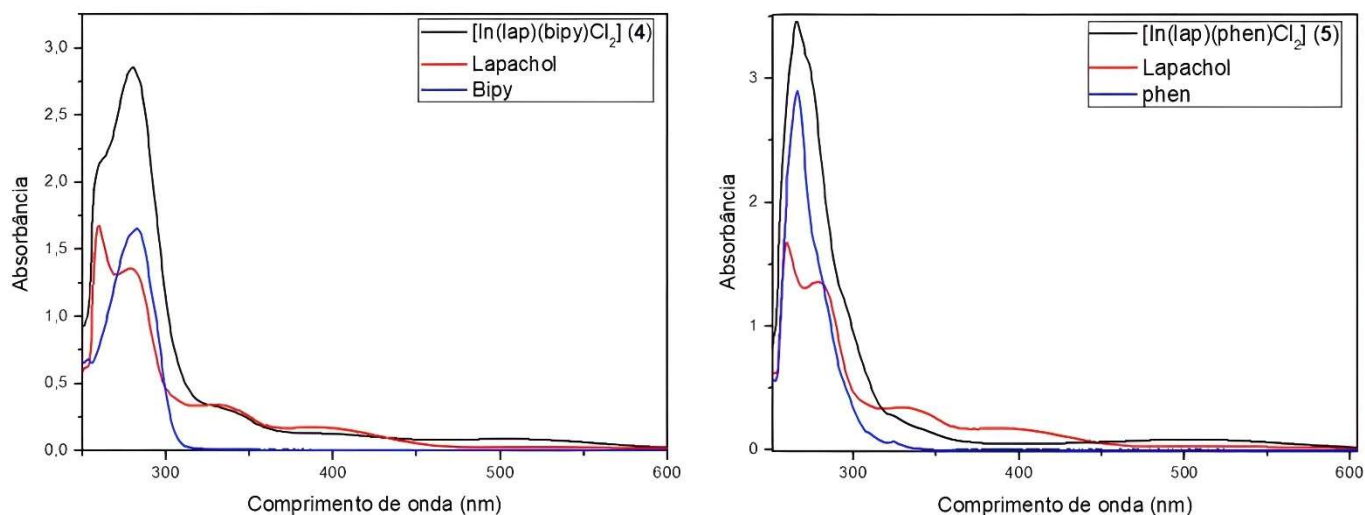
Além disso, também foram observadas interações de  $\pi$ - $\pi$  *stacking* entre os anéis de lapachol e os co-ligantes nos complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), que contribuem para a estabilidade no estado sólido. As distâncias centro-centro entre os anéis de lapachol foram de 3,904 Å no complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e 3,660 Å no complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), indicando que essa interação é mais efetiva no complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**). Além do mais, foram verificadas interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacking* entre as moléculas dos co-ligantes. No complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**), as distâncias centro-centro entre os anéis de bipy foram de 3,935 e 3,987 Å, que são maiores do que as interações entre os anéis de phen (3,499 e 3,611 Å) no complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**).

### 3.5. Espectroscopia de absorção eletrônica na região do Uv-vís

Os espectros de absorção eletrônica na região do ultravioleta-vísível foram registrados com o intuito de avaliar os tipos de transições existentes nos complexos e nos ligantes lapachol para os complexos [In(lap)Cl<sub>2</sub>] · 4H<sub>2</sub>O (**1**), [In(lap)<sub>2</sub>Cl] · Et<sub>3</sub>N (**2**) e [In(lap)<sub>3</sub>] · 2 H<sub>2</sub>O (**3**). E adicionalmente também foram registrados para os ligantes 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina no caso dos complexos heteroléticos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**).

O espectro de absorção eletrônica do lapachol apresenta bandas em 280, 334 e 396 nm, as quais são referentes às transições  $n \rightarrow \pi^*$  dos anéis aromáticos. Na Figura 3.10 estão representados os espectros eletrônicos dos precursores e dos complexos heteroléticos *cis*-

[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**). Os demais espectros de absorção eletrônica dos complexos [In(lap)Cl<sub>2</sub>] · 4H<sub>2</sub>O (**1**), [In(lap)<sub>2</sub>Cl] · Et<sub>3</sub>N (**2**) e [In(lap)<sub>3</sub>] · 2 H<sub>2</sub>O (**3**) encontram-se no Apêndice III (Ver Figuras. S4-S6).



**Figura 3.10.** Espectros eletrônicos dos complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) e seus respectivos ligantes livres em DMSO em uma concentração de  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .

Os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) apresentam bandas de transferência de carga metal ligante (MLTC). É importante salientar que o índio(III) possui seu nível de valência no orbital  $4d^{10}$ , sendo portanto possível encontrar bandas de transferência metal-ligante nos espectros eletrônicos de seus complexos. Na região compreendida entre 500 nm para os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), pode-se observar as transições das bandas MLCT, as quais referem-se a transições dos orbitais  $d\pi_{In} \rightarrow \pi^*$  em termos do ligante lapachol. As transições  $n \rightarrow \pi^*$  dos ligantes 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina encontram-se na região próxima a 250 a 300 nm e estão associadas principalmente aos pares de elétrons não compartilhados ( $n$ ) e os orbitais  $\pi^*$  antiligantes dos anéis aromáticos, ou seja, transições do tipo intraligantes (IL).<sup>77</sup>

Na Tabela 3.5, são apresentados os dados de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) para os complexos (**1-5**) e ligantes, bem como a atribuição de suas respectivas bandas de absorção. Os valores de absorvidade molar foram calculados pela lei de Lambert-Beer e os compostos estão em uma concentração de  $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

<sup>77</sup> D. Pavia, G. Lampman, G. Kriz. Introduction to Spectroscopy, a Guide for Students of Organic Chemistry, 3<sup>a</sup> Ed. Thompson Learning, Boston, p. 354. (2001).

**Tabela 3.5.** Dados de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e tentativa de atribuição de bandas.

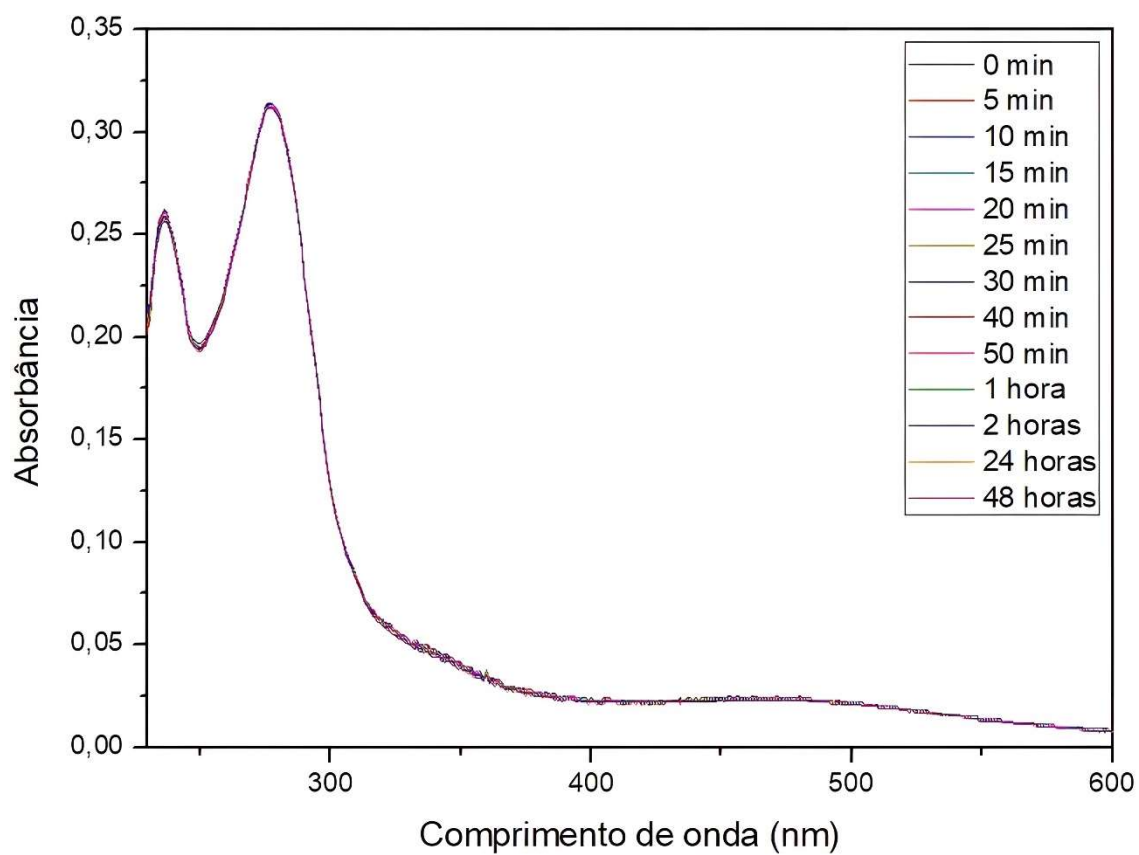
Compostos	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}\text{L}$ )	Transição
Lapachol	280	13600	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	334	3300	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	396	1700	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
2,2'-bipiridina	281	1680	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
1,10'-fenantrolina	266	2920	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
[In(lap)Cl <sub>2</sub> ] · 4 H <sub>2</sub> O (1)	280	10500	$\pi \rightarrow \pi^*$
	331	2500	$\pi \rightarrow \pi^*$
	396	1200	IL e MLTC
[In(lap) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N (2)	280	12800	$\pi \rightarrow \pi^*$
	330	3300	$\pi \rightarrow \pi^*$
	400	1400	IL e MLTC
	516	500	IL, MLTC, $n \rightarrow \pi^*$
[In(lap) <sub>3</sub> ] · 2 H <sub>2</sub> O (3)	280	18700	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	330	4700	$\pi \rightarrow \pi^*$
	397	2300	IL e MLTC
<i>cis</i> -[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4)	280	28600	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	337	3100	$\pi \rightarrow \pi^*$
	500	1027	IL, MLTC, $n \rightarrow \pi^*$
<i>cis</i> -[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5)	276	29600	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	291	12900	$\pi \rightarrow \pi^*$
	500	700	IL, MLTC, $n \rightarrow \pi^*$

### 3.5.1. Testes de estabilidade

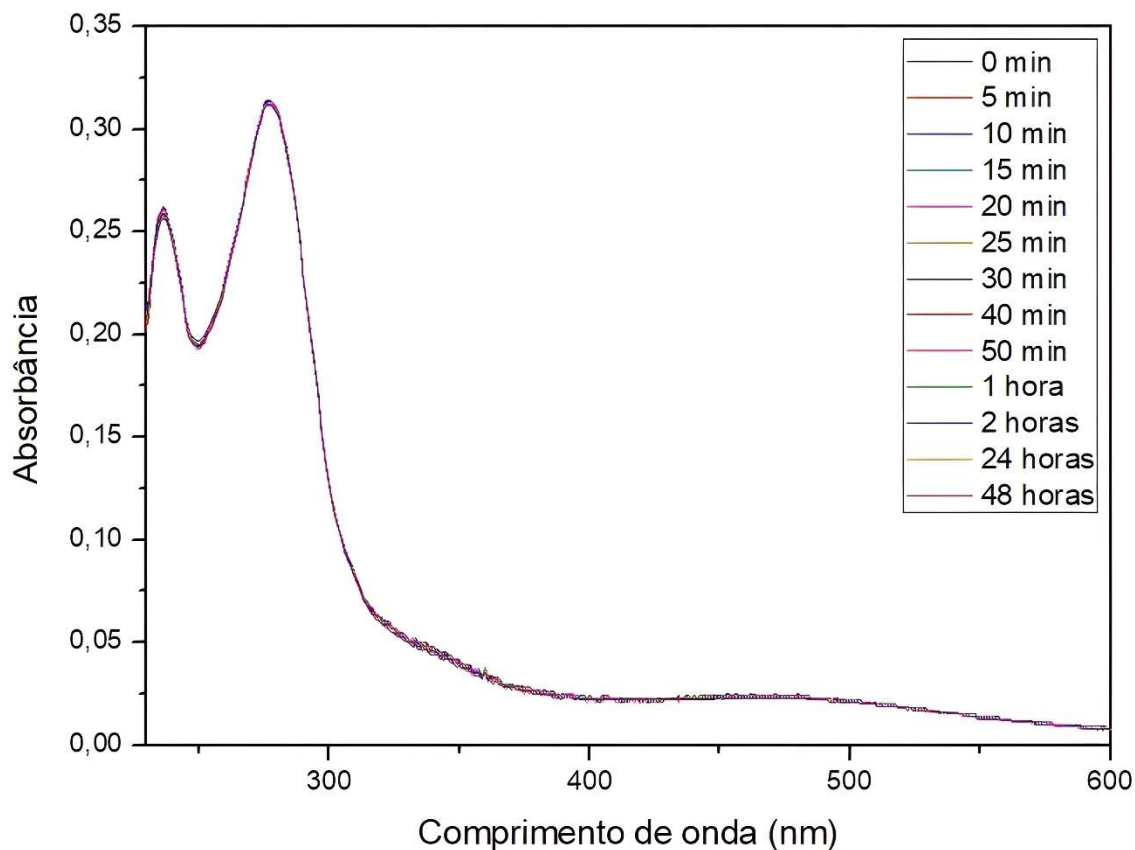
A fim de estudar o comportamento dos complexos (1-5) em condições que simulam o meio fisiológico, foram realizados testes de estabilidade a 1% de DMSO/tampão Tris-HCl em pH = 7,4. Os compostos foram avaliados de cinco em cinco minutos até 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 24 e 48 horas.

Os espectros eletrônicos para os complexos, *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) estão nas Figura 3.11 e Figura 3.12, respectivamente. Os espectros eletrônicos dos complexos [In(lap)Cl<sub>2</sub>] · 4 H<sub>2</sub>O (1), [In(lap)<sub>2</sub>Cl] · Et<sub>3</sub>N (2) e [In(lap)<sub>3</sub>] · 2 H<sub>2</sub>O

(3) estão no Apêndice III (ver Figuras S7-S9).



**Figura 3.11.** Espectro eletrônico em função do tempo do complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) em uma concentração de 10<sup>-3</sup> M em 1% DMSO/ tris-HCl tampão em pH = 7,4.



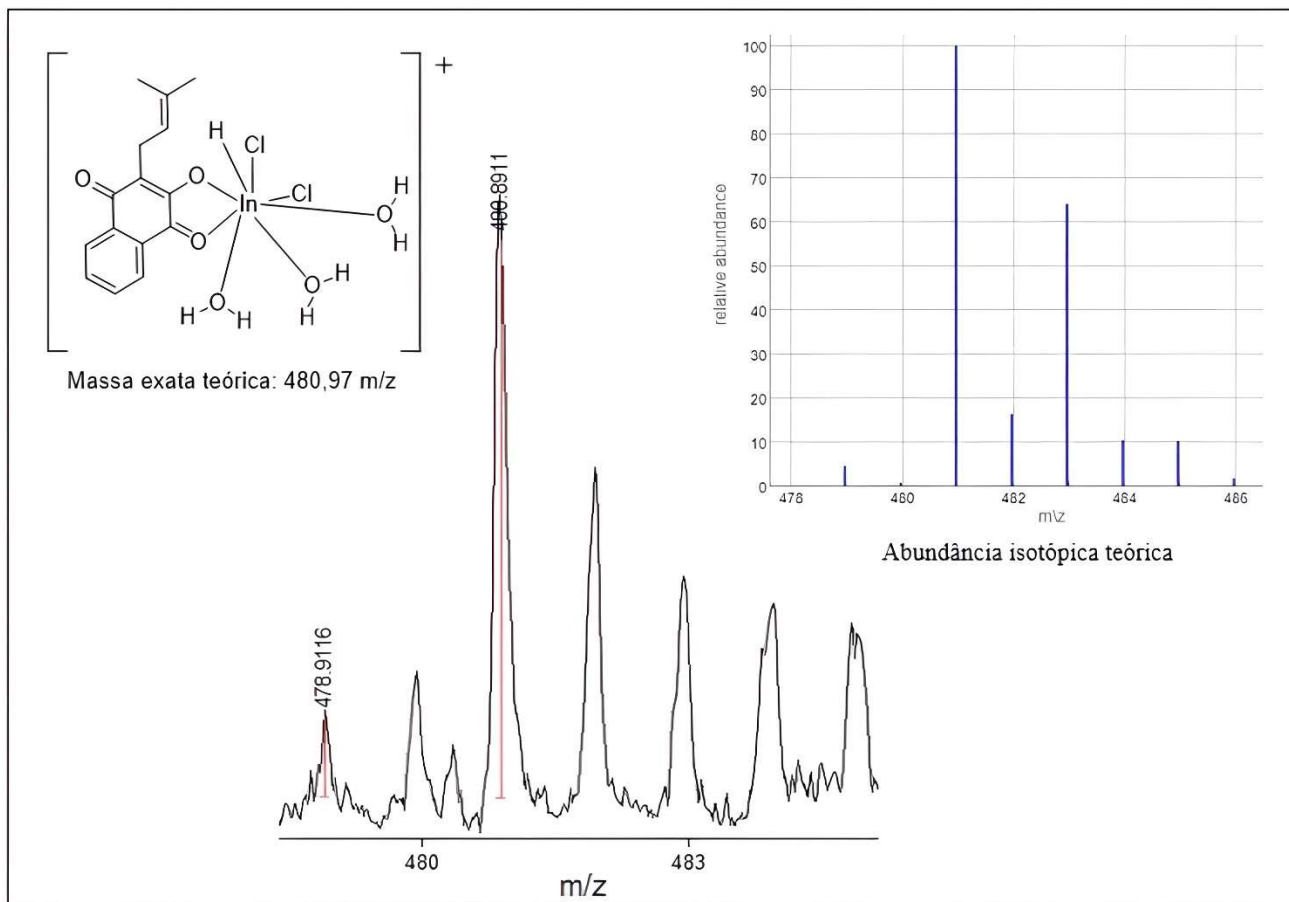
**Figura 3.12.** Espectro eletrônico em função do tempo do complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) em uma concentração de 10<sup>-3</sup> M em 1% DMSO/ tris-HCl tampão em pH = 7,4.

Os espectros eletrônicos dos testes de estabilidade dos complexos (1-5), demonstraram não haver mudanças nas bandas de absorção eletrônica o que sugere que os complexos são estáveis.

### 3.6. Espectrometria de Massas – MALDI-TOF

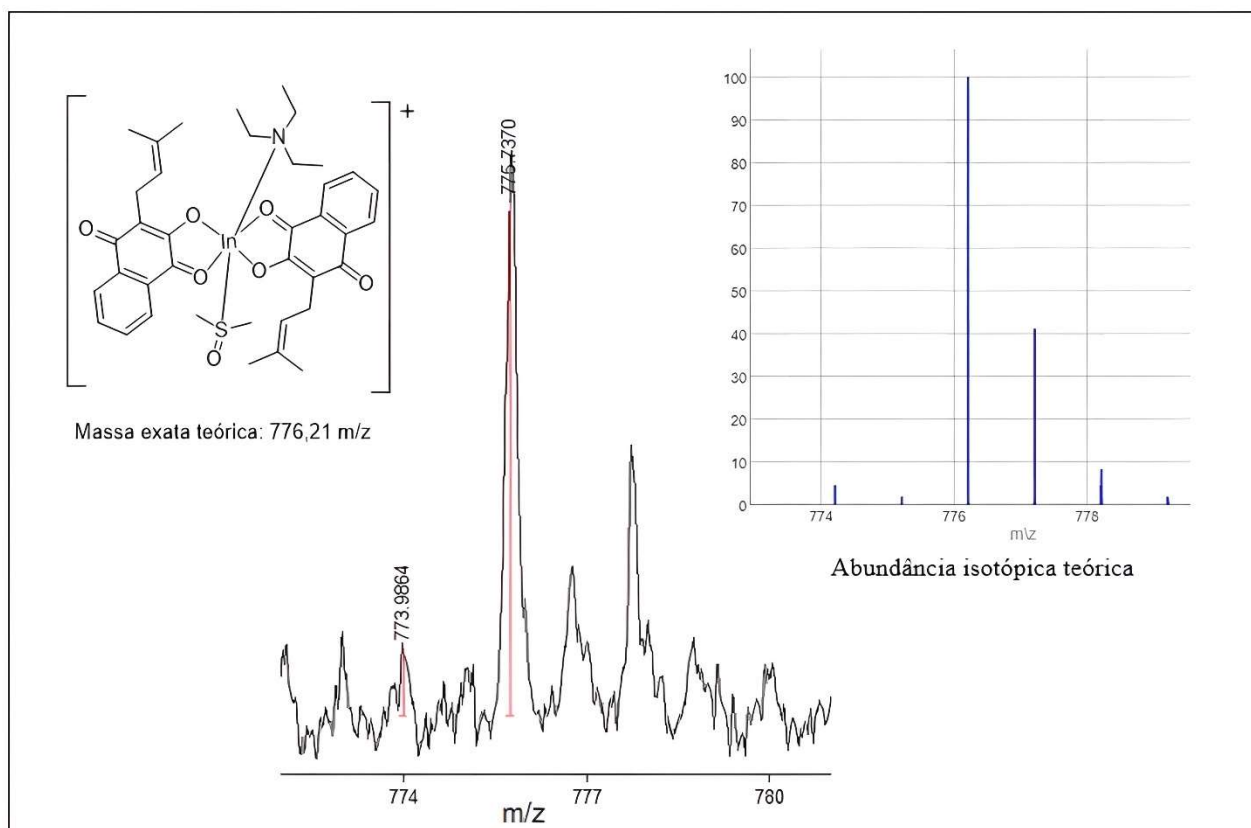
Com o MALDI-TOF foi possível observar alguns sinais relacionados a fragmentos dos complexos (1-5) confirmando a presença das espécies em solução. Também foi possível identificar o padrão isotópico do índio em todos os complexos, denotando a presença dos principais isótopos <sup>115</sup>In e <sup>113</sup>In em suas razões de abundância isotópica de 95% e 4 %, respectivamente.

O espectro de massas MALDI-TOF do complexo [In(lap)Cl<sub>2</sub>] · 4 H<sub>2</sub>O (1), Figura 3.13, revelou um pico em 480,89 *m/z*, relacionado à espécie [In(lap)(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub> + H]<sup>+</sup>.



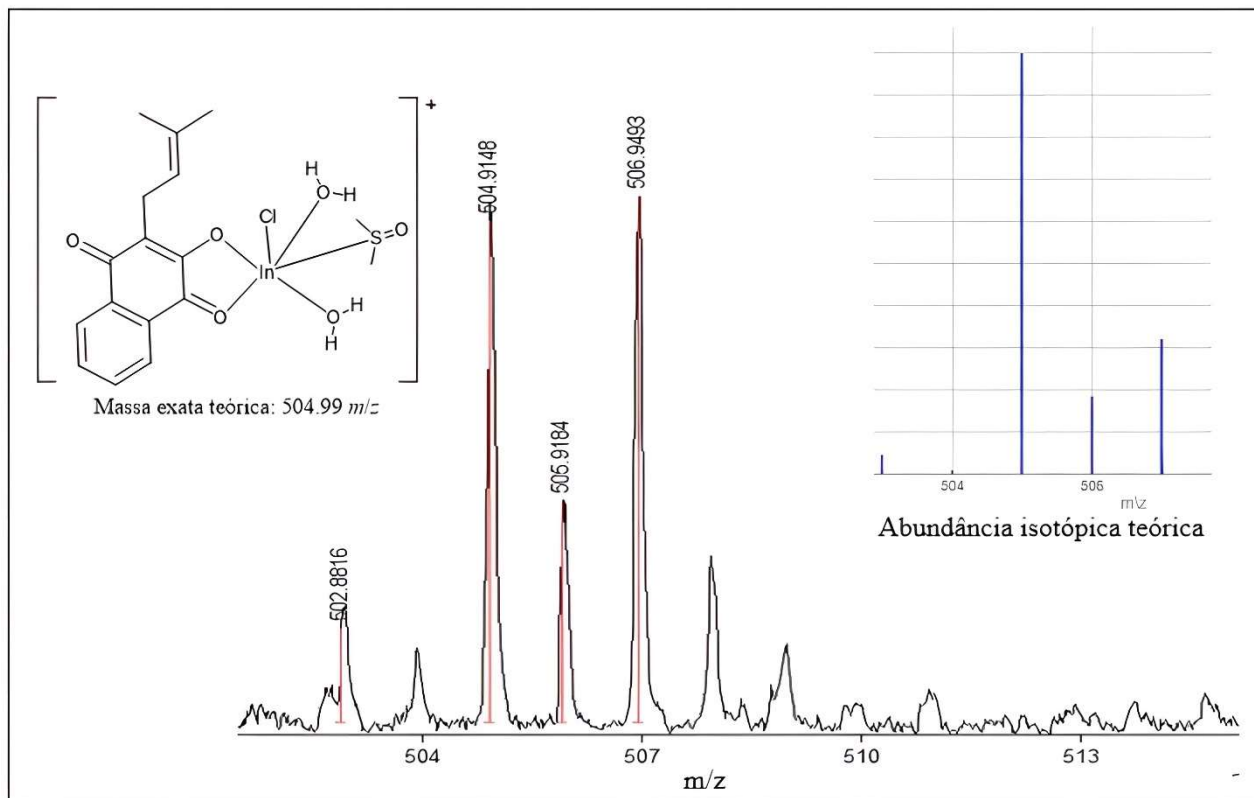
**Figura 3.13.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[In(lap)Cl_2] \cdot 4 H_2O$  (1).

O espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[In(lap)_2Cl] Et_3N$  (2), Figura 3.14, revelou um pico em 775,73 m/z, este fragmento está relacionado à espécie  $[In(lap)_2(Et_3N)(DMSO)]^{+}$ .



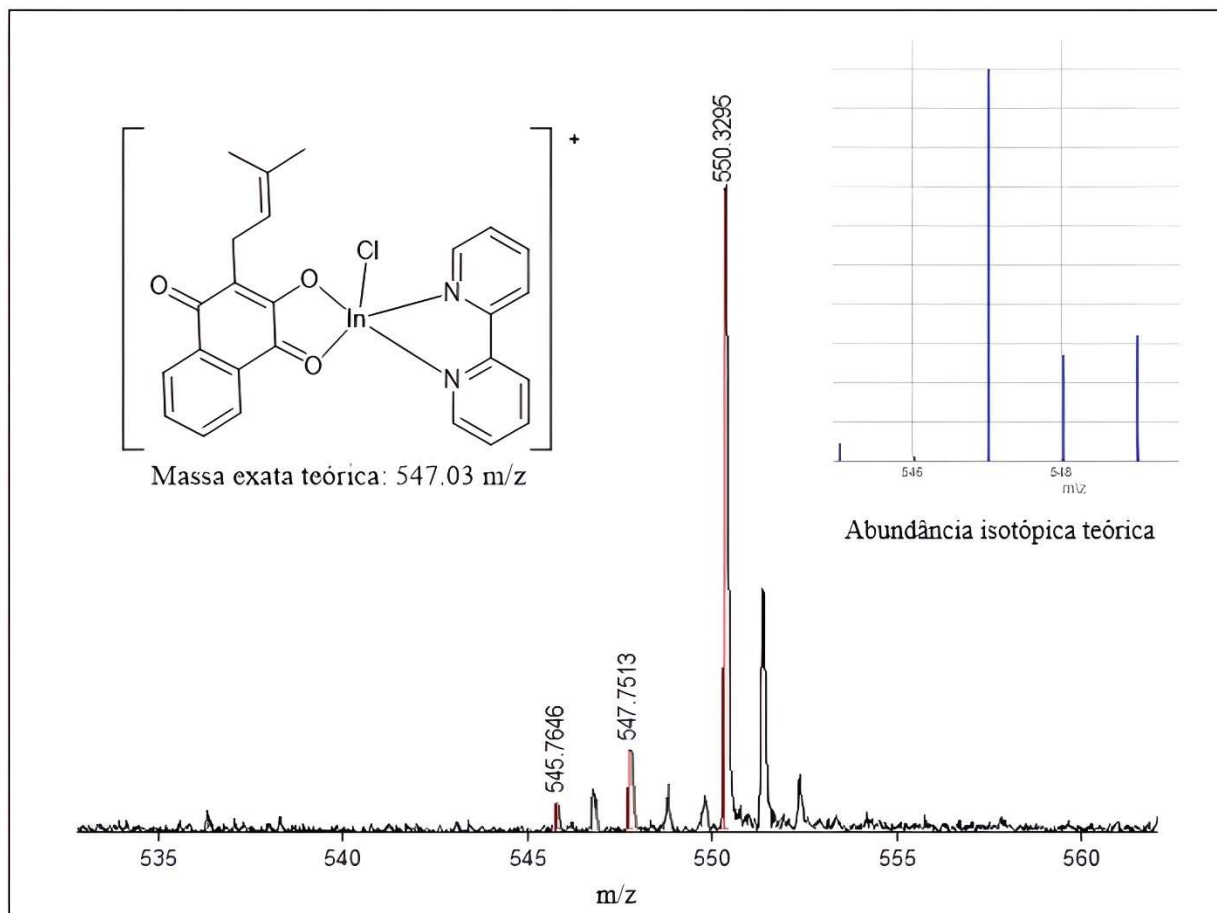
**Figura 3.14.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**).

No espectro de MALDI-TOF do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (**3**), Figura 3.15, é possível observar um pico em 504,91  $m/z$  relacionado ao fragmento  $[\text{In}(\text{lap})(\text{H}_2\text{O})_2(\text{DMSO})\text{Cl}]^+$  e um sinal em 502,88  $m/z$  relacionado ao mesmo fragmento mas com o  $^{113}\text{In}$  como centro metálico. Um fato interessante é que na fragmentação deste complexo é possível observar que dois grupos lapachol foram fragmentados. Observou-se também os sinais em 505,91  $m/z$  e 506,94  $m/z$  como sendo espécies do tipo  $[\text{M}+\text{H}]^+$  e  $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$ , respectivamente, onde M é a massa do fragmento do complexo em questão.



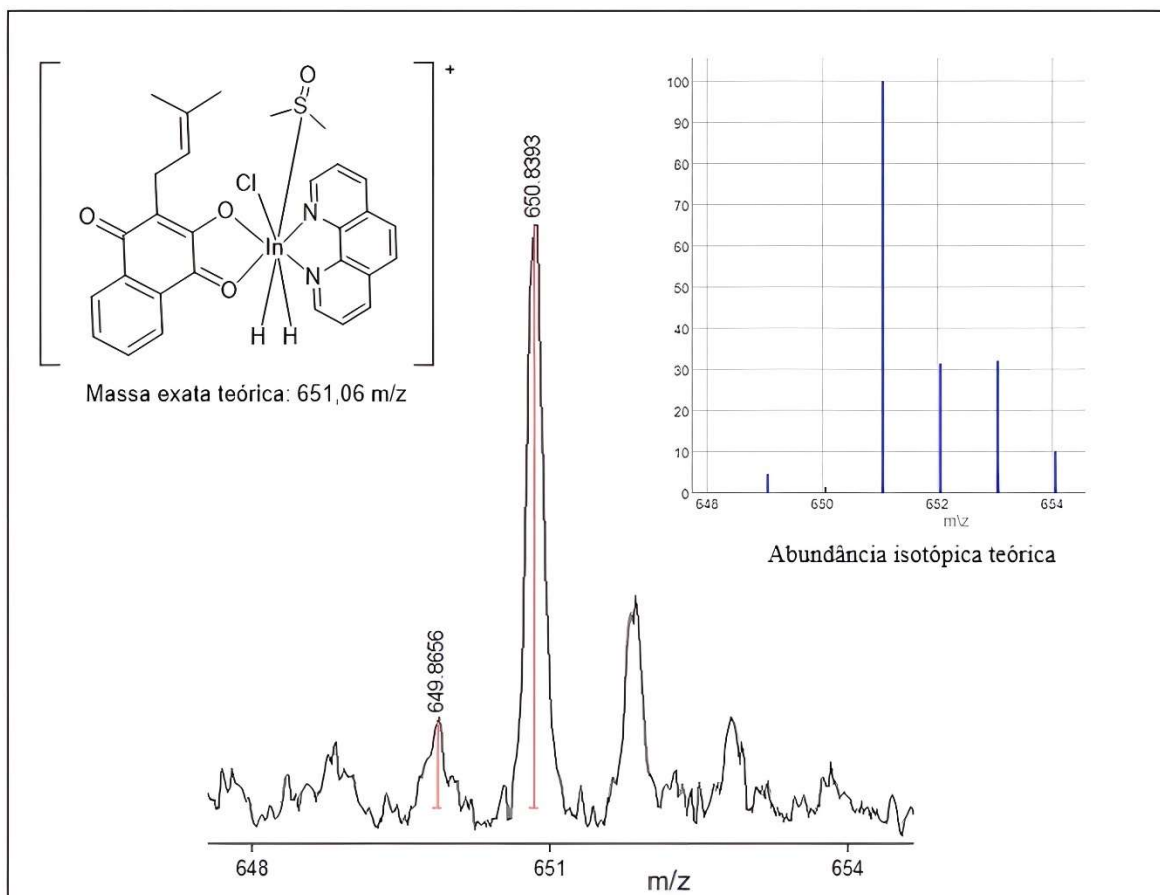
**Figura 3.15.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (3).

No espectro de massa do complexo  $\text{cis}-[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (4), Figura 3.16, foi possível observar a formação da espécie  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}]^+$  em 547,72 m/z.



**Figura 3.16.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $cis-[In(lap)(bipy)Cl_2]$  (**4**).

O espectro de massa do complexo (**5**), Figura 3.17, revelou um pico em  $650,83 \text{ m/z}$ , que é referente à espécie  $[In(lap)(phen)(DMSO)Cl + 2H]^+$ . Esta espécie possui uma massa exata teórica de  $651,06 \text{ m/z}$ .



**Figura 3.17.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**).

### 3.7. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do lapachol e dos complexos (**1-5**) foram registrados em  $\text{DMSO-d}_6$ . Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  tiveram seus sinais atribuídos com base nos deslocamentos químicos e multiplicidades. Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos precursores e dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**),  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**3**) e *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) estão ilustrados nas Figura 3.18-Figura 3.20. Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos precursores lapachol, 2,2'-bipiridina, 1,10'-fenantrolina e dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**1**) e *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) estão no Apêndice III (ver Figuras S10-S11).

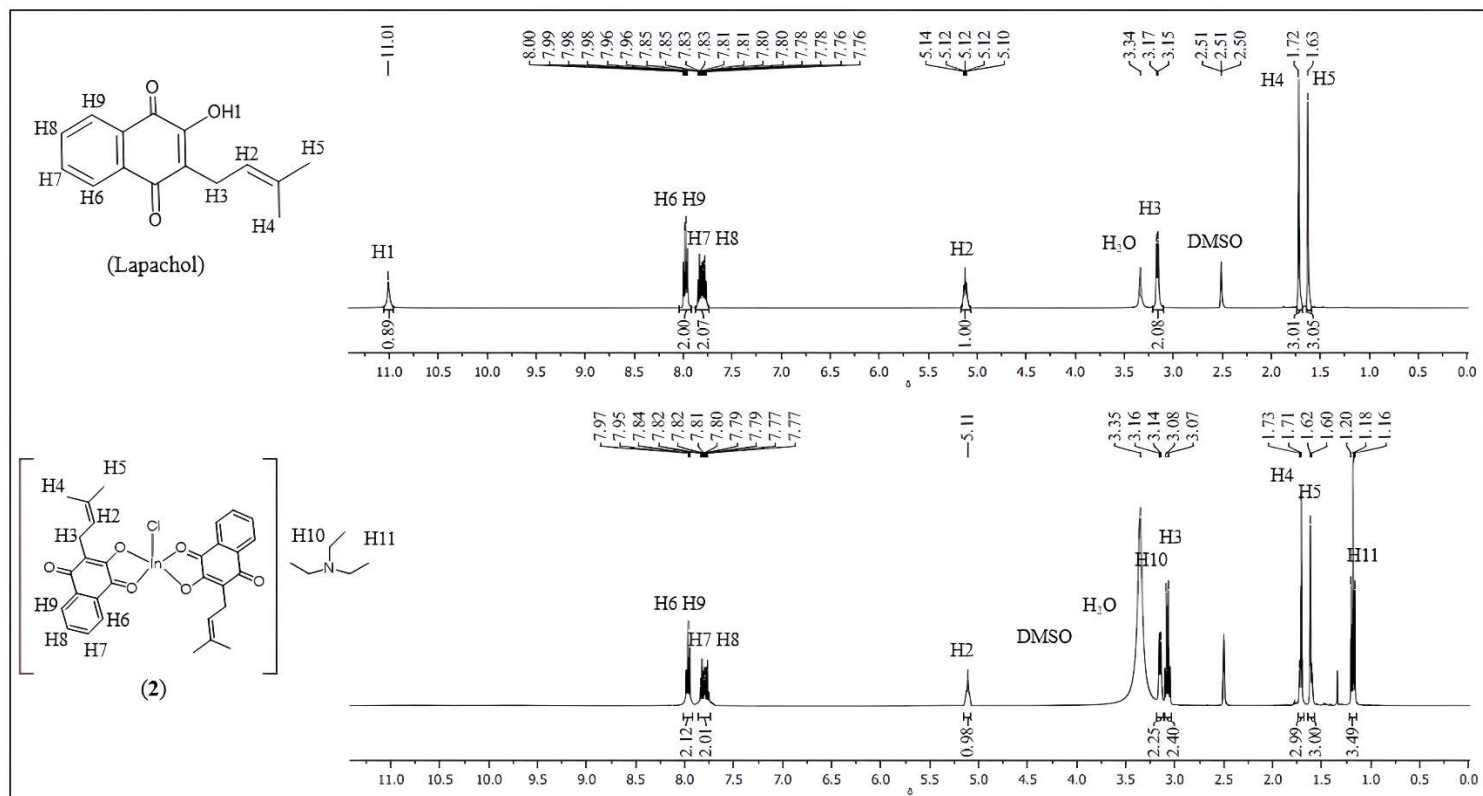


Figura 3.18. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do lapachol e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (2) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

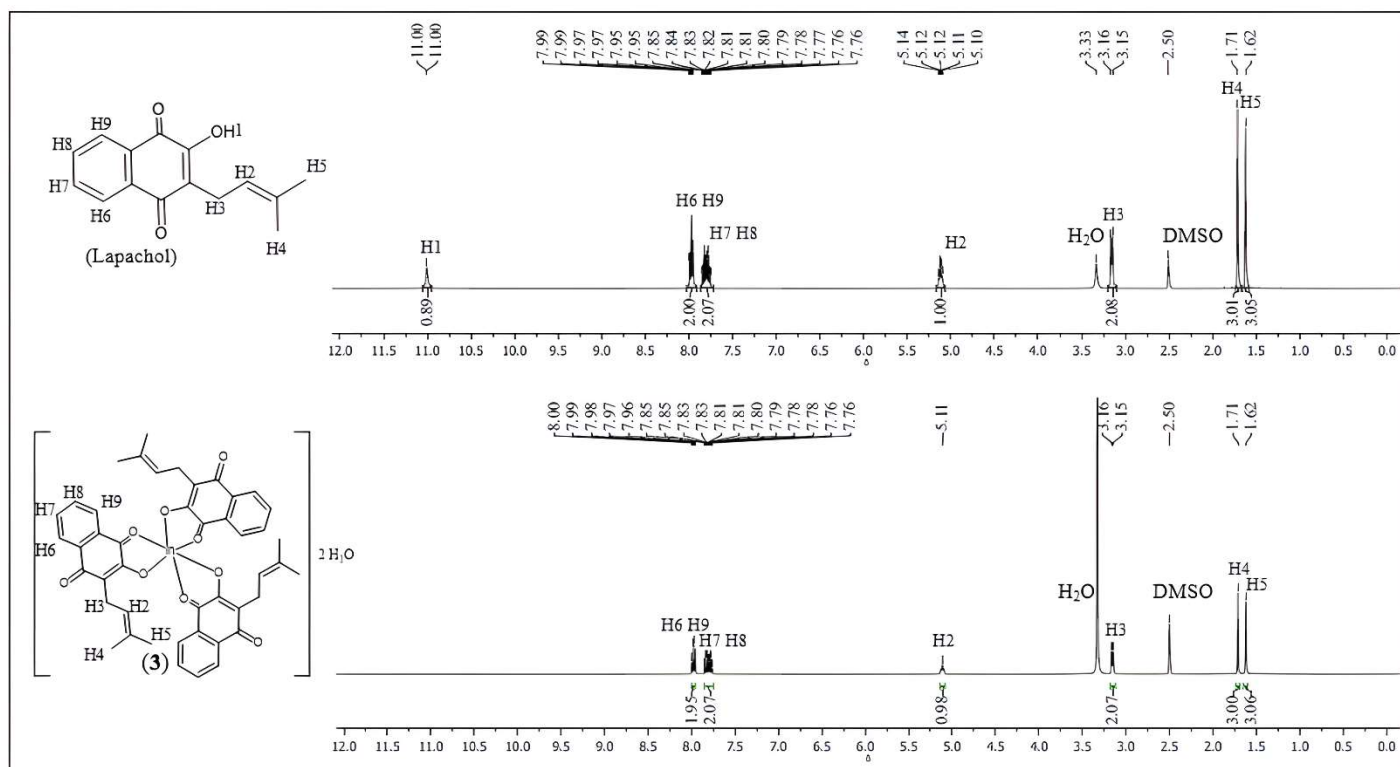
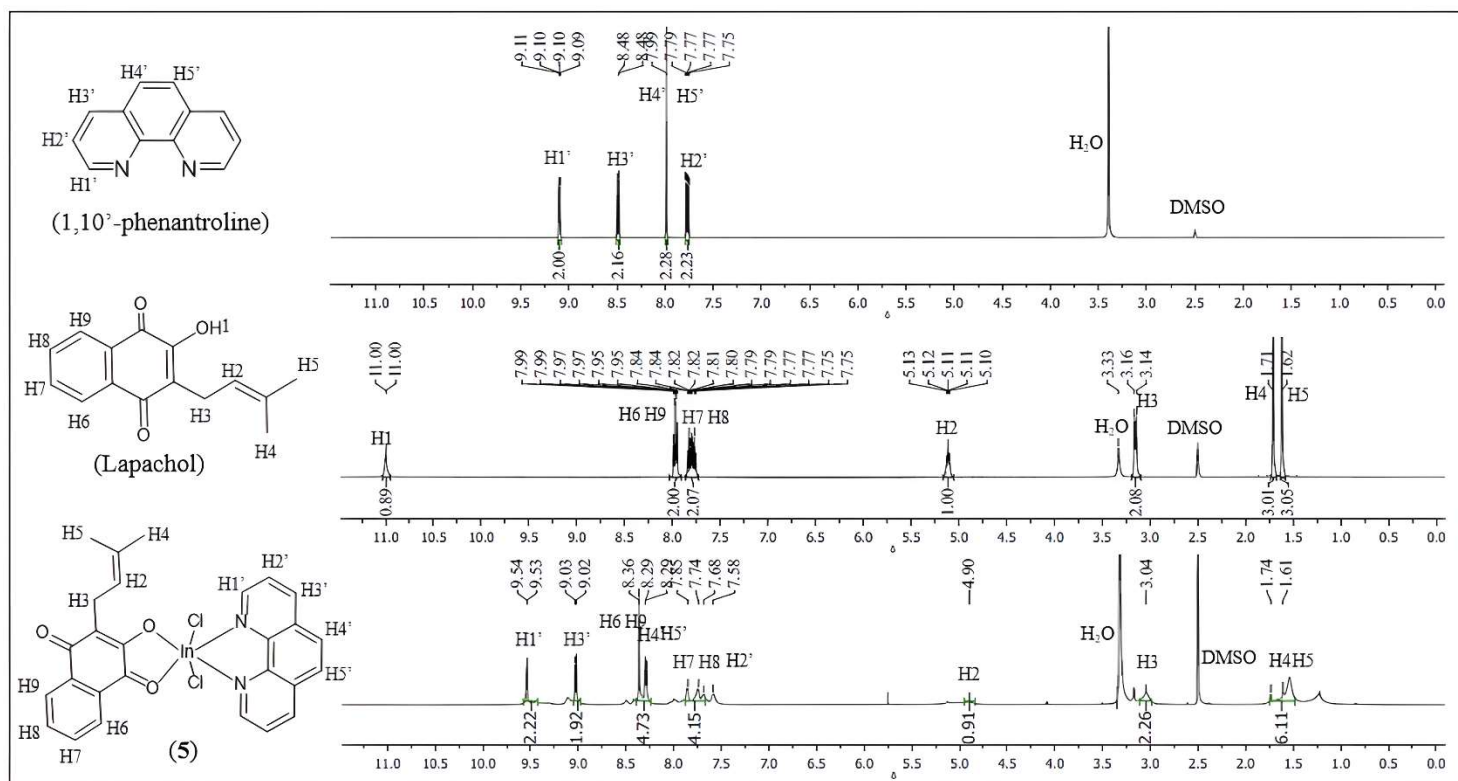


Figura 3.19. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do lapachol e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (3) em  $\text{DMSO-d}_6$ .



**Figura 3.20.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do lapachol, 1,10'-fenantroline e do complexo *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

O sinal atribuído ao átomo de hidrogênio H1 a  $\delta$  11 ppm no espectro de  $^1\text{H}$  do lapachol, não é observável nos espectros dos complexos (**1-5**) devido à desprotonação do grupo OH, pela ação da trietilamina no caso do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**), e pela coordenação do átomo de oxigênio ao centro metálico de índio(III) para os demais complexos. Os principais sinais atribuídos nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos complexos (**1-5**) encontram-se listados na Tabela 3.6.

**Tabela 3.6.** Atribuição do número de hidrogênios, deslocamento químico  $\delta$  (ppm), multiplicidade (M)\* dos sinais nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos ligantes lapachol, 2,2'-bipiridina (bipy), 1,10'-fenantrolina (phen) e dos complexos (1-5). Os espectros foram obtidos em DMSO- $d_6$ .

Atribuições	Lapachol $\delta$ ppm	Bipy $\delta$ ppm	Phen $\delta$ ppm	(1) $\delta$ ppm	(2) $\delta$ ppm	(3) $\delta$ ppm	(4) $\delta$ ppm	(5) $\delta$ ppm
H1	11,01(s)	---	---	---	---	---	---	---
H2	5,11(t)	---	---	5,10(t)	5,11(t)	5,11(t)	5,13(t)	4,90(t)
H3	3,15(d)	---	---	3,15(t)	3,08(t)	3,16(t)	3,19(t)	3,04(t)
H4	1,72(s)	---	---	1,70(s)	1,73(s)	1,71(s)	1,74(s)	1,74(s)
H5	1,63(s)	---	---	1,61(s)	1,62(s)	1,62(s)	1,62(s)	1,61(s)
H6, H9	7,99(t)	---	---	7,99(t)	7,97(t)	8,00(t)	7,98(t)	8,36(t)
H7, H8	7,78(m)	---	---	7,82(m)	7,81(m)	7,83(t)	7,96(t)	7,74(t)
H10	---	---	---	---	3,35(q)	---	---	---
H11	---	---	---	---	1,20(t)	---	---	---
H1'	---	8,70(d)	9,11(d)	---	---	---	8,70(d)	9,54(d)
H2'	---	7,94(t)	7,79(t)	---	---	---	7,94(t)	7,58(t)
H3'	---	7,47(t)	8,49(t)	---	---	---	7,48(t)	9,03(d)
H4'	---	8,39(d)	7,99(d)	---	---	---	8,41(d)	8,29(d)
H5'	---	---	7,79(d)	---	---	---	---	8,29(d)

s=simpleto, d=dupleto, t=tripleto, q = quarteto, m = multipleto, (---) ausência.

Os principais sinais atribuídos nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos complexos (1-5) e dos ligantes lapachol, 2,2'-bipiridina, 1,10'-fenantrolina e DEPT-135 do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}(\text{Et}_3\text{N})]$  (2),  $[\text{In}(\text{lap})_3]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (3) e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5) estão ilustrados nas Figura 3.21 e Figura 3.24. Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1) e *cis*- $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (4) estão no Apêndice III (ver Figuras S12-S13).

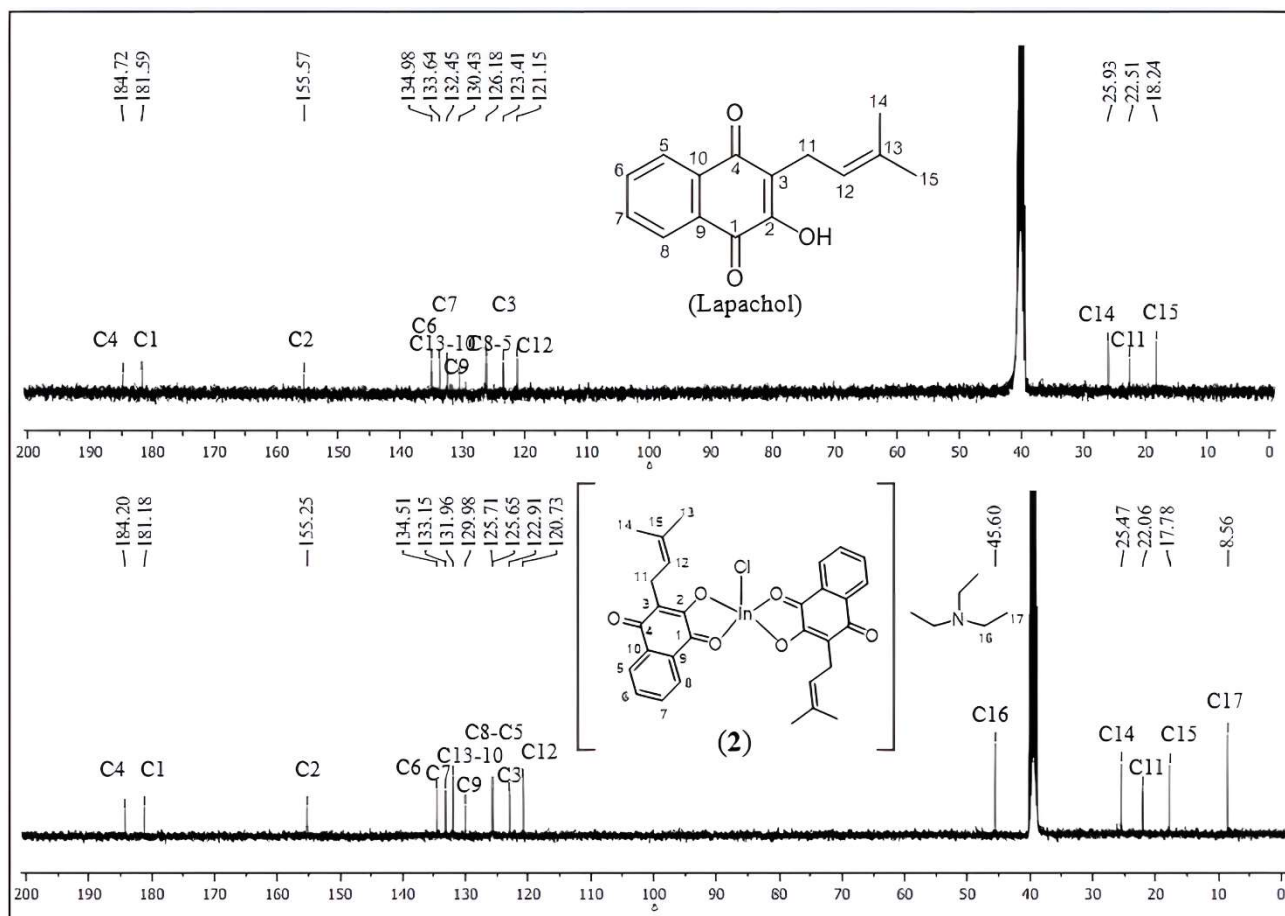


Figura 3.21. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante lapachol e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (2) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

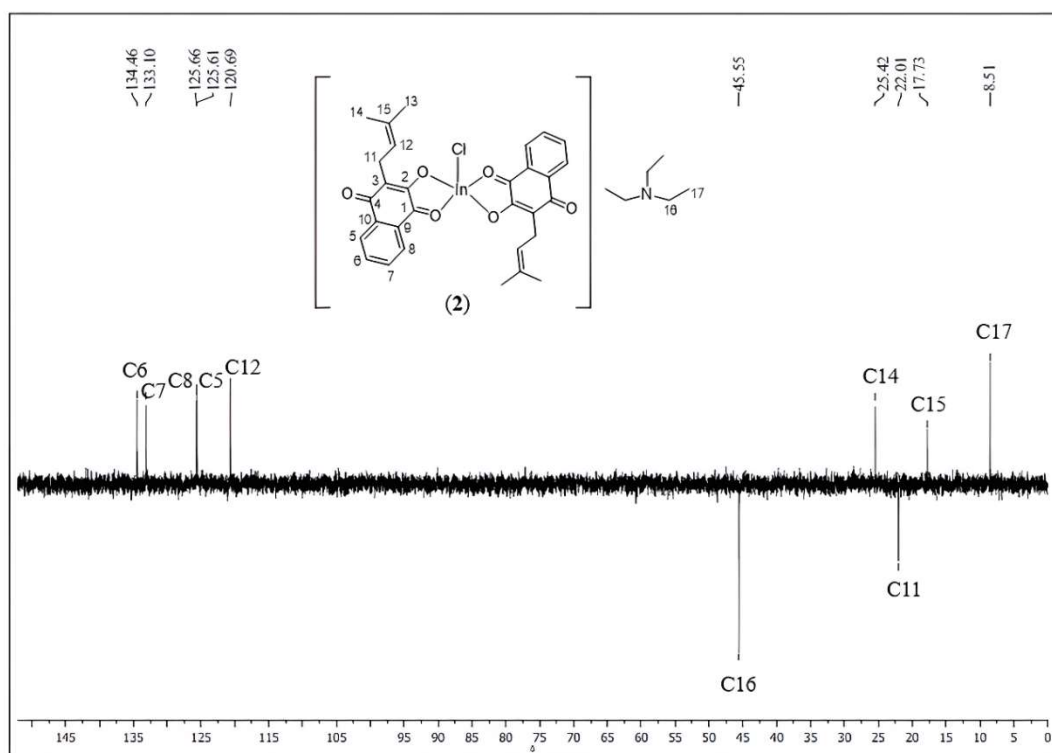


Figura 3.22. Espectro de DEPT-135 do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (2) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

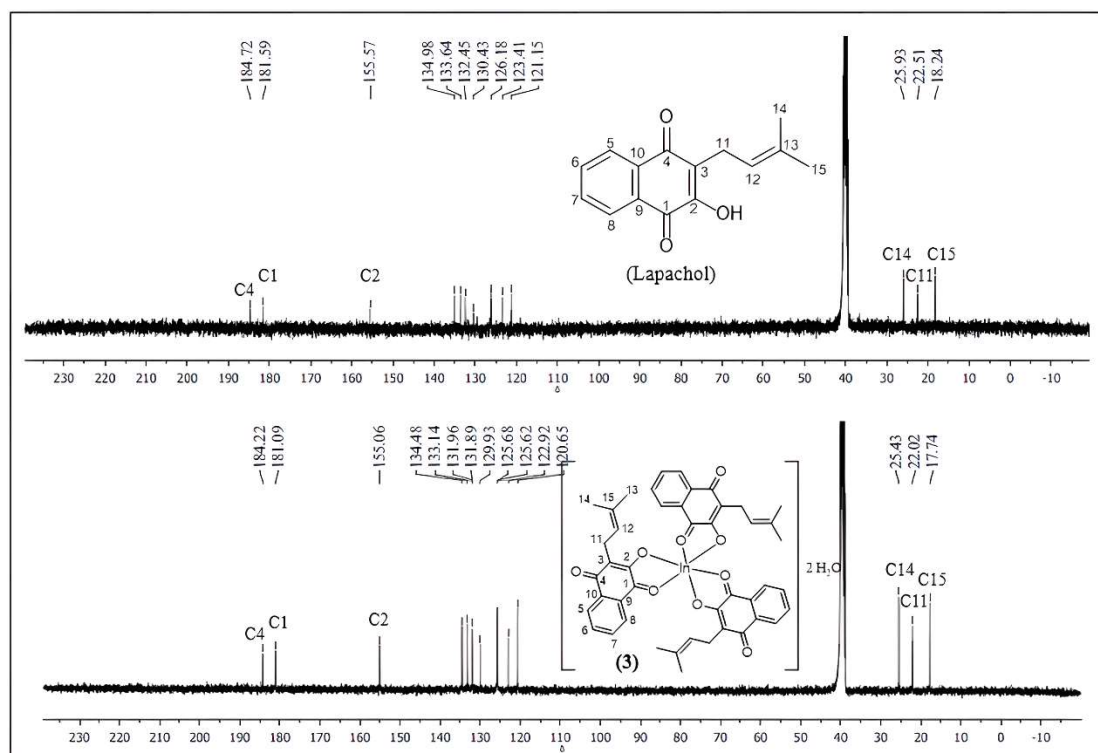


Figura 3.23. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante lapachol e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (3) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

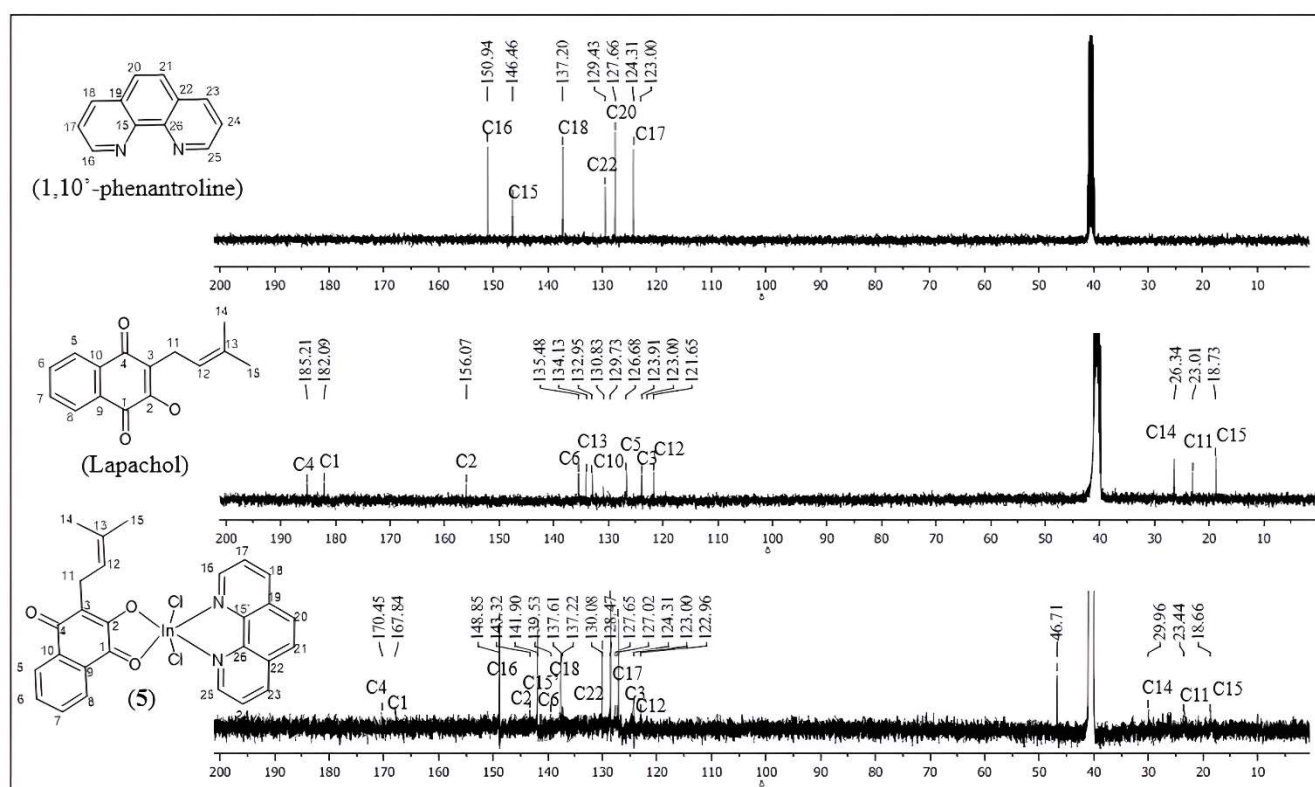


Figura 3.24. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante lapachol, 1,10<sup>2</sup>-fenantrolina e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

O sinal de C1=O a  $\delta$  181,06 ppm no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do lapachol desloca-se para  $\delta$  182,60 ppm,  $\delta$  181,18 ppm,  $\delta$  181,09 ppm nos complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**1**),  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**) e  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**3**), respectivamente. O sinal de C1=O do lapachol desloca-se  $\delta$  183,94 ppm e  $\delta$  167,84 ppm. Além, disso o deslocamento químico do átomo C2 da hidroxila do lapachol em  $\delta$  156,06 ppm também apresenta deslocamento para valores de  $\delta$  159,68 ppm e  $\delta$  148,85 ppm nos complexos  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**).

Esses deslocamentos sugerem que de fato o cátion metálico de índio(III) afeta o ambiente químico do sítio de coordenação que envolve a carbonila e a hidroxila do lapachol. Em outras palavras, a interação entre o centro metálico de índio(III) afeta o ambiente químico ao redor dos núcleos de carbono, levando a deslocamentos químicos observáveis nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  nos átomos de carbonos envolvidos com o sítio de coordenação do lapachol. As atribuições dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  de lapachol, bipy, phen e complexos (**1-5**) estão listados na Tabela 3.7.

**Tabela 3.7.** Atribuição dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes lapachol, 2,2'-bipiridina (Bipy), 1,10'-fenantrolina (Phen) e dos complexos (1-5) em DMSO- $d_6$ .

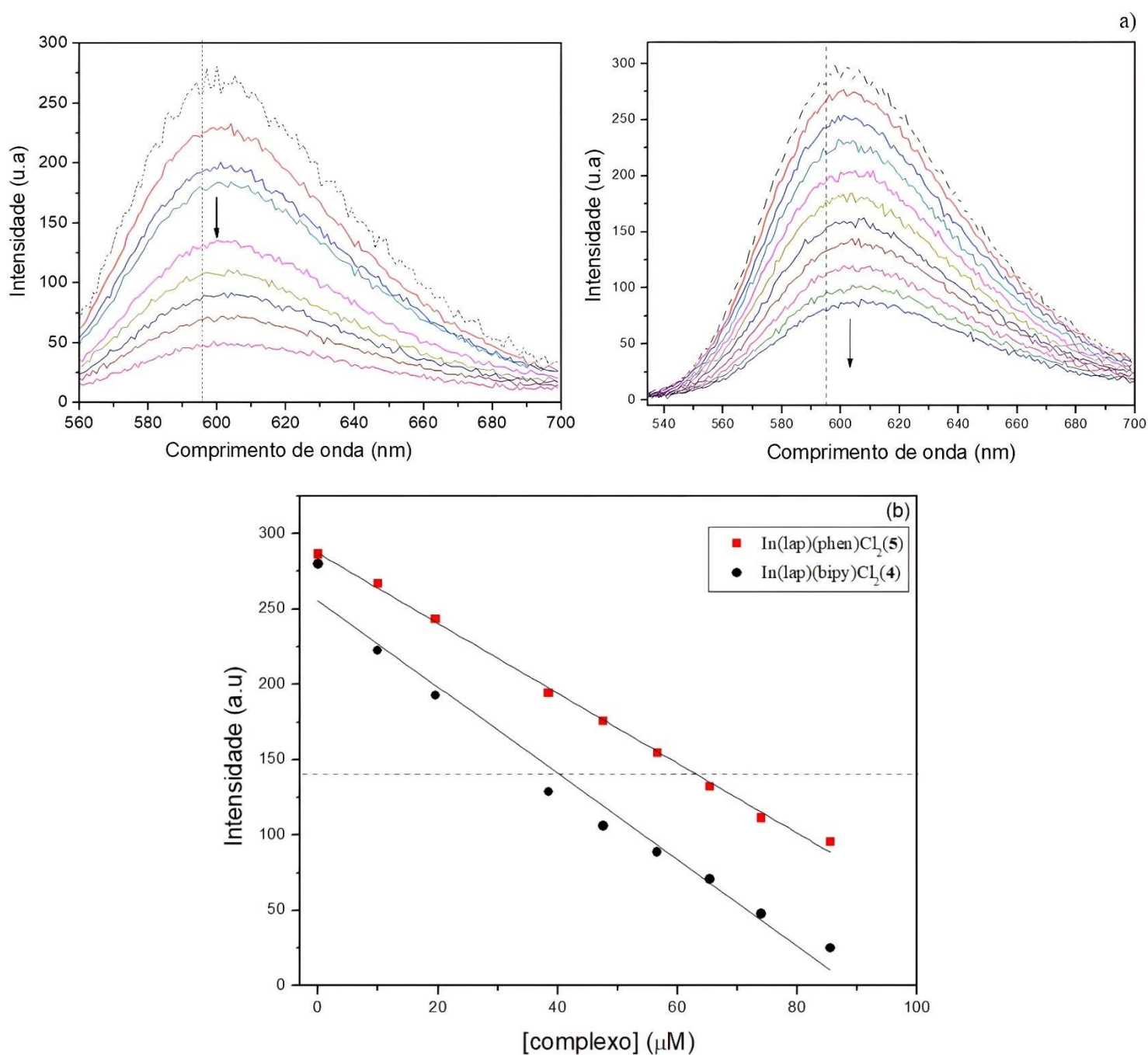
Atribuição	Lapachol $\delta$ ppm	Bipy $\delta$ ppm	Phen $\delta$ ppm	(1) $\delta$ ppm	(2) $\delta$ ppm	(3) $\delta$ ppm	(4) $\delta$ ppm	(5) $\delta$ ppm
C1	182,09	---	---	182,60	181,18	181,09	183,94	167,84
C2	156,06	---	---	156,12	155,20	155,06	159,68	148,85
C3	123,91	---	---	124,01	122,91	122,91	124,16	123,00
C4	185,21	---	---	185,32	184,20	184,22	188,4	170,45
C5	126,68	---	---	126,70	126,65	125,62	125,62	127,64
C6	135,48	---	---	135,56	134,51	134,48	134,48	139,56
C7	134,13	---	---	134,24	133,15	133,14	133,14	128,47
C8	126,68	---	---	126,77	125,71	125,68	125,68	127,65
C9	130,83	---	---	130,97	129,90	129,93	129,93	137,22
C10	132,95	---	---	132,33	131,90	131,89	131,89	130,08
C11	23,01	---	---	23,09	22,06	22,01	22,01	23,44
C12	121,65	---	---	121,70	120,73	121,15	122,96	122,96
C13	132,08	---	---	132,49	131,90	133,14	132,21	123,00
C14	26,34	---	---	26,52	25,47	25,43	25,43	29,96
C15	18,73	---	---	18,82	17,78	17,74	17,74	18,66
C16, C25	---	150,22	150,94	---	45,60	---	150,23	148,85
C17, C24	---	125,14	123,00	---	8,56	---	123,00	127,68
C18, C23	---	138,25	137,20	---	---	---	138,26	137,61
C19, C22	---	121,37	129,43	---	---	---	121,37	122,96
C20, C21	---	156,17	127,66	---	---	---	156,16	143,32
C26	---	---	146,46	---	---	---	---	139,53

### 3.8. Avaliação da competição entre brometo de etídeo (BE) e os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5)

A fim de estudar a natureza da interação dos complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) com o DNA, foi realizado o teste de competição entre o brometo de etídeo (BE) e os complexos. Na Figura 3.25 estão ilustrados os espectros de emissão do brometo de etídeo (BE) ligado ao DNA na ausência e na presença do complexo *cis*-

[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**). Na Figura 3.25 também está ilustrado o efeito de concentrações crescentes dos complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*- [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) na intensidade de fluorescência do sistema brometo de etídio – DNA.

Para os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), foi observada uma redução significativa na intensidade de emissão do BE na presença dos complexos, presumivelmente devido à redução no número de sítios de ligação no DNA disponíveis para o BE.



**Figura 3.25.** (a) Espectros de emissão do sistema BE-DNA na ausência (---) e na presença (\_\_\_) de quantidades crescentes dos complexos  $cis$ -[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) e  $cis$ -[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5). As amostras foram solubilizadas em DMSO a 25 °C. A seta indica as mudanças espectrais ao aumentar a concentração do complexo [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5), e a linha vertical representa  $\lambda_{\text{emissão}} = 595$  nm. (b) Efeito de concentrações crescentes dos complexos  $cis$ -[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) e  $cis$ -[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) na intensidade de fluorescência do sistema brometo de etídio – DNA. A linha horizontal representa 50% da fluorescência inicial.

As constantes aparentes de ligação ( $K_{app}$ ) para os complexos (4-5) foram calculadas como descrito, usando a equação (1) a seguir.<sup>78</sup>

$$K_{EB}[EB] = K_{app}[\text{complexo}] \quad (1)$$

Onde  $K_{EB} = 9,5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ,  $[EB] = 1,5 \times 10^{-4} \text{ M}$  e  $[\text{complexo}]$  é a concentração do complexo quando a intensidade de fluorescência do BE é 50%. Conforme demonstrado na Tabela 3.8, os valores de concentração necessários para suprimir 50% da fluorescência ( $C_{50}$ ) foram obtidos a partir do gráfico de intensidade de fluorescência vs  $[\text{complexo}]$  quando a fluorescência é 50% do valor inicial. Os valores de  $C_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) e  $K_{app}$  ( $10^5 \text{ M}^{-1}$ ) estão apresentados na Tabela 3.8. Os valores de  $K_{app}$  obtidos são comparáveis ao valor para o intercalante antitumoral actinomicina D ( $K_{app} = 9,69 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ).<sup>78</sup>

**Tabela 3.8.** Concentração necessária para reduzir 50% da fluorescência do sistema brometo de etídeo – DNA ( $C_{50}$ ) e constante de ligação aparente ( $K_{app}$ ) para a ligação competitiva entre o brometo de etídeo ligado ao DNA e os complexos de índio(III) (4) e (5).

Complexo	$C_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	$K_{app}$ ( $\text{M}^{-1}$ )
<i>cis</i> -[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4)	39,88	$2,38 \times 10^6$
<i>cis</i> -[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5)	63,24	$1,47 \times 10^6$

Embora ambos os complexos *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) e *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) tenham mostrado a capacidade de intercalação no DNA *in vitro* com valores semelhantes de  $K_{app}$ , apenas o complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) mostrou atividade citotóxica significativa contra as linhagens de células tumorais aqui estudadas, sugerindo que a intercalação entre pares de bases do DNA não seria seu principal ou único modo de ação citotóxica. Estudos mais aprofundados seriam necessários para se estabelecer os mecanismos de ação do complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5).

<sup>78</sup> J. G. Da Silva, A. A. Recio Despaigne, S. R. W. Louro, C. C. Bandeira, E. M. Souza-Fagundes, H. Beraldo. Cytotoxic activity, albumin and DNA binding of new copper(II) complexes with chalcone-derived thiosemicarbazones, European Journal of Medicinal Chemistry, (2013), 65: 415-426.

### 3.9. Testes de citotoxicidade dos complexos [In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (4) e [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5)

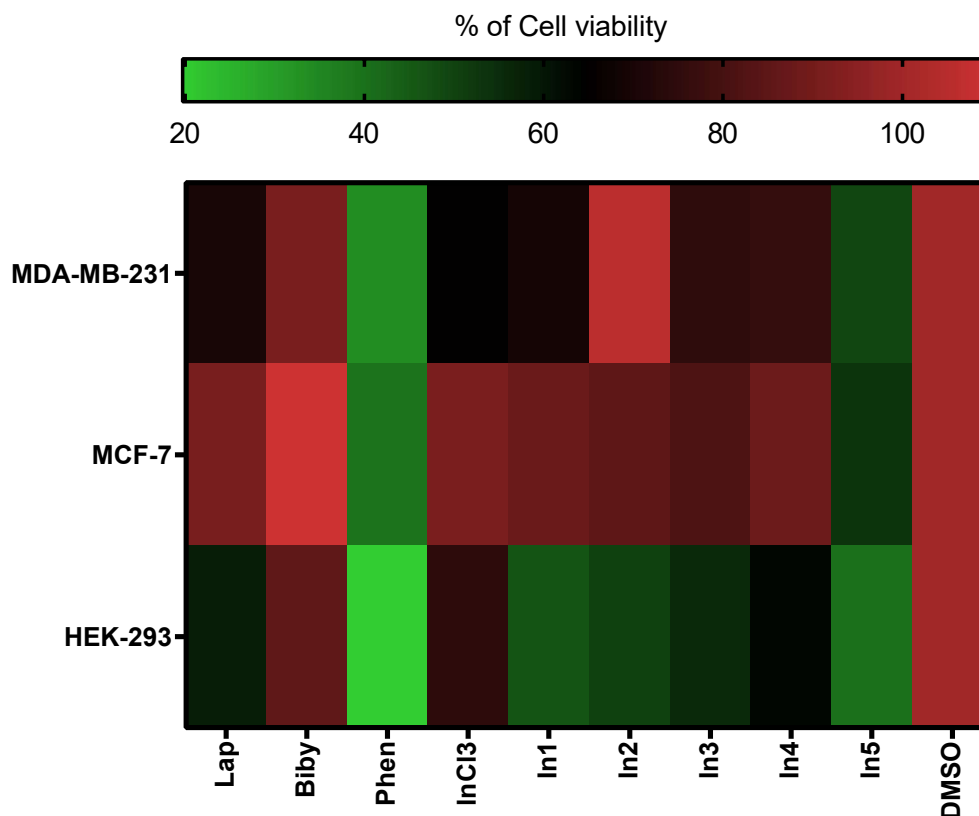
Os efeitos citotóxicos dos compostos foram avaliados contra células de câncer de mama MCF-7 e MDA-MB-231. A linhagem MDA-MB-231 é triplamente negativa para receptores de estrogênio, progesterona e HER2 (receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano), com maior resistência a medicamentos quimioterápicos. As células MCF-7 possuem receptores de estrogênio e progesterona e são dependentes de hormônios para se desenvolverem.<sup>79</sup> As células renais embrionárias humanas não malignas (HEK-293) foram utilizadas como modelo e são amplamente empregadas para avaliar agentes antitumorais.<sup>80</sup>

Dentre os compostos (1-5) avaliados, a 1,10'-fenantrolina e o complexo [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) foram os mais citotóxicos contra as três linhagens celulares, reduzindo a viabilidade celular para menos de 50%. Este resultado pode ser visto em verde no mapa de cor na Figura 3.26, e os valores de IC<sub>50</sub> calculados estão listados na Tabela 3.9.

---

<sup>79</sup> T. A. Theodossiou, M. Ali, M. Grigalavicius, B. Grallert, P. Dillard, K. O. Schink, C. E. Olsen, S. Wälchli, E. M. Inderberg, A. Kubin, Q. Peng, Q. Berg. Simultaneous defeat of MCF7 and MDA-MB-231 resistances by a hypericin PDT-tamoxifen hybrid therapy, *NPJ Breast Cancer*, (2019), 13: 5-13.

<sup>80</sup> J. Hu, J. Han, H. Li, X. Zhang, L. L. Liu, F. Chen, B. Zeng. Human Embryonic Kidney 293 Cells: A Vehicle for Biopharmaceutical Manufacturing, *Structural Biology and Electrophysiology*, (2018), 205: 1-8.



**Figura 3.26.** Efeitos citotóxicos dos compostos contra células de câncer de mama e células não tumorais. As linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7) e as células não tumorais HEK-293 foram tratadas com compostos (10  $\mu$ M) por 72 h. A viabilidade celular foi avaliada usando o ensaio MTT. Mapa de calor representativo de pelo menos três replicações realizadas em triplicata. Doxorrubicina e DMSO (0,5%) foram usados como controles positivo e negativo, respectivamente. Em verde, a viabilidade celular foi menor que 50%.

**Tabela 3.9.** Concentração inibitória de 50% da viabilidade celular ( $IC_{50}$ ) após um tratamento de células de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7) e células não tumorais (HEK-293).

Composto	MDA-MB-231	IS	MCF-7	IS	HEK-293
Lapachol	>10	Nd	>10	Nd	>10
2,2'-bipiridina	>10	Nd	>10	Nd	>10
1,10-fenantrolina	6,26 ± 3,80	0.6	15,74 ± 7,76	0.2	3,97 ± 1,10
InCl <sub>3</sub>	>10	Nd	>10	Nd	>10
[In(lap)Cl <sub>2</sub> ] · 4 H <sub>2</sub> O (1)	>10	Nd	>10	Nd	>10
[In(lap) <sub>2</sub> Cl] · Et <sub>3</sub> N (2)	>10	Nd	>10	Nd	>10
[In(lap) <sub>3</sub> ] · 2 H <sub>2</sub> O (3)	>10	Nd	>10	Nd	>10
[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4)	>10	Nd	>10	Nd	>10
[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5)	8,11 ± 4.07	0,7	5,42 ± 1.74	1,0	5,50 ± 0,99
Doxorubicina	0,45 ± 0.32	0,1	1,65 ± 0,83	0,03	0,05 ± 0,01

Dados representativos dos valores de  $IC_{50}$  obtidos a partir de pelo menos três replicatas com seus respectivos valores médios ± o desvio padrão. IS = índice de seletividade  $IC_{50}$  HEK-293/  $IC_{50}$  célula tumoral.<sup>81</sup> Nd = não determinado.

Embora o lapachol tenha sido pouco citotóxico, o complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) mostrou efeitos citotóxicos em concentrações micromolares contra todas as linhagens celulares de câncer de mama testadas. O complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) foi três vezes mais citotóxico do que o fen contra as células MCF-7. O complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (5) foi ligeiramente menos citotóxico do que o fen contra as células MDA-MB-231 e HEK-293. A doxorubicina, usada como controle positivo, apresentou  $IC_{50}$  = 1,6  $\mu$ M contra as células

<sup>81</sup> J. J. Lica, M. Wieczór, G. J. Grabe, M. Heldt, M. Jancz, M. Misiak, K. Gucwa, W. Brankiewicz, N. Maciejewska, A. Stupak, M. Bagiński, K. Rolka, A. Hellman, A. Składanowski. Effective Drug Concentration and Selectivity Depends on Fraction of Primitive Cells. *Int J Mol Sci.* (2021), 22(9):4931.

MCF-7 e  $IC_{50} = 0,4 \mu\text{M}$  contra as células MDA-MB-231. No entanto, foi mais citotóxica ( $IC_{50} = 0,05 \mu\text{M}$ ) contra as células saudáveis HEK-293. Nenhum dos compostos em estudo, incluindo a doxorrubicina, apresentou  $SI > 1$ . A doxorrubicina foi até sete vezes mais tóxica contra as células HEK-293 do que contra as células MCF-7, e até 15 vezes mais tóxica contra as células não malignas HEK-293 do que contra as células MDA-MB-231.

### 3.9.1. Impacto da 1,10'-fenantrolina e do complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) na sobrevivência de células clonogênicas do tipo MDA-MB-231

O ensaio de clonogenicidade é amplamente utilizado em pesquisas oncológicas e é uma estratégia útil para avaliar a capacidade proliferativa de células clonogênicas tratadas com compostos. Este ensaio secundário *in vitro* tem demonstrado valor preditivo nos testes de quimiossensibilidade de compostos promissores. Pode prever 62% da comparação com a resposta clínica para sensibilidade a medicamentos e 92% para resistência a medicamentos.<sup>82</sup> Portanto, o método pode prever a eficácia de substâncias que bloqueiam o crescimento e a recorrência de tumores após o tratamento com quimioterapia ou radioterapia. As células-tronco correspondem a uma fração de 0,4% do tumor e estão envolvidas em recorrências e metástases.<sup>78,83</sup>

Aproximadamente 30% dos pacientes com câncer de mama triplo negativo não alcançam uma resposta terapêutica completa, e as taxas de mortalidade e recorrência são elevadas.<sup>84</sup> Assim, considerando o desafio de desenvolver novos medicamentos para tratar o câncer de mama triplo negativo, foram investigados os efeitos da phen e do complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) na sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-231.

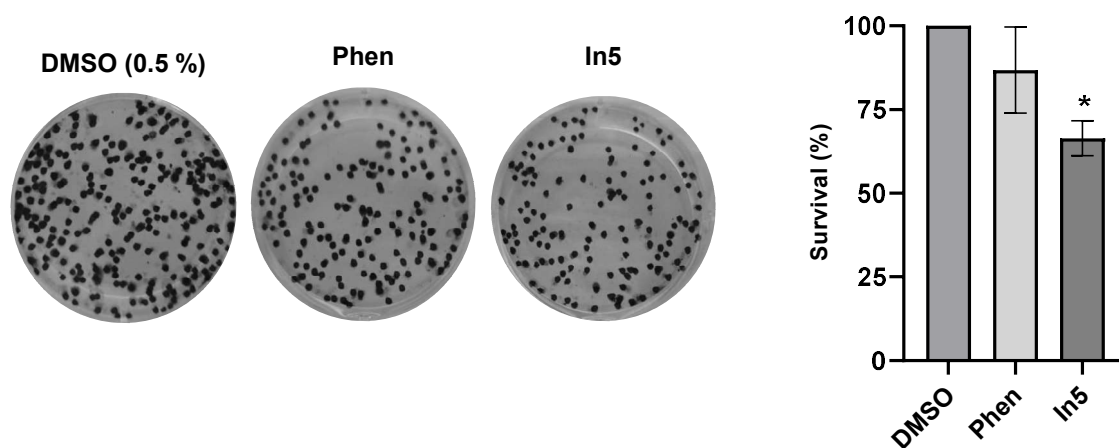
A Figura 3.27 ilustra que, ao contrário da 1,10'-fenantrolina, o complexo (**5**) em sua concentração de  $IC_{50}$  reduziu significativamente a formação de colônias de MDA-MB-231 ( $p < 0,05$ ) quando comparado ao controle de DMSO ( $p = 0,01$ ). Os dados são representativos de três experimentos independentes realizados em triplicata.

---

<sup>82</sup> H. H. Fiebig, A. Maier, A. M. Burguer. Clonogenic assay with established human tumour xenografts: correlation of in vitro to in vivo activity as a basis for anticancer drug Discovery, *European Journal of Cancer*, (2004), 40: 802-820.

<sup>83</sup> N.P. Gomes, B. Frederick, J. R. Jacobsen, D. Chapnick, T. T. Su. A High Throughput Screen with a clonogenic Endpoint to identify Radiation Modulators of Cancer, *Radiation research*, (2023), 199: 132-147.

<sup>84</sup> Y. Li, H. Zhang, Y. Merkher. Recent advances in therapeutic strategies for triple-negative breast cancer, *Journal of Hematology and Oncology*. (2022) 15: 121-122.



**Figura 3.27.** Efeitos da 1,10'-fenantrolina e do complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) na sobrevivência clonogênica das células de câncer de mama MDA-MD-231. Quatrocentas células foram semeadas em placas de 6 poços e incubadas por 4 horas para aderência a 37°C (5% de CO<sub>2</sub>) e, em seguida, tratadas com Phen e complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) (em seus respectivos valores de IC<sub>50</sub>) por 16 horas. As células foram lavadas com PBS e o meio foi substituído por meio suplementado, sendo incubadas por 14 dias. Após a incubação, as células foram fixadas e coradas com cristal de violeta, e o número de colônias foi quantificado. \*Os dados são representativos de três experimentos independentes realizados em triplicata (p < 0,05).

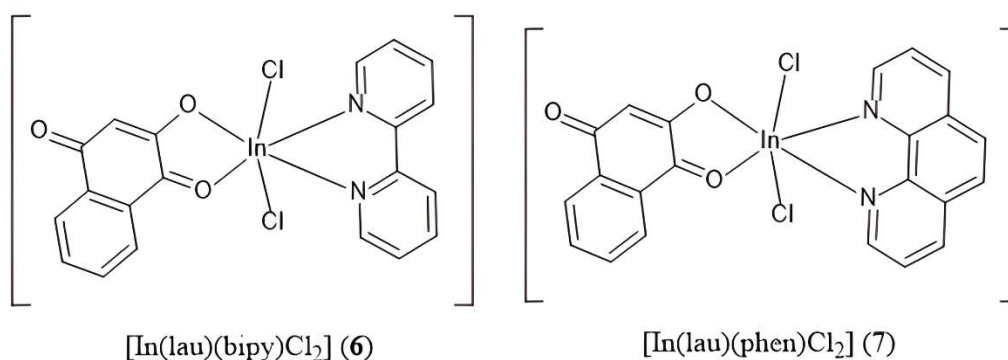
### 3.10. Conclusões

É bem conhecido que o lapachol apresenta efeitos citotóxicos, mas não demonstrou citotoxicidade significativa contra as células de câncer de mama MCF-7 e MDA-MB-231 nas condições experimentais utilizadas no presente trabalho. Ao coordenar o lapachol ao índio(III) nos complexos (**1-3**), os efeitos citotóxicos não aumentaram, nem aumentaram os efeitos ao coordenar o lapachol ao índio(III) juntamente com a 2,2'-bipiridina no complexo *cis*-[In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**4**). No entanto, a citotoxicidade aumentou significativamente ao coordenar o lapachol ao índio(III) juntamente com a 1,10'-fenantrolina no complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**). Embora a 1,10'-fenantrolina por si só tenha exibido citotoxicidade contra ambas as linhagens celulares de câncer de mama, o complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**), em sua concentração de IC<sub>50</sub>, reduziu significativamente a formação de colônias de MDA-MB-231. O complexo *cis*-[In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**5**) mostrou efeitos citotóxicos contra as células não malignas HEK-293, mas seu índice de seletividade foi trinta e três vezes maior do que o fármaco de controle doxorrubicina nas células MCF-7 e sete vezes maior do que o da doxorrubicina nas células MDA-MB-231.

## Capítulo 4 – Resultados e discussão: Complexos de índio(III) com lausona

### Caracterização físico-química

Foram sintetizados dois complexos heterolépticos inéditos de índio(III) utilizando-se o composto lausona como o precursor e também os ligantes 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina. As representações estruturais dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) estão ilustradas na Figura 4.1.



**Figura 4.1.** Representação estrutural dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7).

### 4.1. Análise Elementar, Condutividade molar e Ponto de Fusão/Decomposição

A Tabela 4.1 apresenta os valores de porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio e também os valores de condutividade molar e pontos de fusão/decomposição para os complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7). Os teores C, H e N obtidos para os complexos estão de acordo com as respectivas fórmulas moleculares e apresentam erros abaixo dos 5%. Os valores obtidos em termos da condutividade molar demonstram que os complexos possuem caráter não-eletrolítico.

**Tabela 4.1.** Dados de análises elementares, ponto de fusão e condutividade molar dos complexos mensurada em DMSO para os complexos [In(lau)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**6**) e [In(lau)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**7**).

Compostos	% C	% H	% N	Ponto de fusão/ °C	$\Delta_M$ ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )
	Exp. (Calc.)	Exp. (Calc.)	Exp. (Calc.)		
<b>6-</b> [In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] FM = C <sub>20</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> InN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> M = 515,05 gmol <sup>-1</sup>	46,58 (46,64)	2,31 (2,54)	4,84 (5,44)	205,5-207,9	8,72
<b>7-</b> [In(lau)(phen)Cl <sub>2</sub> ] FM = C <sub>22</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>2</sub> InN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> M = 539,07 gmol <sup>-1</sup>	48,32 (49,04)	2,48 (2,52)	4,76 (4,67)	230,7-232,8	9,09

Para a caracterização dos complexos [In(lau)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**6**) e [In(lau)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**7**) foram realizadas análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectrometria de massas, espectroscopia de ressonância magnética nuclear e espectroscopia de absorção eletrônica. Também foram realizados estudos de estabilidade dos complexos com espectroscopia eletrônica. Para o caso do complexo [In(lau)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**6**) onde foram obtidos monocristal, foi possível realizar a medidas de difração de raios X por monocristal.

### 4.3. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

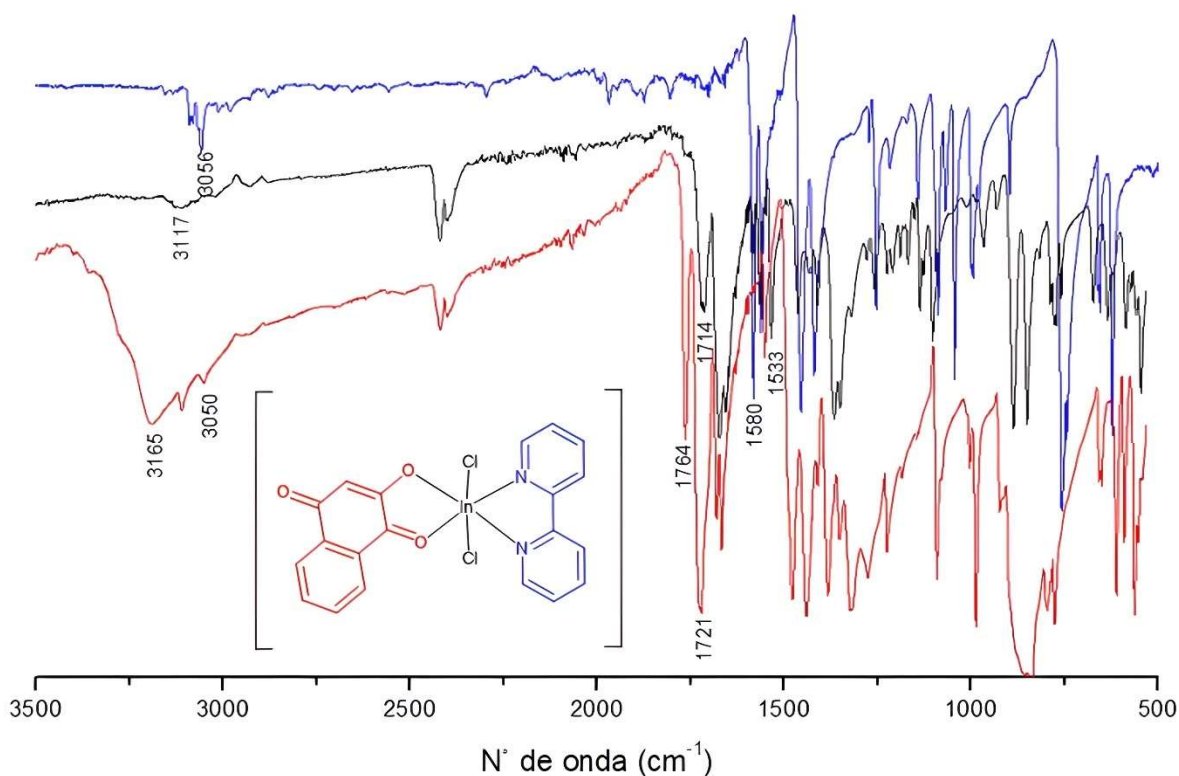
Os espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho dos complexos [In(lau)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**6**) e [In(lau)(phen)Cl<sub>2</sub>] (**7**) foram obtidos e as atribuições de bandas foram baseadas em comparação com os espectros vibracionais da lausona e dos compostos N-heterocíclicos: 2,2'-bipiridina e 1,10- fenantrolina. As principais bandas de vibração analisadas foram:  $\nu(\text{O-H})$ ,  $\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$ ,  $\nu(\text{C=O})$ ,  $\nu(\text{C-O})$  e  $\nu(\text{C=N})$  e os seus valores estão listados na Tabela 4.2.

**Tabela 4.2.** Valores de números de onda das bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ), dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) e seus precursores, lausona, 2,2'-bipiridina (bipy) e 1,10'-fenantrolina (phen) ( $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ ). As análises foram realizadas em ATR.

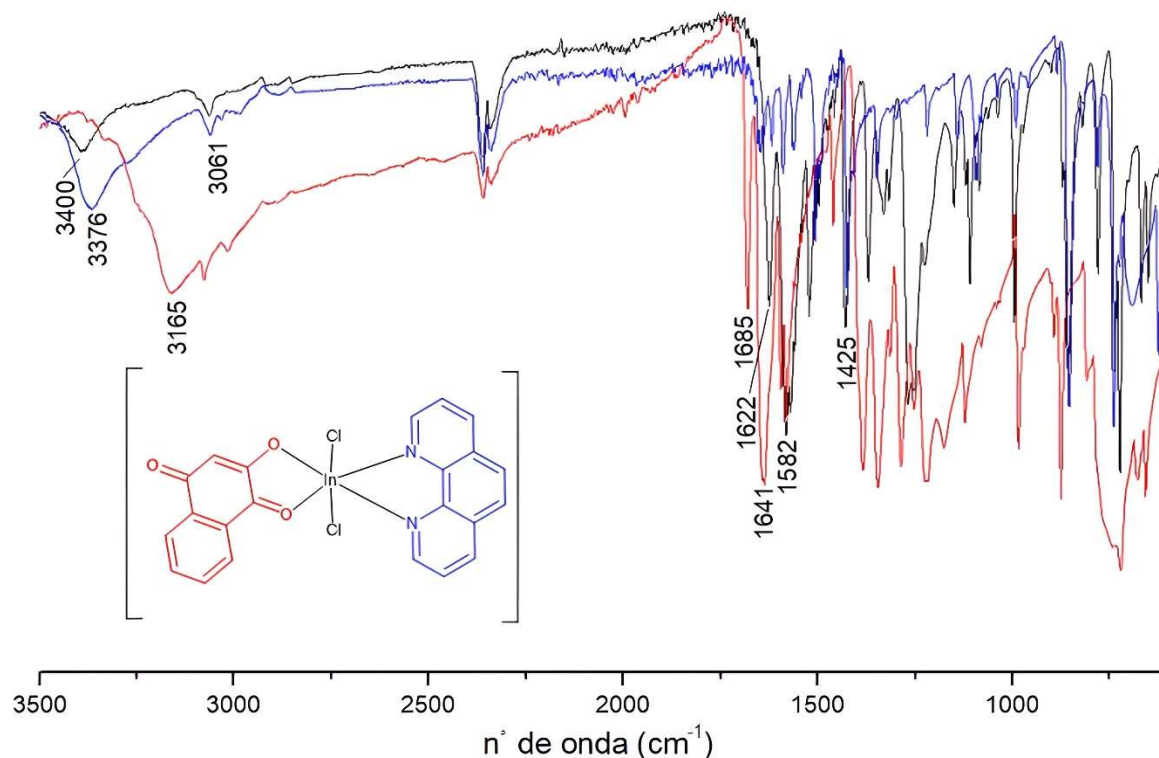
Compostos	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C-O})$	$\nu(\text{C=N})$
Lausona	3165 m	3050 f	1721 F	1662 m	--
bipy	--	3056 f	--	--	1580 F
phen	--	3061 f	--	--	1425 m
$[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (6)	--	3117 f	1714 f	1533 f	1563 f
$[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (7)	--	3061 f	1622 f	1582 f	1425 m

Intensidade das bandas: F = forte, m = média, f = fraca. (--) Ausência de banda

A complexação de ligantes como lausona, 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina ao centro metálico de índio(III) resultou em mudanças nos espectros de infravermelho dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7), que estão ilustrados nas Figura 4.2 e Figura 4.3, respectivamente.



**Figura 4.2.** Espectro de infravermelho da lausona, 2,2'-bipiridina e do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6).



**Figura 4.3.** Espectro de infravermelho da lausona, 2,2'-bipiridina e do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7).

Em termos do precursor lausona, o modo vibracional do grupo carbonílico é encontrado para os complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) em deslocamentos para frequências mais baixas. Isso ocorre porque a coordenação ao centro metálico de índio(III) reduz a densidade eletrônica no oxigênio da carbonila o que acarreta no enfraquecimento da ligação C=O. Neste caso, o modo vibracional da ligação C=O para a lausona livre tem um valor de número de onda  $1764\text{ cm}^{-1}$ , esse modo é encontrado em  $1714\text{ cm}^{-1}$  para o complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $1622\text{ cm}^{-1}$  para o complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7). Outra observação importante é o desaparecimento da banda relacionada ao grupo hidroxila da lausona nos espectros vibracionais dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7). Esse fato denota a desprotonação deste grupo na complexação deste ligante ao centro metálico de índio(III). Neste sentido, também é possível observar o aparecimento de bandas relacionadas ao modo C-O para os complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) nas regiões de  $1533\text{ cm}^{-1}$  e  $1582\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

Analisando as mudanças relacionadas aos ligantes N-heterocíclicos: 2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina, observa-se principalmente a presença das bandas dos carbonos dos anéis aromáticos também nos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7). Nos

ligantes bipy e phen, os modos vibracionais do estiramento  $\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$  estão em  $3056\text{ cm}^{-1}$  e  $3061\text{ cm}^{-1}$  e nos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) aparecem em  $3117\text{ cm}^{-1}$  e  $3061\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. O estiramento  $\text{C}=\text{N}$  dos compostos bipy e phen aparece como uma banda fina em  $1570\text{ cm}^{-1}$  e  $1429\text{ cm}^{-1}$ . A complexação desses ligantes ao centro metálico de índio(III) resulta em um deslocamento para frequências mais baixas da banda de estiramento  $\text{C}=\text{N}$ , isso ocorre porque a coordenação acarreta na redução da densidade eletrônica no átomo de nitrogênio enfraquecendo a ligação entre o átomo de carbono e o átomo de nitrogênio. Para os complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**), o estiramento  $\text{C}=\text{N}$  possui os números de onda  $1563\text{ cm}^{-1}$  e  $1418\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.

#### 4.4. Medidas de difração de raios X por monocristal

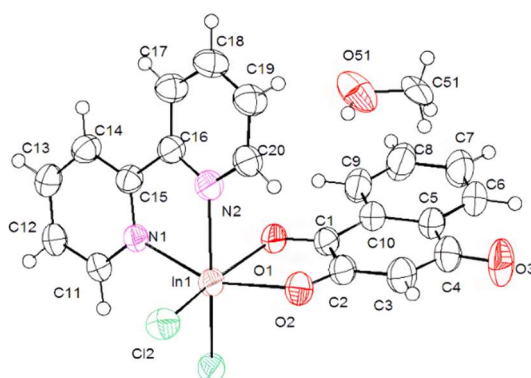
Foram obtidos monocristais do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**), (Figura 4.4). Os monocristais do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) foram obtidos a partir da evaporação lenta em baixa temperatura após o precipitado obtido na síntese ter sido solubilizado em diclorometano a quente.



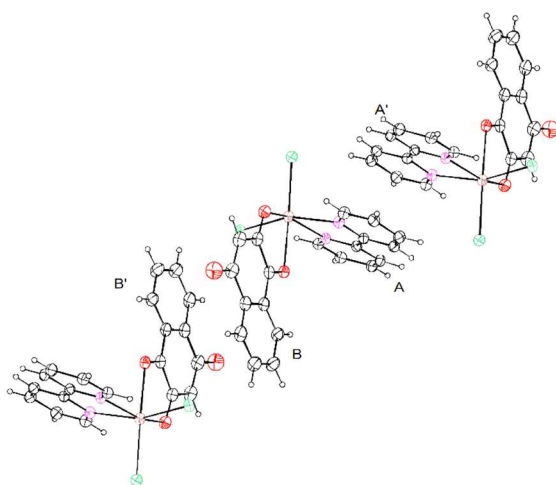
**Figura 4.4.** Monocristal do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**).

O complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) cristaliza-se em um grupo espacial do tipo P-1 com uma molécula por unidade assimétrica. O complexo é composto por um átomo de índio(III) coordenado a uma biperidina e um ligante lausona desprotonado. Ambas as coordenações são do tipo bidentadas, formando anéis de cinco membros. A estrutura assume uma coordenação

octaédrica levemente distorcida e é completada por dois ligantes do tipo cloreto em posição *cis* um em relação ao outro, como ilustrado na Figura 4.5 (A). Observa-se também o empilhamento do tipo  $\pi$ - $\pi$  entre dois ligantes lausona vizinhos (ligantes A e A', Figura 4.5 (B)) (ligantes B e B', Figura 4.5 (B)). As distâncias entre os planos A e A' são iguais a 3,757(8) Å e entre os planos B e B' são iguais a 3,516(6) Å.



(A)



(B)

**Figura 4.5.** A molécula do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) com uma estrutura com coordenação octaédrica com relação ao centro metálico de In(III) e uma molécula de metanol desordenada (A). Empacotamento indicando a biperidina vizinha (A e A') e lausona (B e B') (B).

Os dados cristalográficos obtidos nas medidas de difração de raios X por monocristal do complexo [In(lau)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**6**) estão listados na Tabela 4.3.

**Tabela 4.3.** Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento para os complexos [In(lau)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (**6**).

Composto	[In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] ( <b>6</b> )
Fórmula molecular	C <sub>20</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub> In
M / g mol <sup>-1</sup>	521,33
Sistema cristalino, grupo espacial	Triclínico, P-1
Temperatura / K	120 K
a / Å	7,9817 (2)
b / Å	10,3499 (2)
c / Å	13,6187 (2)
α, β, γ / °	89, 87, 68
V / Å <sup>3</sup>	1046,20(4)
Z	2
Tipo de radiação	Cu Kα
μ / mm <sup>-1</sup>	11,59
Tamanho do cristal / mm	0,19 × 0,04 × 0,06
Reflexões medidas/independentes	42217 / 4506
Reflexões observadas / R <sub>int</sub>	10165 / 0,0325
Parâmetros	272
R <sub>obs</sub> , R <sub>all</sub>	0,0237, 0,0229
wR <sub>abs</sub> , wR <sub>all</sub> , S	0,0644, 0,0648, 1,055
Δρ <sub>max</sub> , Δρ <sub>min</sub> / e Å <sup>-3</sup>	3,30, -1,64

Na Tabela 4.4 estão listadas as distâncias de ligações e ângulos de ligações para o complexo [In(lau)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (6).

**Tabela 4.4.** Distâncias e ângulos de ligação selecionados, e parâmetros geométricos de ligações para o complexo [In(lau)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (6).

<b>Distâncias de ligação/ Å</b>			
[In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6)			
In1—O2	2,113 (3)	C5—C6	1,388 (9)
In1—N1	2,266 (4)	C5—C10	1,409 (7)
In1—N2	2,267 (4)	C6—C7	1,374 (11)
In1—O1	2,352 (4)	C7—C8	1,398 (10)
In1—Cl2	2,4113 (14)	C8—C9	1,370 (9)
In1—C11	2,4160 (12)	C9—C10	1,382 (8)
O1—C1	1,239 (6)	C11—C12	1,380 (7)
O2—C2	1,291 (7)	C12—C13	1,361 (8)
O3—C4	1,240 (7)	C13—C14	1,390 (8)
N1—C11	1,339 (6)	C14—C15	1,388 (7)
N1—C15	1,343 (6)	C15—C16	1,487 (7)
N2—C16	1,346 (6)	C16—C17	1,388 (7)
N2—C20	1,350 (6)	C17—C18	1,380 (7)
C1—C10	1,465 (8)	C18—C19	1,379 (8)
C1—C2	1,508 (7)	C19—C20	1,375 (8)
C2—C3	1,373 (7)	O51—C51	1,36 (3)
C3—C4	1,431 (10)	C51—C51 <sup>i</sup>	1,65 (5)
C4—C5	1,483 (9)		
<b>Ângulos de ligação/ °</b>			
[In(lau)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (6)			
O2—In1—N1	155,34 (15)	C2—C3—C4	122,8 (6)
O2—In1—N2	89,06 (15)	O3—C4—C3	121,4 (6)
N1—In1—N2	72,24 (14)	O3—C4—C5	119,2 (6)
O2—In1—O1	73,58 (13)	C3—C4—C5	119,4 (5)
N1—In1—O1	86,76 (13)	C6—C5—C10	118,8 (6)
N2—In1—O1	78,63 (14)	C6—C5—C4	120,8 (5)
O2—In1—Cl2	95,16 (11)	C10—C5—C4	120,4 (5)
N1—In1—Cl2	102,91 (10)	C7—C6—C5	120,4 (6)
N2—In1—Cl2	97,37 (12)	C6—C7—C8	120,2 (6)

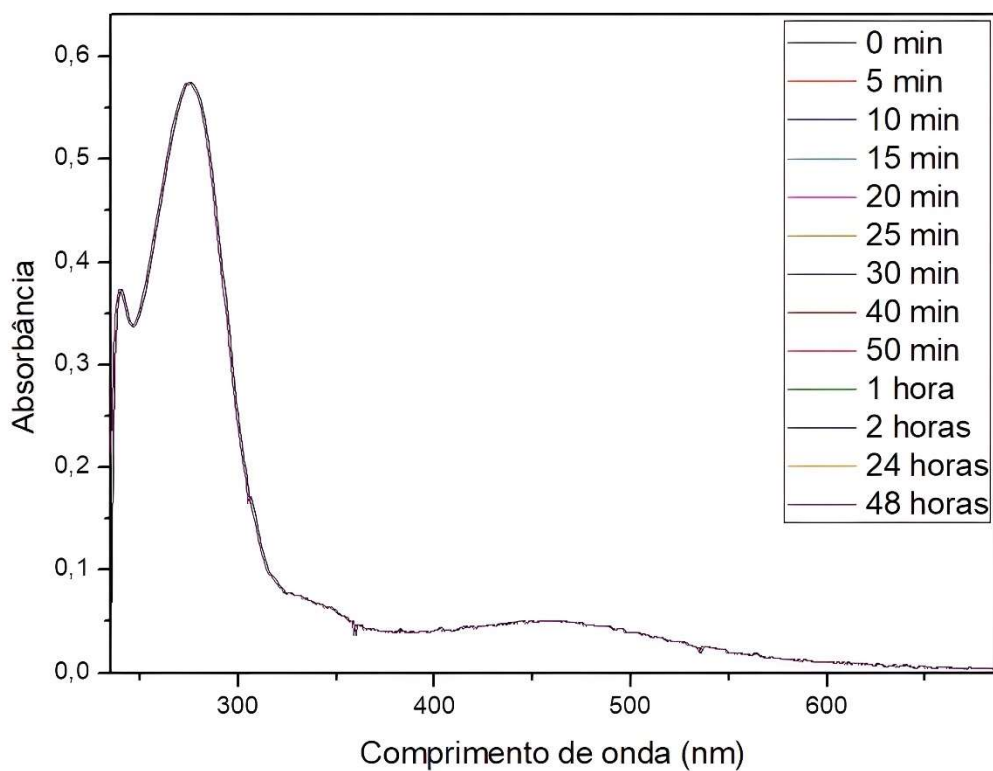
Cont. **Tabela 4.4.** Distâncias e ângulos de ligação selecionados, e parâmetros geométricos de ligações para o complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6).

O1—In1—Cl2	167,99 (9)	C9—C8—C7	120,1 (7)
O2—In1—Cl1	99,52 (11)	C8—C9—C10	120,0 (6)
N1—In1—Cl1	93,83 (10)	C9—C10—C5	120,4 (5)
N2—In1—Cl1	159,92 (12)	C9—C10—C1	120,9 (5)
O1—In1—Cl1	86,38 (9)	C5—C10—C1	118,8 (5)
Cl2—In1—Cl1	99,87 (5)	N1—C11—C12	122,4 (5)
C1—O1—In1	112,1 (3)	C13—C12—C11	118,8 (5)
C2—O2—In1	119,0 (3)	C12—C13—C14	119,6 (5)
C11—N1—C15	119,2 (4)	C15—C14—C13	118,9 (5)
C11—N1—In1	123,3 (3)	N1—C15—C14	121,1 (4)
C15—N1—In1	117,5 (3)	N1—C15—C16	116,3 (4)
C16—N2—C20	119,1 (4)	C14—C15—C16	122,6 (4)
C16—N2—In1	117,3 (3)	N2—C16—C17	121,3 (5)
C20—N2—In1	123,2 (4)	N2—C16—C15	116,0 (4)
O1—C1—C10	121,5 (5)	C17—C16—C15	122,7 (4)
O1—C1—C2	118,2 (5)	C18—C17—C16	119,2 (5)
C10—C1—C2	120,2 (4)	C19—C18—C17	119,4 (5)
O2—C2—C3	124,8 (5)	C20—C19—C18	118,9 (5)
O2—C2—C1	117,0 (4)	N2—C20—C19	122,1 (5)
C3—C2—C1	118,3 (5)		

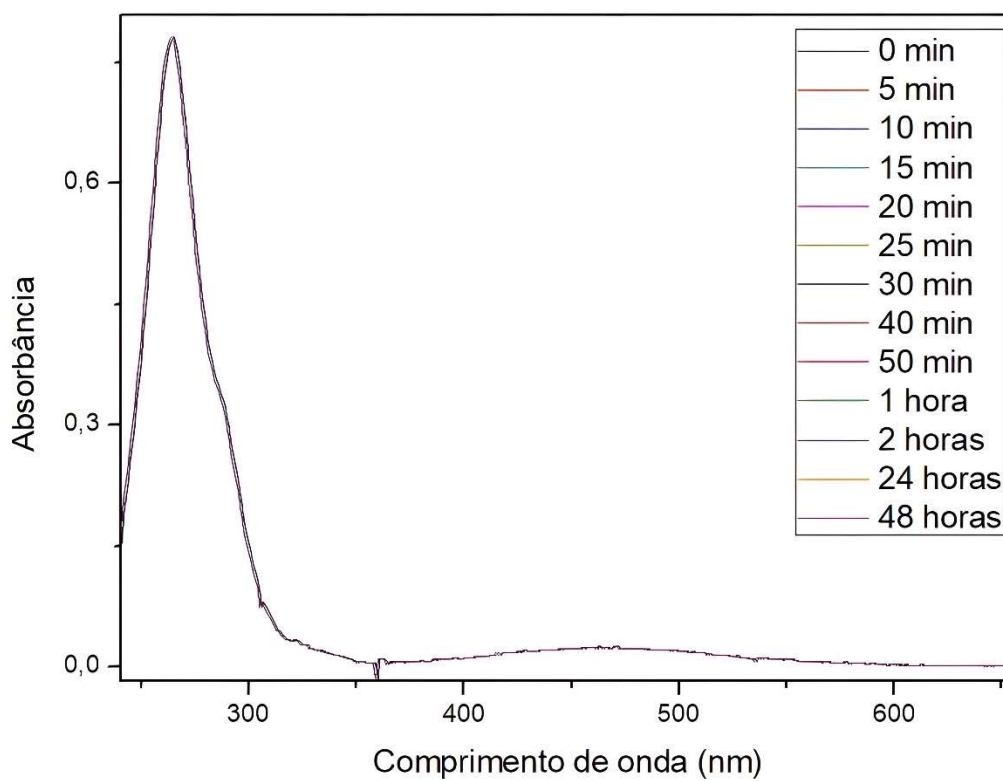
Códigos de simetria:  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6):  $i (-\frac{1}{2} + x, \frac{1}{2} - y, z)$ .

#### 4.5. Testes de Estabilidade - Espectroscopia de absorção eletrônica na região do Uv-vís

Os espectros de absorção eletrônica na região do ultravioleta e visível foram obtidos com o intuito de avaliar os tipos de transição existentes nos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) e também averiguar a estabilidade desses complexos em um meio que simula o meio fisiológico. Nas Figura 4.6 e Figura 4.7 estão os espectros obtidos para os complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) em uma concentração de  $1 \times 10^{-3}$  a 3% de DMSO/tampão Tris-HCl em pH = 7,4. Os compostos foram avaliados de cinco em cinco minutos até 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 24 e 48 horas.



**Figura 4.6.** Espectro eletrônico em função do tempo do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) em uma concentração de  $10^{-3}$  M em 3% DMSO/tris-HCl tampão em pH= 7,4.



**Figura 4.7.** Espectro eletrônico em função do tempo do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) em uma concentração de  $10^{-3}$  M em 3% DMSO/tris-HCl tampão em pH= 7,4.

Em termos dos testes de estabilidade, os espectros eletrônicos dos testes de estabilidade dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) demonstraram não haver mudanças nas bandas de absorção eletrônica o que sugere que os complexos são estáveis.

Na avaliação dos tipos de transições eletrônicas presentes nos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) observa-se bandas intensas em 274 nm e 264 nm que são referentes a transições do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  dos anéis aromáticos. Os complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) apresentam também bandas do tipo MLCT na região compreendida entre 320 nm e 600 nm. As tentativas de atribuição das bandas supracitadas estão listadas na Tabela 4.5.

**Tabela 4.5.** Dados de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) a 3% DMSO/tris-HCl tampão em pH= 7,4 e tentativas de atribuição de bandas.

Compostos	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}\text{L}$ )	Transição
Lausona	280	13600	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	332	3300	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
$[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ (6)	274	5780	$\pi \rightarrow \pi^*$
	341	670	$\pi \rightarrow \pi^*$
	458	510	IL e MLTC
$[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ (7)	264	7850	$\pi \rightarrow \pi^*$
	290	3040	$\pi \rightarrow \pi^*$
	461	290	IL e MLTC

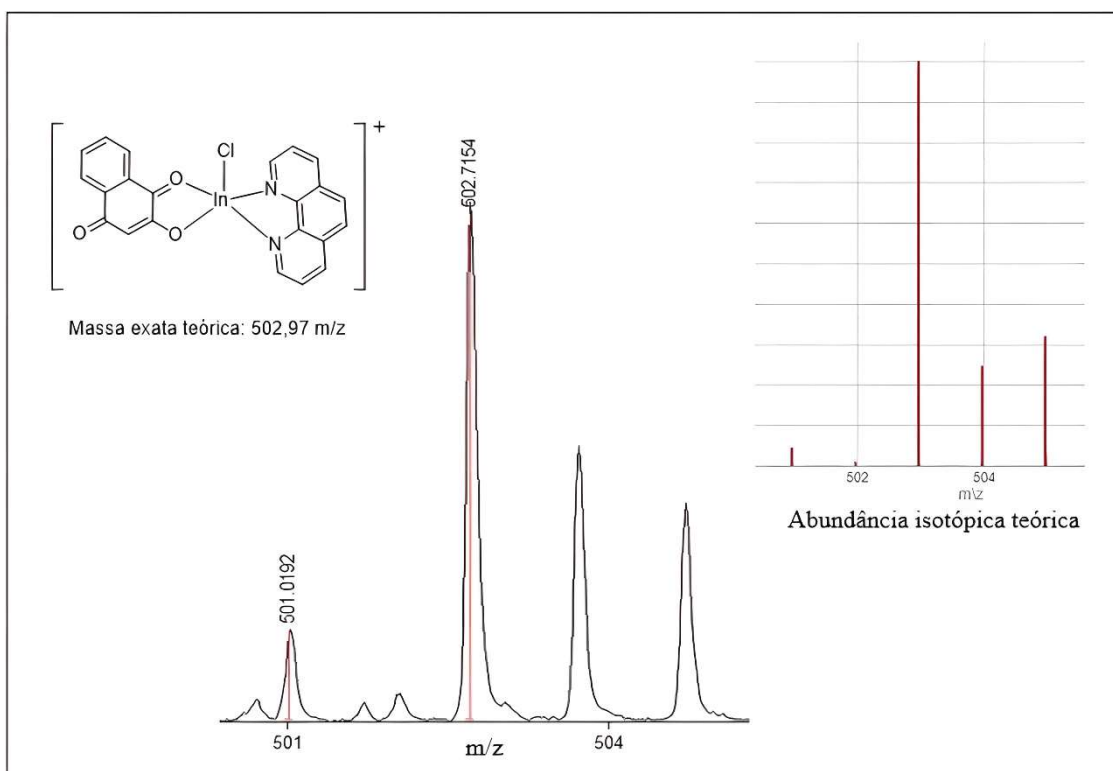
IL= intraligante, MLTC= Transferência de carga metal-ligante.

#### 4.6. Espectrometria de Massas MALDI-TOF

A espectrometria de massas MALDI-TOF é uma técnica importante para analisar complexos metálicos devido a sua capacidade de ionizar moléculas grandes produzindo fragmentos que possibilitam averiguar a composição e a estrutura dos complexos propostos.

Para o complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6), não foi possível identificar sinais da amostra devido a interação com as matrizes utilizadas na análise. Portanto, não foi possível distinguir os sinais do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e das matrizes no espectro MALDI-TOF.

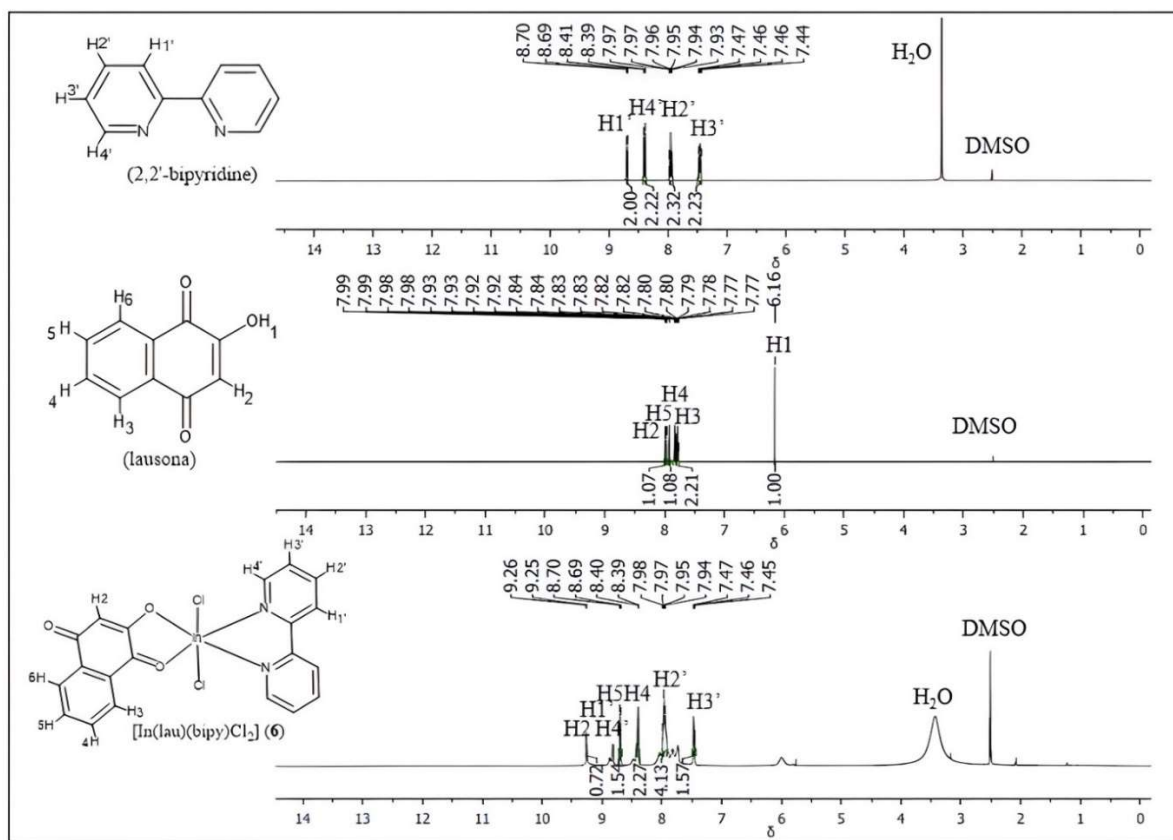
No caso do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7), cujo o espectro de massa se encontra ilustrado na Figura 4.8, é possível observar a formação do fragmento  $[\text{M}]^+$  relacionado a espécie  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}]^+$ , onde um cloreto foi labilizado. Essa espécie possui uma relação  $m/z$  em 502,71 relacionada ao complexo com centro metálico de índio(III) com o isótopo  $^{115}\text{In}$ . Também é possível observar um pico em 501,01  $m/z$  que é relacionado ao fragmento com o centro metálico de índio(III) com o isótopo  $^{113}\text{In}$ . A proposta é corroborada pela análise teórica da abundância isotópica.



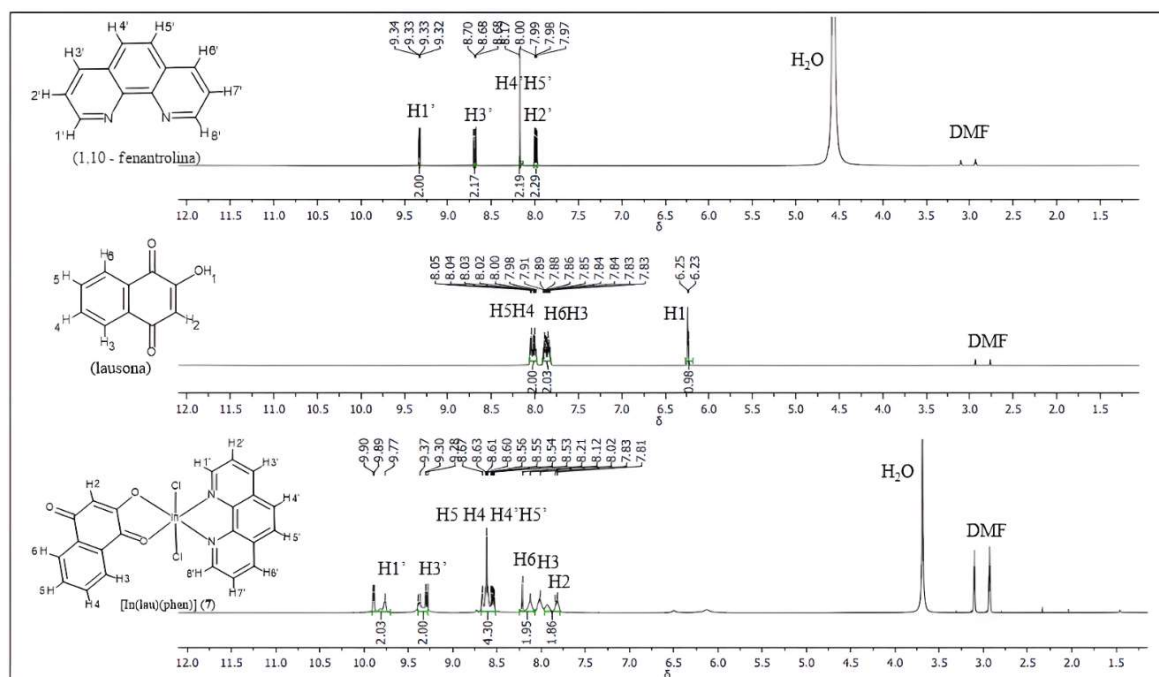
**Figura 4.8.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7).

#### 4.7. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) foram obtidos em  $\text{DMSO-d}_6$  e  $\text{DMF-d}_7$ , e seus respectivos espectros estão ilustrados nas Figura 4.9 e Figura 4.10, respectivamente. Os espectros apresentam sinais característicos dos seus respectivos precursores evidenciando a coordenação dos mesmos ao centro metálico de índio(III). O sinal referente ao hidrogênio do sítio de coordenação C2-OH do ligante lausona livre em  $\delta$  6,16 ppm está ausente nos espectros dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) devido à coordenação destes ligantes ao centro metálico de índio(III).



**Figura 4.9.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  da lausona, 2,2'-bipiridina e do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (6) em  $\text{DMSO-}d_6$ .



**Figura 4.10.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  da lausona, 1,10- fenantrolina e do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (7) em  $\text{DMF-}d_7$ .

As atribuições dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  de lausona e 2,2'-bipiridina e do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) em  $\text{DMSO-d}_6$  estão listados na Tabela 4.6.

**Tabela 4.6.** Atribuição do número de hidrogênios, deslocamento químico  $\delta$  (ppm), multiplicidade (M)\* dos sinais nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos ligantes lausona e 2,2'-bipiridina (bipy) e do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

Atribuições	Lausona $\delta$ ppm	Bipy $\delta$ ppm	$[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ ( <b>6</b> ) $\delta$ ppm
H1	6,16(s)	---	---
H2	7,99(s)	---	9,26(s)
H3	7,78;7,77(d)	---	7,95, 7,94(d)
H4	7,83; 7,82 (d)	---	7,98; 7,97(d)
H5	7,93; 7,92(d)	---	8,40; 8,39(d)
H6	7,80; 7,79 (d)	---	7,98; 7,97(d)
H1'	---	8,70(d)	8,70; 8,69(d)
H2'	---	7,95(d)	7,95; 7,94(d)
H3'	---	7,46; 7,44(d)	7,46; 7,45(d)
H4'	---	7,83; 7,82(d)	8,40; 8,39(d)

s = simpleto, d = duplete, (---) ausência.

As atribuições dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  de lausona, bipy, phen e do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) em  $\text{DMF-d}_7$  estão listados na Tabela 4.7.

**Tabela 4.7.** Atribuição dos hidrogênios, deslocamento químico  $\delta$  (ppm), dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  dos ligantes: lausona e 1,10'-fenantrolina (phen) e do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) em  $\text{DMF-d}_7$ .

Atribuições	Lausona $\delta$ ppm	Phen $\delta$ ppm	$[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ ( <b>7</b> ) $\delta$ ppm
H1	6,25(s)	---	---
H2	8,02(s)	---	7,83(s)
H3	7,83; 7,84(d)	---	8,02; 8,12(d)
H4	8,00; 7,98(d)	---	8,63(d)
H5	8,05; 8,04(d)	---	8,67(d)
H6	7,83; 7,84(d)	---	8,55(d)
H1'	---	9,34; 9,33(d)	9,77(d)
H2'	---	7,95(d)	8,02(d)
H3'	---	8,70; 8,68(d)	9,30(d)
H4'	---	8,17; 8,16 (d)	8,61(d)

s = simpleto, d = dupleto, (---) ausência.

Nas Figura 4.11 e Figura 4.12 estão ilustrados os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) e de seus respectivos precursores.

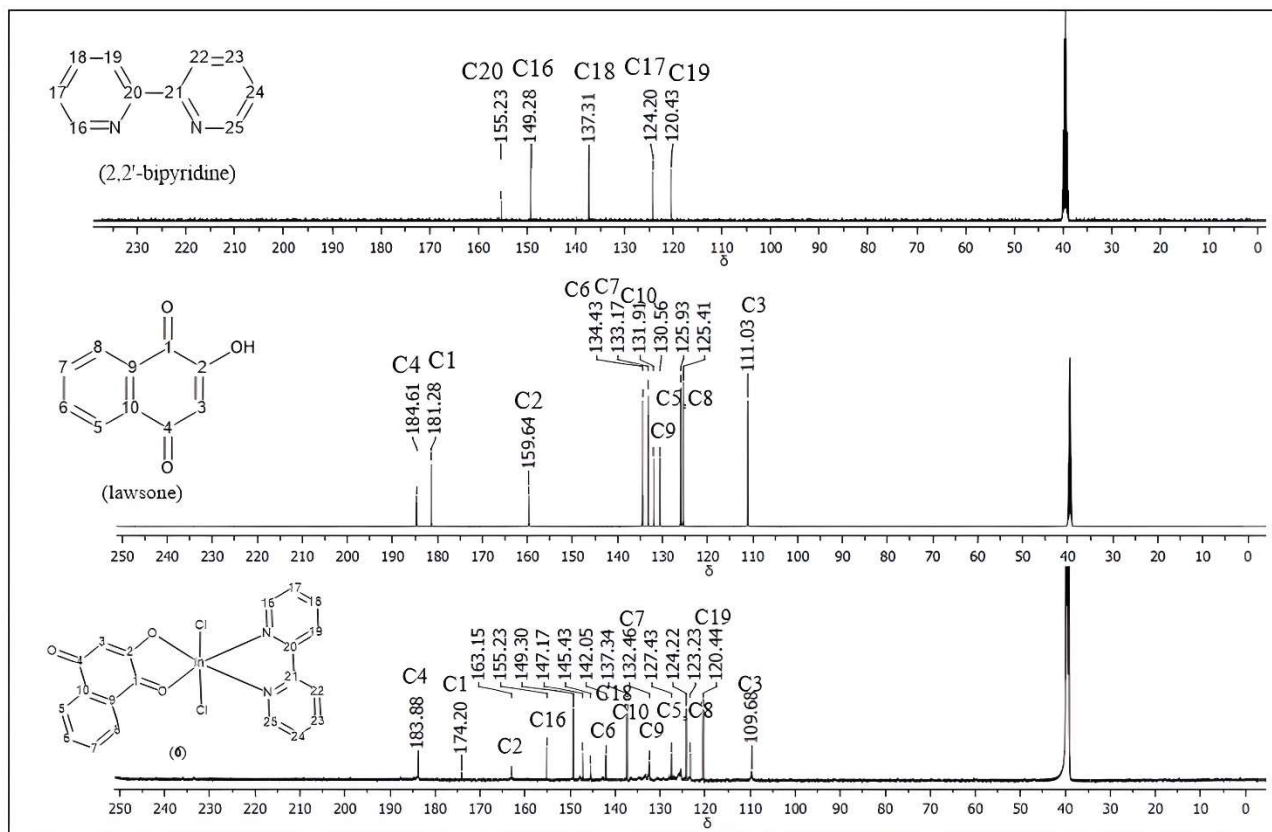


Figura 4.11. Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  da 2,2'-bipiridina, lausona e do complexo [In(lau)(bipy)Cl $_2$ ] (6) em DMSO- $d_6$ .

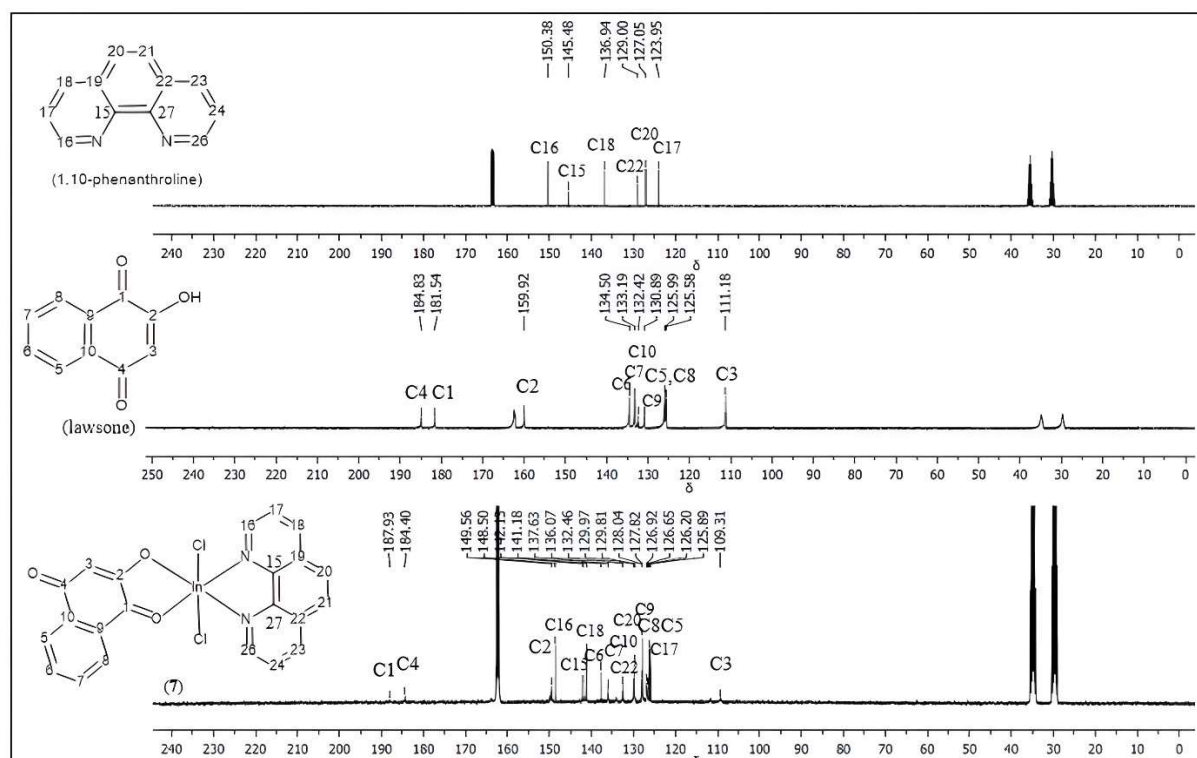


Figura 4.12. Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  da 1,10'-fenantrolina, lausona e do complexo [In(lau)(phen)Cl $_2$ ] (7) em DMF- $d_7$ .

No caso do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**), todos os sinais dos precursores foram observados. Além disso, observou-se que no carbono C2 ligado a hidroxila, pertencente ao sítio de coordenação da molécula de lausona, para este carbono observou-se um deslocamento de  $\delta$  159,69 ppm para  $\delta$  163,15 ppm, indicando que houve coordenação ao centro metálico de índio(III). Outro fato que corrobora esta hipótese é o deslocamento que houve com relação ao carbono carbonílico C1 do sítio de coordenação da lausona que apresenta um valor de  $\delta$  181,28 ppm na lausona livre e em  $\delta$  174,20 ppm no espectro do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**).

A análise do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) também nos permite observar comportamento similar. Observa-se o sinal do carbono C2 da hidroxila em  $\delta$  159,92 ppm no espectro do ligante lausona livre e no espectro do  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) este sinal aparece em  $\delta$  149,56 ppm. Com relação ao sinal do carbono carbonílico C1 do sítio de coordenação da lausona observa-se um deslocamento de  $\delta$  181,54 ppm para  $\delta$  187,93 ppm.

As atribuições dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  de lausona, bipy, phen e dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) estão listados na Tabela 4.8.

**Tabela 4.8.** Atribuição dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes lausona, 2,2'-bipiridina (Bipy), 1,10'-fenantrolina (Phen) e dos complexos  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**) em DMF-  $d_7$  e em DMSO- $d_6$  (valores em parêntesis).

Atribuição	Lausona $\delta$ ppm	Bipy $\delta$ ppm	Phen $\delta$ ppm	$[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$ ( <b>6</b> ) $\delta$ ppm	$[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$ ( <b>7</b> ) $\delta$ ppm
C1	181,54 (181,28)	---	---	174,20	187,93
C2	159,92 (159,64)	---	---	163,15	149,56
C3	111,18 (111,03)	---	---	109,68	109,31
C4	184,83 (184,61)	---	---	183,88	184,40
C5	125,99 (125,93)	---	---	124,22	125,89
C6	134,50 (134,43)	---	---	135,05	137,63
C7	133,19 (133,17)	---	---	132,46	136,07
C8	125,58 (125,41)	---	---	124,22	126,20
C9	126,65 (125,93)	---	---	127,43	126,65
C10	132,42 (131,92)	---	---	128,04	127,82
C16, C25	---	150,22	150,94	149,30	148,50
C17, C24	---	125,14	123,00	124,22	125,89
C18, C23	---	138,25	137,20	137,34	141,18
C19, C22	---	121,37	129,43	120,44	129,81
C20, C21	---	156,17	127,66	155,23	128,04

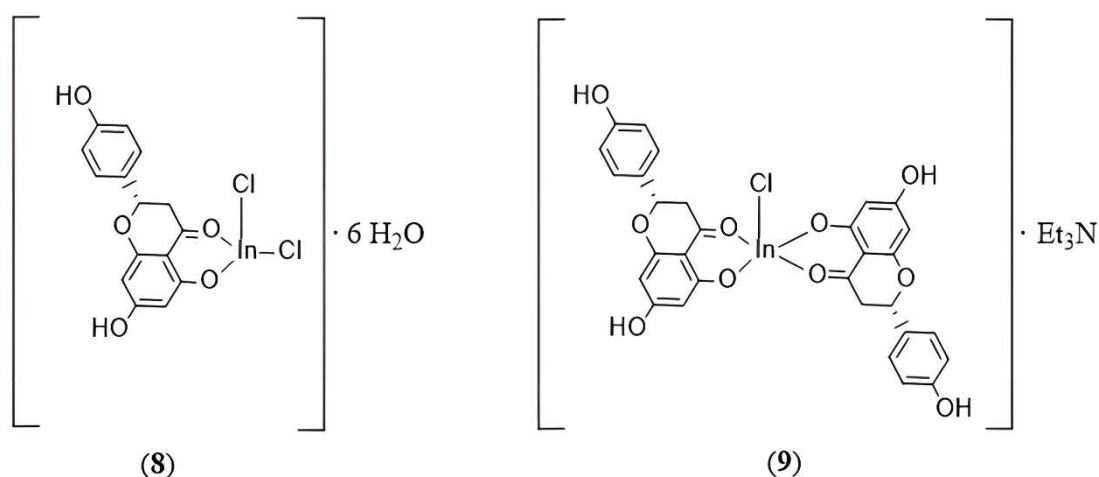
#### 4.7. Conclusões

A síntese e caracterização de complexos heterolépticos inéditos de índio(III) com lausona e ligantes N-heterocíclicos, como 2,2'-bipiridina e fenantrolina, representam uma contribuição para a química de coordenação do índio(III). Os complexos aqui estudados são análogos àqueles com lapachol. O complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) demonstrou atividade antitumoral frente a células de tumores de mama, o que justifica o interesse no estudo de novos complexos com lausona.

## Capítulo 5 – Resultados e discussão: Complexos de índio(III) com naringenina

### Caracterização físico-química

Foram sintetizados dois complexos de índio(III) utilizando como ligante naringenina, composto pertencente à classe dos flavonóides. As representações estruturais dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) estão ilustradas na Figura 5.1.



**Figura 5.1.** Representação estrutural dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**).

Para a caracterização dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) foram realizadas análise elementar, medidas de condutividade molar, termogravimetria, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia de ressonância magnética nuclear e espectroscopia de absorção eletrônica. Também foram realizados estudos de estabilidade dos complexos.

### 5.1. Análise Elementar, Análise de Condutividade Molar e Ponto de Fusão/Decomposição

Na Tabela 5.1 estão listados os valores de porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio e também os valores de condutividade molar e pontos de fusão/decomposição para

os complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**). Os teores C, H e N obtidos para os complexos estão de acordo com as respectivas fórmulas moleculares propostas. Os valores da condutividade molar demonstram que os complexos possuem caráter não-eletrolítico.

**Tabela 5.1.** Análises elementares, ponto de fusão e condutividade molar em DMSO dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**).

Compostos	% C	% H	% N	Ponto de fusão/ °C	$\Lambda_M$ ( $\Omega^{-1} \text{cm}^2$ $\text{mol}^{-1}$ )
	Exp. (Calc.)	Exp. (Calc.)	Exp. (Calc.)		
<b>8-</b> $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ FM = $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{InO}_{11}$ M = $565,06 \text{ g mol}^{-1}$	31,65 (31,88)	4,34 (4,10)	0,09 (0,00)	266,3-270,9	9,83
<b>9-</b> $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ FM = $\text{C}_{36}\text{H}_{37}\text{ClInNO}_{10}$ M = $793,95 \text{ g mol}^{-1}$	54,49 (54,46)	4,61 (4,70)	1,18 (1,76)	278-280,2	10,57

## 5.2. Análise Termogravimétrica

A presença de água no complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) foi confirmada através da curva termogravimétrica (ver Figura. S13 no Apêndice III). Na curva TG do complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) ocorreu uma perda de 18,13% (calcd. 19,11%) referente a seis moléculas de água.

## 5.3. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) foram obtidos em pastilhas de KBr e as atribuições baseadas em comparação com o espectro do ligante naringenina. As principais bandas de vibrações analisadas nos espectros foram  $\nu(\text{O-H})$ ,  $\nu(\text{O-H})_{\text{água}}$ ,  $\nu(\text{C=O})$  e  $\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$  (Tabela 5.2).

**Tabela 5.2.** Números de onda das bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ), dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}]$

· Et<sub>3</sub>N (**9**) e o ligante naringenina (4000 – 400 cm<sup>-1</sup>).

Composto	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{O-H})_{\text{água}}$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C-O})$	$\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$
Naringenina	3145 f	---	1478 f	---	2847 f
[In(nar)Cl <sub>2</sub> ]·6 H <sub>2</sub> O ( <b>8</b> )	3150 m	3410 m	1498 F	1252 f	2850 f
[In(nar) <sub>2</sub> Cl]·Et <sub>3</sub> N ( <b>9</b> )	3103m	---	1594 F	1238 F	2929 f

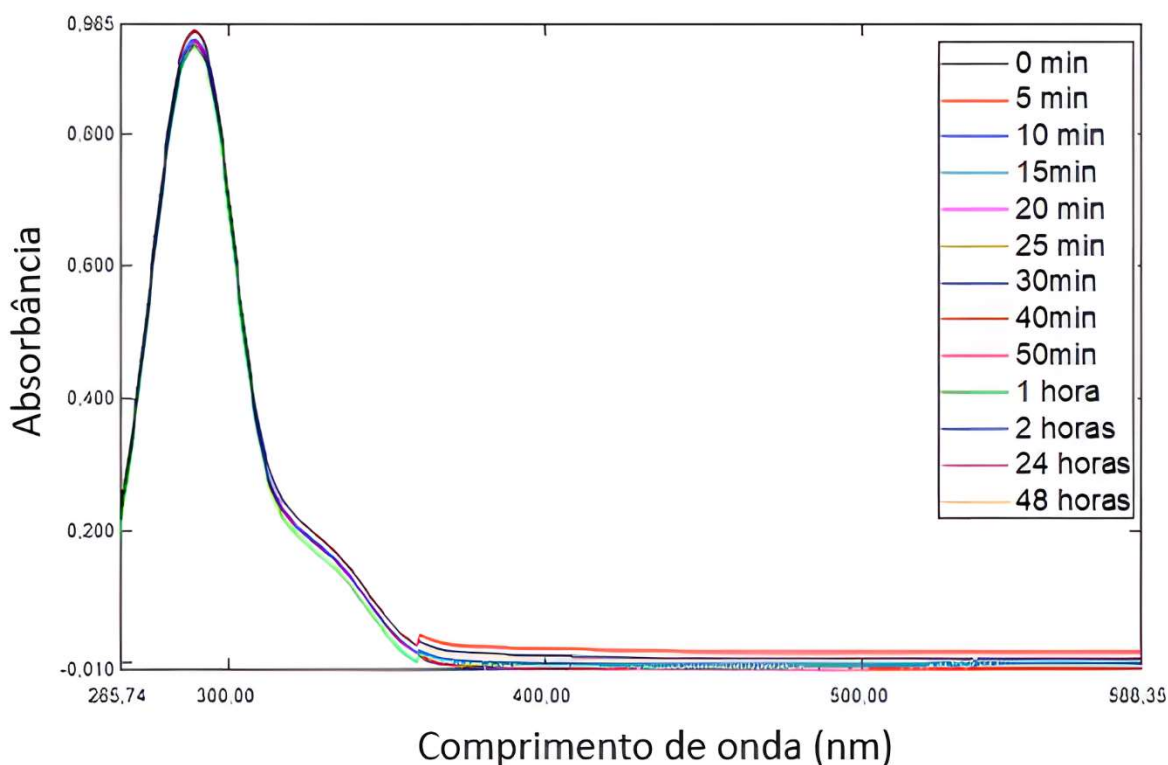
Intensidade das bandas: F = forte, m = média, f = fraca. (---) Ausência de banda.

No espectro IV dos complexos [In(nar)Cl<sub>2</sub>]·6H<sub>2</sub>O (**8**) e [In(nar)<sub>2</sub>Cl]·Et<sub>3</sub>N (**9**) (ver Figuras S15-S16 no Apêndice III), observam-se diferenças com relação aos modos associados aos sítios de coordenação da naringenina após a complexação ao centro metálico de índio(III). A porção carbonílica da naringenina, possui um modo  $\nu(\text{C=O})$  em 1478 cm<sup>-1</sup> que se desloca para 1498 cm<sup>-1</sup> para o [In(nar)Cl<sub>2</sub>]·6 H<sub>2</sub>O (**8**) e para 1594 cm<sup>-1</sup> no espectro do [In(nar)<sub>2</sub>Cl]·Et<sub>3</sub>N (**9**), indicando que houve coordenação. Observa-se também a presença da banda relacionada ao modo  $\nu(\text{C-O})$  que aparece nos espectros dos complexos [In(nar)Cl<sub>2</sub>] · 6 H<sub>2</sub>O (**8**) e [In(nar)<sub>2</sub>Cl] · Et<sub>3</sub>N (**9**) em valores de 1252 cm<sup>-1</sup> e 1238 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.

Outro aspecto importante é a presença de uma banda em 3410 cm<sup>-1</sup> referente ao modo vibracional que descreve as seis águas de cristalização presentes no complexo [In(nar)Cl<sub>2</sub>]·6H<sub>2</sub>O (**8**). Neste espectro observam-se bandas relacionadas aos sítios de coordenação da naringenina.

#### 5.4. Testes de Estabilidade

Os estudos de estabilidade realizados no UV-Vís para os complexos [In(nar)Cl<sub>2</sub>]·6H<sub>2</sub>O (**8**) e [In(nar)<sub>2</sub>Cl] · Et<sub>3</sub>N (**9**) demonstraram que esses complexos são estáveis em solução 100% de DMSO puro e em solução a 5% DMSO/Tris-HCl em pH 7,2. As Figuras Figura 5.2 e (ver Figura S.17 no Apêndice III) ilustram os espectros eletrônicos dos complexos [In(nar)Cl<sub>2</sub>]·6 H<sub>2</sub>O (**8**) e [In(nar)<sub>2</sub>Cl] · Et<sub>3</sub>N (**9**), respectivamente, em solução tampão em 5% de DMSO/Tris-HCl em pH 7,2.



**Figura 5.2.** Espectro eletrônico ao longo do tempo do complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) em uma concentração de  $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  uma solução em 5% DMSO/Tris-HCl, pH = 7,2.

### 5.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , os sinais foram atribuídos usando como base o deslocamento químico, integração e multiplicidade. Os sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  foram atribuídos para os complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**), e no caso do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) foi utilizado o DEPT-135 para averiguação dos sinais dos carbonos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  da trietilamina. Todos os espectros foram obtidos em  $\text{DMSO-}d_6$ .

Os sinais atribuídos nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{Nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) e da naringenina livre encontram-se na Tabela 5.3 e os respectivos espectros estão ilustrados nas Figura 5.3 e Figura 5.4.

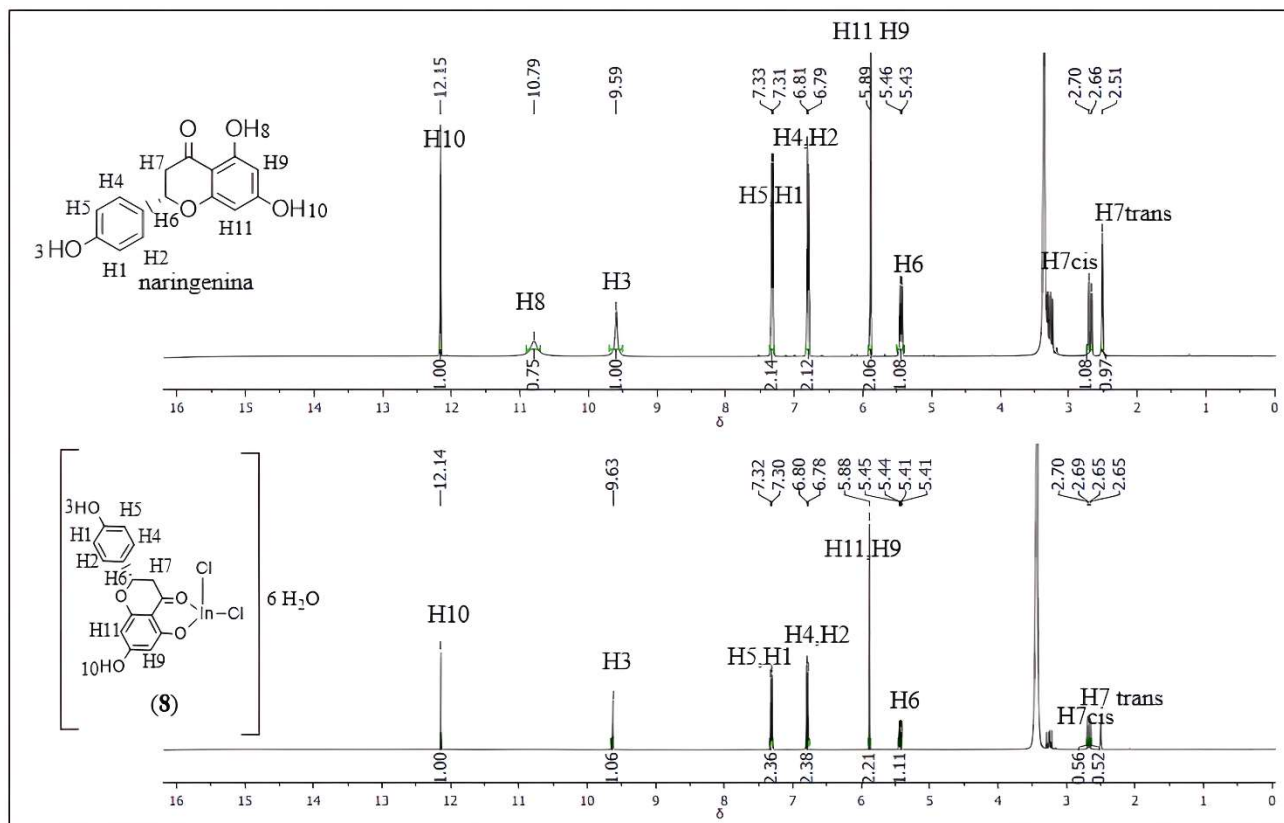


Figura 5.3. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  da naringenina e do complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (8) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

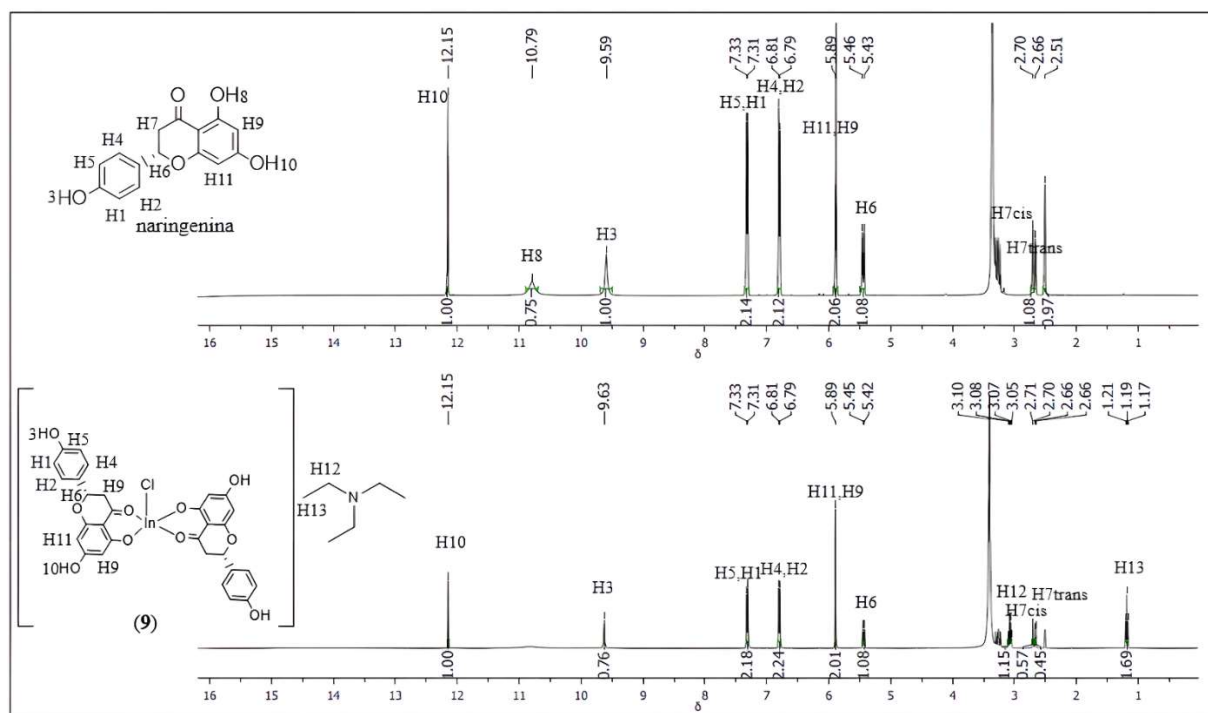


Figura 5.4. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  da naringenina e do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (9) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

**Tabela 5.3.** Atribuição de número de hidrogênios (N° de H), deslocamento químico  $\delta$  (ppm) e multiplicidade dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  da naringenina livre e dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**).

Atribuição	N° de H	(naringenina) $\delta$ ppm	$[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ( <b>8</b> ) $\delta$ ppm	$[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ ( <b>9</b> ) $\delta$ ppm
H3	1	9,59(s)	9,63(s)	9,63(s)
H4, H2	2	6,81(d),6,79(d)	6,80(d), 6,78(d)	6,81(d), 6,79(d)
H5, H1	2	7,33(d), 7,31(d)	7,32(d), 7,30(d)	7,33(d)
H6	1	5,46(d)	5,41(d)	5,44(d)
H7	1	<i>cis</i> 2,70(d), <i>trans</i> 2,66(d)	<i>cis</i> 2,70(d), <i>trans</i> 2,65(d)	<i>cis</i> 2,71(d), <i>trans</i> 2,65(d)
H8	1	10,79(s)	--	--
H9, H11	2	5,89(d)	5,88(d)	5,89(d)
H10	1	12,15(s)	12,14(s)	12,15(s)
H12	2	--	--	3,10(q)
H13	3	--	--	1,19(t)

M = (s) simpleto; (d) duplete; (t) tripleto, (q) quarteto -- Ausência de sinal.

Nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) observa-se a ausência do sinal do hidrogênio H8 da porção fenólica do sítio de coordenação do ligante naringenina em  $\delta$  10,79 ppm. Este fato é uma forte evidência da coordenação do ligante ao centro metálico de índio(III). Pode-se observar também a presença dos sinais dos hidrogênios de  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  da trietilamina no complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**), com deslocamentos químicos em  $\delta$  3,10 ppm e  $\delta$  1,19 ppm.

Os principais sinais atribuídos nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos complexos de índio (III)  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) e do ligante naringenina livre encontram-se listados na Tabela 5.4, e seus respectivos espectros estão ilustrados nas Figura 5.5-Figura 5.6. O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) está ilustrado na Figura S.18 no Apêndice III.

**Tabela 5.4.** Atribuição dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  da naringenina livre e dos complexos de índio(III):  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) e sinais de DEPT-135 do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) em  $\text{DMSO-}d_6$ .

Atribuição	(naringenina)	$[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ( <b>8</b> )	$[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$ ( <b>9</b> )
	$\delta$ ppm	$\delta$ ppm	$\delta$ ppm
C1	196,87	196,86	196,44
C2	102,23	102,22	101,80
C3	163,95	163,93	163,52 $\uparrow$
C4	96,25	96,25	95,84 $\uparrow$
C5	158,20	158,17	157,77
C6	95,43	95,43	95,02 $\uparrow$
C7	163,41	163,39	162,97
C8	129,32	129,31	128,89 $\uparrow$
C9	42,44	42,42	42,01 $\downarrow$
C10	115,62	115,63	115,21 $\uparrow$
C11	128,81	128,38	128,89
C12	167,12	167,11	166,72
C13	128,32	128,38	128,38
C14	115,62	115,63	115,21
C16	--	--	45,62 $\downarrow$
C17	--	--	8,59 $\uparrow$

$\uparrow$  = sinal positivo no espectro de DEPT-135,  $\downarrow$  = sinal negativo do espectro de DEPT-135.

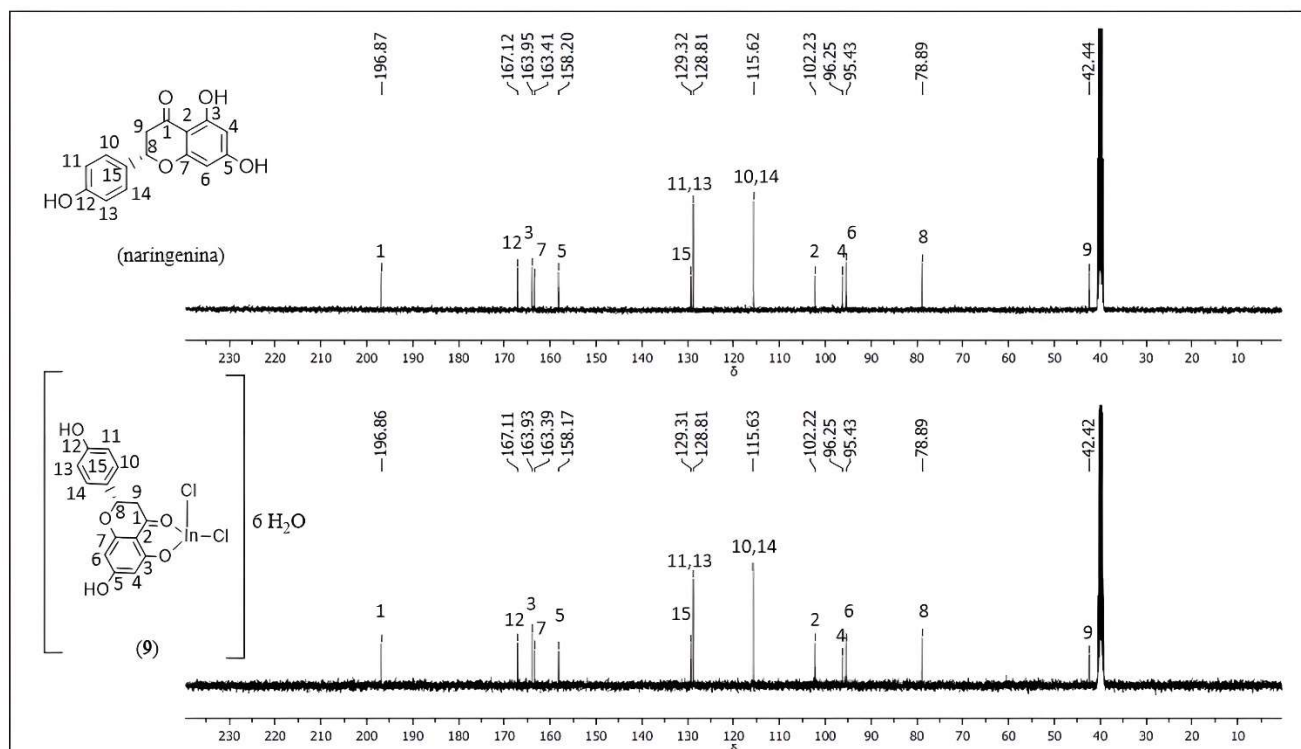


Figura 5.5. Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  da naringenina e do complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (8) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

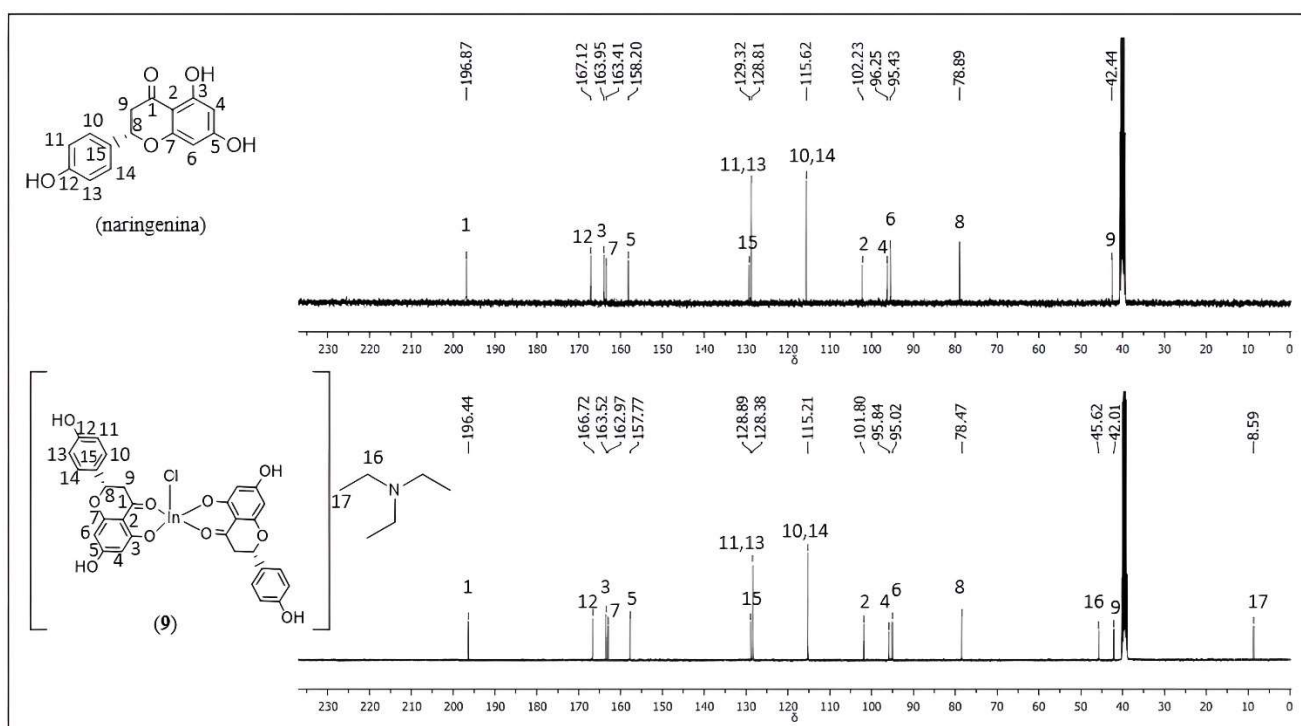


Figura 5.6. Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  da naringenina e do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (9) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

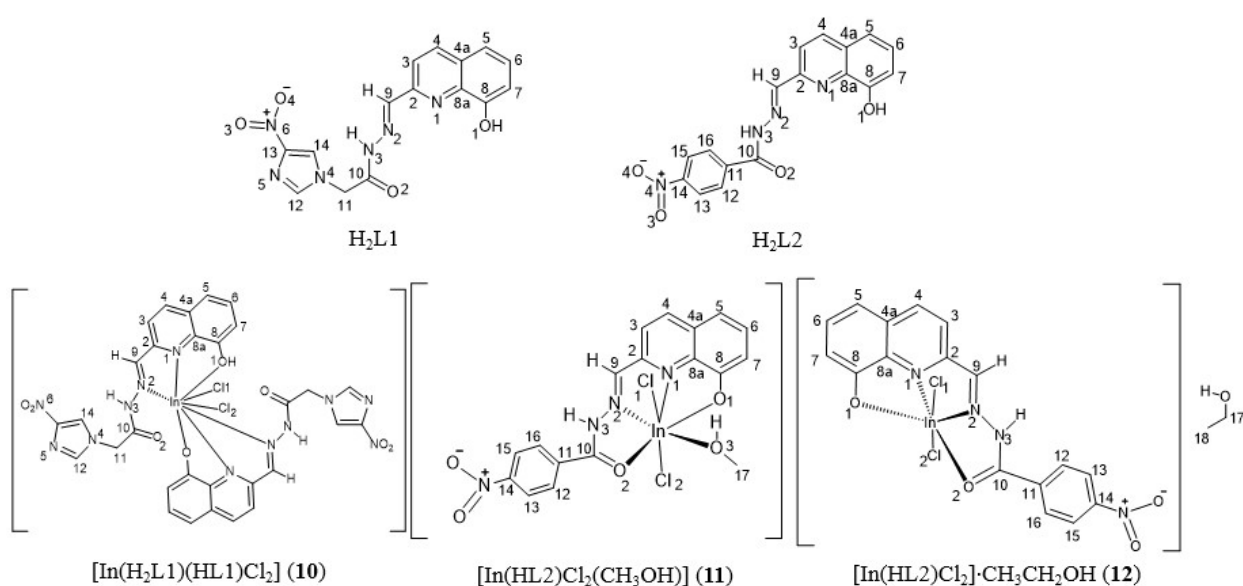
Nos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**), não foram observadas variações significativas dos sinais de C1 e C3 do sítio de coordenação da narigenina com a complexação ao centro metálico de índio(III). Observa-se a presença dos sinais em  $\delta$  8,59 ppm e  $\delta$  45,62 ppm no espectro de  $^{13}\text{C}$  para o complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) que estão relacionados com os carbonos  $\text{CH}_2$  e  $\text{CH}_3$  da trietilamina, que também podem ser observados no espectro de DEPT-135 como sinais negativo e positivo, respectivamente.

## 5.6. Conclusões

A partir da caracterização físico-química dos complexos  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2]\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**) é possível afirmar que dois complexos inéditos de índio(III) foram sintetizados com sucesso. É importante salientar que esses complexos podem exibir interessantes propriedades biológicas e podem ser testados *in vitro* frente a cepas de bactérias resistentes a tratamentos convencionais com antibióticos. Os testes podem ser viabilizados devido ao fato de que esses complexos são estáveis em condições fisiológicas, o que foi corroborado pelos testes de estabilidade que simulam essas condições. É sabido que a naringenina possui propriedades biológicas importantes, tais como propriedades antioxidantes e antimicrobianas, portanto a síntese de complexos de índio(III) pode ser uma alternativa eficaz para contornar os problemas de resistência aos tratamentos com antibióticos já utilizados na terapêutica.

## Capítulo 6 – Resultados e discussão: Complexos de índio(III) com hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina

Foram realizadas sínteses de três complexos de índio(III) à base de hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina. As representações estruturais dos ligantes e dos complexos sintetizados estão ilustrados na Figura 6.1.



**Figura 6.1.** Representação estrutural dos precursores H<sub>2</sub>L1, H<sub>2</sub>L2 e dos complexos [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (10), [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11) e [In(HL2)Cl<sub>2</sub>]·CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH(12).

A apresentação dos resultados inicialmente será abordada em termos de análises em estado sólido e depois será descrito o comportamento dos complexos sintetizados em solução. Para a caracterização no estado sólido desses compostos foram realizadas análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho e medidas de difração de raios-X no caso do complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11). Para estudar o comportamento dos complexos em solução foram realizadas também análise de condutividade molar, espectroscopia eletrônica e ressonância magnética nuclear. Todos os complexos também foram submetidos a análises por espectrometria de massas MALDI-TOF. Adicionalmente, os complexos também foram analisados por métodos computacionais do tipo *Density Functional Theory* (DFT).

### 6.1. Análises elementares, Condutividade Molar e Ponto de Fusão/Decomposição

Na Tabela 6.1 estão apresentados os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio e os valores de condutividades molares para os complexos (10-12). Os teores de C, H e N obtidos para os complexos estão de acordo com as suas respectivas fórmulas moleculares. Os valores obtidos para a condutividade molar dos complexos indicam tratar-se de não eletrolíticos.

**Tabela 6.1.** Análises elementares, ponto de fusão e condutividade molar em DMSO dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (10),  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (11) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (12).

Compostos	% C	% H	% N	Ponto de fusão/ °C	$\Lambda_M$ ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )
	Exp. (Calc.)	Exp. (Calc.)	Exp. (Calc.)		
(10) - $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ FM = $\text{C}_{30}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{InN}_{12}\text{O}_8$ M = 865,30 g/mol	41,12 (41,64)	2,57 (2,68)	18,91 (19,42)	276,5-278,3	8,6
(11) - $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$ FM = $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{InN}_4\text{O}_5$ M = 553,06 g/mol	38,21 (38,09)	2,86 (2,73)	9,68 (10,13)	245,7-247,3	11,0
(12) $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ FM = $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{InN}_4\text{O}_5$ M = 567,09 g/mol	39,19 (40,24)	2,54 (3,02)	10,03 (9,88)	240,3-243,5	10,3

### 6.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros de infravermelho dos precursores  $\text{H}_2\text{L1}$ ,  $\text{H}_2\text{L2}$  e dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (10),  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (11) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (12) estão ilustrados nas Figura 6.2, Figura 6.3 e Figura 6.4 , respectivamente.

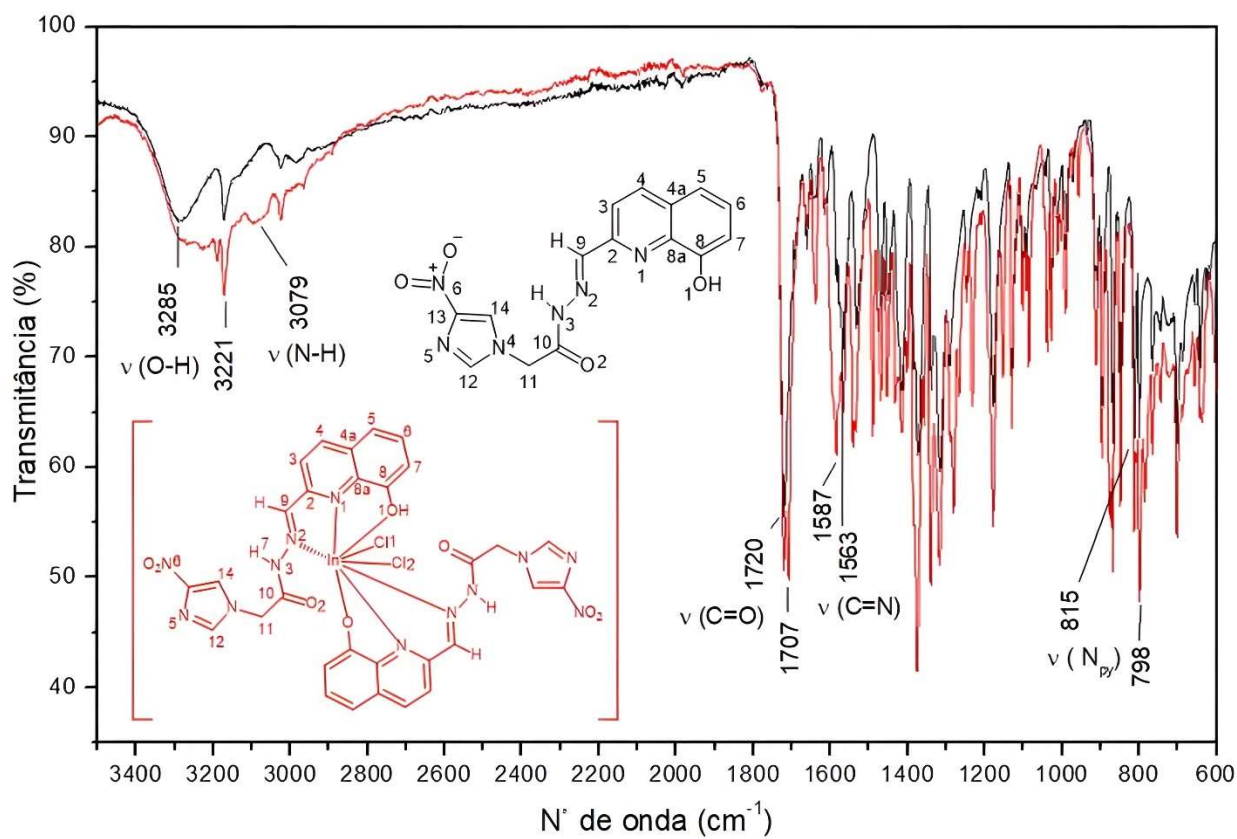


Figura 6.2. Espectro vibracional do ligante  $H_2L1$  e do complexo  $[In(H_2L1)(HL1)Cl_2]$  (10).

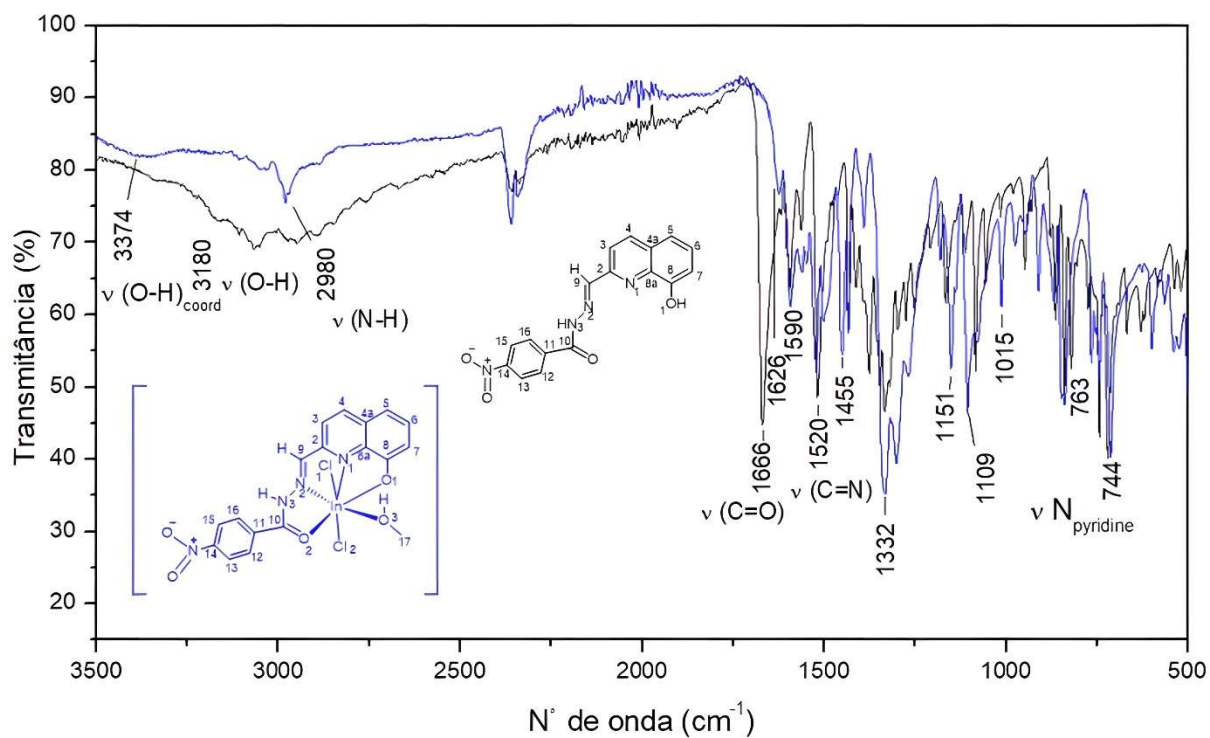
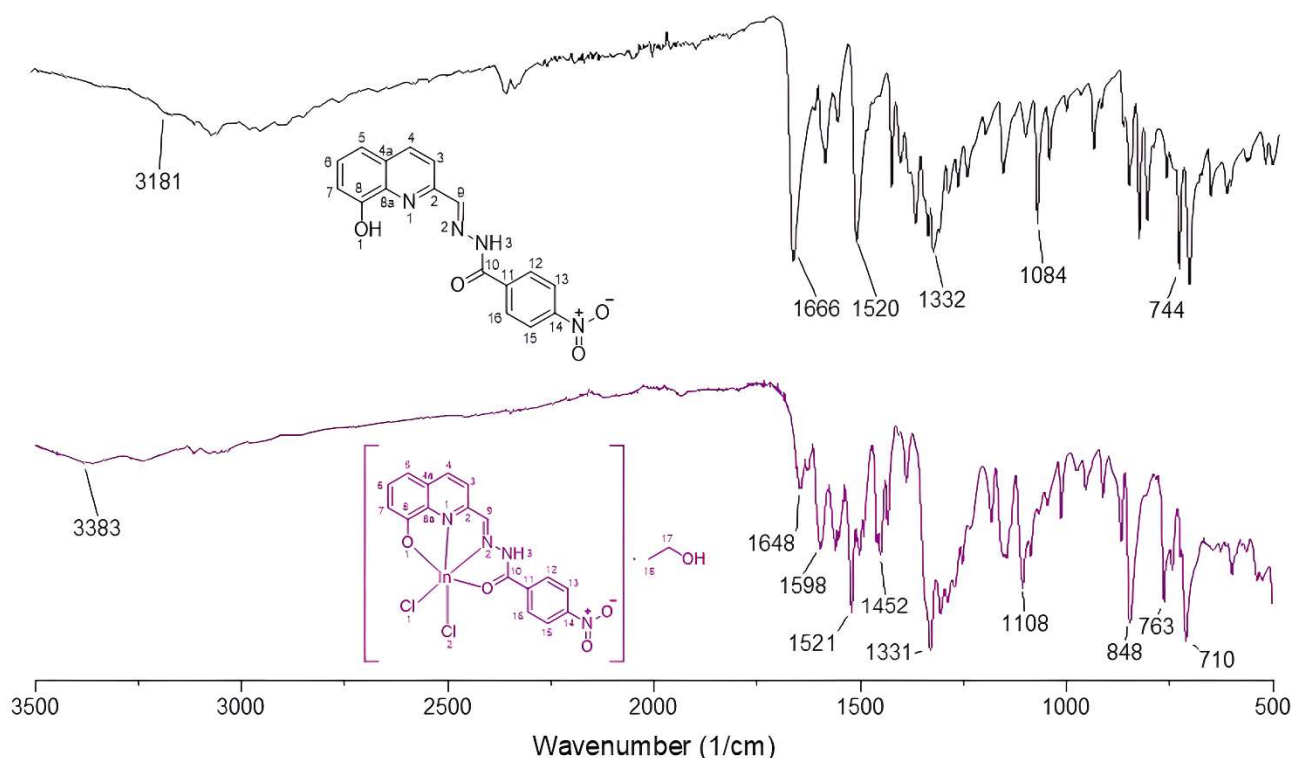


Figura 6.3. Espectro vibracional do ligante  $H_2L2$  e do complexo  $[In(HL2)Cl_2(CH_3OH)]$  (11).



**Figura 6.4.** Espectro vibracional do ligante H<sub>2</sub>L<sub>2</sub> e do complexo [In(HL<sub>2</sub>)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**).

A absorção atribuída à vibração  $\nu(\text{O-H})$  em  $3254\text{ cm}^{-1}$  (H<sub>2</sub>L<sub>1</sub>) e  $3370\text{ cm}^{-1}$  (H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>) nos espectros de infravermelho das hidrazonas é observada a  $3123\text{ cm}^{-1}$  no espectro do complexo [In(H<sub>2</sub>L<sub>1</sub>)(HL<sub>1</sub>)Cl<sub>2</sub>] (**10**). Essa absorção está ausente nos espectros dos complexos [In(HL<sub>2</sub>)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (**11**) e [In(HL<sub>2</sub>)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**), devido à desprotonação e coordenação através do oxigênio fenólico.<sup>85</sup> As vibrações  $\nu(\text{C=N})$  em  $1533\text{ cm}^{-1}$  (H<sub>2</sub>L<sub>1</sub>) e  $1558\text{ cm}^{-1}$  (H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>) nos espectros de infravermelho das hidrazonas deslocam-se para  $1521\text{--}1539\text{ cm}^{-1}$  nos espectros dos complexos (**10-12**), o que está de acordo com a coordenação do nitrogênio da azometina. A absorção  $\nu(\text{C=O})$  observada a  $1720\text{ cm}^{-1}$  no espectro de H<sub>2</sub>L<sub>1</sub> não se desloca no espectro do complexo [In(H<sub>2</sub>L<sub>1</sub>)(HL<sub>1</sub>)Cl<sub>2</sub>] (**10**), sugerindo que o oxigênio carbonílico não está ligado ao centro metálico. Essa absorção, observada a  $1666\text{ cm}^{-1}$  no espectro de H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>, desloca-se para  $1626\text{ cm}^{-1}$  no espectro do complexo [In(HL<sub>2</sub>)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (**11**) e para  $1590\text{ cm}^{-1}$  no espectro do complexo [In(HL<sub>2</sub>)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**), o que é compatível com a coordenação através do oxigênio carbonílico. O modo de deformação no

<sup>85</sup> R. Cherdtrakulkiat, S. Boonpangrak, N. Sinthupoom, S. Prachayasittikul, S. Ruchirawat, V. Prachayasittikul, Derivatives (halogen, nitro and amino) of 8-hydroxyquinoline with highly potent antimicrobial and antioxidant activities, BB Reports. (2016), 6, 135-141.

plano do anel de piridina em  $712\text{--}720\text{ cm}^{-1}$  nos espectros das hidrazonas livres desloca-se para  $755\text{--}744\text{ cm}^{-1}$  nos complexos (**10-12**), sugerindo a coordenação do nitrogênio heteroaromático.

As principais bandas de vibração analisadas foram:  $\nu(\text{O-H})$ ,  $\nu(\text{C=O})$ ,  $\nu(\text{C=N})$  e  $\nu(\text{N-H})$ , seus valores estão listados na Tabela 6.2.

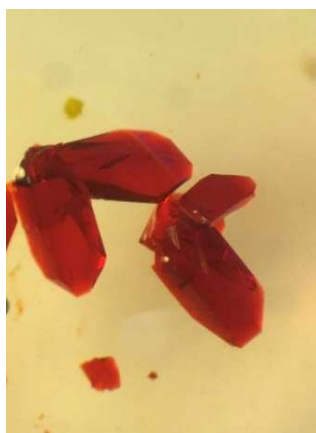
**Tabela 6.2.** Valores de números de onda das bandas ( $\text{cm}^{-1}$ ), do complexo (**10-12**) e seus respectivos precursores:  $\text{H}_2\text{L1}$  e  $\text{H}_2\text{L2}$  ( $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ ).

Compostos	$\nu(\text{O-H})$	$\nu(\text{C=O})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{N-H})$
$\text{H}_2\text{L1}$	3254 f	1707 F	1533 F	2895 f
$\text{H}_2\text{L2}$	3370 f	1666 F	1558 f	3383 f
$[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ ( <b>10</b> )	3123 m	1707 F	1521 m	3079 f
$[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$ ( <b>11</b> )	---	1626 F	1590 m	2980 f
$[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ( <b>12</b> )	---	1648 F	1539 F	3180 f

Intensidade das bandas: F = forte, m = média, f = fraca. --- Ausência de banda.

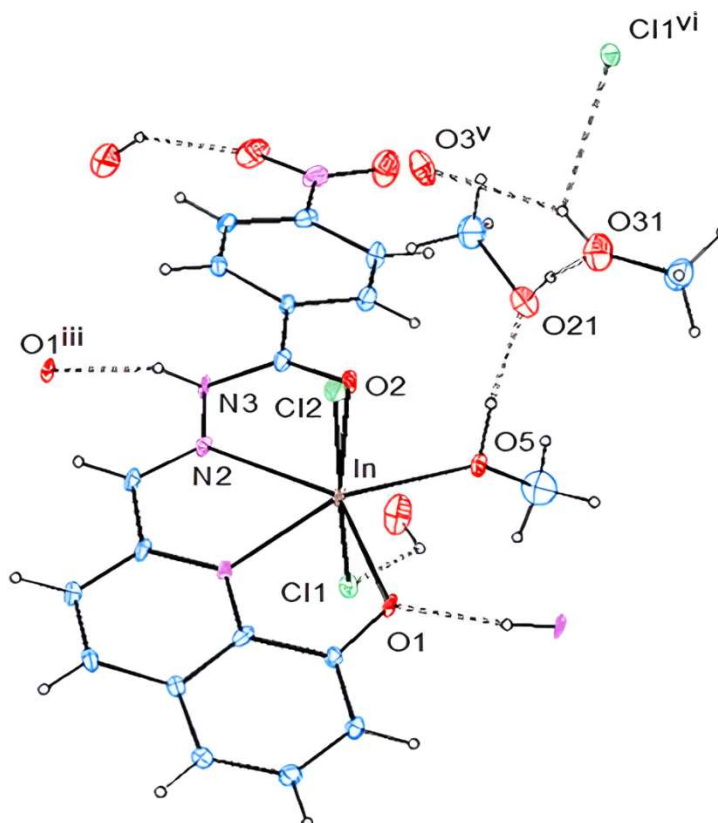
### 6.3. Medidas de difração de raios X por monocristal

Na síntese do complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) foi possível a obtenção de monocristais de coloração vermelha, Figura 6.5, a partir da evaporação lenta em metanol. Devido a esse fato foi possível realizar medidas de difração de raios X por monocristal deste complexo.



**Figura 6.5.** Monocristais do complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**).

No complexo  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**), um ligante hidrazona tetradentado está ligado ao centro de índio(III) através de dois átomos de oxigênio e dois átomos de nitrogênio. A esfera de coordenação do índio(III) é completada por um átomo de oxigênio de uma molécula de metanol no plano equatorial e dois ligantes cloreto *trans* entre si no plano axial, formando um complexo de índio(III) heptacoordenado, Figura 6.6.



**Figura 6.6.** Estrutura cristalográfica do complexo  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**).

A molécula de metanol coordenada interage com um metanol solvatado através de uma ligação de hidrogênio O5-H5...O21. O átomo de oxigênio O21 é o doador de uma segunda ligação de hidrogênio O21-H21...O31. Por outro lado, o átomo O31 é o doador de uma ligação de hidrogênio bifurcada para duas unidades distintas, tal como  $[\text{In}(\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5)(\text{CH}_3\text{OH})\text{Cl}_2]$ : O31-H31...O3(v) e O31-H31... Cl1(vi). A ligação de hidrogênio N3-Hn3...O1(iii) entre duas unidades  $[\text{In}(\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5)(\text{CH}_3\text{OH})\text{Cl}_2]$  completa a rede de ligações de hidrogênio que estabiliza a estrutura cristalina.

A estrutura cristalina é estabilizada por uma rede de ligações de hidrogênio e seus respectivos valores de distâncias de ligação e ângulos de ligação de hidrogênio estão listados na Tabela 6.3. Os dados cristalográficos para o complexo  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) estão

listados na Tabela 6.4.

**Tabela 6.3.** Distâncias (Å) e ângulos (°) de ligações de hidrogênio do complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11)

$D-H\cdots A$	$D-H$	$H\cdots A$	$D\cdots A$	$D-H\cdots A$
O5—H5 $\cdots$ O21	1,010 (8)	1,661 (12)	2,622 (14)	157,5 (6)
O21—H21D $\cdots$ O31	0,930 (13)	1,746 (16)	2,66 (2)	168,4 (10)
O31—H31D $\cdots$ O3 <sup>v</sup>	0,880 (16)	2,244 (12)	3,021 (19)	147,1 (10)
O31—H31D $\cdots$ Cl1 <sup>vi</sup>	0,880 (16)	2,607 (3)	3,194 (16)	124,9 (9)
N3—Hn3 $\cdots$ O1 <sup>iii</sup>	0,860 (16)	1,819 (12)	2,634 (16)	157,4 (10)

Códigos de simetria: (v)  $x, y+1/2, -z$ ; (vi)  $y+3/4, -x+5/4, -z+1/4$ . (iii)  $-y+5/4, x-1/4, z-1/4$ .

**Tabela 6.4.** Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento para o complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (11).

Composto	[In(H <sub>2</sub> L2)Cl <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> OH)] (11)
Formula	[In(C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> )(CH <sub>3</sub> OH)Cl <sub>2</sub> ].2CH <sub>3</sub> OH
M / g mol <sup>-1</sup>	521,02
Sistema cristalino, space grupo espacial	Tetragonal, $I4_1/a$
Temperatura / K	293
a / Å	19,1085 (8)
b / Å	19,1085 (8)
c / Å	27,2250 (13)
$\alpha, \beta, \gamma / ^\circ$	90
V / Å <sup>3</sup>	9940,8 (10)
Z	1.741
Tipo de radiação	Mo $K\alpha$
$\mu / \text{mm}^{-1}$	1,49
Reflexões medidas/independentes	13141/5048
Reflexões observadas / R <sub>int</sub>	2977/0,072
Parâmetros	306

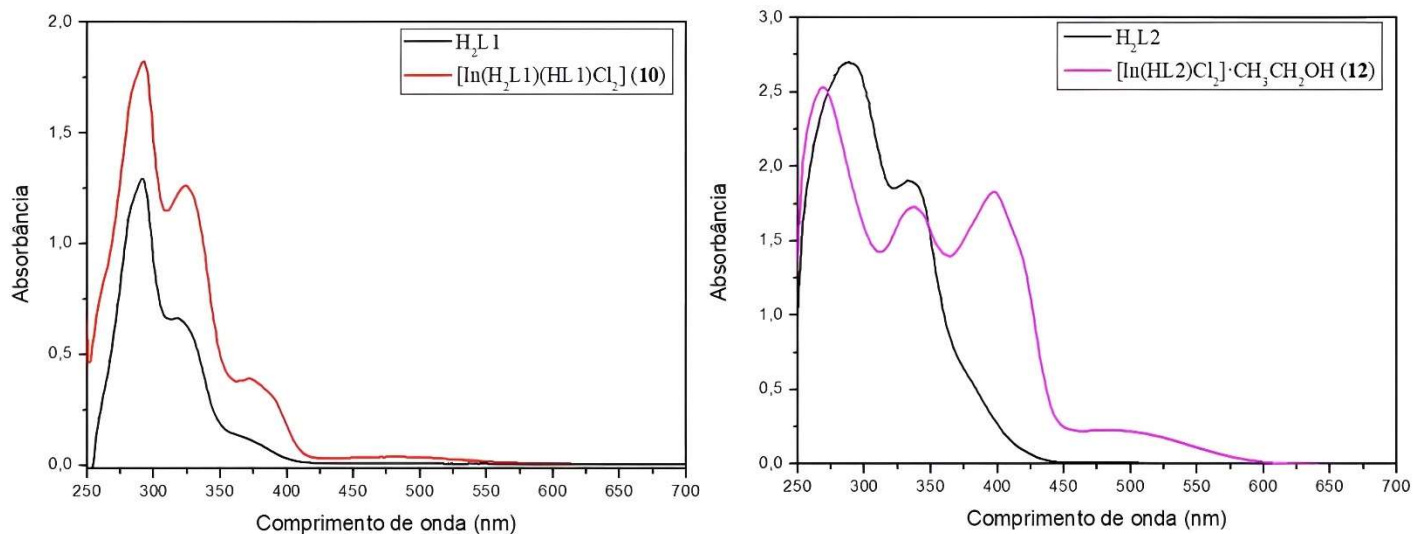
Cont. **Tabela 6.5.** Dados cristalográficos e parâmetros de refinamento para o complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (**11**).

$R_{\text{obs}}, R_{\text{all}}$	0,087; 0,092
$wR_{\text{abs}}, wR_{\text{all}}, S$	0,273; 0,278; 1,03
$\Delta\rho_{\text{max}}, \Delta\rho_{\text{min}} / e \text{ \AA}^{-3}$	4,12 -0,78

Neste ponto, é interessante notar a importância das ligações de hidrogênio envolvendo as moléculas de metanol solvatadas para a estabilização da estrutura cristalina. Os cristais em solução de metanol perdem rapidamente a cristalinidade se retirados da solução a 298K. Se o cristal retirado da solução for imediatamente resfriado para 125 K para coletar dados de difração, a estrutura cristalina pode ser resolvida, sugerindo que a perda do solvente, e consequente perda da cristalinidade ocorre a 298K, mas não a 125 K.

#### 6.4. Espectroscopia de absorção eletrônica na região do Uv-vís

O espectro eletrônico de H<sub>2</sub>L1 e do complexo [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (**10**) exibem absorções em 291 nm (ombro), 324 nm e 371 nm, atribuíveis a transições  $\pi$ - $\pi^*$  intra-ligante. O espectro de H<sub>2</sub>L2 mostra absorções em 287 nm (ombro) e 335 nm, atribuídas a transições  $\pi$ - $\pi^*$ . Os espectros dos complexos [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (**10**) e [In(HL2)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**) (Figura 6.7) apresentam um perfil completamente distinto, exibindo absorções em 267 nm, 337 nm, 397 nm (ombro) atribuídas a transições  $\pi$ - $\pi^*$ , e uma banda em 500 nm, atribuível a uma transição de transferência de carga do ligante para o metal, que é observável após a desprotonação do hidrogênio fenólico com a formação de um sistema altamente conjugado.



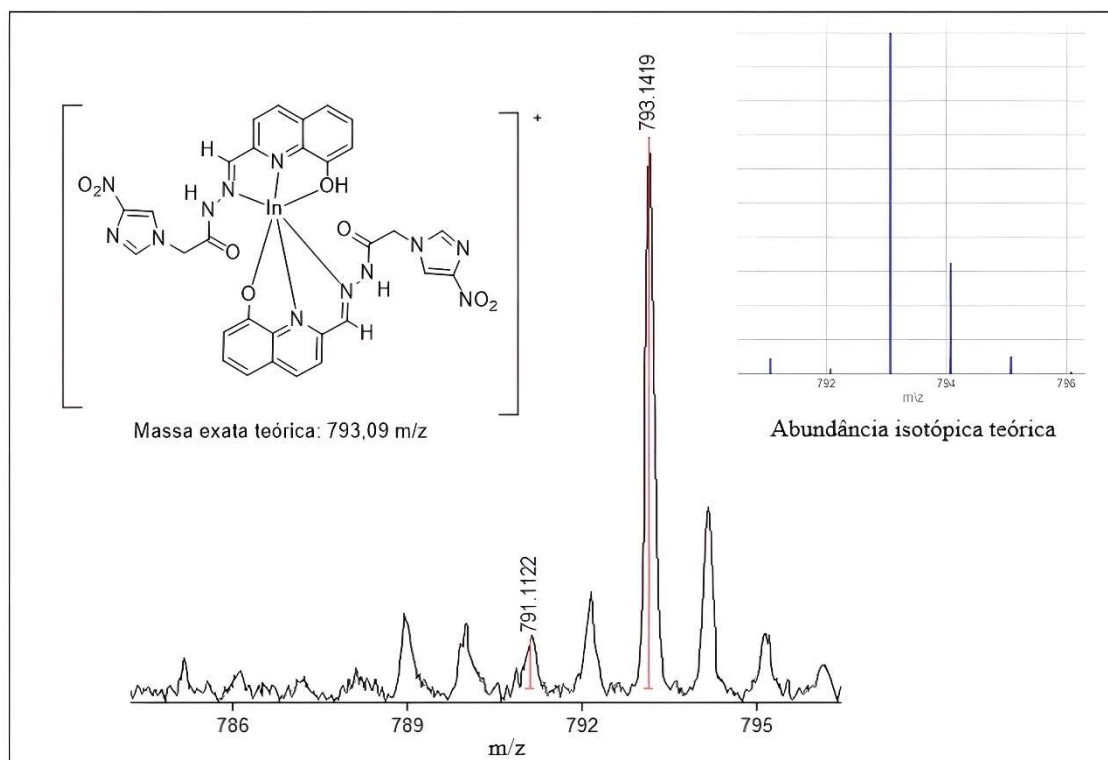
**Figura 6.7.** Espectros de Uv-vis dos ligantes H<sub>2</sub>L1, H<sub>2</sub>L2 e dos complexos [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (**10**) e [In(HL2)Cl<sub>2</sub>]·CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**) em DMSO a 10<sup>-3</sup> M.

Ao lidar com compostos de coordenação de índio, seus orbitais d totalmente preenchidos os tornam uma classe especial de complexos de carga, pois o metal, ao participar do processo de transferência de carga, precisará de seu orbital s para receber a densidade eletrônica dos ligantes. Isso resultará em absorções de alta energia nos espectros eletrônicos ao observar a transferência de carga do ligante para o metal (LMCT). Como o In<sup>3+</sup> é um cátion relativamente duro, é difícil observar uma transferência de carga do metal para o ligante (MLCT).<sup>86</sup>

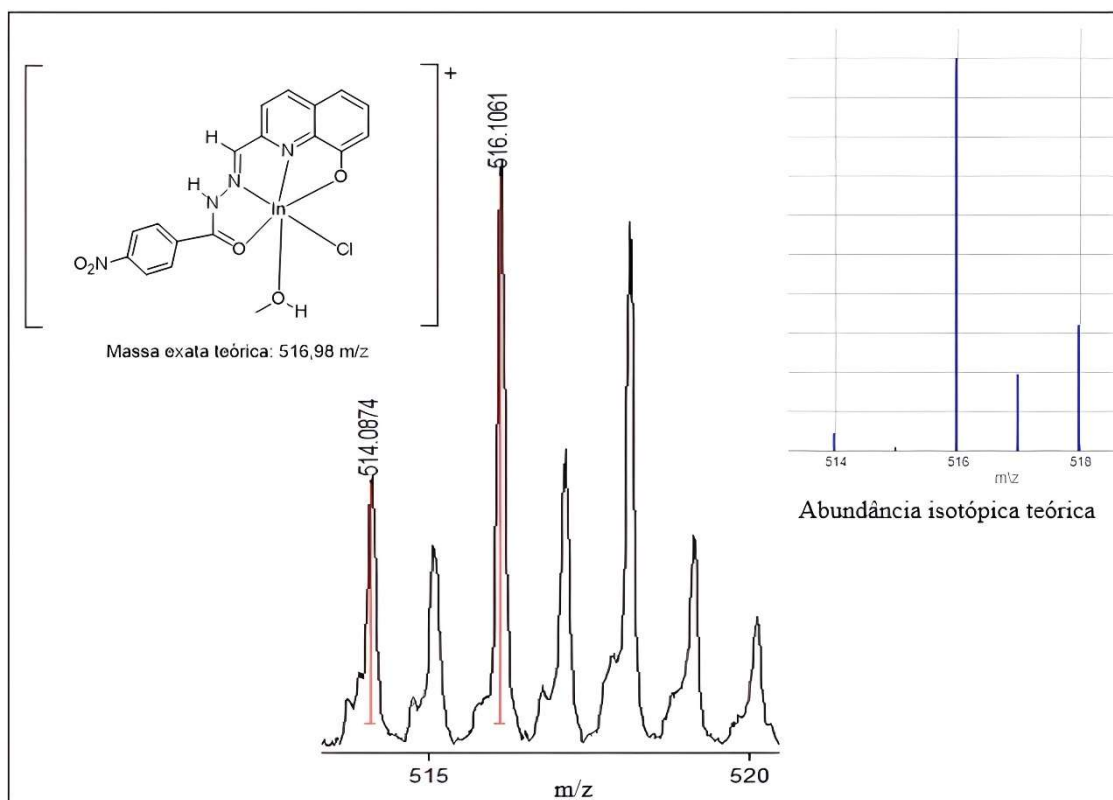
### 6.5. Espectrometria de Massas – MALDI-TOF

Para complementar o estudo de caracterização físico-química dos complexos (**10-12**), foi realizada a Espectrometria de Massas – MALDI-TOF para analisar os fragmentos produzidos. Nas Figura 6.8-6.10 estão ilustrados os fragmentos identificados nos espectros de massas dos complexos [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (**10**), [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (**11**) e [In(HL2)Cl<sub>2</sub>]·CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**).

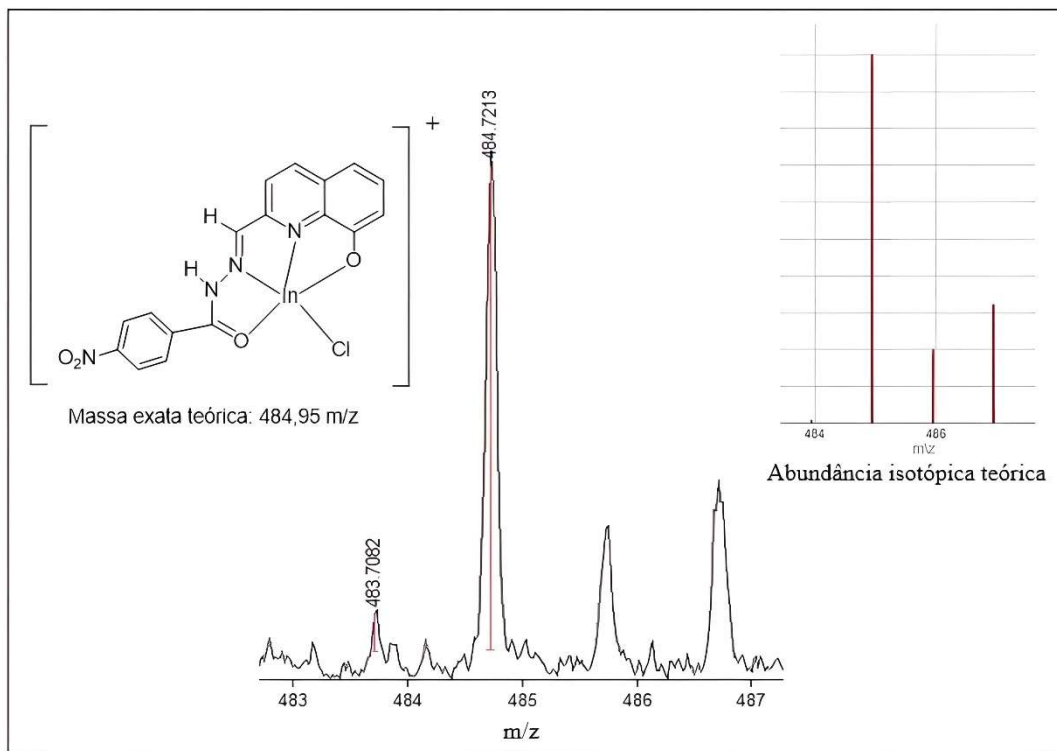
<sup>86</sup> J. R. Diniz, J. R. Correa, D. F. Scalabrini Machado, S. L. M. Soares, C. C. Gatto, H. C. B. de Oliveira, P. E. N. de Souza, M. O. Rodrigues, B. A. D. Neto, Indium complex with task-specific ionic liquid ligands: Ligand to ligand charge transfer in the excited state investigation and reliable DFT predictions, *Journal of Luminescence*, (2020), 225.



**Figura 6.8.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**).



**Figura 6.9.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**).



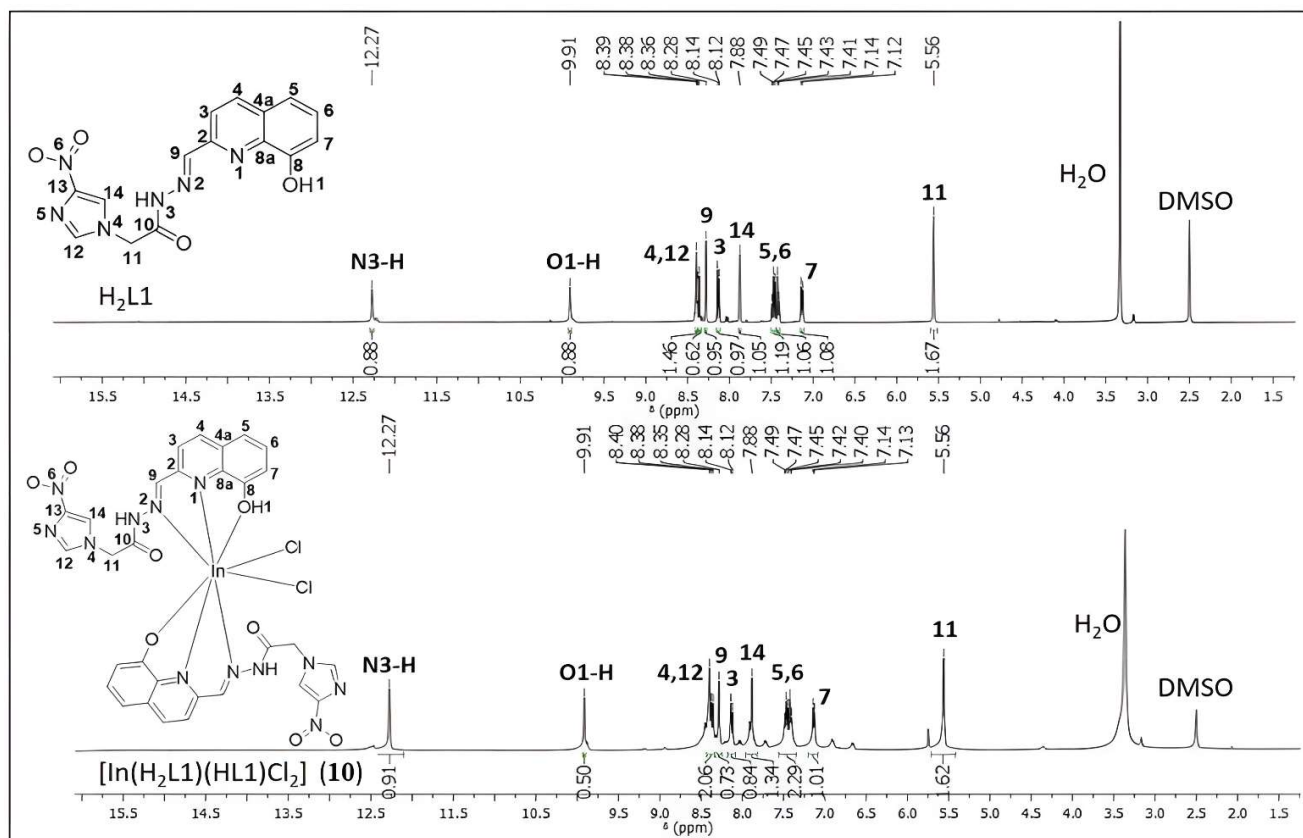
**Figura 6.10.** Espectro de massas MALDI-TOF do complexo  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**).

Os espectros de massa MALDI-TOF dos complexos (**10-12**) demonstraram picos em  $m/z = 793,14$ ;  $516,11$  e  $484,72$  que correspondem respectivamente às espécies  $[\text{In}(\text{HL}1)(\text{H}_2\text{L}1)]^+$ ,  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{CH}_3\text{OH}]^+$  e  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}]^+$ , respectivamente.

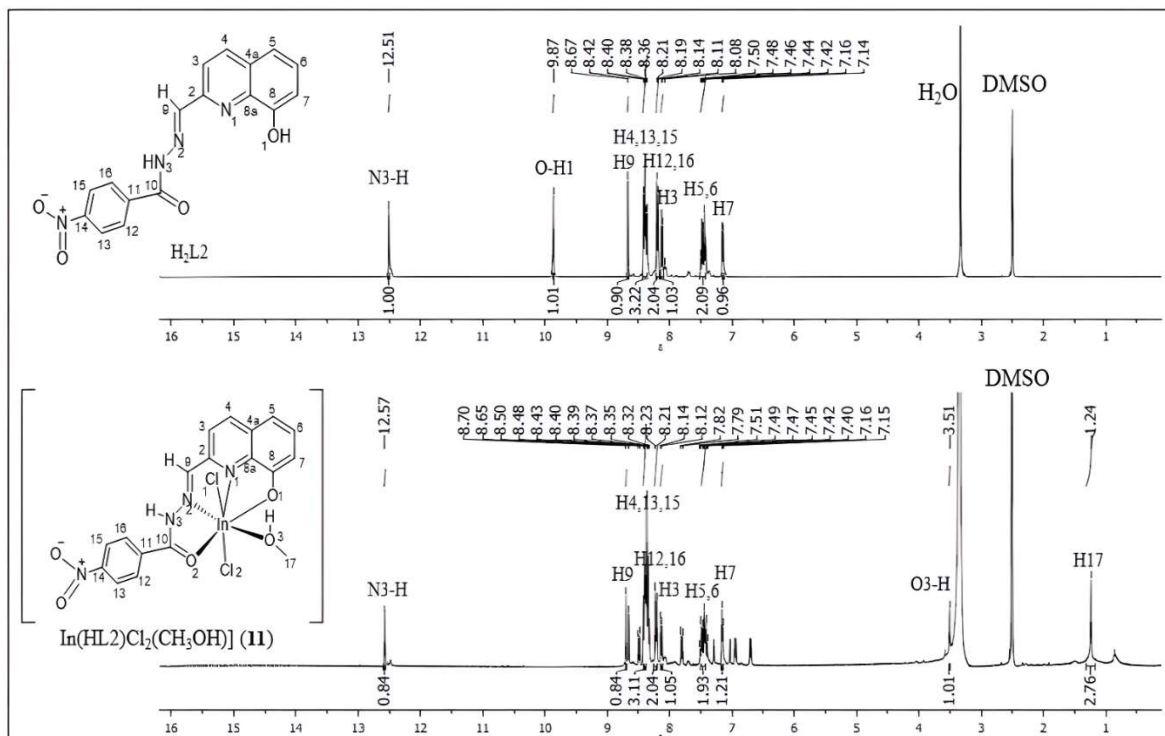
## 6.6. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN das hidrazonas derivadas da 2-formil-8-hidroxiquinolina e de seus complexos de índio(III) (**10-11**) foram registrados em  $\text{DMSO-d}_6$  e estão ilustrados nas Figura 6.11 e Figura 6.12. O espectro de  $^1\text{H}$  do complexo  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**) encontra-se no Apêndice III (ver Figura S.19). As ressonâncias de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram atribuídas com base nos deslocamentos químicos e em suas respectivas multiplicidades. No espectro de  $^1\text{H}$  RMN do complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}1)(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (**10**), o sinal de O-H é observado em  $\delta$  9,91 ppm com uma integração de 0,5, de acordo com a presença de um ligante neutro e um aniônico na esfera de coordenação do índio(III). Esse sinal está ausente nos espectros de  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) e  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**). Assim, no complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}1)(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (**10**), o ligante 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitroimidazolhidrazona

está ligado ao centro de índio(III) através do sistema quelante O-Npy-N, enquanto nos complexos  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) e  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**), a 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitrobenzenohidrazona está coordenada ao índio(III) através do sistema quelante O-Npy-N-O. Os sinais de todos os hidrogênios sofrem deslocamentos significativos em relação às suas posições nos ligantes livres.



**Figura 6.11.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ligante  $\text{H}_2\text{L1}$  e do complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (**10**) em  $\text{DMSO-d}_6$ .



**Figura 6.12.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ligante  $\text{H}_2\text{L}_2$  e do complexo  $[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (11) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

Os sinais atribuídos nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos ligantes  $\text{H}_2\text{L}_1$ ,  $\text{H}_2\text{L}_2$  e dos complexos (10-12) estão listados na Tabela 6.6.

**Tabela 6.6.** Atribuição do deslocamento químico  $\delta$  (ppm) e multiplicidade dos sinais de RMN de  $^1\text{H}$  dos ligantes  $\text{H}_2\text{L1}$ ,  $\text{H}_2\text{L2}$  e dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**),  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**).

Atribuições	$\text{H}_2\text{L1}$	$\text{H}_2\text{L2}$	( <b>10</b> )	( <b>11</b> )	( <b>12</b> )
	$\delta$ ppm	$\delta$ ppm	$\delta$ ppm	$\delta$ ppm	$\delta$ ppm
N3-H	12,27(s)	12,51(s)	12,27(s)	12,57(s)	12,54
O1-H	9,91(s)	9,87(s)	9,91(s)	---	---
O3-H	---	---	---	3,51(s)	---
H4	8,39(s)	8,48(m)	8,37(s)	8,48(m)	8,48(m)
H9	8,36(s)	8,67(s)	8,35(s)	8,70(s)	8,65(s)
H12	8,38(s)	8,21(d)	8,38(s)	8,21(d)	8,10(d)
H3	8,12(s)	8,14; 8,13(d)	8,14(s)	8,14; 8,12(d)	8,40(d)
H14	7,88(s)	---	7,88(s)	---	---
H6	7,47; 7,45; 7,42(t)	7,45; 7,42; 7,40 (t)	7,47; 7,45; 7,42(t)	7,45; 7,42; 7,40(t)	7,46; 7,44; 7,16(t)
H5	7,49; 7,47(d)	7,45; 7,44(d)	7,45; 7,47(d)	7,45(d)	7,46(d)
H7	7,14; 7,12(d)	7,16; 7,15(d)	7,14; 7,12(d)	7,16; 7,15(d)	7,16; 7,15(d)
H11	5,56(s)	---	5,56(s)	---	---
H12	---	8,21; 8,19(d)	---	8,21; 8,19(d)	8,10; 8,9(d)
H13	---	8,42(m)	---	8,43(m)	8,49(m)
H15	---	8,50; 8,48; 8,43; 8,40(m)	---	8,50;8,48;8,43; 8,40(m)	8,50;8,48;8,43; 8,40(m)
H16	---	8,21; 8,19(d)	---	8,21; 8,19(d)	8,20; 8,19(d)
H17	---	---	---	1,24(s)	3,46; 3,45; 3,44; 3,43(q)
H18	---	---	---	---	1,07; 1,05; 1,03(t)

M = (s) simpleto, (d) duplete, (t) triplete, (q) quarteto, --- Ausência de sinal

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos complexos (**10-11**) e seus respectivos ligantes  $\text{H}_2\text{L1}$  e  $\text{H}_2\text{L2}$  estão ilustrados nas Figura 6.13 e Figura 6.14. O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**) encontra-se no Apêndice III (ver Figura S.20).

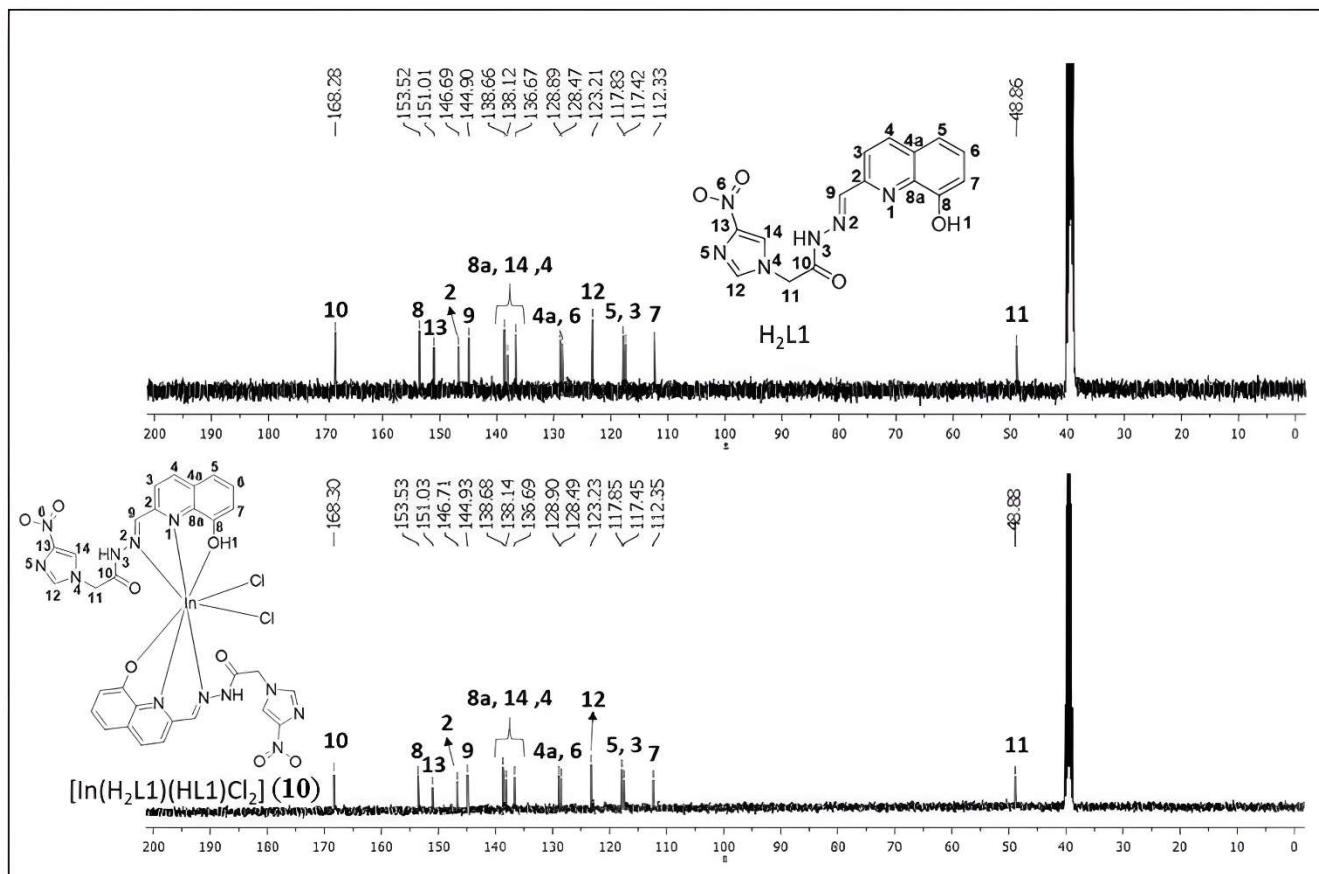


Figura 6.13. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante  $\text{H}_2\text{L1}$  e do complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (10) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

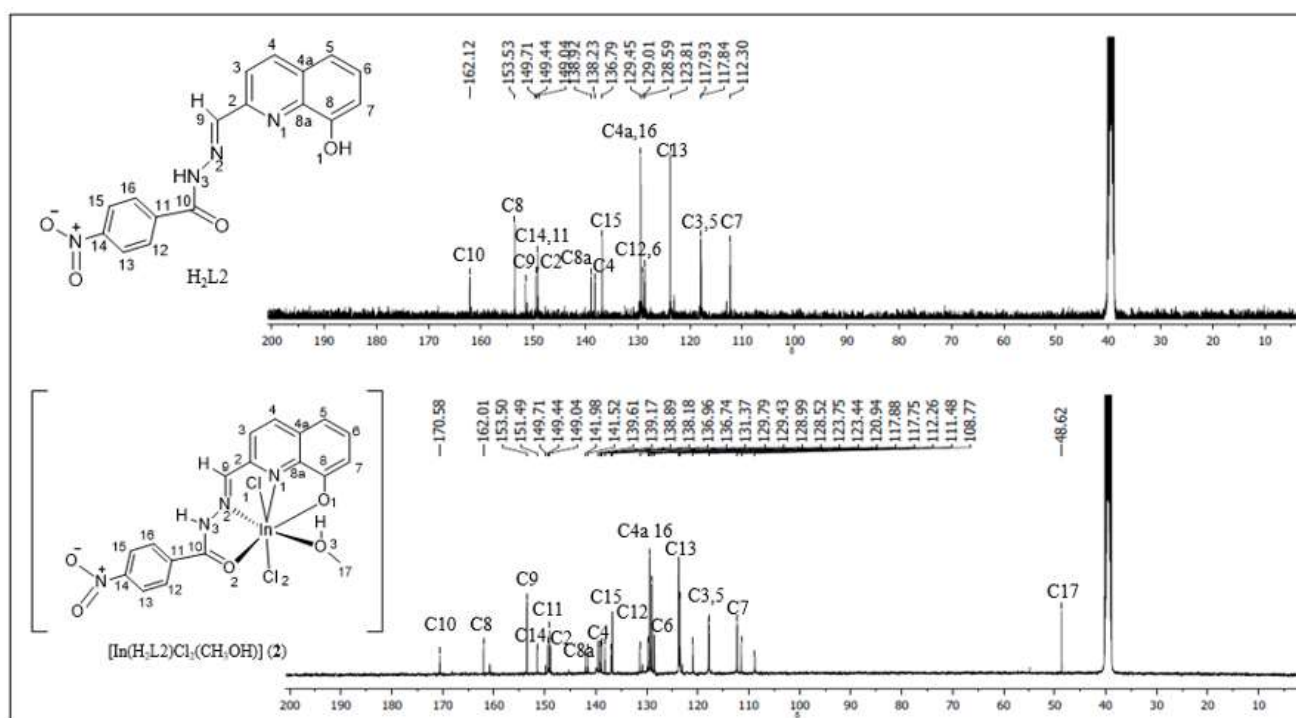


Figura 6.14. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante  $\text{H}_2\text{L2}$  e do complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (11). em  $\text{DMSO-d}_6$ .

Os sinais de C=N e dos carbonos aromáticos sofrem deslocamentos significativos nos espectros dos complexos (**10-12**). O sinal de C=O em  $\delta$  168,28 ppm no espectro de H<sub>2</sub>L1 não desloca no espectro do complexo [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (**10**), sugerindo que os oxigênios carbonílicos não estão coordenados ao centro metálico. O sinal de C=O em  $\delta$  162,12 ppm no espectro de H<sub>2</sub>L2 sofre um deslocamento significativo para 170,58 ppm no complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (**11**), indicando coordenação através do oxigênio carbonílico, mas não desloca significativamente no espectro do complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**), sugerindo que a interação do centro de índio(III) com o oxigênio carbonílico no complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**) pode ser mais fraca. Além disso, a presença de metanol coordenado é confirmada pela presença de um singleto em  $\delta$  1,24 ppm e um singleto em  $\delta$  3,51 ppm no espectro de <sup>1</sup>H RMN e uma um sinal em  $\delta$  48,6 ppm no espectro de <sup>13</sup>C RMN do complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (**11**).

A presença de etanol no complexo [In(HL2)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**) é confirmada pela observação de um tripleto em  $\delta$  1,05 ppm e um quarteto em  $\delta$  3,45 ppm em seu espectro de <sup>1</sup>H RMN, e de sinais em  $\delta$  56,50 ppm (CH<sub>3</sub>) e  $\delta$  19,02 ppm (CH<sub>2</sub>) no espectro de <sup>13</sup>C RMN (ver Figura S.19 no Apêndice III).

As atribuições dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C dos ligantes H<sub>2</sub>L1, H<sub>2</sub>L2 e dos complexos [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (**10**), [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (**11**) e [In(HL2)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**) estão listados na Tabela 6.7.

**Tabela 6.7.** Atribuição dos sinais de RMN de <sup>13</sup>C dos ligantes H<sub>2</sub>L1, H<sub>2</sub>L2 e dos complexos [In(H<sub>2</sub>L1)(HL1)Cl<sub>2</sub>] (**10**), [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (**11**) e [In(HL2)Cl<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH (**12**).

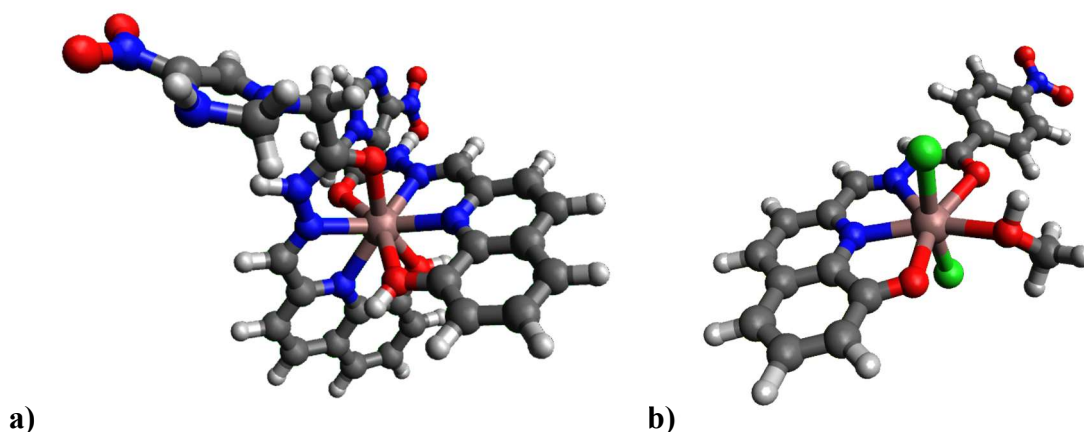
Atribuição	H <sub>2</sub> L1	H <sub>2</sub> L2	( <b>10</b> )	( <b>11</b> )	( <b>12</b> )
			$\delta$ ppm	$\delta$ ppm	$\delta$ ppm
C2	146,69	138,92	146,71	149,04	139,34
C3	117,42	117,93	117,45	117,75	118,20
C4	136,67	136,79	136,61	141,52	137,19
C4a	128,89	129,45	128,90	129,43	129,87
C5	117,83	117,84	117,85	117,88	118,33
C6	128,47	128,59	128,49	128,52	123,18

Cont. **Tabela 6.8.** Atribuição dos sinais de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes  $\text{H}_2\text{L1}$ ,  $\text{H}_2\text{L2}$  e dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**),  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**).

C7	112,33	112,30	112,35	112,26	112,71
C8	153,52	153,53	153,51	162,01	153,95
C8a	138,66	138,23	138,68	141,98	138,63
C9	144,90	151,50	146,71	153,50	153,31
C10	168,28	162,12	168,28	170,58	162,48
C11	48,66	149,49	48,86	149,71	149,49
C12	123,23	129,01	123,21	139,61	129,44
C13	151,01	123,81	151,03	123,75	123,90
C14	138,12	149,71	138,68	151,49	149,29
C15	---	136,79	---	141,52	124,21
C16	---	128,59	---	129,43	128,98
C17	---	---	---	48,62	56,50
C18	---	---	--	--	19,02

## 6.7. Estudos Teóricos

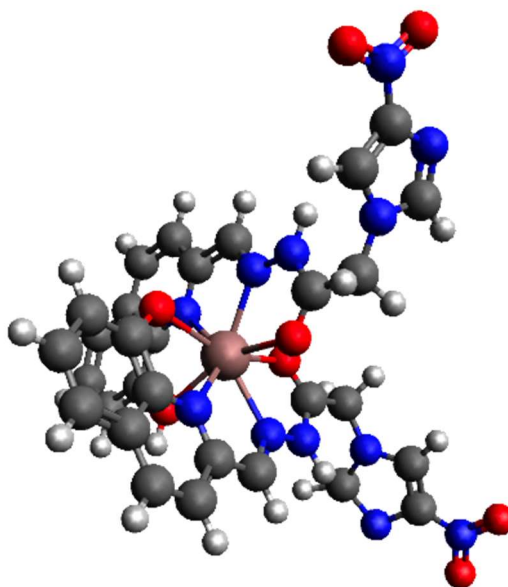
Foram realizados estudos teóricos a fim de avaliar a partir do método DFT, as estruturas e outras propriedades dos complexos sintetizados. As estruturas otimizadas dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) estão ilustradas na Figura 6.15.



**Figura 6.15.** Geometria otimizada PBE0/TZVPP de a)  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) e b)  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**). Os elementos em verde são cloretos, em vermelho são oxigênios, os azuis são nitrogênios, os pretos são carbonos e os brancos são hidrogênios.

O complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) apresenta número de coordenação (NC) 8, com oxigênio fenólico e o nitrogênio interagindo com centro de índio(III), juntamente com dois cloretos. A interação do oxigênio fenolato com índio(III) resulta em uma distância de ligação de 2,188 Å. Para a interação envolvendo o oxigênio fenólico, essa distância de ligação aumenta para um valor de 2,648 Å, como esperado. A ordem de ligação de Mayer para a ligação O1-In envolvendo o grupo fenólico é de 0,15, embora a interação no estado protonado seja mais fraca, ainda é significativa.

A espécie  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})]^{2+}$ , com NC 8 (Figura 6.16), também foi calculada, sendo prevista como estável, mas com 30,7 kcal mol<sup>-1</sup> menos estável que o complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**).



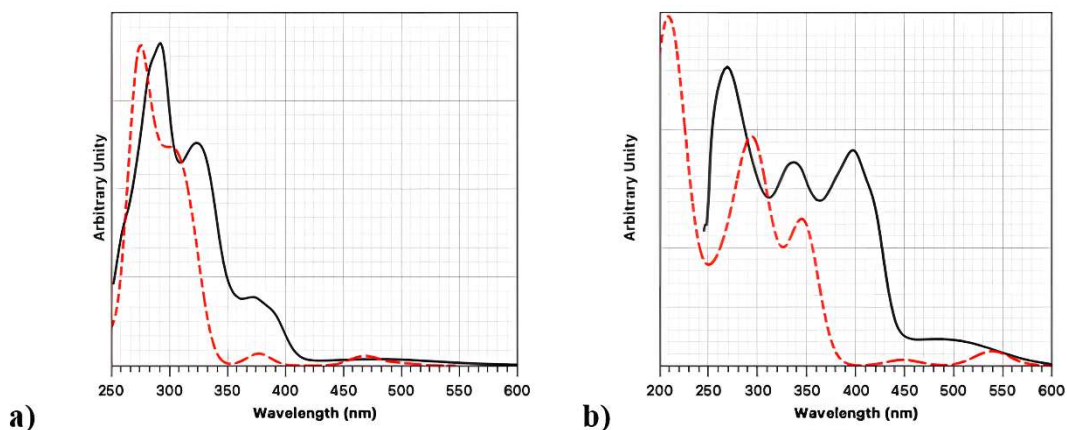
**Figura 6.16.** Estrutura otimizada para a espécie  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})]^{2+}$ , utilizando o método PBE0/def2-TZVPP

O complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) apresenta (NC) 7, com comprimentos de ligação que estão de acordo com os valores experimentais. As diferenças entre os comprimentos de ligação estimados e experimentais encontram-se na Tabela 6.9.

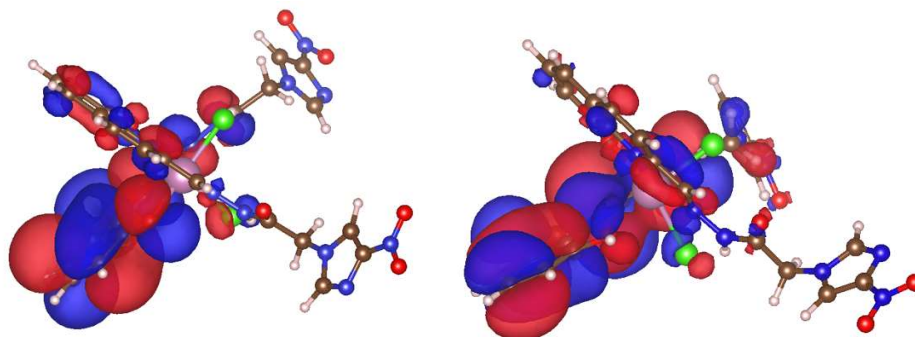
**Tabela 6.9.** Distâncias de ligação calculadas pelo método PBE0/TZVPP (valores experimentais em parêntesis).

Distâncias de ligação (Å)	$[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$	$[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$
O1-In	2,188	2,197 (2,220)
	2,648	
O2-In	-	2,487 (2,348)
N1-In	2,411	2,279 (2,273)
	2,326	
N2-In	2,482	2,442 (2,372)
	2,719	
In-Cl	2,509	2,448 (2,442)
	2,511	2,433 (2,437)
In-O3CH <sub>3</sub>	-	2,316 (2,216)

Os espectros eletrônicos calculados dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) estão em concordância com os espectros experimentais. A Figura 6.17 ilustra a comparação entre os espectros UV-vís calculados e experimentais para os complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**). Os espectros experimentais e calculados apresentam o mesmo padrão, com três bandas em 277, 322 e 408 nm para o  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**). O espectro calculado do  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) também apresenta três bandas em 210, 295 e 346 nm, com o mesmo padrão que o espectro experimental. A análise dos Orbitais de Transição Natural sugeriu que as absorções apresentam caráter conforme mostrado na Figura 6.18.



**Figura 6.17.** Cálculos de TD-DFT no nível de teoria PBE0 para a)  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) e b)  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**). Espectros eletrônicos experimentais (linha cheia) e teóricos (linha tracejada).



**Figura 6.18.** Orbitais moleculares envolvidos nas transições eletrônicas do complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**).

## 6.8. Conclusões

A reação de  $\text{InCl}_3$  com a 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitroimidazol hidrazona ( $\text{H}_2\text{L1}$ ) em etanol resultou na formação do complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) como produto. A reação com 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitrobenzeno hidrazona ( $\text{H}_2\text{L2}$ ) em metanol produziu o complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**), enquanto que o complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**) foi formado utilizando etanol como solvente. Cálculos teóricos de DFT e dados experimentais de infravermelho e RMN sugeriram que o complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) apresenta número de coordenação (NC) = 8, com um ligante neutro e um aniônico coordenados ao centro metálico através do sistema quelante tridentado O-Npy-N, juntamente com dois íons cloreto. Os dados experimentais indicaram que no complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**), um ligante aniônico está ligado ao centro de índio(III) através do sistema quelante tetradentado O-Npy-N-O, junto com dois cloretos e uma molécula de metanol de coordenação. Cálculos de DFT revelaram que o complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) apresenta NC = 7, com comprimentos de ligação de acordo com os valores experimentais obtidos da estrutura cristalina. No complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**), um ligante aniônico HL2 está ligado ao centro de índio(III) juntamente com dois íons cloreto. Dados de RMN sugerem que a interação do oxigênio carbonílico com o centro de índio(III) pode ser mais fraca do que no caso do complexo (**11**) com o mesmo ligante. Os espectros eletrônicos calculados dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) estavam em concordância com os espectros experimentais e permitiram a atribuição dos picos de absorção às transições  $\pi - \pi^*$ .

## Capítulo 7 - Conclusões Gerais

No presente trabalho obtivemos novos complexos de índio(III). Foram obtidos os complexos  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  (**1**),  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**),  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (**3**),  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) bipy = bipyridina e  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  phen = 1,10-fenantrolina (**5**). Bipyridina e 1,10-fenantrolina foram usados como co-ligantes cuja planaridade poderia vetorizar os complexos para se intercalarem entre as bases do DNA.

Para alguns complexos de índio(III) e lapachol (**1-4**), desenvolvidos nesse trabalho, a citotoxicidade frente às células MCF-7 e MDA-MB-231 de tumores mamários não foi satisfatória. Contudo, a citotoxicidade aumentou significativamente ao coordenar o lapachol ao centro metálico de índio(III) juntamente com a 1,10'-fenantrolina no complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**). 1,10-fenantrolina e o complexo (**5**) mostraram efeitos citotóxicos frente às células MCF-7 e MDA-MB cells, sendo que o complexo (**5**) foi três vezes mais ativo do que phen contra células MCF-7. O complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**), em sua concentração de  $\text{IC}_{50}$ , reduziu significativamente a formação de colônias de células MDA-MB-231. O complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) mostrou efeitos citotóxicos contra células não malignas do tipo HEK-293, mas teve seu índice de seletividade trinta e três vezes maior que o fármaco de controle doxorrubicina nas células MCF-7 e sete vezes maior do que a doxorrubicina nas células MDA-MB-231. Assim, o uso de 1,10-fenantrolina como co-ligante revelou-se uma importante estratégia de aumento de citotoxicidade frente a células de tumores de mama. Embora os complexos (**4**) e (**5**) tenham interagido *in vitro* com o CT-DNA por um modo intercalativo, apenas o complexo (**5**) mostrou atividade citotóxica contra células MCF-7 e MDA-MB.

Foram sintetizados dois complexos inéditos à base de índio(III) e lausona, um análogo de lapachol, com os co-ligantes 2,2'-bipyridina e 1,10'-fenantrolina,  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) e  $[\text{In}(\text{lau})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**7**). A estrutura cristalográfica do complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**), mostrou que 2,2'-bipyridina e o ligante lausona desprotonado coordenam-se ao centro metálico de índio(III) de forma bidentada, formando anéis de cinco membros. O complexo  $[\text{In}(\text{lau})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**6**) possui uma coordenação octaédrica distorcida. Testes de citotoxicidade futuros serão realizados com os complexos de índio(III) com lausona e os coligantes 2,2'-bipyridina e 1,10'-fenantrolina afim de investigar qual o potencial antitumoral destes compostos.

Foram obtidos dois complexos de índio(III) inéditos à base de naringenina, um composto da classe dos flavonoides com importantes propriedades antioxidantes:  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  (**8**) e  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**). Testes biológicos serão realizados em trabalhos futuros com esses complexos a fim de estudar as suas propriedades antimicrobianas e antitumorais. Além da resistência aos tratamentos convencionais que os quadros de neoplasia apresentam, existe um problema grave em termos dos tratamentos utilizando antibióticos em quadros infecciosos. A resistência adquirida que os microorganismos vem desenvolvendo ao uso com fármacos tradicionais é um desafio no desenvolvimento de novos compostos para a terapêutica.

A reação de  $\text{InCl}_3$  com 2-formil-8-hidroxiquinolina-4-nitroimidazol hidrazona ( $\text{H}_2\text{L1}$ ) e 2-formil-hidroxiquinolina-4-nitrobenzeno hidrazona ( $\text{H}_2\text{L2}$ ). A reação do ligante  $\text{H}_2\text{L1}$  com  $\text{InCl}_3$  em etanol deu a origem ao complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**). A reação com o ligante ( $\text{H}_2\text{L2}$ ) em metanol deu como produto o complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**), enquanto que o complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**) foi formado utilizando-se etanol como solvente. Os estudos teóricos de DFT juntamente com dados experimentais da caracterização físico-química sugeriram que o complexo  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) apresenta número de coordenação igual a oito, com um ligante neutro e um aniônico coordenados ao centro metálico de índio(III) através do sistema quelante tridentado O-Npy-N, juntamente com dois íons cloreto. Os dados experimentais indicaram que no complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**), um ligante aniônico está ligado ao centro de índio(III) através de um sistema quelante tetradentado O-Npy-N-O, junto com dois íons cloreto e uma molécula de metanol de coordenação. Os cálculos de DFT também demonstraram que o complexo  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) apresenta número de coordenação igual a sete, com comprimentos de ligação de acordo com os valores experimentais obtidos da estrutura cristalina. Adicionalmente os espectros eletrônicos calculados dos complexos  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (**10**) e  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (**11**) estão em concordância com os espectros obtidos experimentalmente e permitiram a atribuição dos picos de absorção associados às transições eletrônicas do tipo  $\pi-\pi^*$ .

Este trabalho é uma importante contribuição para o entendimento da química de coordenação de índio(III). Os complexos de  $^{111}\text{In}$  desde os anos 80 até o presente momento, são estudados como agentes de diagnóstico tendo uma importante contribuição na Medicina Nuclear. Contudo, ainda há muito o que se explorar em termos das propriedades farmacológicas e mecanismos de ação de complexos não radioativos de índio(III).

**APÊNDICE I - Artigos publicados**



## Indium(III) complexes with lapachol: cytotoxic effects against human breast tumor cells and interactions with DNA

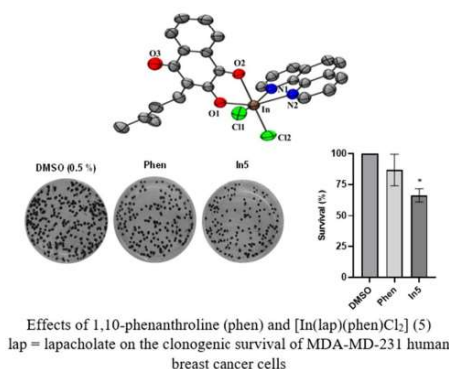
Alexandre B. de Carvalho<sup>1</sup> · Ana M. S. Souza<sup>1</sup> · Larissa Pereira Bento<sup>2</sup> · Mariana de Oliveira Silva<sup>2</sup> · Elaine M. Souza-Fagundes<sup>2</sup> · Renata Diniz<sup>1</sup> · Heloisa Beraldo<sup>1</sup>

Received: 7 December 2023 / Accepted: 14 June 2024  
© The Author(s), under exclusive licence to Society for Biological Inorganic Chemistry (SBIC) 2024

### Abstract

Lapachol (2-hydroxy-3-(3-methylbut-2-en-1-yl)naphthalene-1,4-dione) is a 1,4-naphthoquinone-derived natural product that presents numerous bioactivities and was shown to have cytotoxic effects against several human tumor cells. Indium(III) complexes with a variety of ligands also exhibit antineoplastic activity. Indium(III) complexes [In(lap)Cl<sub>2</sub>].4H<sub>2</sub>O (**1**), [In(lap)<sub>2</sub>Cl(Et<sub>3</sub>N)] (**2**), [In(lap)<sub>3</sub>].2H<sub>2</sub>O (**3**), [In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>] (bipy = 2,2'-bipyridine (**4**)) and [In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>] (phen = 1,10-phenanthroline (**5**)) were obtained with 2-hydroxy-3-(3-methylbut-2-en-1-yl)naphthalene-1,4-dione (lapachol). Crystal structure determinations for (**4**) and (**5**) revealed that the indium(III) center is coordinated to two O atoms from lapachol, two N atoms from 1,10-phenanthroline or 2,2'-bipyridine, and two chloride anions, in a distorted octahedral geometry. Although both complexes (**4**) and (**5**) interacted with CT-DNA *in vitro* by an intercalative mode, only **5** exhibited cytotoxicity against MCF-7 and MDA-MB breast tumor cells. 1,10-phenanthroline and complex (**5**) presented cytotoxic effects against MCF-7 and MDA-MB cells, with complex (**5**) being threefold more active than 1,10-phenanthroline on MCF-7 cells. In addition, complex (**5**) significantly reduced the formation of MDA-MB-231 colonies in a clonogenic assay. The foregoing results suggest that further studies on the cytotoxic effects and cellular targets of complex (**5**) are of utmost relevance.

### Graphical abstract



**Keywords** Lapachol · Indium(III) complexes · Cytotoxic activity · Breast tumor cells

Extended author information available on the last page of the article

Published online: 16 July 2024

Springer

## Introduction

Indium(III) complexes with  $^{111}\text{In}$  have several applications in Diagnostic Nuclear Medicine for clinical imaging of infection and inflammatory lesions. Tumor localization with  $^{111}\text{In}$ -labeled lymphocytes has also been described in patients with metastatic melanoma.  $^{111}\text{In}$ -maltolate is one of the compounds that has been investigated for cell labeling in single-photon emission computerized tomography (SPECT) imaging along with its biodistribution [1]. The pharmacological uses of non-radioactive indium(III) complexes have not been extensively investigated. We demonstrated that indium(III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones are highly cytotoxic to leukemia and solid human tumor cells [2–4]. We also demonstrated that the  $^{114\text{m}}\text{In}$  complexes, obtained upon neutron activation of the non-radioactive counterparts, were significantly more potent as cytotoxic agents against MCF-7 human breast cancer cells [5]. Hence, indium(III) complexes with bioactive ligands might be an interesting platform for the development of new antineoplastic agents.

Lapachol (2-hydroxy-3-(3-methylbut-2-en-1-yl)naphthalene-1,4-dione) is a natural product derived from 1,4-naphthoquinone which was originally isolated from *Tabebuia avellanedae* in 1882 and subsequently found in several other genera. A wide range of bioactivities has been described for lapachol and its semi-synthetic derivatives, such as antileishmanial, anticarcinoma, anti-inflammatory, antimalarial, antiseptic, antitumor, and antimicrobial activities [6].

Lapachol has been tested in vitro against numerous cancer cell lines and in vivo in animal models. It has been shown that lapachol significantly inhibited the growth of C6 glioma both in vivo and in vitro, and that the mode of action might be associated with its ability to inhibit topoisomerase TOPI and TOPII activities, as well as TOPII expression [7]. However, the occurrence of adverse side effects, along with its poor water solubility and low bioavailability have limited its potential clinical use [8].

Metal complexes with lapachol and its derivatives also show a wide range of pharmacological applications. In previous work, we demonstrated that the coordination of lapachol to bismuth(III) improves its anti-inflammatory and anti-angiogenic activities [9].

$[\text{M}(\text{lap})_2(\text{phen})]$  M = copper(II), cobalt(II), nickel(II), phen = 1,10-phenanthroline showed cytotoxic effects against HeLa human cervical carcinoma, HepG-2 human liver hepatocellular carcinoma, and HT-29 human colorectal adenocarcinoma cells at low concentrations. The complexes interacted with DNA by an intercalative mode favored by the presence of 1,10-phenanthroline [10].

The ruthenium(II)  $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$  complex, dppm = bis(diphenylphosphine)methane, showed high in

vitro cytotoxicity against MDA-MB-231, MCF-7, A549, and DU-145 tumor cells with high selectivity index against MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells. This complex induced the formation of reactive oxygen species (ROS) which might cause DNA damage in MDA-MB 231 cells. Moreover,  $[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{lap})]\text{PF}_6$ , bipy = 2,2'-bipyridine exhibited cytotoxic activity against a panel of tumor cell lineages [11].

It is well known that 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine can interact with DNA by intercalation causing the death of cancer cells [12, 13]. Hence, in the context of a research program that aims to contribute to the discovery of new indium-based antineoplastic drug prototypes, in the present work, we prepared indium(III) complexes with lapachol, varying the In(III):lapachol molar ratio and adding or not 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline as co-ligands.

## Experimental section

### Materials and instruments

Indium(III) chloride, 2,2'-bipyridine (bipy), 1,10-phenanthroline (phen), 4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)naphthalene-1,2-dione (lapachol), triethylamine, calf-thymus DNA (CT-DNA) and ethidium bromide (EB) were purchased from Sigma-Aldrich and used as received.

Partial elemental analyses were performed on a Perkin Elmer CHN 2400 analyzer. Molar conductivity measurements were performed on a YSI model 31 conductivity bridge. Melting points were determined using a Mettler MQAPF-302 apparatus. Thermogravimetric analyses were carried out using a Shimadzu thermal analysis equipment, model 60H, with an alumina sample holder. A Perkin Elmer FT-IR Spectrum GX spectrometer was employed to record infrared spectra ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ ) using KBr plates.

Nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were obtained with a Bruker Avance III HD (400 MHz) or a Bruker Ascend Neo (600 MHz) spectrometer using dimethylsulfoxide ( $\text{DMSO}-d_6$ ) as the solvent. The  $^1\text{H}$  resonances were assigned based on chemical shifts and multiplicities. The carbon type (C, CH) was determined by using distortionless enhancement by polarization transfer (DEPT-135) experiments. Electronic spectra were recorded on a Varian Cary 60 Bio spectrophotometer using 1 cm quartz cells.

Mass spectrometry analyses were performed on an Autoflex III Smartbeam MALDI-TOF/TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight) mass spectrometer (Bruker Daltonics, Billerica, USA), controlled by the FlexControl 3.3 software (Bruker Daltonics). Samples were prepared in DMSO and were mixed with super-2-hydroxy-5-methoxybenzoic acid (s-DHB 5 mg/mL in

acetone) (1:1, v/v) (for complexes **1**, **3**, **4** and **5**) or with malononitrile 1 mg/100  $\mu\text{L}$  (for complex **2**) directly on an MTP AnchorChip 384 MALDI target plates (Bruker Daltonics) and dried at room temperature. Masses were obtained in linear and reflective modes, employing an external calibration, the Protein Calibration Standard (Bruker Daltonics). Two software packages were used to analyze spectrometry data: (a) FlexAnalysis 3.3 (Bruker Daltonics) and (b) mmass (open-source mass spectrometry tool) (c) EnviPat [14] See Figs. S24–S28, Electronic Supplementary Material).

### Synthesis of the indium(III) complexes

Complex  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**1**) was obtained by stirring under reflux a methanolic solution of lapachol with indium(III) chloride in 3:1 ligand-to-metal molar ratio. The obtained yellow solid was washed with methanol and dried under reduced pressure.

$[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**1**): Yellow solid. Anal. Calc. for  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{InO}_7$  (FW = 499.05  $\text{g mol}^{-1}$ ): C, 36.10%; H, 4.24%; Found: C, 35.82%; H, 4.27%. Molar conductivity ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , DMSO): 10.09  $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu(\text{OH})_{\text{water}}$  3527,  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1631. MALDI-TOF MS: 504.9148  $m/z$   $\delta^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 5.10 (1H, t, H2), 3.15 (2H, t, H3), 1.70 (3H, s, H4), 1.61 (3H, s, H5) 7.99/ (2H, d, H6, H9), 7.82/(2H, t, H7, H8).  $\delta^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 182.16 (C1), 156.12 (C2), 124.01 (C3), 185.32 (C4), 126.70 (C5), 135.58 (C6), 134.24 (C7), 126.77 (C8), 130.97 (C9), 132.33 (C10), 23.09 (C11), 121.70 (C12), 132.49 (C13), 26.52 (C14), 18.82 (C15). Melting point: 170–173 °C. Yield: 36%.

Complex  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**) was obtained by stirring under reflux for 4 h a methanolic solution of lapachol with indium(III) chloride and triethylamine in 3:1:1 ligand-to-metal-to triethylamine molar ratio. The obtained solid was washed with cold methanol and dried under reduced pressure.

$[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**): Red dark solid. Anal. Calc. for  $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{ClInNO}_6$  (FW = 733.98  $\text{g mol}^{-1}$ ): C, 58.91%; H, 5.63%; N, 1.91%. Found: C, 58.86%; H, 5.54%; N, 1.79%. Molar conductivity ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , DMSO): 9.55  $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1584,  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1624. MALDI-TOF MS: 697.3921  $m/z$   $\delta^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 5.11 (1H, t, H2), 3.08 (2H, t, H3), 1.73 (3H, s, H4), 1.62 (3H, s, H5) 7.97 (2H, d, H6, H9), 7.81(2H, t, H7, H8), 3.35 (2H,q,H10), 1.18(3H,t,H11).  $\delta^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 181.18 (C1), 155.2 (C2), 122.91 (C3), 184.2 (C4), 125.65 (C5), 134.51 (C6), 133.15 (C7), 125.71 (C8), 129.9 (C9), 131.9(C10), 22.06 (C11), 120.73 (C12), 131.9 (C13), 25.47 (C14), 17.78 (C15), 45.60 (C16), 8.56 (C17). Melting point: 205–206.7 °C. Yield: 32%.

Complex  $[\text{In}(\text{lap})_3]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**3**) was obtained by stirring under reflux for 4 h a methanolic solution of lapachol with

indium(III) chloride and sodium acetate in 3:1:1 ligand-to-metal-to sodium acetate molar ratio. The obtained yellow solid was washed with cold methanol and dried under reduced pressure.

$[\text{In}(\text{lap})_3]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**3**): Yellow solid. Anal. Calc. for  $\text{C}_{45}\text{H}_{43}\text{InO}_{11}$  (FW = 874.63  $\text{g mol}^{-1}$ ): C, 61.80%; H, 4.96%. Found: C, 62.28%; H, 5.14%. Molar conductivity ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , DMSO): 11.82  $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1663. MALDI-TOF MS: 504.9567  $m/z$ ,  $\delta^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 5.11 (1H, t, H2), 3.16 (2H, t, H3), 1.71 (3H, s, H4), 1.62 (3H, s, H5) 8.00 (2H, d, H6, H9), 7.83(2H, t, H7, H8).  $\delta^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 181.09 (C1), 155.06 (C2), 122.91 (C3), 184.22 (C4), 125.62 (C5), 134.48 (C6), 133.14 (C7), 125.68 (C8), 129.93 (C9), 131.89 (C10), 22.01 (C11), (C13), 25.43 (C14), 17.74 (C15). Melting point: 230.0–233.6 °C. Yield: 51%.

Complex  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) was obtained by stirring under reflux for 24 h a methanolic solution of lapachol with indium(III) chloride and 2,2'-bipyridine in 1:1:1 ligand-to-metal-to-2,2'-bipyridine molar ratio. The obtained red crystals were washed with methanol and dried under reduced pressure.

$[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**): Anal. Calc. for  $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{InN}_2\text{O}_3$  (FW = 583.17  $\text{g mol}^{-1}$ ): C, 51.49%; H, 3.63%; N, 4.80%. Found: C, 51.45%; H, 3.51%; N, 4.75%. Molar conductivity ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , DMSO): 10.35  $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1576,  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1616.6. MALDI-TOF MS: 547.7532  $m/z$ .  $\delta^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 5.13 (1H, t, H2), 3.19 (2H, t, H3), 1.74 (3H, s, H4), 1.62 (3H, s, H5) 7.98 (2H, d, H6, H9), 7.96 (2H, t, H7, H8), 8.70 (2H, d, H1'), 8.41 (2H, d, H4'), 7.94 (2H, t, H2'), 7.48 (2H, t, H3').  $\delta^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 183.94 (C1), 159.68 (C2), (C3), 188.40 (C4), 125.62 (C5), 134.48 (C6), 133.14 (C7), 125.68 (C8), 129.93 (C9), 131.89 (C10), 22.01 (C11), 132.21 (C13), 25.43 (C14), 17.74 (C15), 150.23 (C16), (C17), 138.26 (C18), 121.37 (C19), 156.16 (C20). Melting point: 242.5 °C. Yield: 83%.

Complex  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**) was obtained by stirring under reflux for 24 h a methanolic solution of lapachol with indium(III) chloride and 1,10'-phenanthroline in 1:1:1 ligand-to-metal-to 1,10'-phenanthroline molar ratio. The obtained red crystals were washed with cold methanol and then dried under reduced pressure.

$[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**): Red crystals. Anal. Calc. for  $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{InN}_2\text{O}_3$  (FW = 607.19  $\text{g mol}^{-1}$ ): C, 53.41%; H, 3.49%; N, 4.61%. Found: C, 53.49%; H, 3.30%; N, 3.80%. Molar conductivity ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , DMSO): 11.13  $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . IR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1520,  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1808. MALDI-TOF MS: 614.8246  $m/z$ .  $\delta^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 4.90 (1H, t, H2), 3.04 (2H, t, H3), 1.74 (3H, s, H4), 1.61 (3H, s, H5), 8.36 (2H, d, H6, H9), 7.74 (2H, t, H7, H8), 9.54 (2H, d, H1'), 9.03 (2H, d, H3'), 8.29 (2H, d, H4'), 7.58 (2H, t, H2').

$\delta^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO- $d_6$ ): 167.84 (C1), 141.9 (C2), 124.5 (C3), 170.45 (C4), 127.64 (C5), 139.56 (C6), 128.47 (C7), 127.65 (C8), 137.22 (C9), 130.08 (C10), 23.44 (C11), 122.96 (C12), 123.00 (C13), 29.96 (C14), 18.66 (C15), 148.85 (C16). Melting point: 235 °C. Yield: 24%.

Figure S0. (Electronic Supplementary Information, ESI) shows the atom numbering for lapachol, 2,2'-bipyridine, and 1,10-phenanthroline.

### Single-crystal X-ray diffraction

The single crystal X-ray diffraction data for complexes (**4**) and (**5**) were collected in a Rigaku Sinergy-S diffractometer using  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1.54184 \text{ \AA}$ ) radiation at room temperature (298 K). The data collection, cell refinements, and data reduction were performed using the CRYSLISPRO software [15]. The structures were resolved by direct methods and refined by SHELX programs [16] using OLEX2 system [17]. All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic thermal parameters. H atoms connected to carbon were placed in idealized positions and treated by a rigid model, with  $\text{Uiso}(\text{H}) = 1.2 \text{ Ueq}$  for CH and  $\text{CH}_2$  groups, and  $\text{Uiso}(\text{H}) = 1.5 \text{ Ueq}$  for methyl group. CCDC 2255204 and 2255205 have supplementary crystallographic data for complexes (**4**) and (**5**), respectively. These data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre at <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html>. The figures were drawn using the ORTEP-3 for Windows [18], PovRay [19], VESTA [20], ToposPro [21] and Mercury [22] programs.

### Cells cultures

Breast cancer cells (MDA-MB-231 and MCF-7), as well as the non-tumoral HEK-293 (embryonic kidney) cells were kindly donated by Prof. Dr. Marcel Leist (University of Konstanz/Germany). Cell lineages were cultivated with DMEM high glucose medium (Sigma Aldrich, USA) supplemented with 100 U/mL penicillin, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  streptomycin (GIBCO BRL, Grand Island, NY), and 10% fetal bovine serum (GIBCO BRL, Grand Island, NY). All cultures were cultivated at 37 °C in a humidified atmosphere with 5%  $\text{CO}_2$ . Cells were split every 3 days when they reached confluency exceeding 80%.

### Cytotoxic activity

The cytotoxic effects of the compounds were evaluated by viability quantification using the MTT assay [23]. Briefly, breast cancer and HEK-293 cells were seeded in a 96-well plate (final volume of 100  $\mu\text{L}$ ) at a density of 10,000 and 5,000 cells, respectively, and incubated for 24 h (37 °C, 5%  $\text{CO}_2$ ). After stabilization of the cultures, compounds were

screened at one single concentration of 10  $\mu\text{M}$  and incubated for 72 h. Four hours left until the end of the experiment, MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) at a concentration of 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}/\text{well}$  was added and incubated for further 4 h. The formazan crystals produced by viable cells were solubilized with a solution of acidic isopropanol (0.04 M of HCl) and the absorbance was quantified using a spectrophotometer (Variokan®, Thermo Scientific) at 595 nm. Cell viability was calculated compared with control (DMSO, 0.5%). Compounds that reduced cell viability by 50% or more of the breast cancer lineages had their inhibitory concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) values determined using seven twofold serial dilutions (1:2) with concentrations ranging from 100 to 0.7  $\mu\text{M}$ . The  $\text{IC}_{50}$  values were calculated using GraphPad Prism by non-linear regression. Three or more experiments were performed in triplicate.

### Clonogenicity assay

Compounds (at their respective  $\text{IC}_{50}$  values) were investigated regarding their effect on the survival of clonogenic MDA-MB-231 cells, as described by Franken and collaborators [24]. Cells were seeded at a density of 400 cells/well (six well plates) in supplemented DMEM medium, incubated for 3 h, and treated or not with compounds for 16 h. The medium was discarded, cells washed with PBS, and a new fresh supplemented medium was added (2 mL/well) and incubated for 14 days. Colonies were washed with PBS, fixed with paraformaldehyde (4%), and stained with crystal violet (0.3%). Colonies (up to 50 cells) were counted, and the survival fraction was estimated compared with the control (DMSO, 0.5%). Three independent experiments were performed in triplicate. Differences in treatment with complexes and control were analyzed using GraphPad Prism software (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Statistical significance was evaluated using the Bonferroni post-test ( $p \leq 0.05$ ).

### Studies on interactions of compounds with DNA

The DNA solution was prepared by diluting 1 mL of CT-DNA solution (calf-thymus DNA CT-DNA Sigma CAS: 73,049–39-5) in 2 mL of Tris–HCl buffer (4.5 mM Tris–HCl, 0.5 mM Tris-base, and 50 mM NaCl, pH = 7.4). The CT-DNA concentration was calculated using the molar extinction coefficient at 260 nm ( $\epsilon = 6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

Competitive intercalation experiments at 293 K were performed using the ethidium bromide (EB) intercalator. A working solution containing 20  $\mu\text{M}$  of CT-DNA with 20  $\mu\text{M}$  of EB was prepared in Tris–HCl buffer. During the experiment, an exact portion of 2.0 mL of the DNA-EB solution was titrated with repeated aliquots of complexes (**4**) or (**5**) (1.5 mM, stock solution freshly prepared in DMSO), and,

after equilibrium, the fluorescence spectra were recorded. The changes in the fluorescence intensity at 595 nm (excitation 546 nm) were measured as a function of the complex concentration.

## Results and discussion

### Synthesis and characterization

Microanalyses and molar conductivity data are in agreement with the formation of  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2]\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**1**),  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}]\cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**),  $[\text{In}(\text{lap})_3]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**3**),  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) and  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**). The crystallization water molecules in **1** and **3** were confirmed by their thermogravimetric curves, which show a weight loss of 13.96% (calcd. 14.42%) for **1** and 4.56% (calcd. 4.11%) for **3** (See Figures S1 and S2, ESI). The presence of triethylamine in complex (**2**) was confirmed by the appearance of the signals attributable to  $\text{CH}_2$  at 3.35 ppm and to  $\text{CH}_3$  at 1.18 ppm in the  $^1\text{H}$  NMR spectrum, and at 45.60 ppm and 8.56 ppm in the  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of the compound (see Figures S14. and S15, ESI).

### Spectral characterization

The FT-IR spectra of complexes (**1**) and (**3**) show bands at  $3527\text{ cm}^{-1}$  and  $3541\text{ cm}^{-1}$ , respectively, attributed to the  $\nu(\text{OH})$  stretching vibration of water. The spectra of complexes (**1–5**) showed absorptions at  $3050\text{ cm}^{-1}$ – $3356\text{ cm}^{-1}$  attributable to aromatic  $\nu(\text{C-H})$  stretching vibrations of lapachol, 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine.

The IR spectrum of lapachol shows an absorption at  $3348\text{ cm}^{-1}$  assigned to the  $\nu(\text{O-H})$  stretching vibration. This band is not observable in the spectra of **2**, **4**, and **5** indicating deprotonation, while in complexes (**1**) and (**3**) O-H deprotonation cannot be observed due to the presence of crystallization water. The  $\nu(\text{C=O})$  stretching vibration observed at  $1676\text{ cm}^{-1}$  in the spectrum of free lapachol, shifts to  $1631\text{ cm}^{-1}$ ,  $1634\text{ cm}^{-1}$ , and  $1665\text{ cm}^{-1}$  in the spectra of complexes **1**, **2**, and **3**, respectively, and to  $1637\text{ cm}^{-1}$  and  $1644\text{ cm}^{-1}$ , in complexes (**4**) and (**5**), respectively, due to the weakening of the C=O bond after the coordination (See Figures S3–S7, ESI).

The NMR spectra of lapachol and their indium(III) complexes were recorded in  $\text{DMSO-d}_6$ . The  $^1\text{H}$  resonances were assigned based on chemical shifts and multiplicities. The signal attributed to H1 at  $\delta$  11.00 in the  $^1\text{H}$ NMR spectrum of lapachol, is not observable in the spectra of complexes (**1–5**) according to deprotonation of OH upon coordination. The  $^1\text{H}$ NMR and  $^{13}\text{C}$ NMR spectra of complexes (**1–3**) did not show significant shifts in comparison to the spectrum of free lapachol. The signal of C1=O at  $\delta$  181.06 in the  $^{13}\text{C}$ NMR spectrum of lapachol shifts to  $\delta$  182.16,  $\delta$  181.18, and  $\delta$

181.58 in complexes (**1**), (**2**) and (**3**), respectively, and to  $\delta$  183.94 and  $\delta$  167.84, in the spectra of (**4**) and (**5**), respectively. (See Figures S8–S23, ESI).

The mass spectra of complexes (**1–5**) are in (Figures S24–S28, ESI).

### Crystal Structures Determinations

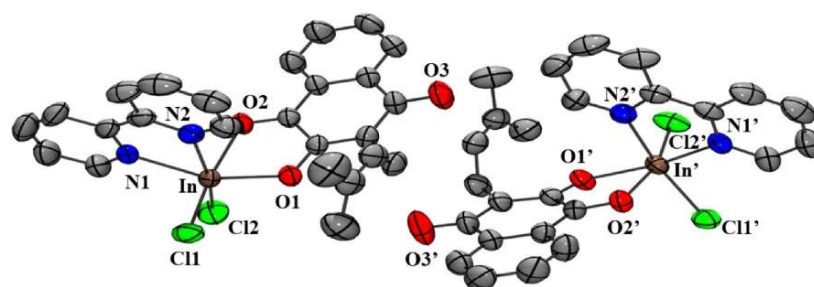
Single crystals of **4** and **5** were obtained by slow evaporation from a dichloromethane solution. The complexes crystallize in the orthorhombic ( $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**)—*Pna2*<sub>1</sub>) and triclinic ( $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**)—*P-1*) systems. Crystal data and refinement results are in Table S1 (Electronic Supplementary Material). Figure 1 displays the molecular representation of the crystal structures and Table 1 reports selected bond distances and angles for these compounds.

$[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) crystallizes in the non-centrosymmetric space group and the Flack parameter [0.0205(19)] indicates that the final refinement for this compound is correct. Additionally, this crystal presents two molecules in the asymmetric unit. For both complexes, the In site is coordinated to two O atoms from lapachol, two N atoms from 1,10-phenanthroline or 2,2'-bipyridine, and two chloride anions. These bonds give rise to a distorted octahedral geometry (Fig. 1c and 1d). The average In-O, In-N and In-Cl bond distances are 2.210(3) 2.280(3) and 2.4146(11), respectively, for  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**), and 2.231(2), 2.293(3) and 2.4060(9) for  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**).

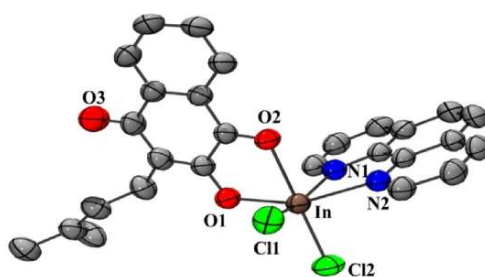
Comparing the crystal structure of free lapachol [25] with those of complexes (**4**) and (**5**), the biggest difference is observed in the torsion angles between aromatic rings and the aliphatic ramification. In the free ligand this angle is smaller ( $68.0^\circ$  in form I and  $70.8^\circ$  in form II [25]) than in the indium(III) complexes: (**4**):  $87.9^\circ$  and  $82.3^\circ$ ; (**5**):  $77.7^\circ$ . These increases in torsion angles are probably required to facilitate the coordination to the In(III) center. The non-coordinated C=O3 bond distances are very similar in free and coordinated lapachol. However, the C=O2 bonds became larger (1.226(2) in form I and 1.237(3) Å in form II of free lapachol, and 1.239(5) and 1.243(4) Å in (**4**), and 1.237(3) Å in (**5**), while the C-O1 bond distances decrease: 1.347(2) and 1.350(4) Å in forms I and II, respectively, and 1.306(5) and 1.315(5) Å in (**4**), and 1.297(4) Å in (**5**). Table S2 shows the main geometrical parameters for complexes (**4**) and (**5**).

The changes in bond distances and angles of lapachol upon coordination are compatible with the variations of the  $\nu(\text{C=O})$  vibrations to lower frequencies observed in the infrared spectra after complexation with the formation of (**4**) and (**5**).

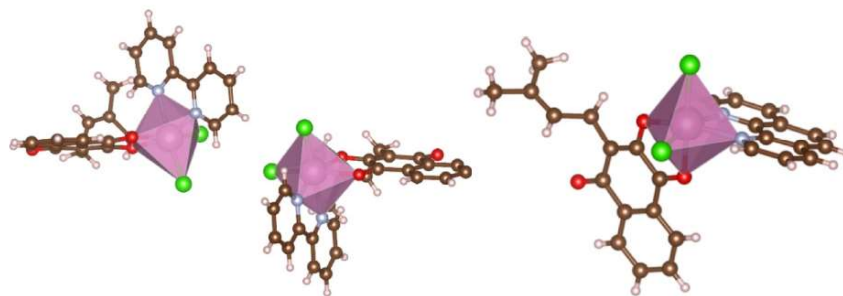
The solid stability is obtained by non-conventional hydrogen bond (HB) interactions ( $\text{CH}\cdots\text{Cl}$  and  $\text{CH}\cdots\text{O}$ ) among the complex molecules for both compounds. For  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**), these interactions form a tridimensional



(a)



(b)

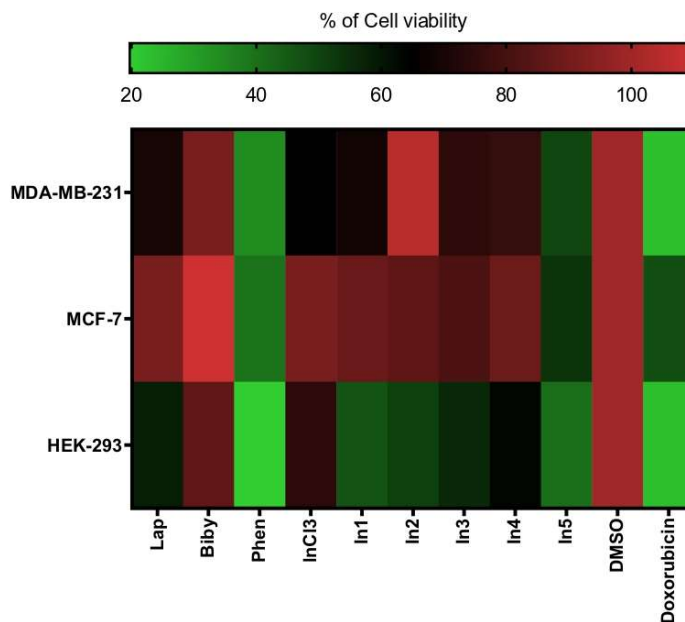


(c)

(d)

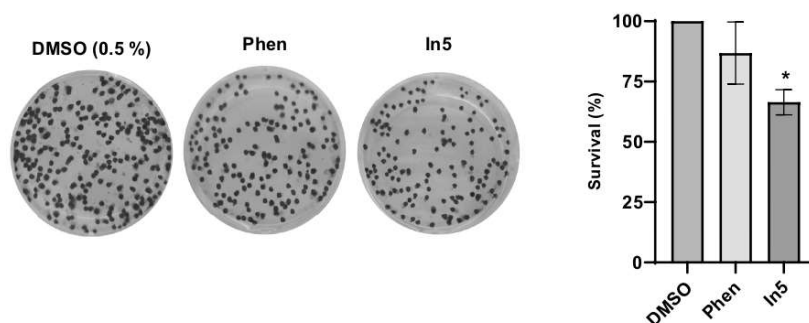
**Fig. 1** Crystal structure representations of In-complexes: Ortep representations of **a**  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) and **b**  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**). The ellipsoids were drawn with 50% probability level. The polyhedron drawing for **c**  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) and **d**  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (**5**)

**Fig. 2** Cytotoxic effects of the compounds against breast cancer and non-tumoral cells. Breast cancer lineages (MDA-MB-231 and MCF-7) and non-tumoral HEK-293 cells were treated with compounds (10  $\mu$ M) for 72 h. Cell viability was assessed using the MTT assay. Representative heat map of at least three replicates performed in triplicate. Doxorubicin and DMSO (0.5%) were used as positive and negative controls, respectively. In green the cell viability was smaller than 50%



**Table 1** Selected bond distances and angles for complexes (4) and (5)

[In(lap)(bipy)Cl <sub>2</sub> ] (4)		[In(lap)(phen)Cl <sub>2</sub> ] (5)	
Bond distance/Å			
In-Cl1/In'-Cl1'	2.4097(10)/2.4098(11)	In-Cl1	2.4195(9)
In-Cl2/In'-Cl2'	2.4217(12)/2.4173(12)	In-Cl2	2.3925(8)
In-O1/In'-O1'	2.107(3)/2.105(3)	In-O1	2.121(2)
In-O2/In'-O2'	2.320(3)/2.309(3)	In-O2	2.340(2)
In-N1/In'-N1'	2.267(3)/2.259(3)	In-N1	2.315(3)
In-N2/In'-N2'	2.289(3)/2.306(3)	In-N2	2.270(2)
Bond angle/°			
Cl1-In-Cl2/Cl1'-In'-Cl2'	99.73(4)/100.36(5)	Cl1-In-Cl2	100.57(3)
O1-In-Cl1/O1'-In'-Cl1'	101.91(9)/101.85(10)	O1-In-Cl1	102.29(8)
O1-In-Cl2/O1'-In'-Cl2'	94.99(8)/94.78(8)	O1-In-Cl2	101.97(7)
O1-In-O2/O1'-In'-O2'	73.47(10)/74.43(10)	O1-In-O2	73.24(8)
O1-In-N2/O1'-In'-N2'	89.44(12)/88.49(13)	O1-In-N2	153.61(10)
O1-In-N1/O1'-In'-N1'	156.11(11)/155.55(12)	O1-In-N1	86.83(9)
O2-In-Cl1/O2'-In'-Cl1'	91.20(8)/89.51(9)	O2-In-Cl1	87.23(7)
O2-In-Cl2/O2'-In'-Cl2'	165.61(8)/166.78(8)	O2-In-Cl2	171.67(6)
N1-In-Cl1/N1'-In'-Cl1'	94.40(9)/95.20(10)	N1-In-Cl1	159.45(7)
N1-In-Cl2/N1'-In'-Cl2'	99.37(9)/99.28(9)	N1-In-Cl2	95.38(7)
N1-In-O2/N1'-In'-O2'	89.00(10)/88.46(10)	N1-In-O2	77.72(9)
N1-In-N2/N1'-In'-N2'	72.01(12)/72.01(13)	N1-In-N2	72.76(9)
N2-In-Cl1/N2'-In'-Cl1'	165.16(9)/165.47(9)	N2-In-Cl1	92.49(7)
N2-In-Cl2/N2'-In'-Cl2'	88.64(10)/88.79(9)	N2-In-Cl2	96.55(7)
N2-In-O2/N2'-In'-O2'	82.81(12)/83.40(12)	N2-In-O2	85.94(8)



**Fig. 3** Effects of phen and complex (5) on the clonogenic survival of the MDA-MD-231 breast cancer cells. Four hundred cells were seeded in 6-well plates and incubated for 4 h for adherence at 37 °C (5%CO<sub>2</sub>) and then treated with phen and complex (5) (at their respective IC<sub>50</sub> values) for 16 h. Cells were washed with PBS and the

medium was replaced with a supplemented medium and incubated for 14 days. After incubation, cells were fixed and stained with crystal violet, and the number of colonies was quantified. Representative data from three independent experiments performed in triplicate. (\*  $p < 0.05$ )

arrangement (3D), as can be seen in Figure S46. On the other hand, in [(In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>)] (5), a bidimensional (2D) arrangement is observed for the HB interactions, Figure S46. A topological analysis of these HB using the ToposPro program [18] was performed. The simplified net (Fig. S46c) should be classified as tridimensional, unimodal, and (6)-connected system, and bidimensional, unimodal and (3)-connected system for [(In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>)] (4) and [(In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>)] (5), respectively. These nets can be described with a point symbol [3<sup>3</sup>.4<sup>5</sup>.5<sup>6</sup>.6] and *osc* type with Pnma symmetry [22] for [(In(lap)(bipy)Cl<sub>2</sub>)] (4); and a point symbol [6<sup>3</sup>] and *hcb* type with P6/mmm symmetry for [(In(lap)(phen)Cl<sub>2</sub>)] (5) [26].

In addition,  $\pi$ -stacking interactions among lapachol and the co-ligands rings were also observed in complexes (4) and (5), which contribute to the solid-state stability. The centroid–centroid distances between lapachol rings were 3.904 Å in (4) and 3.660 Å in (5), indicating that this interaction is more effective in complex (5). In addition,  $\pi$ -stacking interactions among co-ligand molecules were verified. In complex (4) the centroid–centroid distances between bipy rings were 3.935 and 3.987 Å, which are smaller than the interactions between phen rings (3.499 and 3.611 Å) in complex (5).

#### Cytotoxic effects of complexes (1–5)

The cytotoxic effects of the compounds were evaluated against MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells. The MDA-MB-231 lineage is triple-negative for estrogen, progesterone, and HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) receptors, with greater resistance to chemotherapy.

MCF-7 cells have estrogen and progesterone receptors and are hormone-dependent [27]. HEK-293 nonmalignant human embryonic kidney cells were used as model and are widely employed to evaluate anticancer agents [28].

Among the screened compounds 1,10-phenanthroline (phen) and complex (5) were the most cytotoxic against the three lineages, reducing cell viability to less than 50% as displayed in Fig. 2 (green in the heat map), and their IC<sub>50</sub> values were determined (Table 2).

Representative data of IC<sub>50</sub> values obtained from at least three replicates with their respective mean value plus minus standard deviation. SI = IC<sub>50</sub>HEK-293/IC<sub>50</sub> tumor cell [29]. Nd: not determined.

Although lapachol was poorly cytotoxic, complex (5) showed cytotoxic effects at micromolar concentrations against all tested cell lineages. Complex (5) was threefold

**Table 2** Inhibitory concentration of 50% of cell viability (IC<sub>50</sub>;  $\mu$ M) after treatment of breast cancer lineages (MDA-MB-231 and MCF-7) and non-tumor (HEK-293) cells

Compound	MDA-MB-231	SI	MCF-7	SI	HEK-293
Lap	>10	Nd	>10	Nd	>10
Biby	>10	Nd	>10	Nd	>10
Phen	6.26 ± 3.80	0.6	15.74 ± 7.76	0.2	3.97 ± 1.10
InCl <sub>3</sub>	>10	Nd	>10	Nd	>10
Complex (1)	>10	Nd	>10	Nd	>10
Complex (2)	>10	Nd	>10	Nd	>10
Complex (3)	>10	Nd	>10	Nd	>10
Complex (4)	>10	Nd	>10	Nd	>10
Complex (5)	8.11 ± 4.07	0.7	5.42 ± 1.74	1.0	5.50 ± 0.99
Doxorubicin	0.45 ± 0.32	0.1	1.65 ± 0.83	0.03	0.05 ± 0.01

more cytotoxic than phen against MCF-7 cells. **5** was slightly less cytotoxic than phen against MDA-MB-231 and HEK-293 cells. Doxorubicin, used as the positive control, presented  $IC_{50} = 1.6 \mu\text{M}$  against MCF-7 cells and  $IC_{50} = 0.4 \mu\text{M}$  against MDA-MB-231 cells. However, it was more cytotoxic ( $IC_{50} = 0.05 \mu\text{M}$ ) against HEK-293 healthy cells. None of the compounds under study including doxorubicin presented  $SI > 1$ . Doxorubicin was up to sevenfold more toxic against HEK-293 than against MCF-7 cells, and up to 15-fold more toxic against HEK-293 nonmalignant than against MDA-MB-231 cells.

#### Impact of 1,10-phenanthroline (phen) and complex (5) in the clonogenic survival of MDA-MB-231 cells

The clonogenicity assay is widely used in oncological research and is a useful strategy to evaluate the proliferative capacity of clonogenic cells treated with compounds. This secondary in vitro assay has proven predictive value in chemosensitivity testing of promising compounds. It can predict 62% of the comparison with the clinical response for drug sensitivity and 92% for drug resistance [30]. Therefore, the method can predict the effectiveness of substances that block the growth and recurrence of tumors after treatment with chemotherapy or radiotherapy. Stem cells correspond to a fraction of 0.4% of the tumor and are involved in recurrences and metastasis [30, 31].

Around 30% of patients with triple-negative breast cancer do not achieve a complete therapeutic response and the mortality and recurrence rates are high [32]. Therefore, considering the challenge of developing new drugs to treat triple-negative breast cancer, the effects of phen and complex (5) on the clonogenic survival of MDA-MB-231 cells were investigated.

Figure 3 shows that, unlike phen, complex (5) at its  $IC_{50}$  concentration significantly reduced the formation of MDA-MB-231 colonies ( $p < 0.05$ ) when compared to the DMSO control ( $p = 0.01$ ).

#### Interactions of complexes with CT-DNA

##### Electronic spectral studies

The electronic spectra of lapachol, phenanthroline, 2,2-bipyridine, and complexes (1–5) were first recorded in DMSO (Figures S28–S37, ESI). The spectra of the complexes were also recorded as a function of time in DMSO-Tris buffer -1% DMSO to investigate their stability in aqueous media (Figures S38–S43, ESI). No changes were observed up to 48 h in all cases indicating that the complexes were stable in the conditions used in the biological assays.

Afterward, the absorption spectra of complexes (1–5) were recorded in the absence and the presence of increasing

concentrations of CT-DNA. For 1–3, no significant changes were verified upon the addition of DNA, whereas in the case of 4 and 5 hypochromism was observed at the wavelength of maximum absorption (265 nm). However, since DNA also shows absorption in the same region, the binding constants for complexes (4) and (5) could not be determined.

#### Competitive binding between ethidium bromide (EB) and complexes (4–5) for CT-DNA

Steady-state competitive binding experiments were undertaken to get further proof for the binding of complexes (4) and (5) to DNA. The effect of increasing concentrations of indium(III) complexes (4) and (5) on the fluorescence intensity of the ethidium bromide–DNA system was investigated (see figures S44–S45, ESI). Upon the addition of increasing concentrations of complexes (4) or (5), the intensity of the EB-DNA emission band at 595 nm significantly decreases, indicating the displacement of EB by the complexes.

The apparent binding constants ( $K_{app}$ ) for complexes (4–5) were calculated as previously described [33] using the equation  $K_{EB}[EB] = K_{app}[\text{complex}]$  where  $K_{EB}$  is  $9.5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ,  $[EB] = 1.5 \times 10^{-4} \text{ M}^{-1}$ , and  $[\text{complex}]$  is the complex concentration when the fluorescence intensity of EB is 50%.

As shown in Fig. S45 ESI, the  $C_{50}$  values were obtained from the plot of fluorescence intensity vs  $[\text{complex}]$  when fluorescence is 50% of the initial fluorescence. The  $C_{50}$  values ( $\mu\text{M}$ ) and  $K_{app}$  are shown in Table 3. The obtained  $K_{app}$  values are comparable to the value for the antitumor intercalating agent actinomycin D ( $K_{app} = 9.69 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) [33].

The literature reports  $K_{app}$  values of  $1.97 \times 10^6$ ,  $1.35 \times 10^5$  and  $1.13 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ , for  $[\text{M}(\text{Lap})_2(\text{phen})]$  complexes,  $\text{M} = \text{Cu}(\text{II})$ ,  $\text{Co}(\text{II})$ , and  $\text{Ni}(\text{II})$  [10]. Hence, complexes (4) and (5), obtained by us showed  $K_{app}$  values similar to that of the Cu(II) complex studied by other authors.

Although complexes (4) and (5) interacted in vitro with DNA by an intercalative mode with comparable  $K_{app}$  values, only complex (5) exhibited significant cytotoxic effects, which are probably due to the presence of the intercalation agent 1,10-phenanthroline (phen). However, complex (5) proved to be a more effective cytotoxic agent than phen against MCF-7 cells, with a higher selectivity index,  $SI = 1.0$ , compared to phen,  $SI = 0.2$ .

**Table 3** Intrinsic binding constant ( $K_b$ ), concentration required to reduce 50% of the fluorescence of ethidium bromide – DNA system ( $C_{50}$ ), and apparent binding constant ( $K_{app}$ ) for the competitive binding between ethidium bromide bound to CT-DNA and indium(III) complexes (4–5)

Compound	$C_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	$K_{app}$ ( $\text{M}^{-1}$ )
$[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$	39.88	$2.38 \times 10^6$
$[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$	63.24	$1.47 \times 10^6$

## Conclusions

It is well known that lapachol presents cytotoxic effects, but it did not show significant cytotoxicity against MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells under the experimental conditions used in the present work. Upon coordination of lapachol to indium(III) in complexes (1–3), the cytotoxic effects did not increase, neither did the effects increase upon coordination of lapachol to indium(III) together with 2,2'-bipyridine in complex (4), but cytotoxicity significantly increased upon coordination of lapachol to indium(III) along with 1,10-phenanthroline in complex (5). Although 1,10-phenanthroline per se exhibited cytotoxicity against both cell lineages, complex (5) was threefold more active on MCF-7 cells. In the clonogenicity assay, unlike 1,10-phenanthroline, complex (5) at its IC<sub>50</sub> concentration, significantly reduced the formation of MDA-MB-231 colonies. Complex (5) showed cytotoxic effects against HEK-293 nonmalignant cells but its selectivity index was 33-fold higher than that of doxorubicin control drug on MCF-7 and sevenfold higher than that of doxorubicin on MDA-MB-231 cells.

[M(Lap)<sub>2</sub>(phen)] complexes M = Cu(II), Co(II), and Ni(II) have been reported in the literature, which presented cytotoxic effects against several tumor cell lineages [10]. [Ru(lap)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> [11] and *trans*-[Ru(lap)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(phen)]PF<sub>6</sub> [34] were also reported to show cytotoxicity against triple-negative MDA-MB 231 breast cancer cells. Ru(II)-bipy DNA intercalating complexes proved to be photosensitizers in photodynamic therapy of tumors [35].

Although both complexes (4) and (5) interacted in vitro with DNA by an intercalative mode, only (5) showed significant cytotoxicity, suggesting that 1,10-phenanthroline plays a crucial role in the cytotoxic effects of complex (5).

Coordination of lapachol to indium(III) did not result in complexes with significant cytotoxic effects against MCF-7 and MDA-MB-231 cells. However, the inclusion of 1,10-phenanthroline as co-ligand was revealed to be a valuable strategy for increasing cytotoxicity, probably due to its cytotoxic effects as well as its capacity to vectorize the complex to DNA. The foregoing results contribute to the understanding of the pharmacological profile of indium(III) complexes.

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00775-024-02062-0>.

**Acknowledgements** The authors gratefully acknowledge CNPq (EMSF: 406048/2018-5 HB: 421902/2016-7), INCT-INOVAR and FAPEMIG (EMSF: APQ-00428-21 HB : APQ 01588-2) for financial support and student grants.

**Data availability** CCDC 2255204 and 2255205 have supplementary crystallographic data for complexes (4) and (5), respectively. These data can be obtained free of charge from The Cambridge Crystallographic Data Centre at <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrie>

[eving.html](#). Experimental data are in the Electronic Supplementary Information.

## Declarations

**Conflict of interest** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Beraldo H (2020) Pharmacological applications of non-radioactive indium(III): A field yet to be explored. *Coord Chem Rev*. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213375>
- Almeida AA, Perdigão GMC, Rodrigues LE, da Silva JG, Souza-Fagundes EM, Takahashi JA, Rocha WR, Beraldo H (2016) Cytotoxic and antimicrobial effects of indium(III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones. *Dalton Trans* 46:918–932. <https://doi.org/10.1039/C6DT03657K>
- Oliveira AA, Perdigão GMC, da Silva JG, Souza-Fagundes EM, Beraldo H (2017) Indium(III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones exhibit cytotoxic activity against human leukemia and solid tumor cell lines. *Polyhedron* 135:72–78. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.06.045>
- Aguirre AR, Parrilha GL, Diniz R, Ribeiro BC, Dos Santos RG, Beraldo H (2019) Cytotoxic effects of indium(III) complexes with 2-acetylpyridine-*N*(4)-*ortho*-fluorophenylthiosemicarbazone and their radioactive <sup>114m</sup>In analogues against human glioma cells. *Polyhedron* 164:219–227. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.02.055>
- Almeida AA, Franco LL, dos Santos RG, Perdigão GMC, da Silva JG, Souza-Fagundes EM, Beraldo H (2017) Neutron activation of In(III) complexes with thiosemicarbazones leads to the production of potential radiopharmaceutical for the treatment of breast cancer. *New J Chem* 41:9041–9050. <https://doi.org/10.1039/C7NJ01547J>
- Epifano F, Genovese S, Fiorito S, Mathieu V, Kiss R (2014) Lapachol and its congeners as anticancer agents: a review. *Phytochem Rev* 13:37–49. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9289-1>
- Xu H, Chen Q, Wang H, Xu P, Yuan R, Li X, Bai L, Xue M (2016) Inhibitory effects of lapachol on rat C6 glioma in vitro and *in vivo* by targeting DNA topoisomerase I and topoisomerase II. *J Exp Clin Cancer Res* 35:178. <https://doi.org/10.1186/s13046-016-0455-3>
- Miranda SEM, Lemos JA, Fernandes RS, Silva JO, Ottoni FM, Townsend DM, Rubello D, Alves RJ, Cassali GD, Ferreira LAM, de Barros ALB (2021) Enhanced antitumor efficacy of lapachol-loaded nanoemulsion in breast cancer tumor model. *Biomed Pharmacother* 133:110936. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110936>
- Parrilha GL, Vieira RP, Campos PP, Silva GDF, Duarte LP, Andrade SP, Beraldo H (2012) Coordination of lapachol to bismuth(III) improves its anti-inflammatory and anti-angiogenic activities. *Biometals* 25:55–62. <https://doi.org/10.1007/s10534-011-9481-y>
- Tabrizi L, Talaie F, Chiniforoshan H (2016) Copper(II), Cobalt(II) and Nickel(II) Complexes of Lapachol: Synthesis, DNA interaction and Cytotoxicity. *J Biomol Struct Dyn* 15:1–46. <https://doi.org/10.1080/07391102.2016.1254118>
- Oliveira KM, Honorato J, Demidoff FC, Schultz MS, Netto CD, Cominetti MR, Correa RS, Batista AA (2021) Lapachol in the design of a new ruthenium(ii)-diphosphine complex as a promising anticancer metallodrug. *J Inorg Biochem* 214:111289. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111289>
- Ünver H, Berber B, Kanat B, Arafat M, Kopardal AT, Doluca O (2022) DNA binding effects of 2,2'-bipyridine and

- 1,10-phenanthroline ligands synthesized with benzimidazole copper(II) complexes: Crystal structure, molecular docking, DNA binding and anti-cancer studies. *Polyhedron* 221:1115834
13. Fei B, Li W, Xu W, Li Y, Long J, Liu Q, Shao K, Su Z, Sun W (2013) Two novel copper complexes of 2,2'-bipyridine: Evaluation of the DNA binding and cytotoxic activity. *J Photochem Photobiol, B* 125:32–41. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.04.011>
  14. Loss M, Gerber C, Corona F, Hollenger J, Singer H (2015) Accelerated isotope fine structure calculation using pruned transition trees. *Anal Chem* 87(11):5738–5744
  15. CrysAlisPro. Rigaku Oxford Diffraction. CrysAlisPro. Rigaku Corporation, Tokyo, Japan. 2015.
  16. Sheldrick G (2015) Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr A* 71:3–8. <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>
  17. Dolomanov OV, Bourhis LJ, Gildea RJ, Howard JAK, Puschmann H (2009) A complete structure solution, refinement and analysis program. *J Appl Crystallogr* 42:339–341. <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>
  18. Farrugia LJ (1997) ORTEP-3 for windows – a version of ortep iii with a graphical user interface (gui). *J Appl Crystallogr* 30:565. <https://doi.org/10.1107/S0021889897003117>
  19. POV-Ray for Windows- Version 3.7.0. msvc10.win64. Persistence of Vision, Williamstown, Victoria, Australia.
  20. Momma K, Izumi F (2011) VESTA 3 for three-dimensional visualization of crystal, volumetric and morphology data. *J Appl Crystallogr* 44:1272–1276. <https://doi.org/10.1107/S0021889811038970>
  21. Blatov VA, Shevchenko AP, Proserpio DM (2014) Applied topological analysis of crystal structures with the program package topospro. *Cryst Growth Des* 14:3576–3586. <https://doi.org/10.1021/eg500498k>
  22. Macrae CF, Sovago I, Cottrell SJ, Galek PTA, McCabe P, Pidcock E, Platings M, Shields GP, Stevens JS, Towler M, Wood PA (2020) Mercury 4.0: from visualization to analysis, design and prediction. *J Appl Crystallogr* 53:226–235. <https://doi.org/10.1107/S1600576719014092>
  23. Ramos JP, Abdel-Salam MAL, Nobre DAB, Glanzmann N, de Souza CP, Leite EA, de Abreu Teles PP, Barbosa AS, Barcelos LS, Dos Reis DC, Cassali GD, de Lima ME, de Castro QJT, Grabe-Guimarães A, da Silva AD, de Souza-Fagundes EM (2022) Acute toxicity and antitumor potential of 1,3,4-trisubstituted-1,2,3-triazol dhtfAc-loaded liposomes on a triple-negative breast cancer model. *Arch Pharm* 355:220004. <https://doi.org/10.1002/ardp.202200004>
  24. Franken NAP, Rodermond HM, Stap J, Haveman J, van Bree C (2006) Clonogenic assay of cells *in vivo*. *Nat Protoc* 1:2315–2319
  25. Larsen IK, Andersen LA, Pedersen BF (1992) Structures of two crystalline modifications of lapachol. *Acta Crystallographica Section C*, C48. <https://doi.org/10.1107/S0108270192003378>
  26. O' Keeffe M, Peskov MA, Ramsden SJ, Yaghi OM. (2008) The reticular chemistry structure resource (rcsr) database of, and symbols for, crystal nets. *Acc Chem Res* 41:1782–1789. <https://doi.org/10.1021/ar800124u>
  27. Theodossiou TA, Ali M, Grigalavicius M, Grallert B, Dillard P, Schink KO, Olsen CE, Wälchli S, Inderberg EM, Kubin A, Peng Q, Berg Q (2019) Simultaneous defeat of MCF-7 and MDA-MB-231 resistances by a hypericin PDT-tamoxifen hybrid therapy. *NPJ Breast Cancer* 13:5–13. <https://doi.org/10.1038/s41523-019-0108-8>
  28. Hu J, Han J, Li H, Zhang X, Liu LL, Chen F, Zeng B (2018) Human embryonic kidney 293 cells: a vehicle for biopharmaceutical manufacturing. *Struct Biol Electrophysiol* 205:1–8. <https://doi.org/10.1159/000485501>
  29. Lica JJ, Wiczcór M, Grabe GJ, Heldt M, Jancz M, Misiak M, Gucwa K, Brankiewicz W, Maciejewska N, Stupak A, Bagiński M, Rolka K, Hellman A, Składanowski A (2021) Effective drug concentration and selectivity depends on fraction of primitive cells. *Int J Mol Sci* 22(9):4931. <https://doi.org/10.3390/ijms22094931>
  30. Fiebig HH, Maier A, Burguer AM (2004) Clonogenic assay with established human tumour xenografts: correlation of *in vitro* to *in vivo* activity as a basis for anticancer drug Discovery. *Eur J Cancer* 40:802–820
  31. Gomes NP, Frederick B, Jacobsen JR, Chapnick D, Su TT (2023) A high throughput screen with a clonogenic endpoint to identify radiation modulators of cancer. *Radiat Res* 199:132–147. <https://doi.org/10.1667/RADE-22-00086.1>
  32. Li Y, Zhang H, Merkher Y (2022) Recent advances in therapeutic strategies for triple-negative breast cancer. *J Hematol Oncol*. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01341-0>
  33. Da Silva JG, RecioDespaigne AA, Louro SRW, Bandeira CC, Souza-Fagundes EM, Beraldo H (2013) Cytotoxic activity, albumin and DNA binding of new copper(II) complexes with chalcone-derived thiosemicarbazones. *Eur J Med Chem* 65:415–426. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.04.036>
  34. Oliveira KM, Corrêa RS, Barbosa MIF, Ellena J, Cominetti MR, Batista AA (2017) Ruthenium(II)triphenylphosphine complexes: An effective way to improve the cytotoxicity of lapachol. *Polyhedron* 130:108–114. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.04.005>
  35. Mari C, Pterroz V, Rubbiani R, Patra M, Hess J, Spingler B, Oehninger L, Schur J, Ott I, Salassa L, Ferrari S, Gasser G (2014) DNA intercalating ru<sup>II</sup> polypyridil complexes as effective photosensitizers in photodynamic therapy. *Chem Eur J* 44:14421–14436. <https://doi.org/10.1002/chem.201402796>

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

## Authors and Affiliations

Alexandre B. de Carvalho<sup>1</sup> · Ana M. S. Souza<sup>1</sup> · Larissa Pereira Bento<sup>2</sup> · Mariana de Oliveira Silva<sup>2</sup> · Elaine M. Souza-Fagundes<sup>2</sup> · Renata Diniz<sup>1</sup> · Heloisa Beraldo<sup>1</sup>

✉ Heloisa Beraldo  
hberaldo@ufmg.br

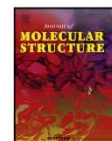
<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 31.270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

<sup>2</sup> Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 31.270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Molecular Structure

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/molstr](http://www.elsevier.com/locate/molstr)

## Structural studies and physicochemical properties of indium(III) complexes with 2-formyl-8-hydroxyquinoline-derived hydrazones

Alexandre B. de Carvalho, Bruna V. Paes, Ana Paula A. Oliveira, Bernardo L. Rodrigues, Helio A. Duarte, Heloisa Beraldo\*

Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, 31.270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Indium(III) complexes  
Hydrazones  
8-hydroxyquinoline  
Physicochemical properties  
Crystal structure  
DFT calculations

### ABSTRACT

The reaction of  $\text{InCl}_3$  with 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitroimidazole hydrazone ( $\text{H}_2\text{L1}$ ) in ethanol gave  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ , complex (1), as the product. Experimental data and theoretical DFT calculations suggested that complex (1) presents coordination number (CN) 8, with one neutral and one anionic ligand coordinated to the metal center through the O–Npy–N tridentate chelating system together with two chloride ions. The reaction with 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitrobenzene hydrazone ( $\text{H}_2\text{L2}$ ) in methanol gave  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})_2]$ , complex (2), as the product while  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}]$ , complex (3), was formed as the product using ethanol as solvent. Experimental data indicated that in complexes  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) and  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}]$  (3) one anionic ligand is attached to the indium(III) center through the O–Npy–N–O tetradentate chelating system along with two chlorides. The crystal structure of the complex  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) revealed that the indium(III) center presents CN 7. Calculated bond lengths in complex (2) were in accordance with the experimental values. The experimental and calculated electronic spectra of complexes (1) and (2) presented the same pattern and allowed the attribution of the absorption peaks to  $\pi-\pi^*$  transitions.

### 1. Introduction

Complexes with  $^{111}\text{In}(\text{III})$  are widely employed in Nuclear Medicine and used in clinics for SPECT or planar scintigraphy diagnostic imaging [1].  $^{111}\text{In}$ -labeled radiopharmaceuticals comprise  $^{111}\text{In}(\text{DTPA})$ , DTPA = diethylenetriaminepentaacetic acid for cerebrospinal fluid imaging, antibodies for prostate cancer imaging,  $^{111}\text{In}(\text{oxyquinoline})$  for white blood cells imaging, and  $\text{In}(\text{pentetreotide})\text{-DTPA}$  conjugate of the human hormone somatostatin peptide analog (octreotide) for neuroendocrine tumor imaging [2].

Non-radioactive  $\text{In}(\text{III})$  complexes show numerous pharmacological applications. Indium(III) complexes with different ligands showed antibacterial and antileishmanial effects. In addition, some indium(III) complexes with phthalocyanines proved to have potential uses in photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) of bacterial and fungal infections. Indium(III) complexes with various ligands were highly cytotoxic against leukemia and solid tumor cells [3].

Non-radioactive and  $^{114\text{m}}\text{In}(\text{III})$  complexes were obtained by our group with a series of 2-acetylpyridine thiosemicarbazones. The non-radioactive complexes were significantly more cytotoxic toward MCF-

7 human breast tumor cells than the free thiosemicarbazones [4]. The  $^{114\text{m}}\text{In}(\text{III})$  complexes were  $10^2$ – $10^4$  times more effective than their non-radioactive counterparts, presenting high selectivity index values. These results suggested that irradiation might be an interesting strategy for an increase in selectivity [5].

8-hydroxyquinoline (8-HQ) is a privileged structure in Medicinal Chemistry [6] since 8-HQ and its derivatives present a broad spectrum of pharmacological applications as antineoplastic, antimicrobial, and anti-neurodegenerative agents, among others. Some of the therapeutic effects of these compounds are attributed to their ability to coordinate metals [7–8]. We demonstrated that antimony(III) complexes with 8-HQ derivatives present antitrypanosomal activity [9,10].

The literature reports the functionalization of the 8-HQ scaffold with different groups leading to bioactive derivatives [11]. In previous works, some of us carried out the syntheses of 8-HQ-derived Schiff bases, which showed promise for modulating copper– $\text{A}\beta$  peptide interactions, believed to play a role in the development of Alzheimer's disease [12].

In addition to their pharmacological applications, indium(III) complexes have applications as catalysts in organic syntheses, as precursor materials in the synthesis of nanoparticles, as sensors, as organic light-

\* Corresponding author.

E-mail address: [hberaldo@ufmg.br](mailto:hberaldo@ufmg.br) (H. Beraldo).

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140557>

Received 21 August 2024; Received in revised form 22 October 2024; Accepted 29 October 2024

Available online 30 October 2024

0022-2860/© 2024 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

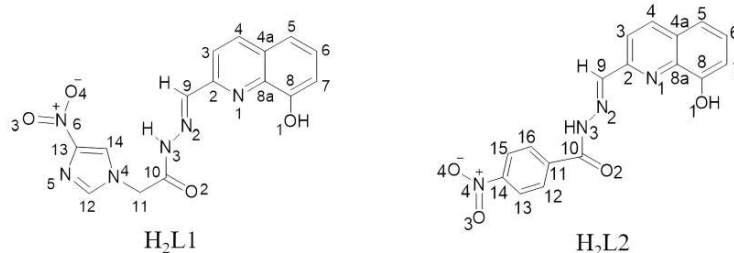


Fig. 1. Structural representations of 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitroimidazole hydrazone ( $H_2L1$ ) and 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitrobenzene hydrazone ( $H_2L2$ ).

emitting diodes (OLEDs), and in the construction of luminescent materials, among others. Indium(III) complexes show a diversity of geometries which frequently depend on the ligands' sizes and charges. The appropriate choice of ligands may result in complexes with applications in catalytic processes and chemical transformations [13].

In the present work, indium(III) complexes with 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitroimidazole hydrazone ( $H_2L1$ ) and 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitrobenzene hydrazone ( $H_2L2$ ) (Fig. 1) were obtained and their physicochemical properties were investigated before further studies on their possible applications.

Density functional theory (DFT) calculations have been used with remarkable success providing evidence of the structure and chemical properties of coordination compounds [14] [15]. Hence, DFT calculations were performed to provide insights into the geometry and physicochemical properties of the synthesized complexes.

## 2. Experimental and computational methods

### 2.1. Chemistry

All common chemicals were purchased from Aldrich and used without further purification.

### 2.2. Synthesis of the indium(III) complexes

The hydrazones were obtained as previously reported [10], by mixing equimolar amounts (1mmol) of 8-hydroxyquinoline carbaldehyde with 4-nitroimidazole hydrazide or 4-nitrobenzene hydrazide in methanol, with the addition of 3 drops of acetic acid as the catalyst. The reaction mixture was kept under reflux for 4 h. The obtained solids were filtered off, washed with cold methanol and diethyl ether, and dried under reduced pressure.

$H_2L1$  and  $H_2L2$  were employed to synthesize indium(III) complexes (1–3). Complex  $[In(H_2L1)(HL1)Cl_2]$  (1) was obtained by mixing  $H_2L1$  (2 mmol) with  $InCl_3$  (1 mmol) in ethanol and complexes (2–3) were obtained by mixing equimolar amounts (1mmol) of  $H_2L2$  with  $InCl_3$  in methanol (complex  $[In(HL2)Cl_2(CH_3OH)]$ , 2) or ethanol (complex  $[In(HL2)Cl_2 \cdot CH_3CH_2OH]$ , 3). The reaction mixture was stirred under reflux for 24 h. The solutions were slowly evaporated, and the resulting solids were filtered off and washed with cold methanol.

$[In(H_2L1)(HL1)Cl_2]$  (1): Purple solid. Anal. Calc. for  $C_{30}H_{23}Cl_2InN_5O_8$  (FW = 865.30 g mol<sup>-1</sup>): C, 41.64%; H, 2.68%; N, 19.42%. Found: C, 41.12%; H, 2.57%; N, 18.91%. Molar conductivity ( $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, DMSO): 8.6  $\Omega^{-1}$  cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IR (ATR, cm<sup>-1</sup>):  $\nu(N-H)$  3079,  $\nu(O-H)$  3123,  $\nu(C=O)$  1720,  $\nu(C=N)$  1539.  $\delta^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): (s, 1H, N(3)H) 12.27, (s, 0.5 H, O1H) 9.91, (s, 1H, H4) 8.37, (s, 1H, H9) 8.35, (s, 1H, H12) 8.28, (d, 1H, H3) 8.14, (s, 1H, H14) 7.88, (t, 1H, H6) 7.47, 7.45, 7.42, (d, 1H, H5) 7.42, 7.40, (d, 1H, H7) 7.14, 7.12, 5.56 (s, 2H, H11).  $\delta^{13}C$  NMR: (C10) 168.30, (C3) 153.51, (C13)

151.09, (C2) 146.71, (C9) 144.93, (C8a) 138.24, (C14) 138.68, (C4) 136.61, (C4a) 128.77, (C6) 128.49, (C12) 123.18, (C5) 117.85, (C3) 117.45, (C7) 112.35, (C11) 48.76. MALDI-TOF MS ( $m/z$ ): Calc: 793.09  $m/z$  Found: 793.14  $[In(H_2L1)(HL1)]^{2+}$ . Melting point: 276.5 – 278.3. Yield: 53 %.

$[In(HL2)Cl_2(CH_3OH)]$  (2): Red crystals. Anal. Calc. for  $C_{19}H_{15}Cl_2InN_4O_5$  (FW = 553.06 g mol<sup>-1</sup>): C, 38.09%; H, 2.73%; N 10.13%. Found: C, 38.21%; H, 2.86%; N, 9.68%. Molar conductivity ( $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, DMSO): 11.0  $\Omega^{-1}$  cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IR (ATR, cm<sup>-1</sup>):  $\nu(N-H)$  2980,  $\nu(O-H)$  3374,  $\nu(C=O)$  1590,  $\nu(C=N)$  1520.  $\delta^1H$  NMR (600 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): (s, 1H, N(3)H) 12.57, (s, 1H, H9) 8.70, (m, 3H, H4, H13, H15) 8.50, 8.48, 8.43, 8.40, (d, 2H, H12, H16) 8.21, 8.19, (d, 1H, H3) 8.14, 8.12, (t, 1H, H5, H6) 7.45, 7.42, 7.40, (d, 1H, H7) 7.16, 7.15, (s, 1H, O3-H) 3.51, (s, 3H, H17, CH<sub>3</sub>) 1.24.  $\delta^{13}C$  NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): (C10) 170.58, (C8) 162.01, (C9) 153.50, (C14) 151.49, (C11) 149.71, (C2) 149.04, (C8a) 141.98, (C4) 141.52, (C15) 141.52, (C12) 139.61, (C4a) 129.43, (C16) 129.43, (C6) 128.52, (C13) 123.75, (C5) 117.88, (C3) 117.75, (C7) 112.26, (C17) 48.62. MALDI-TOF MS ( $m/z$ ): Calc: 515.98. Found: 516.10  $[In(HL2)Cl(CH_3OH)]^+$ . Melting point: 245.7–247.3 °C. Yield: 78 %.

$[In(HL2)Cl_2 \cdot CH_3CH_2OH]$  (3): Red solid. Anal. Calc. for  $C_{19}H_{18}Cl_2InN_4O_5$  (FW = 603.55 g mol<sup>-1</sup>): C, 40.24%; H, 3.02%; N 9.88%. Found: C, 39.19%; H, 2.54%; N 10.03%. Molar conductivity ( $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, DMSO): 10.3  $\Omega^{-1}$  cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IR (ATR, cm<sup>-1</sup>):  $\nu(N-H)$  3059,  $\nu(C=O)$  1648,  $\nu(C=N)$  1521.  $\delta^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): (s, 1H, N(3)H) 12.54, (d, 1H, H9) 8.65, (s, 1H, H4) 8.48, (s, 1H, H3) 8.40, (d, 1H, H5), 8.36, (d, 1H, H13), 8.33 (d, 1H, H15), 8.19 (d, 1H, H16), 8.10 (d, 1H, H12), 7.46, (t, 1H, H6) 7.44, (d, 1H, H7) 7.16, 7.15, (q, 2H, H17) 3.46, 3.45, 3.44, 3.43, (t, 3H, H18) 1.07, 1.05, 1.03.  $\delta^{13}C$  NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): (C10) 162.48, (C8) 153.95, (C9) 153.31, (C11) 149.49, (C14) 149.29, (C2) 139.34, (C8a) 138.63, (C4) 137.19, (C4a) 129.87, (C12) 129.44, (C16) 128.98, (C15) 124.21, (C13) 123.90, (C6) 123.18, (C5) 118.33, (C3) 118.20, (C7) 112.71, (C17) 56.50, (C18) 19.02. MALDI-TOF MS ( $m/z$ ): Calc: 484.95  $m/z$  Found: 484.72  $m/z$   $[In(HL2Cl)]^+$ . Melting point: 240.3–243.5 °C. Yield: 69 %.

### 2.3. Physical measurements

Partial elemental analyses were performed on a Perkin Elmer CHN 2400 analyzer. Molar conductivity measurements were performed on a YSI model 31 conductivity bridge. Melting points were determined using a Mettler MQAPP-302 apparatus. A Perkin Elmer FT-IR Spectrum GX spectrometer was employed to record infrared spectra (4000–400 cm<sup>-1</sup>) using KBr plates. NMR spectra were recorded on a Bruker DPX-400 Advance (400 MHz) and a Bruker Ascend Neo (600 MHz) spectrometer using dimethylsulfoxide (DMSO-d<sub>6</sub>) as the solvent. Mass spectrometry analyses were performed on an Autoflex III Smartbeam MALDI-TOF/TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight) mass spectrometer (Bruker Daltonics, Billerica, USA),

**Table 1**

Crystal data, data collection parameters, and refinement results for  $[\text{In}(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})] \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$ .

Compound	$[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$
Formula	$[\text{In}(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})] \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$
MW / $\text{g mol}^{-1}$	617.14
Crystal system, space group	Tetragonal, $I4_1/a$
Temperature / K	135(2)
$a / \text{\AA}$	19.1085 (8)
$b / \text{\AA}$	19.1085 (8)
$c / \text{\AA}$	27.2250 (13)
$\alpha, \beta, \gamma / ^\circ$	90
$V / \text{\AA}^3$	9940.8 (10)
Z	16
Radiation type	Mo K $\alpha$
$\mu / \text{mm}^{-1}$	1.213
Measured/independent reflections	13,141/5048
Observed reflections / $R_{\text{int}}$	2977/0.072
Parameters	311
$R_{\text{abs}}$ $R_{\text{all}}$	0.087, 0.092
$wR_{\text{exp}}$ $wR_{\text{all}}$ $S$	0.273, 0.278, 1.03
$\Delta\rho_{\text{max}}$ , $\Delta\rho_{\text{min}} / e \text{\AA}^{-3}$	4.12, -0.75

controlled by the FlexControl 3.3 software (Bruker Daltonics). Samples were prepared in DMSO and were mixed with super-2-hydroxy-5-methoxybenzoic acid (*s*-DHB 5mg/mL in acetone) (1:1, v/v) directly on an MTP AnchorChip 384 MALDI target plates (Bruker Daltonics) and dried at room temperature. Masses were obtained in linear and reflective modes, employing an external calibration, the Protein Calibration Standard (Bruker Daltonics). Two software packages were used to analyze spectrometry data: (a) FlexAnalysis 3.3 (Bruker Daltonics) and (b) mmass (open-source mass spectrometry tool) (c) EnviPat [16] (See Figures S10-S12, Supplementary information).

#### 2.4. X-ray crystallography

The single crystal X-ray diffraction experiment was performed in a XtaLAB Synergy diffractometer equipped with HyPix detector, using CuK $\alpha$  microfocus source.

One single crystal of  $[\text{In}(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5)(\text{CH}_3\text{OH})\text{Cl}_2] \cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$  was selected for the X-ray diffraction experiment at 298 K but the crystal decomposed during this experiment. After that, another single crystal

was chosen from the methanolic solution and immediately cooled to 125 K in the Oxford Gemini diffractometer to perform the X-ray diffraction experiment using MoK $\alpha$  radiation. Crystal parameters, data collection, and refinement parameters are shown in Table 1. The crystal structure was solved by direct methods and refined using the least squares method and Fourier difference synthesis. The structure of the  $[\text{In}(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  unit was initially found and refined considering anisotropic displacement for all but hydrogen atoms. After this, hydrogen atoms were fixed geometrically, and the solvated methanol molecules were found in the Fourier difference synthesis.

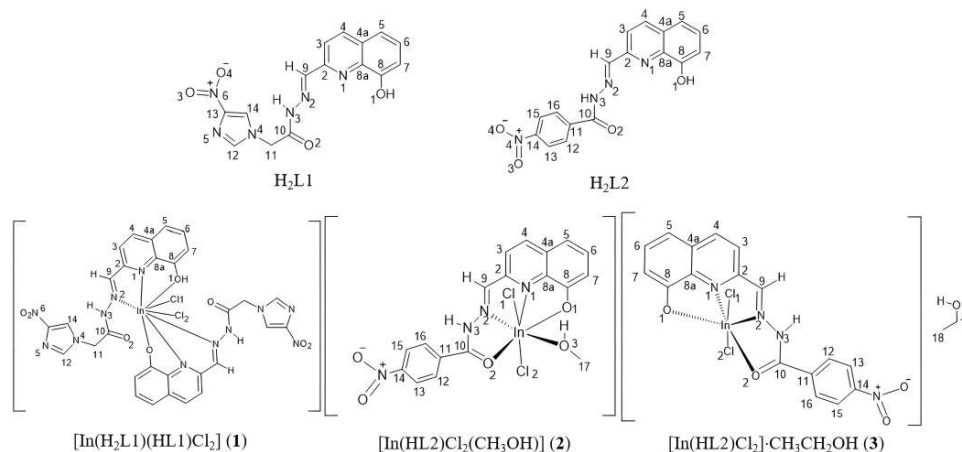
#### 2.5. Computational methods

Density functional theory (DFT) calculations were performed as implemented in the ORCA 5.0.3 package [17] to investigate  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}_1)(\text{HL}_1)\text{Cl}_2]$  (1) and  $[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) structural and electronic properties. The Perdew, Becke, and Erzenhof (PBE0) [18] hybrid exchange correlation functional and the def2-TZVPP [19] basis sets were used for all atoms. An effective core potential (ECP) replacing 28 core electrons in the core was used for the In atom [20]. The geometries were fully optimized, and the harmonic frequencies were calculated numerically from the gradients using a default displacement of 0.005 Bohr. The Continuum Solvation Model (SMD) [21] was used to consider the implicit solvation effects of methanol ( $\epsilon(\text{CH}_3\text{OH}) = 32.613$ ). Time-Dependent - DFT calculations (TDDFT) [22] were performed for the optimized structures. UV-Vis spectra were plotted utilizing a homemade Python program with Gaussian broadening including the external effect using Doppler broadening (see Supplementary Information).

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Microanalyses and molar conductivity data

Microanalyses and molar conductivity data were compatible with the formation of  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}_1)(\text{HL}_1)\text{Cl}_2]$  (1),  $[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) and  $[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (3) (Fig. 2). The low values of molar conductivities are in accordance with the presence of non-electrolyte compounds, suggesting that the chlorides are attached to the metal center.



**Fig. 2.** Atom numbering in the structural representations of H<sub>2</sub>L<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>,  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}_1)(\text{HL}_1)\text{Cl}_2]$  (1),  $[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2), and  $[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (3).

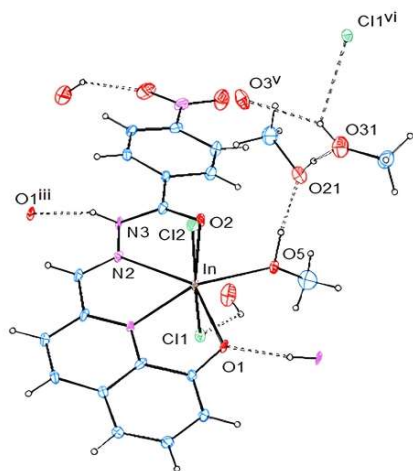


Fig. 3. Heptacoordinated  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]\cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$  complex.

### 3.2. Crystal structure of $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]\cdot 2\text{CH}_3\text{OH}$

In complex  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) one tetradentate hydrazone ligand is attached to the indium(III) center via two oxygen and two nitrogen atoms. The coordination sphere of indium(III) is completed by an oxygen atom from one methanol ligand in the equatorial plane and two chloride ligands *trans* to each other in the axial plane, forming a heptacoordinated indium(III) complex (Fig. 3). Selected bond distances and angles are in Table S1 (Supplementary Information).

The crystal structure is stabilized by a hydrogen bonding network (Table S2, Supplementary Information). The coordinated methanol molecule interacts with one solvated methanol through an O5-H5...O21 hydrogen bonding. The oxygen atom O21 is the donor of a second O21-H21...O31 hydrogen bonding. Atom O31, on the other hand, is the donor of a bifurcated hydrogen bonding to two distinct  $[\text{In}(\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  unities: O31-H31...O3<sup>(v)</sup> and O31-H31...Cl1<sup>(vi)</sup>. The N3-Hn3...O1<sup>(iii)</sup> hydrogen bonding between two  $[\text{In}(\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_5)(\text{CH}_3\text{OH})\text{Cl}_2]$  unities completes the hydrogen bonding

network that stabilizes the crystal structure.

At this point it is interesting to notice the importance of the hydrogen bonding involving the solvated methanol molecules to the stabilization of the crystal structure: the crystals in methanol solution quickly lose crystallinity if taken out from the solution at 298 K. When the crystal was taken out from the solution and immediately cooled to 125 K to collect diffraction data the crystal structure could be solved, suggesting that the loss of solvent (and consequent loss of crystallinity) happens at 298 K but not at 125 K.

### 3.3. Spectroscopic characterization

#### Infrared spectra

Infrared spectra of the ligands and complexes  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}1)(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (1),  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2\text{CH}_3\text{OH}]$  (2) and  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (3) are in Figures S1-S3 (Supplementary Information). The absorption assigned to the  $\nu(\text{O}-\text{H})$  vibration at  $3254\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{H}_2\text{L}1$ ) and  $3370\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{H}_2\text{L}2$ ) in the infrared spectra of the hydrazones [10,12] is observed at  $3123\text{ cm}^{-1}$  in the spectrum of complex  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}1)(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (1). This absorption is absent in the spectra of complexes  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) and  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (3), due to deprotonation and coordination through the phenolate oxygen [10,12]. The  $\nu(\text{C}=\text{N})$  vibrations at  $1533$  ( $\text{H}_2\text{L}1$ ) and  $1558$  ( $\text{H}_2\text{L}2$ )  $\text{cm}^{-1}$  in the infrared spectra of the hydrazones [10,12] shift to  $1521$ – $1539\text{ cm}^{-1}$  in the spectra of complexes (1–3), in agreement with the coordination of the azomethine nitrogen. The  $\nu(\text{C}=\text{O})$  absorption observed at  $1720\text{ cm}^{-1}$  in the spectrum of  $\text{H}_2\text{L}1$  [10] does not shift in the spectrum of complex (1), suggesting that the carbonyl oxygen is not attached to the metal center. This absorption, observed at  $1666\text{ cm}^{-1}$  in the spectrum of  $\text{H}_2\text{L}2$  [10], shifts to  $1626\text{ cm}^{-1}$  in the spectrum of complex (2) and to  $1590\text{ cm}^{-1}$  in the spectrum of (3), compatible with coordination through the carbonyl oxygen. The in-plane deformation mode of the pyridine ring at  $712$ – $720\text{ cm}^{-1}$  in the spectra of the free hydrazones shifts to  $755$ – $744\text{ cm}^{-1}$  in complexes (1–3), suggesting coordination of the hetero-aromatic nitrogen.

#### NMR spectra

The NMR spectra of the hydrazones and their indium(III) complexes (1–3) were recorded in  $\text{DMSO}-d_6$ . The  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  resonances were assigned based on chemical shifts, and multiplicities (See Figures S4-S9, Supplementary Information). In the  $^1\text{H}$  NMR spectrum of complex  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}1)(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (1) the signal of O-H is observed at  $\delta 9.91$  ppm [10,12] with an integration of 0.5, according to the presence of one neutral and one anionic ligands in the indium(III) coordination sphere. This signal is absent in the spectra of  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) and  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2]\cdot\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (3). Hence, in complex  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}1)(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (1) the 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitroimidazolhydrazone ligand is

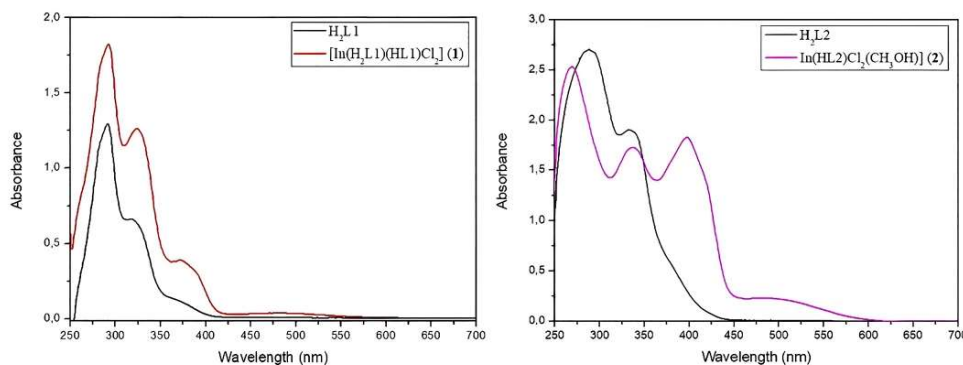


Fig. 4. The UV-vis spectra of  $\text{H}_2\text{L}1$ ,  $\text{H}_2\text{L}2$ , and complexes  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L}1)(\text{HL}1)\text{Cl}_2]$  (1) and  $[\text{In}(\text{HL}2)\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) in  $\text{DMSO}$  at  $10^{-3}\text{ M}$

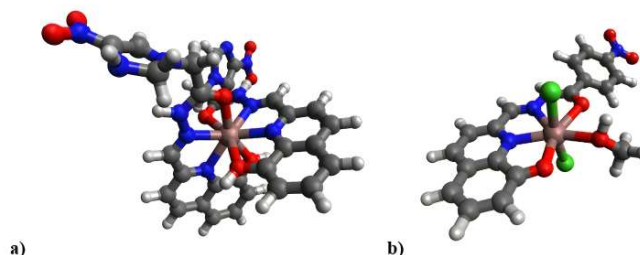


Fig. 5. Optimized PBE0/TZVPP geometry of a)  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  and b)  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  using PBE0/def2-TZVPP level of theory. Green elements are chloride, red are oxygens, blue are nitrogens, black are carbons, and white are hydrogens.

attached to the indium(III) center through the O–Npy–N chelating system, while in complexes  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) and  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}]$  (3), 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitrobenzenehydrazine is coordinated to indium(III) through the O–Npy–N–O chelating system. The signals of all hydrogens undergo significant shifts relative to their positions in the free ligands. The signals of C = N and the aromatic carbons undergo significant shifts in the spectra of complexes (1–3). The signal of C = O at 168.28 ppm in the spectrum of  $\text{H}_2\text{L1}$  [10] does not shift in the spectrum of complex (1), suggesting that the carbonyl oxygens are not coordinated to the metal center. The C = O signal at 162.12 ppm in the spectrum of  $\text{H}_2\text{L2}$  [10] undergoes a significant shift to 170.58 ppm in complex (2), according to coordination through the carbonyl oxygen, but does not shift significantly in the spectrum of complex (3), indicating that the interaction of the indium(III) center with the carbonyl oxygen in (3) might be weaker. Additionally, the presence of coordinated methanol is supported by the presence of a singlet at  $\delta$  1.24 ppm and a singlet at  $\delta$  3.51 ppm in the  $^1\text{H}$ NMR spectrum and a resonance at  $\delta$  48.6 ppm in the  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2). Furthermore, the presence of ethanol in complex (3) is supported by the observation of a triplet at  $\delta$  1.05 ppm and a quartet at  $\delta$  3.45 ppm in its  $^1\text{H}$ NMR spectrum, and of signals at  $\delta$  56.50 ppm ( $\text{CH}_3$ ) and  $\delta$  19.02 ppm ( $\text{CH}_2$ ) in the  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum.

#### Mass spectra

The MALDI-TOF mass spectra of complexes (1–3) show peaks at  $m/z$  = 793.14, 516.11, and 484.72, corresponding to the  $[\text{In}(\text{HL1})(\text{H}_2\text{L1})]^{2+}$ ,  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}(\text{CH}_3\text{OH})]^+$  and  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}]^+$  species, respectively (See Figures S10–S12, Supplementary Information).

#### Electronic spectra

The electronic spectrum of  $\text{H}_2\text{L1}$  and complex  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (1) exhibit absorptions at 291 nm (shoulder), 324 nm, and 371 nm attributable to  $\pi$ - $\pi^*$  intra-ligand transitions. The spectrum of  $\text{H}_2\text{L2}$  shows absorptions at 287 nm (shoulder) and 335 nm assigned to  $\pi$ - $\pi^*$  transitions. The spectra of complexes  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$  (2) and  $[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}]$  (3) present a completely distinct profile, exhibiting absorptions at 267 nm, 337 nm, 397 nm, (shoulder) nm assigned to  $\pi$ - $\pi^*$  transitions, and a band at 500 nm attributable to a ligand-to-metal charge transfer transition, which is observable upon deprotonation of the phenolic hydrogen with formation of a highly conjugated system (Fig. 4).

When dealing with indium coordination compounds, their filled d orbitals make them a special class of charge complexes, since the metal, when participating in the charge transfer process, will require its s orbital to receive the electronic density from the ligands. This leads to high energy absorptions due to ligand-to-metal charge transfer transitions (LMCT) in the electronic spectra. Since  $\text{In}^{3+}$  is a relatively hard cation, it is difficult to see metal-to-ligand charge transfer (MLCT) transitions [23].

Table 2  
PBE0/TZVPP calculated bond distances and angles (experimental values in parentheses).

Bond Distances (Å)	$[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$	$[\text{In}(\text{HL2})\text{Cl}_2(\text{CH}_3\text{OH})]$
O1–In	2.188 2.648	2.197 (2.220)
O2–In	–	2.487 (2.348)
N1–In	2.411	2.279 (2.273)
N2–In	2.326 2.482 2.719	2.442 (2.372)
In–Cl	2.509 2.511	2.448 (2.442) 2.433 (2.437)
In–O3CH <sub>3</sub>	–	2.316 (2.216)
<b>Angles (degrees)</b>		
O1–In–N1	72.4	74.3(71.3)
N1–In–O2	–	123.4(132.8)
N2–In–O2	–	58.0(66.2)
O1–In–Cl1	94.2	100.6(89.6)
N2–In–O1	135.4	139.7(137.7)
Cl1–In–Cl2	96.5	154.2(173.7)
N1–In–N2	63.4	65.3(66.8)
<b>Dihedral Angles (degrees)</b>		
O1–N1–N2–O2	150.8	1.5(3.5)
O2–N2–N1–In	156.3	0.3(0.8)
O1–N1–N2–In	5.5	1.1(4.3)

#### 3.4. Theoretical DFT calculations

The optimized structures of complexes (1) and (2) are shown in Fig. 5. Complex  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$  (1) presents coordination number (CN) 8, with the phenolic oxygen and nitrogen interacting with the indium center along with two chlorides. The interaction of the phenolate oxygen with  $\text{In}^{3+}$  results in a bond distance of 2.188 Å. For the interaction involving the phenolic oxygen, this bond distance increases to an estimated value of 2.648 Å, as expected. The Mayer bond order for the O1–In bond involving the phenolic group is 0.15, smaller than the bond order of 0.43 observed for the phenolate group. This indicates that although the interaction in the protonated state is weaker, it is still significant. The  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})]^{2+}$  species, with CN 8 (see Figure S.16, Supplementary Information) was calculated as well, which was also predicted to be stable but 30.7 kcal mol<sup>−1</sup> less stable than  $[\text{In}(\text{H}_2\text{L1})(\text{HL1})\text{Cl}_2]$ . The simulated infrared spectra of  $\text{H}_2\text{L1}$  and (1) are shown in Figure S.17, Supplementary Information. The peaks at 1744 and 1594 cm<sup>−1</sup> for  $\text{H}_2\text{L1}$  are displaced to 1730 and 1550 cm<sup>−1</sup>, respectively, in complex (1), in good agreement with the experimental values.

Complex (2) presents coordination number 7, with bond lengths shown in Table 2. The bond lengths agree with the experimental values. The differences between the estimated and experimental bond lengths are in the expected range.

Figure S18 (Supplementary Information) shows the simulated

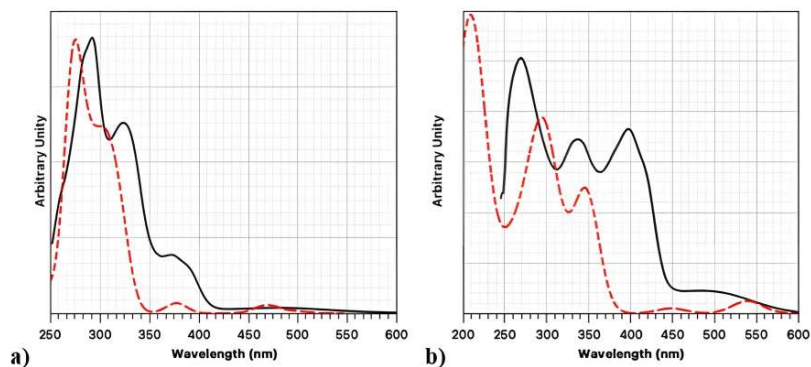


Fig. 6. TD-DFT calculations at PBE0 level of theory for a) (1) and b) (2). A full width at half maximum (FWHM) of 15 nm was utilized. Experimental (full line) and theoretical (dashed line) electronic spectra.

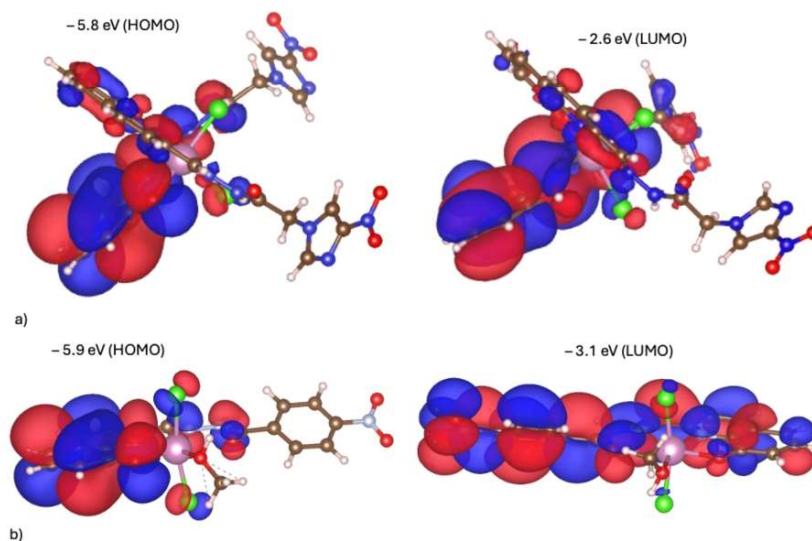


Fig. 7. Molecular orbitals involved in the electronic transition of a) complex (1) and b) complex (2).

infrared spectra for  $H_2L_2$  and complex (2). The peaks at 1708 and 1590  $cm^{-1}$  in  $H_2L_2$  are displaced to 1651 and 1579  $cm^{-1}$  in (2), also in good agreement with the experimental values. The methanol coordinated to the  $In^{3+}$  ion exhibits a bonding energy of 7 kcal  $mol^{-1}$ .

The calculated electronic spectra of complexes  $[In(H_2L_1)(HL_1)Cl_2]$  (1) and  $[In(HL_2)Cl_2(CH_3OH)]$  (2) were in agreement with the experimental spectra. Fig. 6 compares the calculated and experimental UV-vis spectra for complexes (1) and (2). The experimental and calculated spectra present the same pattern, with the three peaks at 210, 295, and 346 nm for complex (1). The calculated spectrum of complex (2) presents 3 peaks at 277, 322, and 408 nm, with the same pattern as the experimental spectrum. Natural Transition Orbitals analysis suggested that the absorptions present  $\pi \rightarrow \pi^*$  character as shown in Fig. 7.

The HOMO-LUMO gap is 3.2 eV and 2.2 eV for complexes (1) and (2), respectively, and 3.8 and 3.3 eV for  $H_2L_1$  and  $H_2L_2$ , respectively. A smaller HOMO-LUMO gap usually indicates higher biological and chemical reactivity [24]–[26]. Electrostatic maps of complexes (1) and (2), as shown in Figure S21 (Supplementary Information), indicate that the complexes are mostly susceptible to nucleophilic attack [24–26].

#### 4. Conclusion

The reaction of  $InCl_3$  with 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitroimidazole hydrazone ( $H_2L_1$ ) in ethanol gave  $[In(H_2L_1)(HL_1)Cl_2]$ , complex (1) as the product. Experimental data and DFT calculations suggested that complex (1) presents coordination number (CN) 8, with

one neutral and one anionic ligand coordinated to the metal center through the O–Npy–N tridentate chelating system together with two chloride ions. The reaction with 2-formyl-8-hydroxyquinoline-4-nitrobenzene hydrazone (H<sub>2</sub>L2) in methanol gave [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)], complex (2), as the product while [In(HL2)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH], complex (3), was formed as the product using ethanol as solvent. Experimental data and DFT calculations indicated that in complex [In(HL2)Cl<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>OH)] (2), one anionic ligand is attached to the indium(III) center through the O–Npy–N–O tetradentate chelating system, along with two chlorides and a coordination methanol molecule, the indium(III) center presenting CN 7. In complex [In(HL2)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH] (3) an anionic HL2 ligand is attached to the indium(III) center together with two chloride ions. NMR data suggested that the interaction of the carbonyl oxygen with the indium(III) center might be weaker in complex (3) than in the case of complex (2). The results indicated that for the indium(III) center to exhibit CN 8 accommodating two H<sub>2</sub>L1 ligands and two chlorides, O–Npy–N coordination occurs, while O–Npy–N–O coordination is favored if one H<sub>2</sub>L2 ligand and two chlorides are attached to the indium(III) center. The present work constitutes an important contribution to understanding indium(III) coordination chemistry.

#### CRedit authorship contribution statement

**Alexandre B. de Carvalho:** Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Bruna V. Paes:** Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Conceptualization. **Ana Paula A. Oliveira:** Methodology, Investigation. **Bernardo L. Rodrigues:** Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation. **Helio A. Duarte:** Writing – original draft, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Conceptualization. **Heloisa Beraldo:** Writing – original draft, Supervision, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation, Conceptualization.

#### Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge CAPES, CNPq (421902/2016–7, 405781/2021–6, 305663/2018–5), and FAPEMIG (APQ 01588–21) for financial support and student grants.

#### Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at [doi:10.1016/j.molstruc.2024.140557](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140557).

#### Data availability

Data area available in the Supplementary Information

#### References

- [1] R.E. Weiner, M.L. Thakur, Chemistry of gallium and indium radiopharmaceuticals, in: M.J. Welch, C.S. Redvanly (Eds.), Handbook of Radiopharmaceuticals – Radiochemistry and Applications, John Wiley & Sons, Inc., Chichester, 2005, pp. 363–399.
- [2] E.P. Krenning, D.J. Kwekkeboom, W.H. Bakker, W.A. Breeman, P.P. Kooji, H. Y. Oei, M. van Hagen, P.T. Postema, M. de Jong, J.C. Reubi, T.J. Visser, A.E. M. Reijs, L.J. Hofland, J.W. Koper, S.W.J. Lamberts, Somatostatin receptor scintigraphy with [<sup>111</sup>In-DTPA-D-Phe]<sup>1</sup> and [123I-Tyr3]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients, Eur. J. Nucl. Med. 20 (1993) 716–731, <https://doi.org/10.1007/BF00181765>.
- [3] H. Beraldo, Pharmacological applications of non-radioactive indium(III) complexes: A field yet to be explored, Coord. Chem. Rev. 419 (2020) 213375, <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213375>.
- [4] A.A. Oliveira, G.M.C. Perdigão, L.E. Rodrigues, J.G. da Silva, E.M. Souza-Fagundes, J.A. Takahashi, W.R. Rocha, H. Beraldo, Cytotoxic and antimicrobial effects of indium(III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones, Dalton Trans 46 (2017) 918–932, <https://doi.org/10.1039/C6DT03657K>.
- [5] A.A. Oliveira, L.L. Franco, R.G. dos Santos, G.M.C. Perdigão, J.G. da Silva, E. M. Souza-Fagundes, H. Beraldo, Neutron activation of In(III) complexes with thiosemicarbazones leads to the production of potential radiopharmaceutical for the treatment of breast cancer, New J. Chem. 41 (2017) 9041–9050, <https://doi.org/10.1039/C7NJ01547J>.
- [6] Y. Song, H. Xu, W. Chen, P. Zhan, X. Liu, 8-hydroxyquinoline: a privileged structure with a broad-ranging pharmacological potential, MedChemComm 6 (2015) 61–74, <https://doi.org/10.1039/C4MD00284A>.
- [7] V.F.S. Pape, N.V. May, G.T. Gal, I. Szatmári, F. Szeri, F. Filop, G. Szakács, É. A. Enyedy, Impact of copper and iron binding properties on the anticancer activity of 8-hydroxyquinoline derived Mannich bases, Dalton Trans 47 (2018) 17032–17045, <https://doi.org/10.1039/C8DT03088J>.
- [8] R. Cherdtrakulkiat, S. Boonpangrak, N. Sintthupoom, S. Prachayasittikul, S. Ruchirawat, V. Prachayasittikul, Derivatives (halogen, nitro and amino) of 8-hydroxyquinoline with highly potent antimicrobial and antioxidant activities, BB Reports 6 (2016) 135–141, <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2016.03.014>.
- [9] D.C. Reis, M.C.X. Pinto, E.E. Souza-Fagundes, L.F. Rocha, V.R.A. Pereira, C.M. L. Melo, H. Beraldo, Investigation on the pharmacological profile of antimony(III) complexes with hydroxyquinoline derivatives: anti-trypanosomal activity and cytotoxicity against human leukemia cell lines, Biometals 24 (2011) 595–601, <https://doi.org/10.1007/s10534-011-9407-8>.
- [10] A.P.A. Oliveira, A.A. Recio-Despaigne, I.P. Ferreira, R. Diniz, K.A.F. Sousa, T. M. Bastos, M.B.P. Soares, D.R.M. Moreira, H. Beraldo, Investigation of the antitypanosomal effects of 2-formyl-8-hydroxyquinoline- derived hydrazones and their antimony(III) and bismuth(III) complexes, New J. Chem. 43 (2019) 18996–19002, <https://doi.org/10.1039/C9NJ02676B>.
- [11] V. Oliveri, G. Vecchio, 8-hydroxyquinolines in medicinal chemistry: A structural perspective, Eur. J. Med. Chem. 120 (2016) 252–274, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.05.007>.
- [12] L.M.F. Gomes, R.P. Vieira, M.R. Jones, M.C.P. Wang, C. Dyrager, E.M. Souza-Fagundes, J.G. da Silva, T. Storr, H. Beraldo, 8-Hydroxyquinoline Schiff-base compounds as antioxidants and modulators of copper-mediated Aβ peptide aggregation, J. Inorg. Biochem. 139 (2014) 106–116, <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.04.011>.
- [13] T.O. Ajiboye, O.J. Ajala, J.O. Adeyemi, Indium(III) complexes: application as organic catalyst, precursor for chalcogenides nanoparticles and starting materials in the industry, Chem.Pap 78 (2024) 4605–4622, <https://doi.org/10.1007/s11696-024-03411-8>.
- [14] B. Parveen, S. Shahzadi, S. Ali, M. Feizi-Dehnavy, K.S. Munawar, M. Ashfaq, M. N. Tahir, Synthesis, spectral characterizations, computational studies and biological investigation of 4-(4-(2-hydroxyethyl)phenylamino)-4-oxobutanoic acid and its trimethyltin(IV) complex, J. Mol. Struct. 1315 (2024) 138851, <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138851>.
- [15] G.P. Souza, C. Konzen, J.D. Ardisson, H.A. De Abreu, H.A. Duarte, A.F.C. Alcántara, W.C. Nunes, W.A.A. Macedo, M. Knobel, H.O. Stumpf, Synthesis and Density Functional Calculations of the New Molecule-Based Magnet Precursor [Fe(H<sub>2</sub>opba-*i*)(dms<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]Cl, J. Braz. Chem. Soc. 17 (2006) 1534–1539, <https://doi.org/10.1590/S0103-50532006000800008>.
- [16] M. Loss, C. Gerber, F. Corona, J. Hollenger, H. Singer, Accelerated isotope fine structure calculation using pruned transition trees, Anal. Chem. 87 (2015) 5738–5744, <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.analchem.5b00941>.
- [17] F. Neese, F. Wennmo, U. Becker, C. Riplinger, The ORCA Quantum Chemistry Program Package, J. Chem. Phys. 152 (2020) 224108, <https://doi.org/10.1063/5.0004608>.
- [18] C. Adamo, V. Barone, Toward Reliable Density Functional Methods without Adjustable Parameters: The PBE0 Model, J. Chem. Phys. 110 (1999) 6158–6170, <https://doi.org/10.1063/1.478522>.
- [19] F. Weigend, R. Ahlrichs, Balanced Basis Sets of Split Valence, Triple Zeta Valence and Quadruple Zeta Valence Quality for H to Rn: Design and Assessment of Accuracy, Phys. Chem. Chem. Phys. 7 (2005) 3297–3305, <https://doi.org/10.1039/B508541A>.
- [20] B. Metz, H. Stoll, M. Dolg, Small-core multiconfiguration-Dirac–Hartree–Fock-adjusted pseudopotentials for post-*d* main group elements: Application to PbH and PbO, J. Chem. Phys. 113 (2000) 2563–2569, <https://doi.org/10.1063/1.1305880>.
- [21] A.V. Marenich, C.J. Cramer, D.G. Truhlar, Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions, J. Phys. Chem. B 113 (2009) 6378–6396, <https://doi.org/10.1021/jp910292n>.
- [22] M.E. Casida, M. Huix-Rotllant, Progress in Time-Dependent Density-Functional Theory, Annu. Rev. Phys. Chem. 63 (2012) 287–323, <https://doi.org/10.1146/annurev-physchem-032511-143803>.
- [23] J.R. Diniz, J.R. Correa, D.F.S. Machado, S.L.M. Soares, C.C. Gatto, H.C.B. de Oliveira, P.E.N. de Souza, M.O. Rodrigues, B.A.D. Neto, Indium complex with task-specific ionic liquid ligands: Ligand to ligand charge transfer in the excited state investigation and reliable DFT predictions, J. Lumin. 225 (2020) 117391, <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2020.117391>.
- [24] A. Zahirović, S. Fetahović, M. Feizi-Dehnavy, A. Višnjevac, R. Bešta-Gajević, A. Kozarić, L. Martić, A. Topčagić, S. Roca, Dual Antimicrobial-Anticancer Potential, Hydrolysis, and DNA/BSA Binding Affinity of a Novel Water-Soluble Ruthenium-Arene Ethylenediamine Schiff base (RAES) Organometallic,

A.B. de Carvalho et al.

Journal of Molecular Structure 1322 (2025) 140557

- Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 318 (2024), <https://doi.org/10.1016/j.saa.2024.124528>.
- [25] D. Majumdar, A. Chatterjee, M. Feizi-Dehnavybi, N.S. Kiran, B. Tuzun, D. Mishra, 8-Aminoquinoline derived two Schiff base platforms: Synthesis, characterization, DFT insights, corrosion inhibitor, molecular docking, and pH-dependent antibacterial study, Heliyon 10 (2024), <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35591>.
- [26] V. Andonova, K. Nikolova, I. Lliev, S. Georgieva, N. Petkova, M. Feizi-Dehnavybi, S. Nikolova, A. Gerasimova, Density Functional Theory (DFT), and Therapeutic Potential of Green-Extracted Phycocyanin from *Spirulina*, Int. J. Mol. Sci, 25 (2024) 9170, <https://doi.org/10.3390/ijms25179170>.

**APÊNDICE II: Trabalho apresentado em congresso**



## ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA

09 A 11 DE DEZEMBRO DE 2022 | BELO HORIZONTE

### CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO

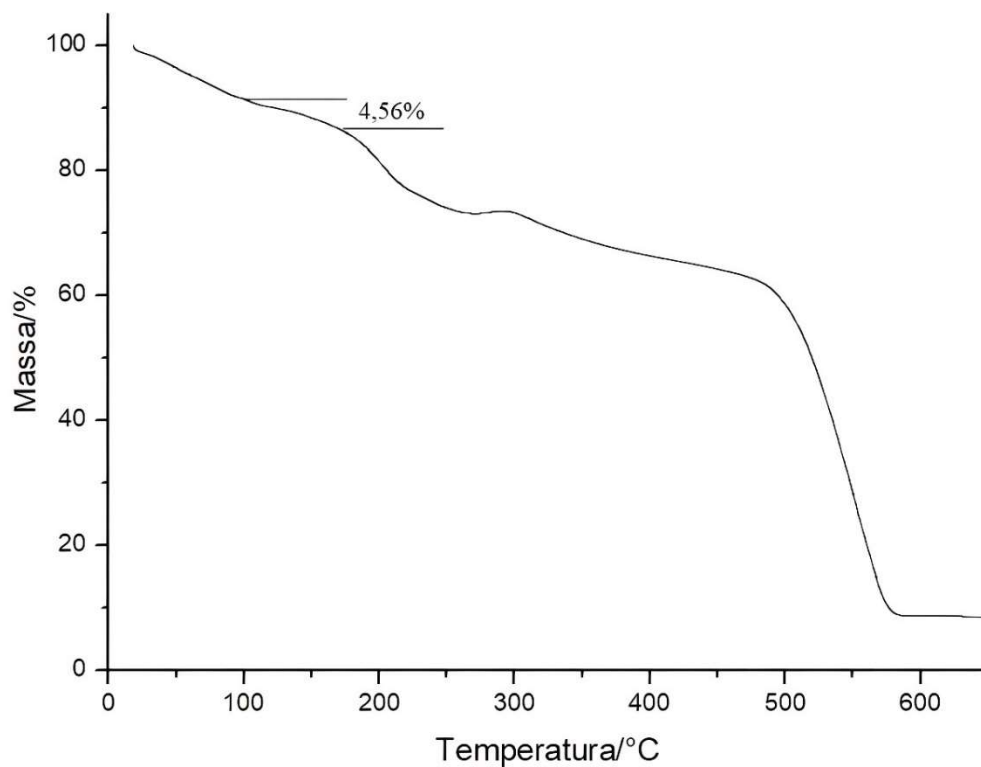
Declaramos que o trabalho intitulado "**Estudos de complexos de In(III) com naringenina: desenvolvimento de potenciais metalofármacos a partir de produtos naturais**" foi apresentado por Alexandre B. de Carvalho (UFMG) no "34º Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química de Minas Gerais" realizado no CAD 1- Centro de atividades didáticas 1 – UFMG, em Belo Horizonte-MG, no dia 11 de dezembro de 2022.

SBQ - Sociedade Brasileira de Química  
Regional Minas Gerais  
CNPJ: 049.353.568/0001-85

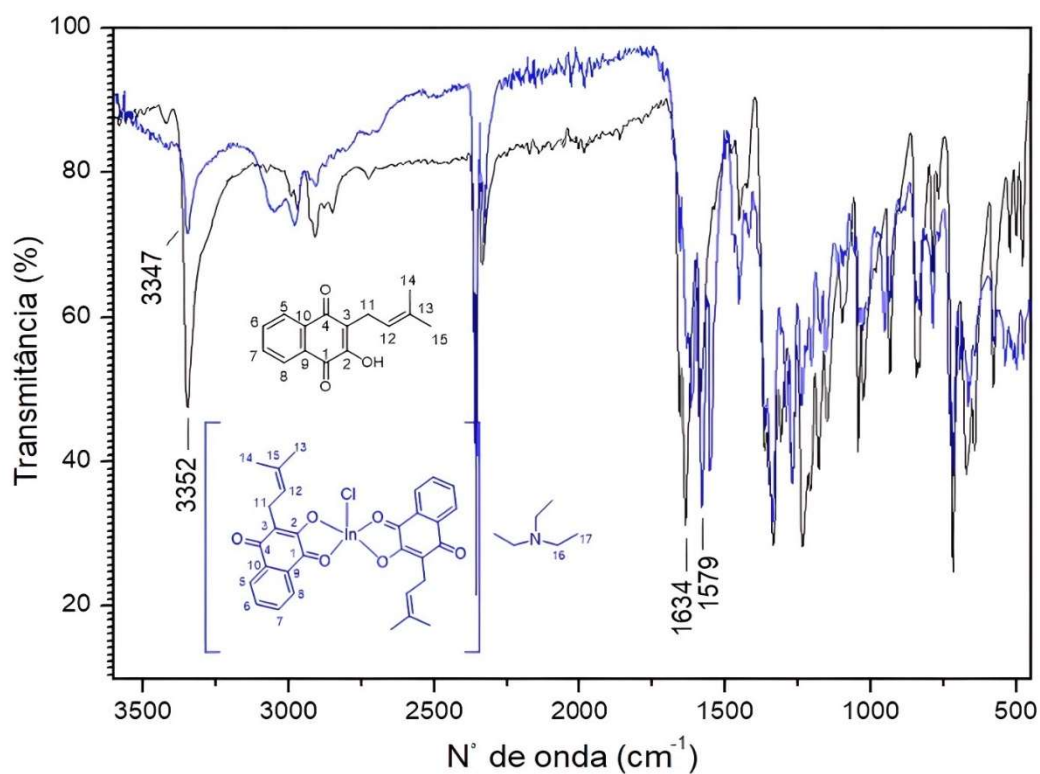


Secretaria Regional de Minas Gerais (2022-2024)

**APÊNDICE III: Curvas termogravimétricas, espectros de infravermelho, RMN e UV-  
Vís**



**Figura S1.** Curva termogravimétrica do complexo do  $[\text{In}(\text{lap})_3] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  (**3**) obtida em atmosfera dinâmica de ar, com fluxo de  $50 \text{ mL min}^{-1}$  e razão de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . A faixa de temperatura utilizada foi de 25 a  $900 \text{ }^\circ\text{C}$ .



**Figura S2.** Espectro de IV do complexo  $[\text{In}(\text{lap})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**2**).

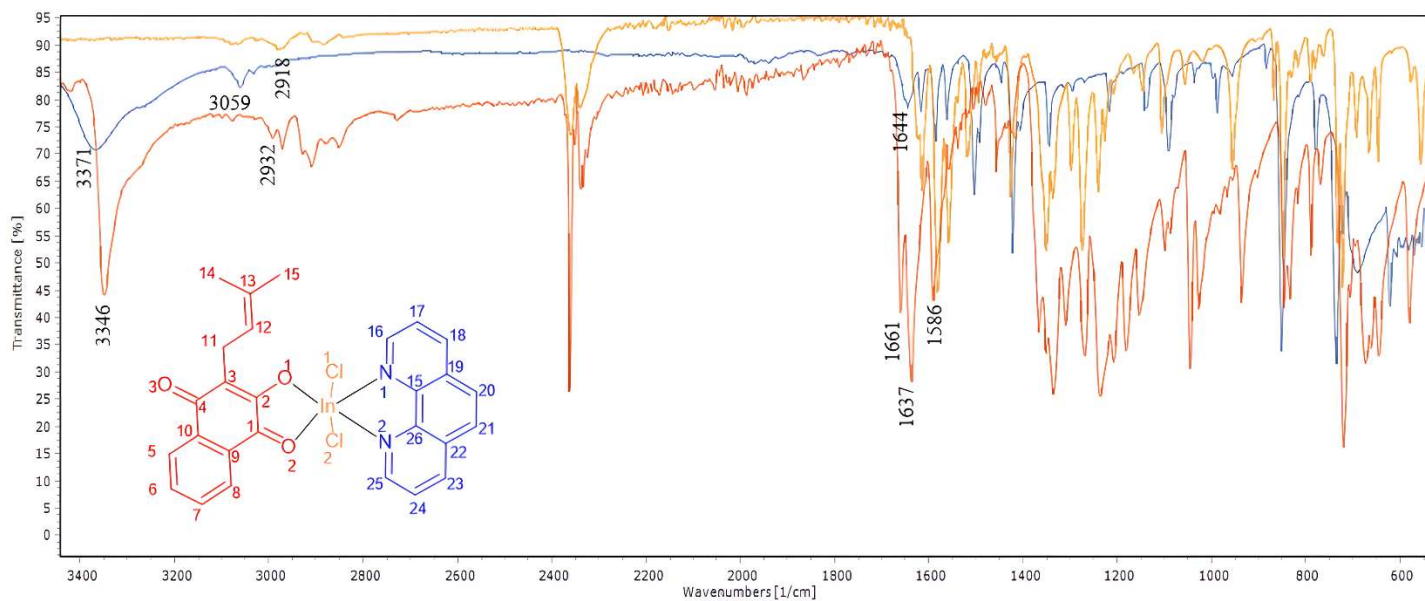


Figura S3. Espectro vibracional do complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{phen})\text{Cl}_2]$  (5).

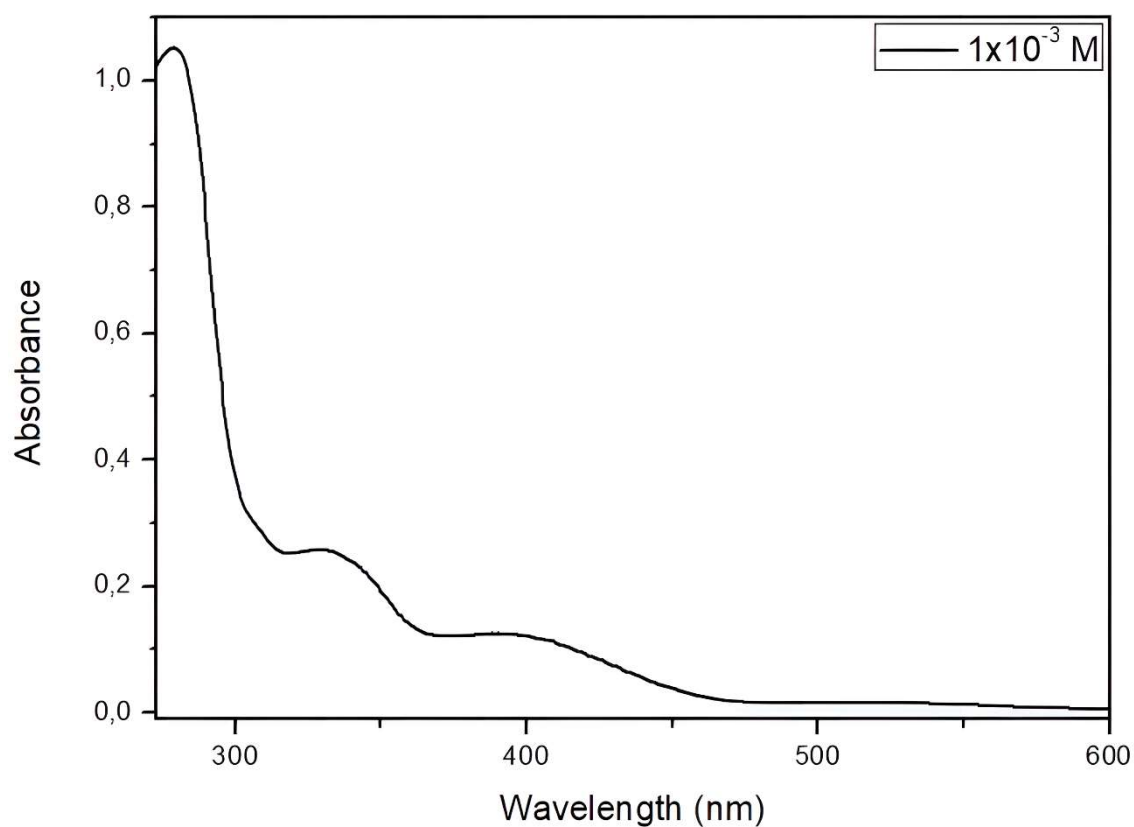
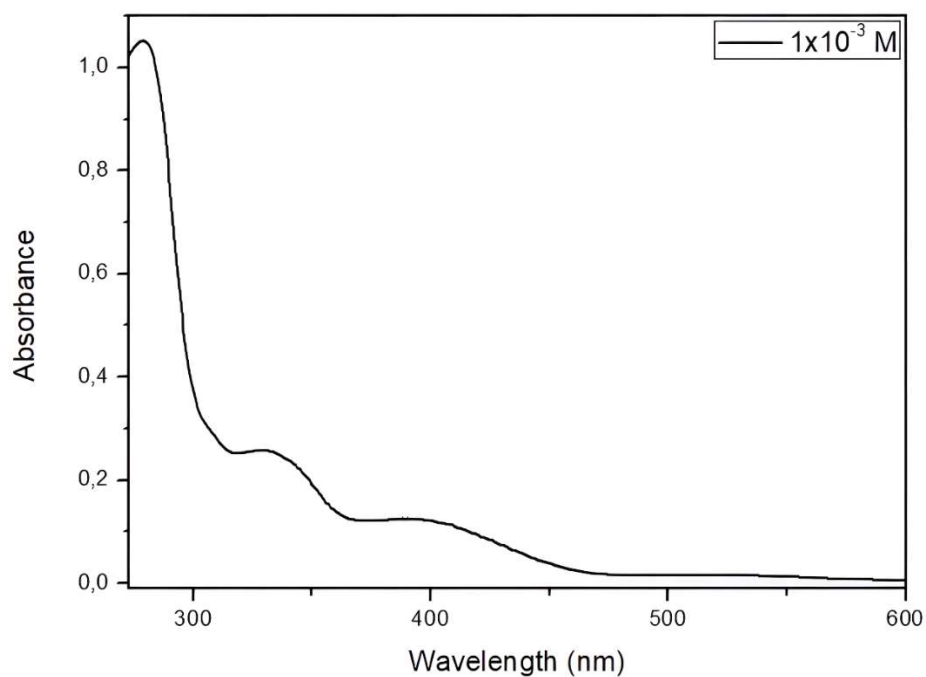
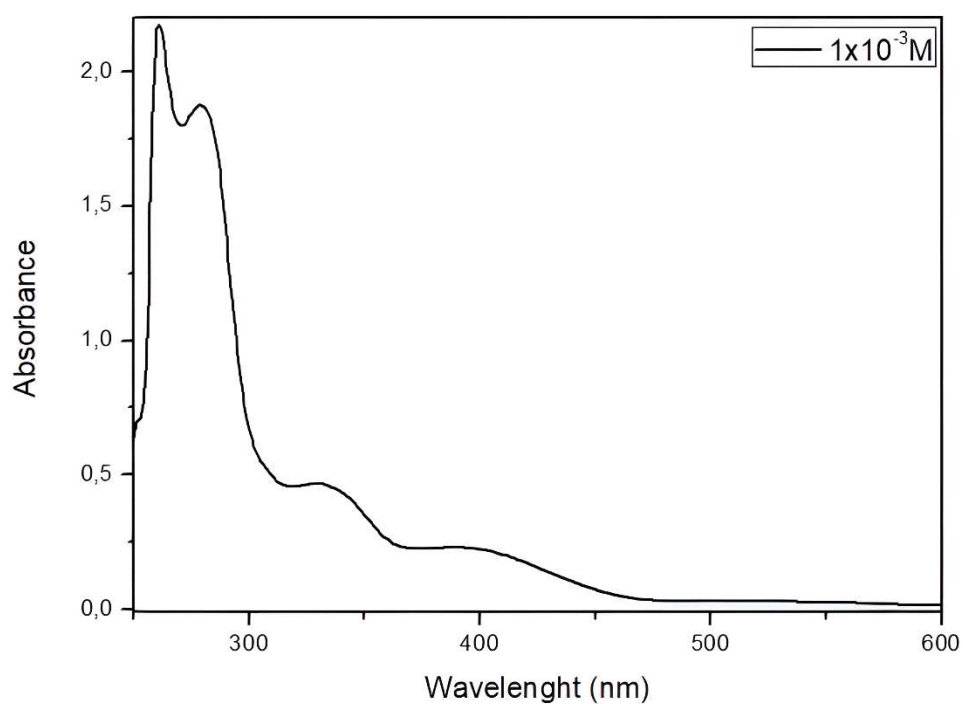


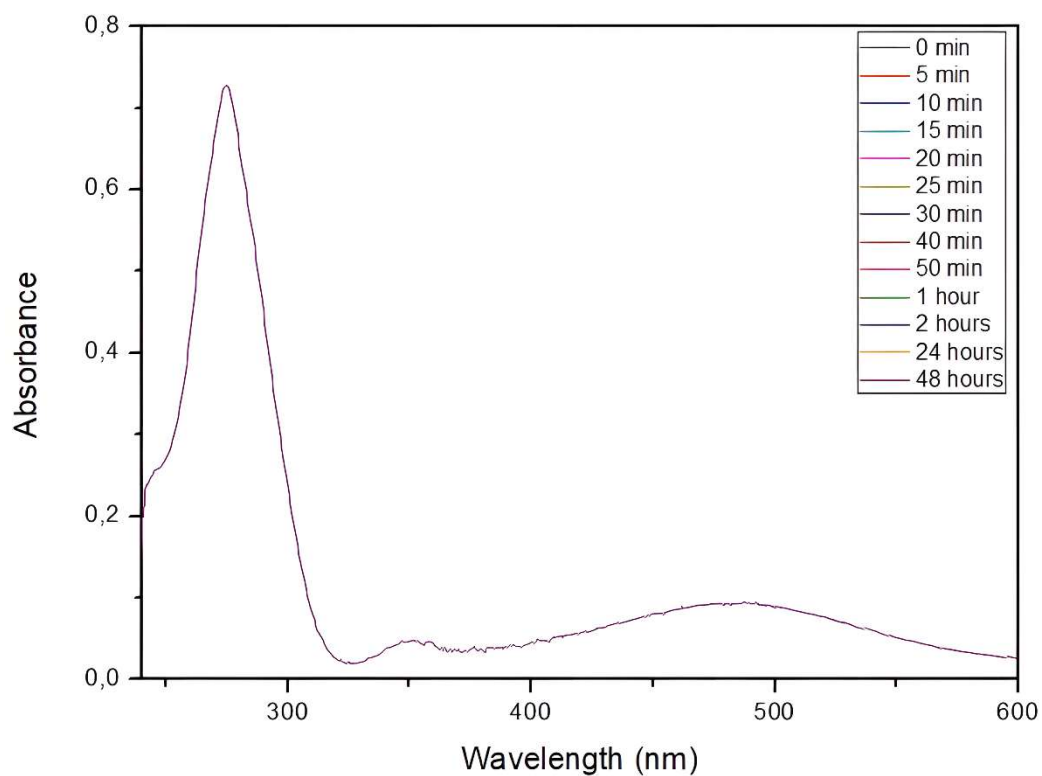
Figura S4. Espectro eletrônico do complexo  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1) em DMSO em uma concentração de  $10^{-3}$  M.



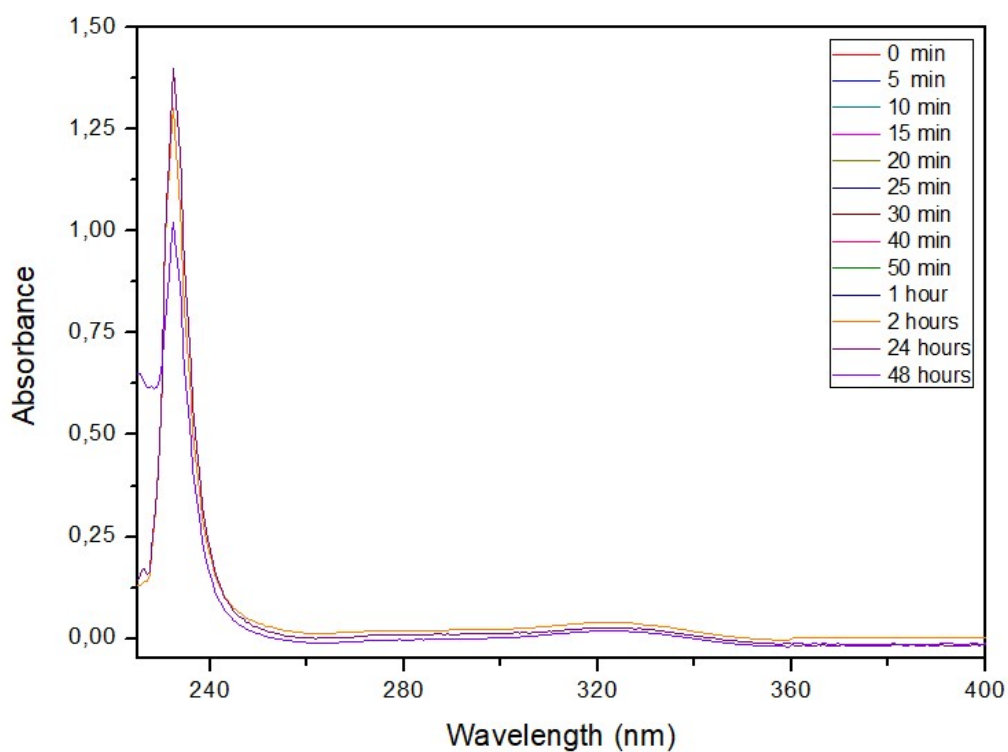
**Figura S5.** Espectro eletrônico do complexo [In(lap)<sub>2</sub>Cl]·Et<sub>3</sub>N (2) em DMSO em concentração de 10<sup>-3</sup> M.



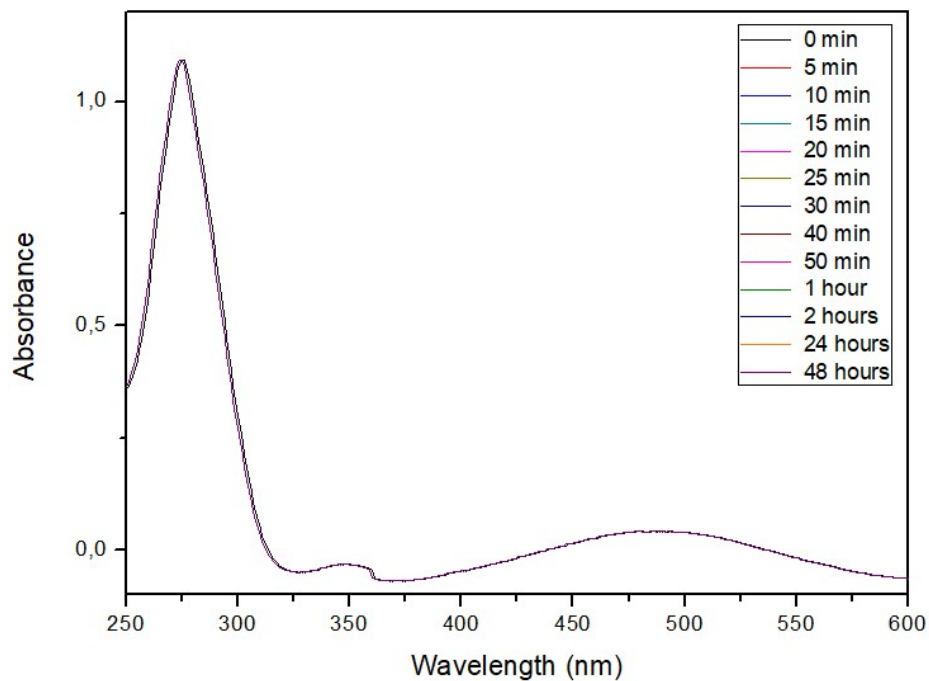
**Figura S6.** Espectro eletrônico do complexo [In(lap)<sub>3</sub>]·2 H<sub>2</sub>O (3) em DMSO em uma concentração de 10<sup>-3</sup> M.



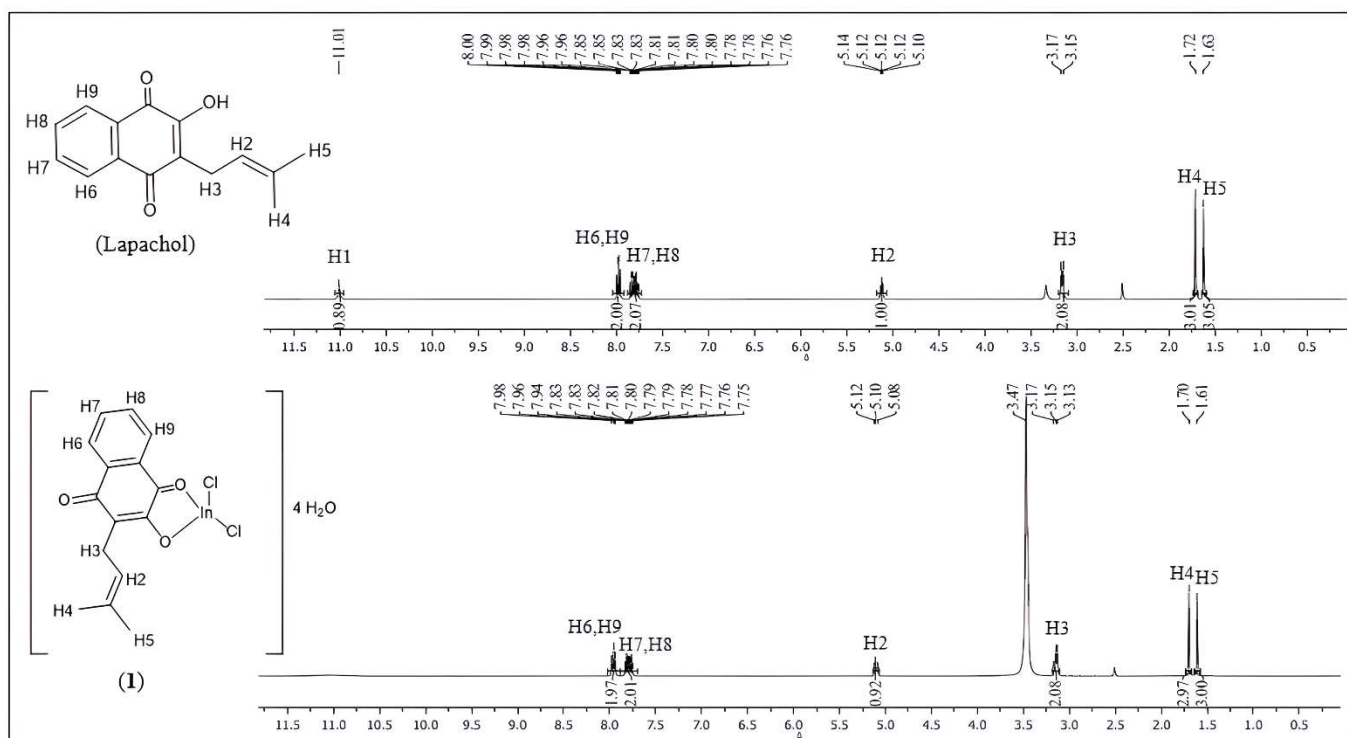
**Figure S7.** Espectro de UV-vis, em função do tempo, do complexo (1) em uma concentração de  $10^{-3}$  M em 1% DMSO/tampão tris-HCl em pH = 7,4.



**Figure S8.** Espectro de UV-vis, em função do tempo, do complexo (2) em uma concentração de  $10^{-3}$  M em 1% DMSO/tampão tris-HCl em pH = 7,4.



**Figure S9.** Espectro de UV-vis, em função do tempo, do complexo (3) em uma concentração de  $10^{-3}$  M em 1% DMSO/tampão tris-HCl em pH = 7,4.



**Figura S10.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do lapachol e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (1) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

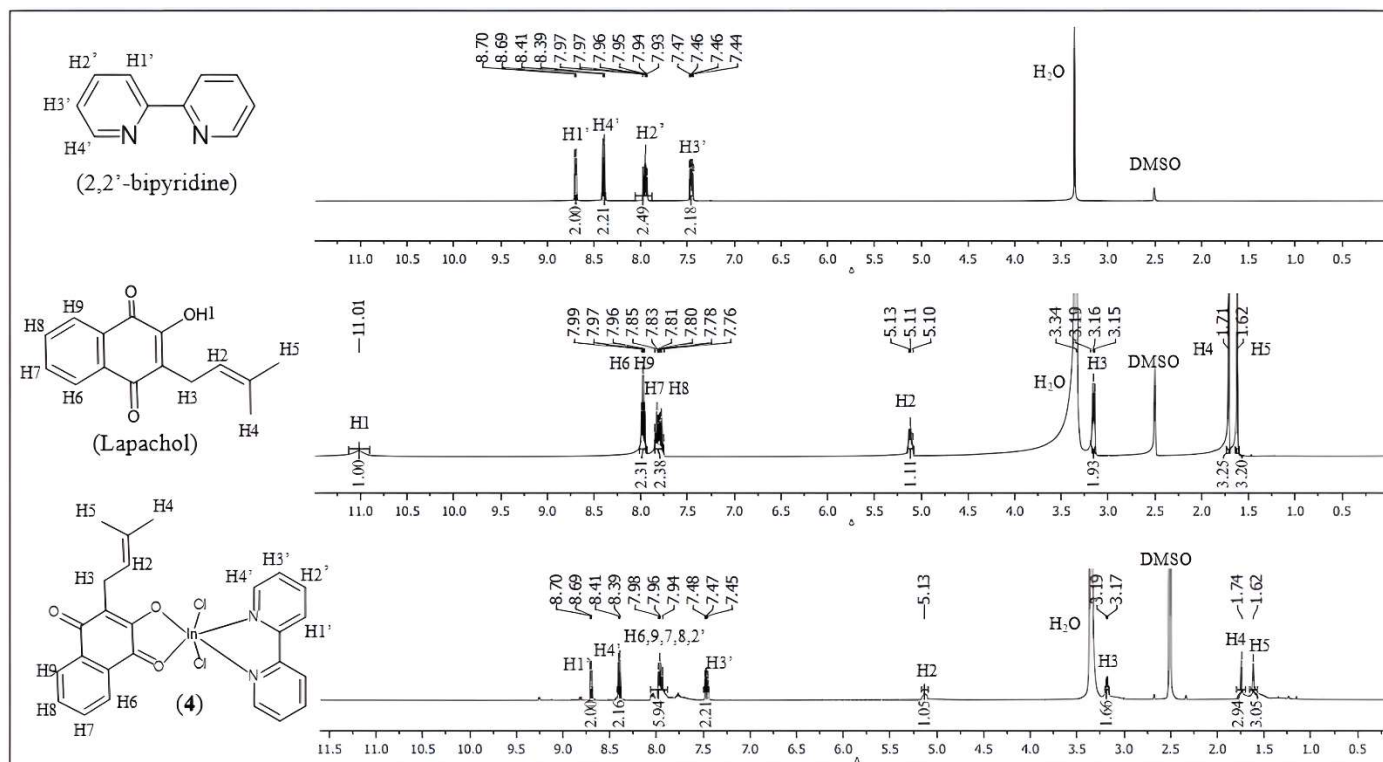


Figura S11. Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do lapachol, 2,2'-bipiridina e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (**4**) em  $\text{DMSO-}d_6$ .

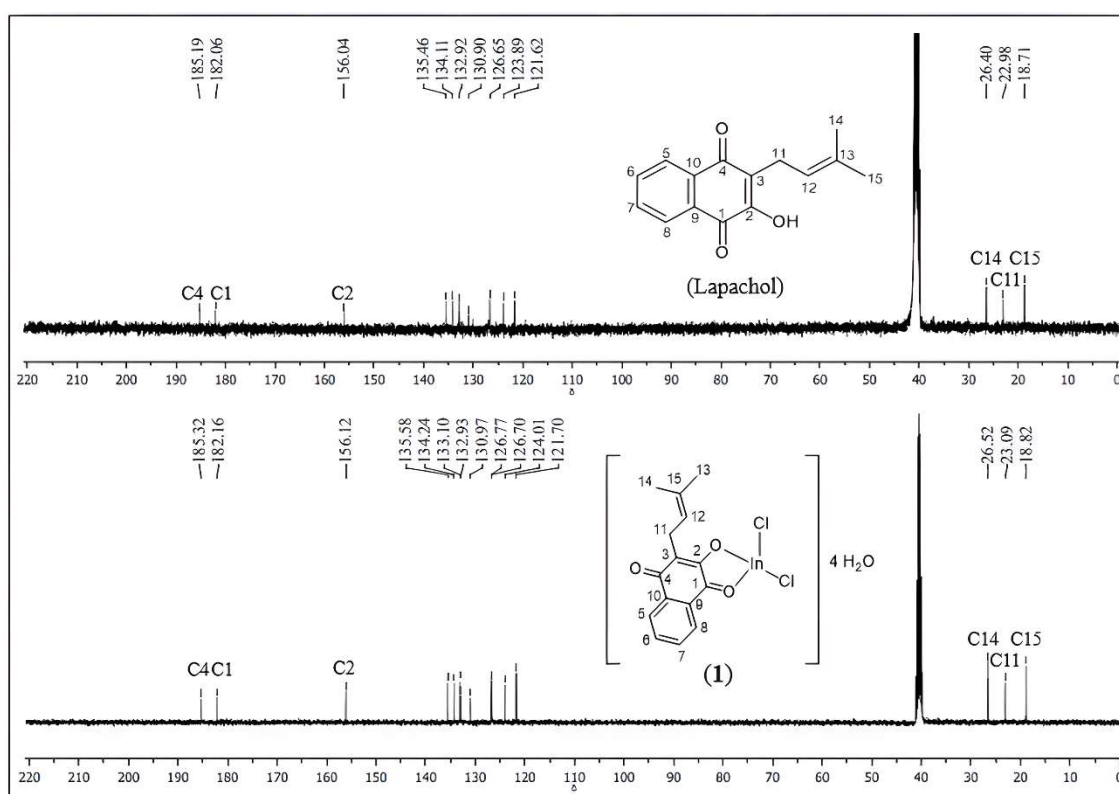
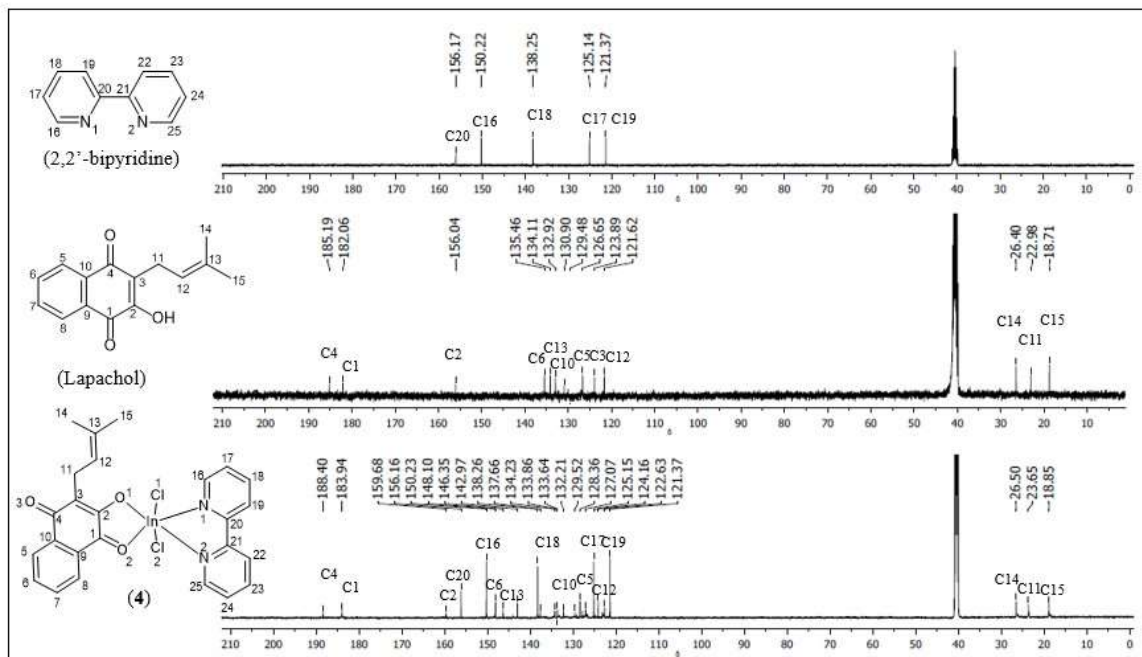
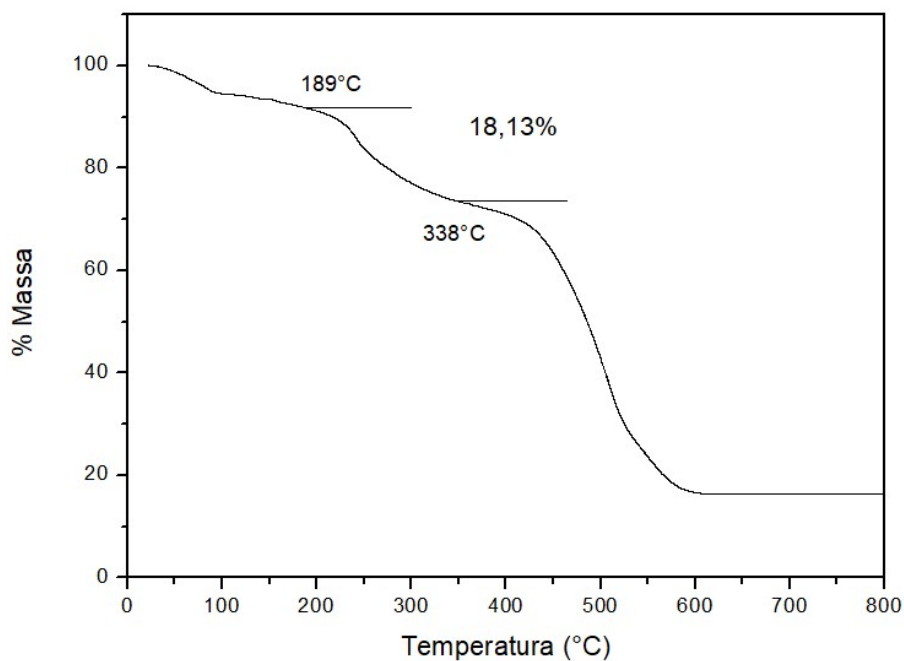


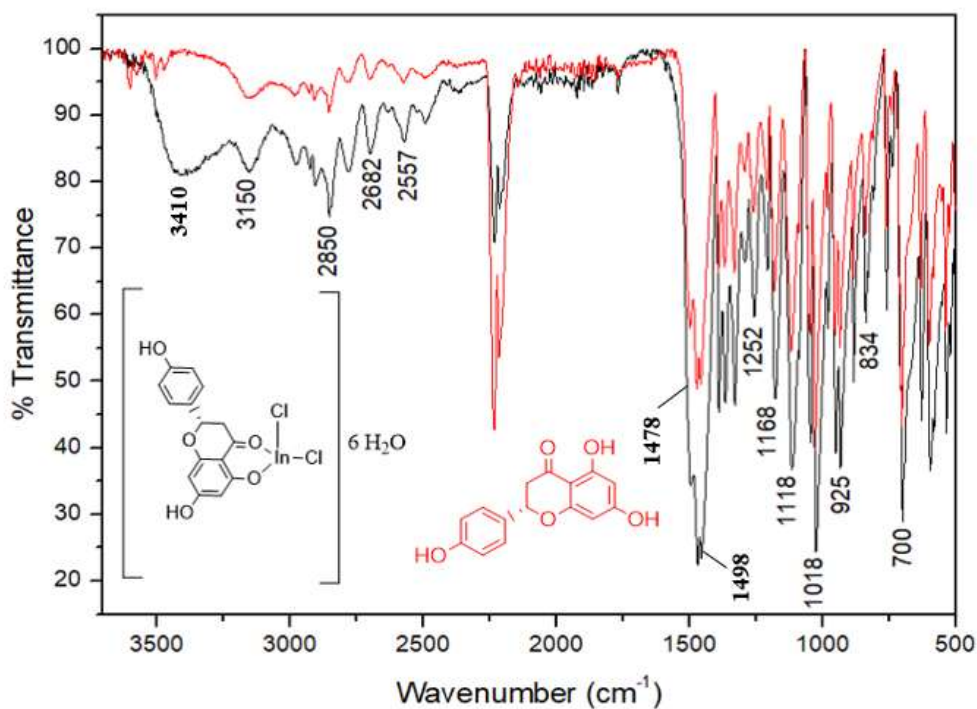
Figura S12. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  do ligante lapachol e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})\text{Cl}_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**1**) em  $\text{DMSO-}d_6$ .



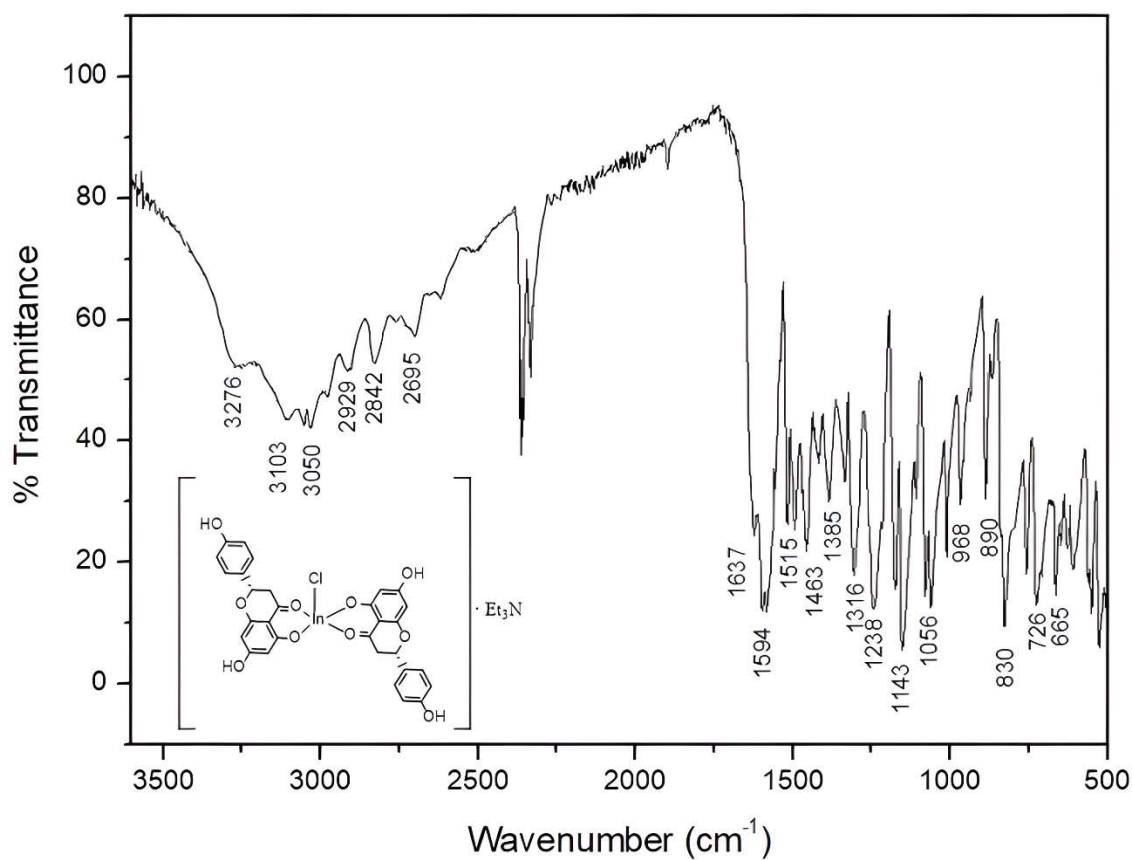
**Figura S13.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  do ligante lapachol, 2,2'-bipiridina e do complexo  $[\text{In}(\text{lap})(\text{bipy})\text{Cl}_2]$  (4) em  $\text{DMSO-d}_6$ .



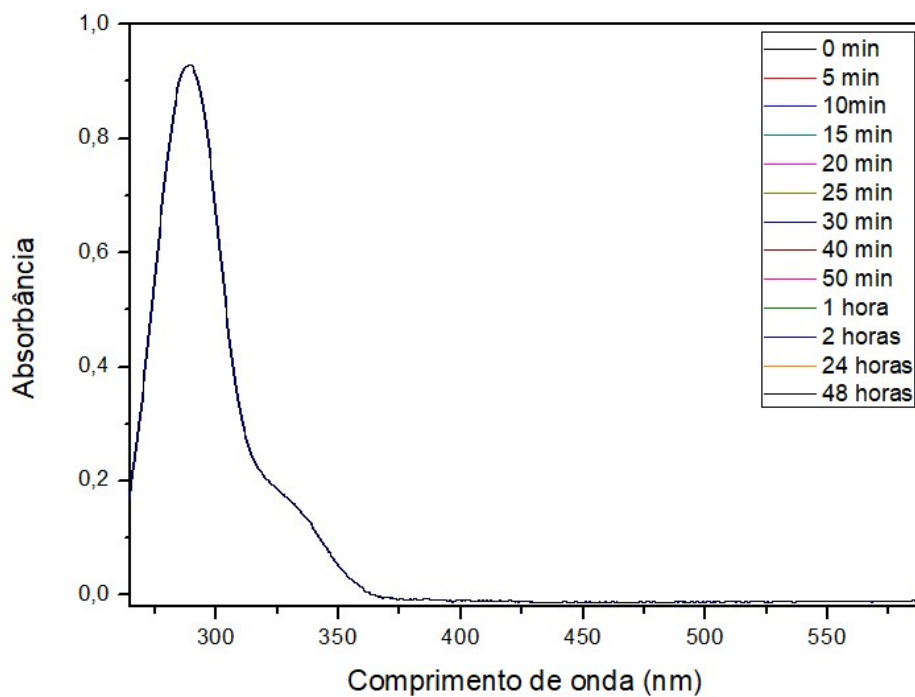
**Figura S14.** Curva termogravimétrica do complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (8) obtida em atmosfera dinâmica de ar, com fluxo de  $50\text{ mL min}^{-1}$  e razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . A faixa de temperatura utilizada foi de 25 a  $900\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



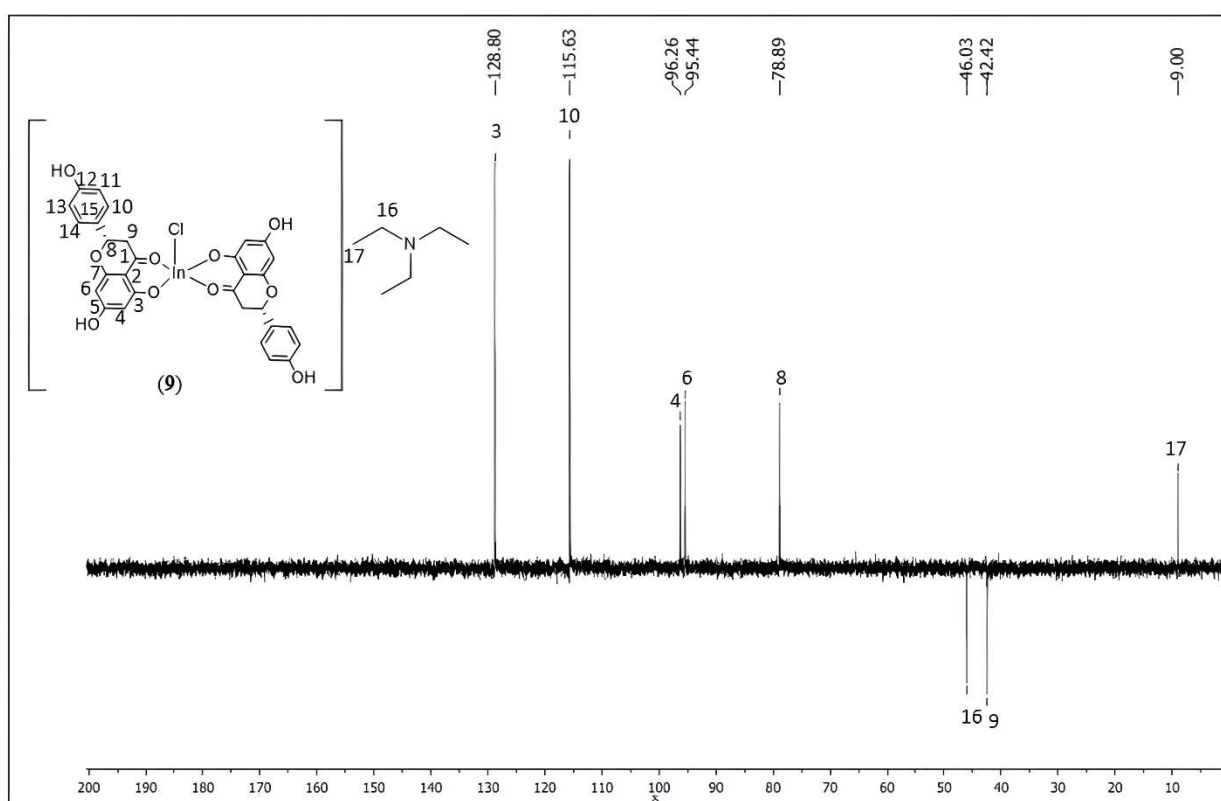
**Figura S15.** Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante naringenina e do complexo  $[\text{In}(\text{nar})\text{Cl}_2] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (**8**).



**Figura S16.** Espectro vibracional na região do infravermelho do do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (**9**).



**Figura S17.** Espectro eletrônico ao longo do tempo do complexo  $[\text{In}(\text{Nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (9) em uma concentração de  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  uma solução em 5% DMSO/Tris-HCl pH = 7,2.



**Figura S.18.** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  DEPT-135 do complexo  $[\text{In}(\text{nar})_2\text{Cl}] \cdot \text{Et}_3\text{N}$  (9) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

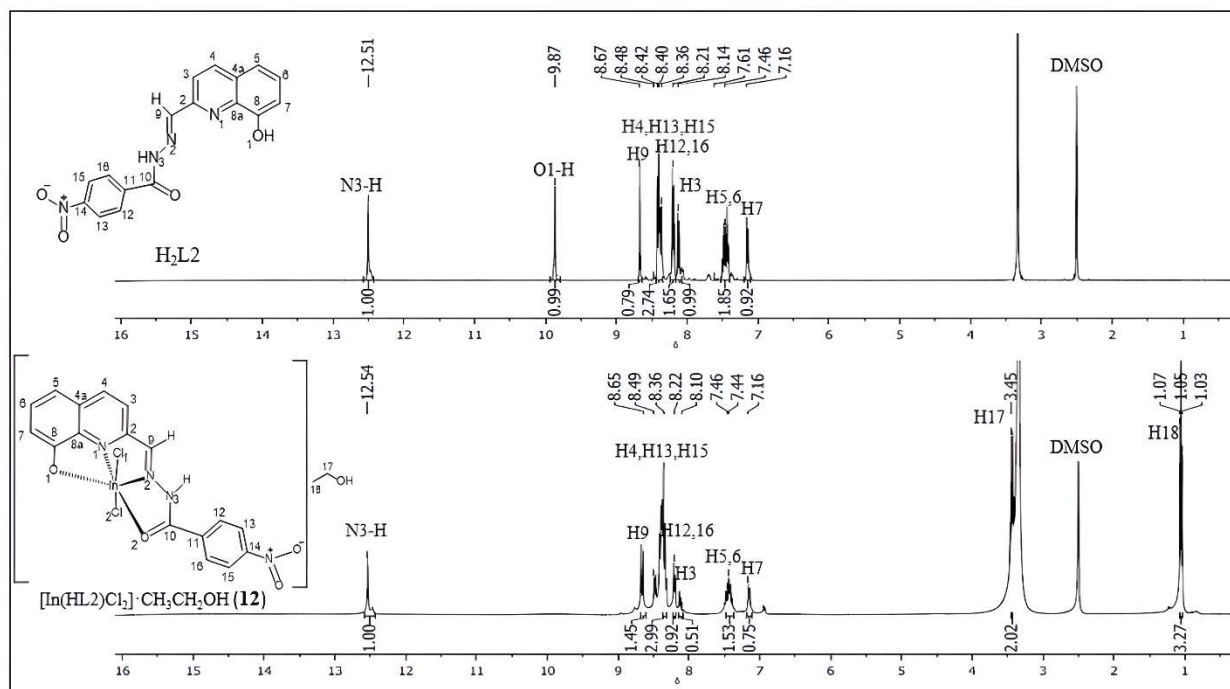


Figura S19. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do ligante  $\text{H}_2\text{L}_2$  e do complexo  $[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**) em  $\text{DMSO-d}_6$ .

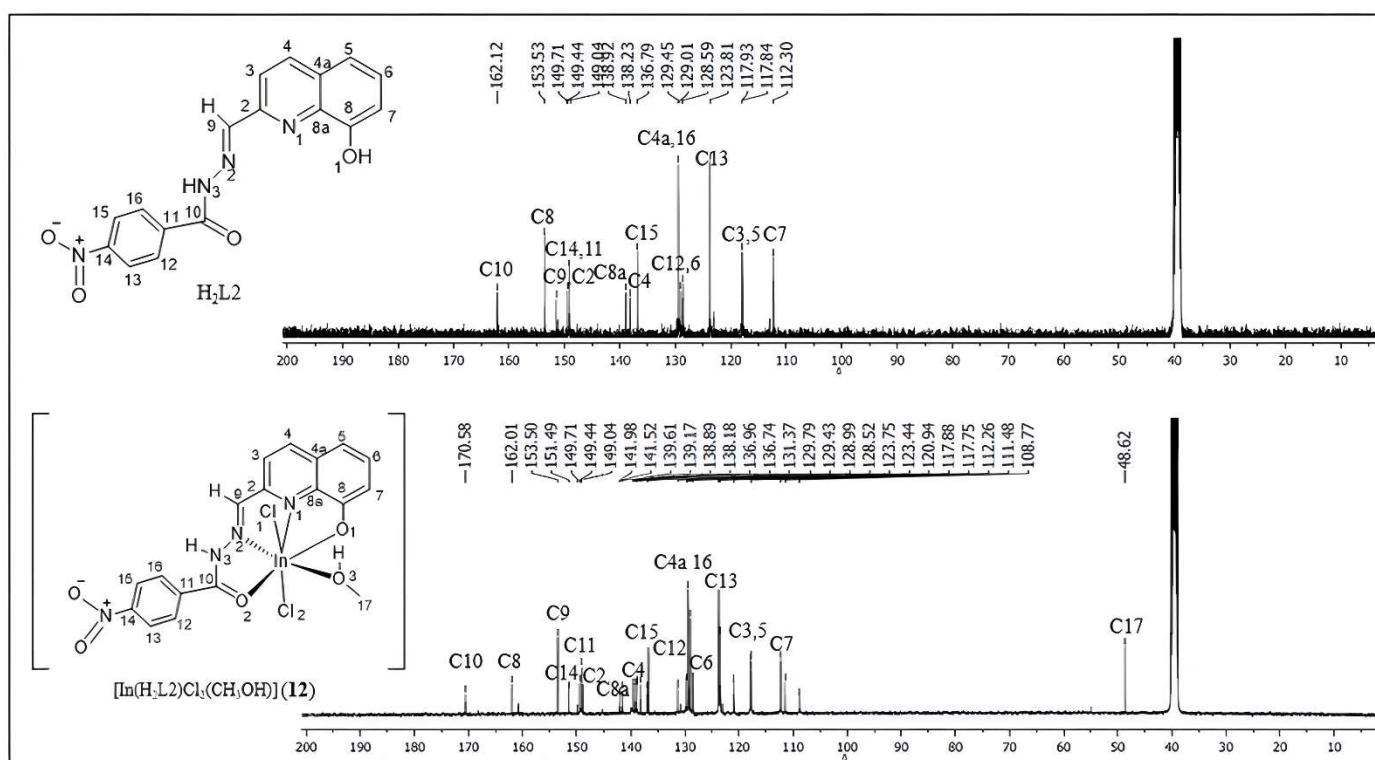


Figura S20. Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligante  $\text{H}_2\text{L}_2$  e do complexo  $[\text{In}(\text{HL}_2)\text{Cl}_2] \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (**12**) em  $\text{DMSO-d}_6$ .