

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Meiriane Mariano da Silva

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS DE
ANTIMÔNIO, BISMUTO E ESTANHO
COM LAPACHOL**

Belo Horizonte

2009

**Síntese e Caracterização de Complexos Metálicos de
Antimônio, Bismuto e Estanho
Com Lapachol**

Meiriane Mariano da Silva

**UFMG/ICEx-DQ 762^a
D.447^a**

Meiriane Mariano da Silva

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS DE
ANTIMÔNIO, BISMUTO E ESTANHO
COM LAPACHOL**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química – Química Inorgânica.

Belo Horizonte

2009

Silva, Meiriane Mariano da.

Síntese e caracterização de complexos metálicos de antimônio, bismuto e estanho com lapachol / Meiriane Mariano da Silva. 2009.

S586s

x, 83 f.: il.

2009

Orientadora: Cynthia Peres Demicheli.

D

Co-orientadora: Elene Cristina Pereira Maia.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química.
Bibliografia: f. 59-61.

1. Química inorgânica - Teses 2. Complexo metálicos - Teses
3. Atividade antitumoral - Teses 4. Lapachol I. Demicheli, Cynthia Peres,
Orientadora II. Maia, Elene Cristina Pereira, Co-orientadora III. Título.

CDU 043

Agradecimentos

Primeiramente a DEUS, por ter me permitido chegar até aqui, concluindo mais uma etapa dos meus estudos e a Jesus, por ser *o caminho, e a verdade e a vida*.

Aos meus pais, Josué e Susana, que me educaram e sempre me incentivaram a lutar. Pelo apoio, companhia, carinho e disposição.

À Priscila Silva, amiga presente nas horas alegres e de desânimo. Com quem discuti as dúvidas e aprendi muito.

À Mariele, Patrícia e Giselle, que mesmo um pouco distante sempre me mostraram carinho e companheirismo.

À Prof.^a Cynthia Demicheli, minha orientadora, que me deu a oportunidade de aprender mais, me ajudando a crescer e ter maior capacidade de argumentação e de raciocínio.

À Prof.^a Elene Pereira Maia, pela ajuda e por tudo que me ensinou.

À Flávia Cristina, pelas conversas e risadas, e pela colaboração nos testes biológicos.

Aos amigos e companheiros do laboratório, Cláudio, Wendell, Weverson, Nicolás, Juliana e por todos que por lá passaram, por tudo em que me ajudaram e por tornar mais agradável o tempo em que estive lá.

Aos amigos do Departamento de Química, pelas boas conversas.

Às secretárias de Pós-graduação, pela atenção e disposição em ajudar. A todos do Departamento de Química, professores, que me ensinaram desde a graduação, e funcionários, que contribuíram para o bom funcionamento do departamento.

Com certeza, sem vocês não teria chegado até aqui. Muito obrigada!

Resumo

Lapachol é uma naftoquinona natural com amplo espectro de atividade biológica. Foram atribuídas a ele as atividades antitumoral, antimalárica, antileishmaniose, antiviral, analgésica, antifúngica, dentre outras.

Por apresentar propriedades antitumorais, porém sérios efeitos colaterais, modificações na estrutura do lapachol vêm sendo feitas a fim de se obter um composto que também seja ativo, mas que não apresente os mesmos efeitos indesejáveis. Uma das opções é a utilização do lapachol como ligante em compostos de coordenação.

O lapachol forma complexos do tipo 1:1 com antimônio(V), bismuto(V) e estanho(IV), hipótese confirmada pela análise elementar. As análises de espectroscopia de infravermelho e de RMN ^1H e ^{13}C revelaram que a coordenação ocorre através da formação de um anel quelato, com os oxigênios cetona-enólicos do lapachol. Análise de UV-Vis, de condutividade molar, termogravimetria e espectrometria de massas com ionização *electrospray* foram utilizadas também para a caracterização dos complexos.

Os três compostos sintetizados, quando inseridos em meio contendo células tumorais de leucemia, da linhagem K562, exibiram a capacidade de inibir o crescimento das células, o que significa que apresentaram atividade antitumoral frente a esse tipo de células. A complexação do lapachol ao bismuto produziu um composto cerca de 2,4 vezes mais ativo contra o tumor do que o próprio lapachol. Os compostos de Sb e Sn exibiram atividades semelhantes a dos sais de partida, não sendo observada mudança na capacidade de inibir o crescimento tumoral quando complexados ao lapachol.

Abstract

Lapachol is a natural naphthoquinone with broad spectrum of biological activities, including antitumor, antileishmania, antiviral, analgesic, antifungal properties.

Because of its antitumor property, changes in the structure of lapachol have been made such as to reduce its side effects without affecting its effectiveness. One option is to use the lapachol as ligand in coordination compounds.

The lapachol was found to form 1:1 complexes with antimony(V), bismuth(V) and tin(IV), hypothesis confirmed by elemental analysis. Characterization of the complexes by infrared and ^1H and ^{13}C NMR spectroscopies revealed that the coordination occurs through the formation of a chelate ring with the lapachol keto-enol oxygens. UV-Vis absorption, molar conductivity, thermogravimetry and mass spectrometry with electrospray ionization were also used to characterize the complexes.

The three compounds synthesized, when added to a medium containing leukemia tumor cells, inhibited the cell growth, indicating an antitumor activity against this cell type. The complexation of lapachol to bismuth produced a compound about 2.4 times as effective as non-complexed lapachol. On the other hand, Sb- and Sn-lapachol complexes exhibited similar activities when compared to the metal salts used in the synthesis and no improvement was observed when compared to lapachol.

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura de dois antimoniais pentavalentes utilizados no tratamento das leishmanioses.....	3
Figura 2: Estrutura do: (a) Ácido flufenâmico; (b) aciclovir.....	7
Figura 3: Derivados salicilaldeídos e aminopiridinas utilizadas como ligante.....	8
Figura 4: Estruturas propostas inicialmente para o lapachol: a diferença está na posição da dupla ligação da cadeia lateral.....	9
Figura 5: Estrutura do isovaleraldeído, à esquerda, e da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona, à direita, utilizados na síntese de Hooker.....	9
Figura 6: Representação do complexo $\text{Cu}(\text{LpO})_2\text{bpy}$, sintetizado por Oliveira <i>et al.</i>	12
Figura 7: Representação do complexo sintetizado por Oliveira <i>et al.</i> ($\text{M} = \text{Zn}$ ou Cd) e Hernández-Molina <i>et al.</i> ($\text{M} = \text{Cu}$, Co ou Ni ; $\text{R} = \text{EtOH}$).....	12
Figura 8: Espectro UV-Vis dos complexos obtido na região de 600 a 350 nm, em DMSO.....	20
Figura 9: Curva termogravimétrica do ligante lapachol.....	22
Figura 10: Curva termogravimétrica do complexo LpOPh_3Sn	22
Figura 11: Curva termogravimétrica do complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$	23
Figura 12: Curva termogravimétrica do complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$	23
Figura 13: Estrutura dimérica do lapachol, encontrada no estado sólido e em soluções de concentração maior que 10^{-4} mol/L.....	24
Figura 14: Espectro de IV do LpOPh_3Sn na região de 4000 a 400 cm^{-1}	26
Figura 15: Espectro de IV do $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ na região de 4000 a 400 cm^{-1}	26
Figura 16: Espectro de IV do $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$ na região de 4000 a 400 cm^{-1}	27
Figura 17: Espectro de IV do lapachol, na região de 4000 a 400 cm^{-1}	27

Figura 18: Estrutura do cloreto de trifenilestanho, à esquerda, do lapachol, ao centro, e do LpOSn, à direita, evidenciando os hidrogênios para a atribuição no espectro de RMN ^1H	28
Figura 19: Espectro de RMN de ^1H de LpOPh $_3$ Sn, em DMSO.....	29
Figura 20: Estrutura do cloreto de trifenilestanho, à esquerda, e do lapachol, à direita, evidenciando os carbonos para a atribuição no espectro de RMN ^{13}C	30
Figura 21: Estruturas de ressonância do lapachol	31
Figura 22: Espectro de RMN ^{13}C do complexo LpOPh $_3$ Sn, em DMSO.....	32
Figura 23: Estrutura do lapachol.....	33
Figura 24: Espectro de HMQC do complexo LpOPh $_3$ Sn, em DMSO, mostrando alguns carbonos e hidrogênios. As linhas traçadas indicam os carbonos e os hidrogênios que estão ligados.....	34
Figura 25: Espectro de HMBC do complexo LpOPh $_3$ Sn, em DMSO, mostrando os carbonos aromáticos. A linha traçada indica as correlações entre C-4 e os H -5 e H-11.....	34
Figura 26: Espectro de massa ESI(-), em acetonitrila, do lapachol. A estrutura é do lapachol radicalar.....	36
Figura 27: Espectro de massa ESI(-), em acetonitrila, do complexo LpOPh $_3$ Sn, mostrando o íon molecular ($[\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Sn}]^{\cdot-}$, de MM = 591,2912 g/mol).....	37
Figura 28: Estrutura proposta para o complexo LpOPh $_3$ Sn.....	38
Figura 29: Parte do espectro de HMQC do composto (LpOPh $_3$ Sb) $_2$ O. As linhas traçadas indicam a relação de alguns carbonos e hidrogênios a eles ligados.....	42
Figura 30: Espectro HMBC do composto (LpOPh $_3$ Sb) $_2$ O. A linha traçada indica a carbonila mais próxima de C(11) e C(5).....	42
Figura 31: Espectro de massa ESI(+), em acetonitrila, do complexo (LpOPh $_3$ Sb) $_2$ O, mostrando o íon $[\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Sb}]^+$ MM = 593,5812 g/mol.....	44
Figura 32: Estrutura proposta para o complexo (LpOPh $_3$ Sb) $_2$ O.....	45
Figura 33: Espectro de RMN ^1H do composto LpOPh $_3$ BiOH, em CDCl $_3$	46

Figura 34: Duas regiões do espectro de RMN ^1H de $\text{LpOPh}_3\text{BiCl}$, CDCl_3	47
Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C do complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, em CDCl_3	47
Figura 36: Espectro de HMQC do composto $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, em CDCl_3 . Região de campo alto, em cima, e região de campo baixo, embaixo.....	48
Figura 37: Espectro de massa ESI(+), em acetonitrila, do complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, mostrando o íon $[\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Bi}]^+$ de MM = 681,56 g/mol.....	49
Figura 38: Estrutura proposta para o complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$	50
Figura 39: Curva dose-resposta para o teste de citotoxicidade do lapachol.....	54
Figura 40: Curva dose-resposta para o teste de citotoxicidade do $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$	54
Figura 41: Curva dose-resposta para o teste de citotoxicidade dos compostos LpOPh_3Sn , em cima, e Ph_3SnCl , embaixo.....	55
Figura 42: Curva dose-resposta para o teste de citotoxicidade dos compostos $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, em cima, e Ph_3SbCl_2 , embaixo.....	55

Lista de Tabelas

Tabela 1: Resultados do Teste de solubilidade, a 25 °C, dos produtos obtidos.....	19
Tabela 2: Dados determinados por espectroscopia UV-Vis, para os complexos, em DMSO.....	21
Tabela 3: Atribuições de algumas bandas de absorção de IV dos complexos e do lapachol (cm ⁻¹).....	25
Tabela 4: Dados de RMN de ¹ H, em <i>d</i> ₆ -DMSO, do complexo LpOPh ₃ Sn, do LpOH e Ph ₃ SnCl.....	29
Tabela 5: Dados de RMN de ¹³ C em <i>d</i> ₆ -DMSO do complexo LpOPh ₃ Sn, do LpOH e Ph ₃ SnCl.....	31
Tabela 6: Correlação C/H à distância para o lapachol.....	33
Tabela 7: Dados de RMN de ¹ H do complexo (LpOPh ₃ Sb) ₂ O e do LpOH em CDCl ₃	39
Tabela 8: Dados de RMN de ¹³ C do complexo (LpOPh ₃ Sb) ₂ O em <i>d</i> ₆ -DMSO e CDCl ₃ e do LpOH, em CDCl ₃	41
Tabela 9: Dados de RMN de ¹ H do composto LpOPh ₃ BiOH, em CDCl ₃	46
Tabela 10: Dados de RMN de ¹³ C dos complexos e do ligante em DMSO.....	51
Tabela 11: Dados de RMN de ¹³ C dos complexos e do ligante em CDCl ₃	52
Tabela 12: Valores da concentração inibitória de 50% do crescimento celular, a CI ₅₀	53

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

LpOH = lapachol, 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona

EtOH = etanol

DMSO = dimetilsulfóxido

GSH = glutationa

cys = L-cisteína

flu = ácido flufenâmico

ADN = ácido desoxirribonucléico

ARN = ácido ribonucléico

bpy = bipyridina

Ph = fenil

CDCl₃ = clorofórmio deuterado

RMN ¹H = ressonância magnética nuclear de hidrogênio

RMN ¹³C = ressonância magnética nuclear de carbono

HMQC = Heteronuclear Multiple Quantum Correlation

HMBC = Heteronuclear Multiple Bond Correlation

J = constante de acoplamento

TMS = tetrametilsilano

mult = multiplicidade do sinal de RMN

s = singleto, *d* = duplete, *t* = tripleto, *dd* = duplete de duplete, *td* = tripleto de duplete

TG = termogravimetria

IV = infravermelho

UV-Vis = ultravioleta-visível

EM-IES = espectrometria de massas com ionização por *electrospray*

δ = deslocamento químico

Δ = diferença entre sinais no IV

ϵ = absorvidade molar

Sumário

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Lista de Figuras.....	iii
Lista de Tabelas.....	vi
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos.....	vii
Introdução.....	1
I. Antimônio.....	2
I.1. Atividades biológicas dos complexos de antimônio.....	2
II. Bismuto.....	4
II.1. Atividades biológicas dos complexos de bismuto.....	5
III. Estanho.....	6
III.1. Atividades biológicas dos complexos de estanho.....	7
IV. Lapachol.....	8
IV.1. Atividades biológicas do lapachol.....	9
Atividade antitumoral.....	10
Atividade antiparasitária.....	10
Atividade antimicrobiana e antifúngica.....	11
Atividade antiviral.....	11
IV.2. Complexos metálicos de lapachol.....	11
Objetivos.....	13
Materiais e Métodos.....	14
Reagentes e solventes utilizados.....	15
Equipamentos	15
Células e culturas.....	16
Síntese dos complexos.....	16

1) (LpOPh ₃ Sb) ₂ O.....	16
2) LpOPh ₃ Sn.....	17
3) LpOPh ₃ BiOH.....	17
Resultados e Discussões	18
I. Solubilidade.....	19
II. Espectroscopia de absorção na região do Ultra-violeta/visível.....	20
III. Termogravimetria.....	21
IV. Espectrometria de absorção na região do Infravermelho.....	24
V. RMN e EM-IES.....	28
V.1. Complexo de Sn.....	28
a. Interpretação dos espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C, HMQC e HMBC.....	28
b. Espectrometria de massas.....	35
c. Estrutura proposta para o complexo.....	38
V.2. Complexo de Sb.....	39
a. Interpretação dos espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C, HMQC e HMBC	39
b. Espectrometria de massas.....	44
c. Estrutura proposta para o complexo.....	45
V.3. Complexo de Bi.....	46
a. Interpretação dos espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C, HMQC e HMBC.....	46
b. Espectrometria de massas.....	49
c. Estrutura proposta para o complexo	50
VI. Estudo da citotoxicidade dos compostos.....	53
Conclusão	56
Referências	58
Anexo: Espectros de RMN	62
Trabalho apresentado em congresso	68

Introdução

I. Antimônio

Compostos de antimônio são conhecidos desde a antiguidade. O nome *antimônio* foi dado para o metalóide em aproximadamente 800 anos antes de Cristo, sendo conhecido desde o ano 50 a.C. como *stibium*, vocábulo que originou o símbolo *Sb* utilizado para o elemento. O antimônio não é muito abundante na crosta terrestre, sendo encontrado principalmente associado ao enxofre, na forma de Sb_2S_3 .¹

A configuração eletrônica do antimônio no estado fundamental é $[Kr]4d^{10}5s^25p^3$, com um elétron desemparelhado em cada orbital *p*. Seu raio covalente é 1,40 Å e os raios iônicos são 0,76 e 0,60 Å para Sb^{III} e Sb^V , respectivamente. Ambos os estados de oxidação +3 e +5 são estáveis, porém apresentam características diferentes: enquanto o antimônio (III) é anfotérico, o antimônio (V) é considerado um ácido, segundo a teoria de Lewis.¹

O antimônio possui dois isótopos naturais estáveis, com abundância relativa próximas, sendo o ^{121}Sb , com 57,25% e o ^{123}Sb com 42,75%.¹

O número de coordenação do antimônio é variável, sendo que compostos hexacoordenados são mais frequentemente encontrados. Tais complexos do tipo de SbF_6^- , geralmente utilizam hibridização sp^3d^2 na coordenação, formando complexos octaédricos. Já os compostos penta-coordenados de antimônio(V) usam orbitais hibridizados sp^3d na coordenação, resultando na geometria de bipirâmide trigonal.¹

I.1. Atividades biológicas dos complexos de antimônio

Complexos de antimônio estão estritamente relacionados ao tratamento de doenças parasitárias, como a leishmaniose.²⁻⁶ Os primeiros fármacos a base de antimônio usados no tratamento da leishmaniose foram o tártaro emético (tartarato de antimônio III e potássio), o estibofeno e o antiomalina, que contêm Sb (III); estes foram substituídos pelos derivados pentavalente pelo fato de possuírem muitos efeitos tóxicos. Entre as drogas comumente usadas atualmente, destacam-se o antimoniato de meglumina e o estibogluconato de sódio (Figura 1).³

Apesar das várias décadas do uso terapêutico dos antimoniais, seu mecanismo de ação no organismo não é totalmente conhecido. Muitos pesquisadores, buscando elucidar o mecanismo de ação e toxicidade desses fármacos, estudam a interação do Sb com biomoléculas, como a glutatona, tripanotona e derivados de ribose.^{4, 5, 6, 7}

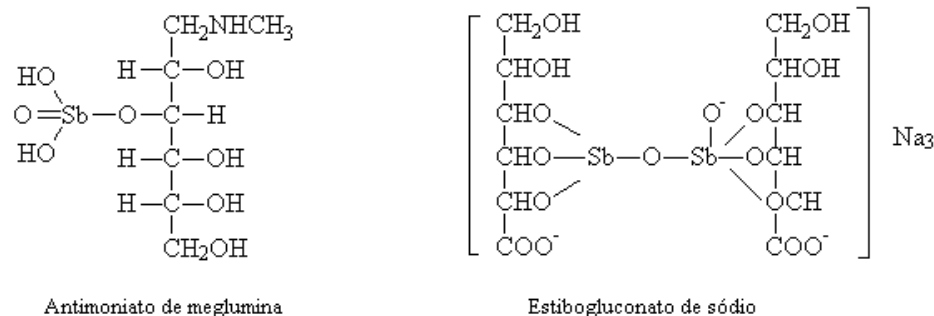


Figura 1: Estrutura de dois antimoniais pentavalentes utilizados no tratamento das leishmanioses

A glutationa é um tripeptídeo tiólico que desempenha um importante papel no processamento biológico das drogas antimoniais. Um estudo sobre a interação do tartarato de antimônio (III) com a glutationa em solução aquosa e em células vermelhas do sangue revelou que, em ambos os casos, o antimônio se liga ao peptídeo através do enxofre do grupo tiol, formando um complexo de estequiometria $[Sb(GS)_3]$ (GS = glutationa desprotonada). Apesar de termodinamicamente estável, o complexo mostrou-se cineticamente lábil em pH fisiológico, indicando a possibilidade de transporte do Sb(III) por vários biofluidos e tecidos *in vivo*, através da transferência para outras biomoléculas tiólicas.⁴

A formação de complexos de antimônio pentavalente com o nucleosídeo adenina foi verificada em soluções aquosas. A estequiometria 1:2 Sb(V)-nucleosídeo foi constatada através da titulação por dicroísmo circular. Análises de RMN indicaram que a ligação ao metal ocorria pela posição 2' da hexose presente.⁵ Complexos de Sb(V) com os nucleotídeos adenosina e guanósina foram sintetizados e caracterizados por Demicheli *et al* (2006). Dois complexos Sb(V)-adenosina foram obtidos no estado sólido, em proporções molares de 1:1 e 1:2 Sb(V):adenosina. O produto da síntese com guanósina foi um hidrogel termossensível de proporção molar 1:1 e 1:2 Sb:guanósina. Pela análise dos dados de RMN 1H , espectroscopia de massas por ionização *electrospray*, análise elementar e dicroísmo circular, foi proposto que o antimônio se coordenaria à adenosina através da ribose. Em compostos penta-coordenados, a ligação seria por duas riboses e um grupo hidroxil e compostos hexa-coordenados por duas riboses e dois grupos hidroxil ou uma ribose e quatro grupos hidroxil.⁶

Hansen e Pergantis (2006) também obtiveram compostos de antimônio com biomoléculas contendo ribose. A formação de complexos relativamente estáveis de Sb(V)

com nucleotídeos que contêm grupos cis-hidroxil (adenosina, citidina, guanosina, uridina e adenosina monofosfato) foi verificada por espectrometria de massas, em condições fisiológicas. As estequiometrias encontradas foram 1:1, 1:2 e 1:3 Sb-biomolécula. A análise por dissociação por colisão indutiva revelou que a ligação ao antimônio ocorre pela ribose, como proposto por Demicheli *et al.*⁷

Assim como Sb^{5+} , a espécie reduzida Sb^{3+} também se mostrou capaz de interagir com nucleosídeos. Klüfers e Mayer (2007) sintetizaram e caracterizaram por difração de raios-X de cristal simples o complexo $Na[Sb(Ado\ 2',3'H_{-2})_2]\cdot H_2O$ ($Ado\ 2',3'H_{-2}$ = adenosina desprotonada nas posições 2' e 3'). O complexo aniônico quelato consiste no íon $Sb(III)$ coordenado a duas adenosinas pelo grupo ribose.⁸

A biotransformação do Sb^{5+} no organismo passa pela redução a Sb^{3+} , que é mais tóxico.^{9,10} Supõe-se que moléculas com grupo tiol possam ser os agentes redutores no organismo.¹¹ Não se sabe ao certo qual o estado de oxidação em que o antimônio é ativo contra a leishmaniose. Acredita-se que a habilidade das drogas antimoniais em interferir no metabolismo de nucleosídeos e em inibir a enzima topoisomerase da *Leishmania* envolva a ação da espécie $Sb(V)$ e não a $Sb(III)$.¹²

II. Bismuto

A química do bismuto pode ser comparada com a do antimônio, assim como com a do fósforo e do arsênio, elementos pertencentes ao mesmo grupo da tabela periódica. Embora muitas similaridades, o bismuto apresenta importantes diferenças, muitas dessas surgindo devido à diminuição da disponibilidade dos elétrons s^2 , o que ocorre pela dispersão destes na camada de valência. Isto significa que o estado de oxidação 5+ é menos estável para o bismuto do que para fósforo, arsênio e antimônio. O bismuto é o elemento mais pesado dos membros deste grupo e o metal pesado mais estável em relação ao decaimento e de menor condutividade térmica.

No estado fundamental, a configuração eletrônica do bismuto é $[Xe]4f^{14}5d^{10}6s^26p^3$, com um elétron desemparelhado em cada orbital p . O raio covalente do metal é de 1,52 Å, sendo o raio iônico de $Bi(III)$ 0,96 Å e $Bi(V)$ 0,74 Å.

Poucos complexos inorgânicos de Bi^{5+} são conhecidos, contudo os compostos de Bi^{3+} são facilmente encontrados. Compostos de Bi^+ também foram encontrados como sais inorgânicos no estado sólido e em R_2Bi^- , com R representando um grupamento orgânico.

Outros estados de oxidação formais que já foram reportados incluem Bi^{2+} em tetraorganodibismutinos e Bi^{3-} em BiH_3 e em M_3Bi ($\text{M} = \text{Li}, \text{Na}, \text{K}, \text{Rb}$ e Cs).

O bismuto é encontrado naturalmente em óxidos (Bi_2O_3 e $(\text{BiO})_2\text{CO}_3$) e sulfeto (Bi_2S_3). Apesar de possuir muitos isótopos, apenas ^{209}Bi é de ocorrência natural.

Uma característica comumente encontrada em vários complexos de Bi(III) é sua habilidade de agir como ácido de Lewis e de expandir o octeto.¹

II.1. Atividades biológicas dos complexos de bismuto

Compostos de bismuto possuem diversas atividades biológicas e não apresentam muitos efeitos tóxicos devido a sua baixa solubilidade em água. Propriedades antiácidas foram apontadas para o aluminato de bismuto, o fosfato de bismuto, o subgalato de bismuto e o subnitrito de bismuto. Vários outros compostos têm sido utilizados como agentes antisifilís, incluindo o butiltirolaurato de bismuto, o oxiclreto de bismuto (BiOCl), o tris(etilcanforato) de bismuto, tartarato de Bi e K (ou Na) e o iodeto de Bi e Na (Na_2BiI_5). Gastrites, úlceras duodenais e infecções por *Helicobacter pylori* podem ser tratadas com subcitrato de bismuto ou citrato de bismuto ranitidina.^{1, 13}

Embora os compostos de bismuto sejam empregados na medicina por mais de dois séculos, o mecanismo de bioatividade destes compostos ainda não é totalmente conhecido, o que leva muitos pesquisadores a investigarem as possíveis moléculas-alvo desses compostos. O estudo da interação do bismuto com biomoléculas *in vitro*, como no caso do antimônio, vem ocorrendo, uma vez que se suspeita que os efeitos biológicos do Bi(III) sejam devidos à ligação com proteínas e enzimas.^{13, 14}

Biomoléculas que contenham enxofre representam os principais alvos de fármacos à base de Bi , como subsalicilato de bismuto e o citrato de bismuto coloidal. A ligação do bismuto a certos compostos tiólicos aumenta significativamente sua lipofilia, o que aumenta sua potência e versatilidade como agente antimicrobiano, já que a lipofilia facilita o transporte de compostos pelas membranas lipídicas das bactérias.¹⁴

Wang e Xu (2008) sintetizaram o composto $\text{Bi(cys)}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($\text{cys} = \text{L-cisteína}$) a partir do citrato de bismuto. A caracterização foi feita por UV-vis, RMN e cristalografia de raios-X. A espectroscopia de UV-vis mostrou que a reação entre o citrato de bismuto e a cisteína em solução aquosa é dependente do pH e a troca completa do citrato por 3 moléculas de cisteína ocorre em pH fisiológico. A análise estrutural por raios-X revelou que o bismuto se liga à

cisteína pelo enxofre do grupo tiol.¹³ Compostos de Bi(III) com biomoléculas tiólicas são cineticamente lábeis, o que acarreta no transporte do metal entre células e biofluidos.¹⁴

Os nucleosídeos também podem ser alvos de ligação para metais. Dois compostos de bismuto (III) com adenosina e guanosina foram obtidos e caracterizados por Klüfers e Mayer (2007). Como no caso do antimônio, o bismuto coordena-se aos nucleosídeos através dos oxigênios do grupamento ribose.⁸

Estes estudos são importantes para tentar se elucidar como o bismuto age no combate e prevenção de certas doenças, auxiliando e direcionando novas pesquisas na elaboração de fármacos mais versáteis, mais ativos e menos tóxicos.

III. Estanho

O estanho, do latim *stagnun*, é o 48º elemento mais abundante da crosta terrestre, podendo ser encontrado principalmente na forma de óxidos, como a cassiterita (Sn₂O) e sulfetos. Os maiores produtores do metal são Malásia, Indonésia, Tailândia, Zaire, China e Bolívia.

A configuração eletrônica do estanho é [Kr]4d¹⁰5s²5p² no estado fundamental, o que o coloca ao lado do antimônio na tabela periódica. Seu raio covalente é 1,405 Å e o raio iônico do Sn⁴⁺ é 0,69 Å e o do Sn²⁺ 1,18 Å.

O estanho é o elemento que possui o maior número de isótopos naturais estáveis, sendo eles o ¹¹²Sn, com 0,95% de abundância relativa, o ¹¹⁴Sn com 0,65%, ¹¹⁵Sn, com 0,34%, ¹¹⁶Sn, 14,24%, ¹¹⁷Sn, 7,57%, ¹¹⁸Sn, 24%, ¹¹⁹Sn, 8,58%, ¹²⁰Sn, 32,97%, ¹²²Sn, 4,71% e ¹²⁴Sn, com 5,98%.

Após o estanho utilizar todos os seus elétrons de valência para efetuar ligações com outros elementos, ainda há a possibilidade de ele formar ligações, utilizando agora os orbitais vazios 5p ou d para interagir com espécies doadoras ou bases de Lewis. Em contrapartida, quando em estado de oxidação formal for +2, ele terá utilizado apenas os elétrons de valência 5p², sendo que o par de elétrons não-ligantes pode ser usado na coordenação com espécies aceptoras de elétrons ou ácidos de Lewis. O estado de oxidação +IV é mais estável que o II, porém a diferença de energia entre os dois estados é pequena. Algumas poucas espécies estáveis de Sn³⁺ são conhecidas, como o Sn[N(SiMe₃)₂]₃, mas a maioria é instável.

Compostos orgânicos de estanho são conhecidos desde o século XIX. Tanto Sn(II) quanto Sn(IV) podem formar derivados orgânicos, porém, a maioria dos organoestanhos

conhecidos são de Sn(IV). A ligação Sn–C é essencialmente covalente no estado sólido, em solventes não-polares e em fase gasosa. Entretanto, em solventes polares, essas ligações são facilmente polarizáveis, podendo ocorrer ionização das espécies.¹

III.1. Atividades biológicas dos complexos de estanho

Compostos organometálicos de estanho (IV) são considerados importantes na quimioterapia do câncer por sua capacidade de induzir a apoptose celular. Porém, o exato mecanismo de ação dessas drogas ainda não é bem conhecido.¹⁵

A interação de compostos a base de metais com ligantes usados como drogas é de grande interesse entre os pesquisadores, pois essa interação pode aumentar a atividade biológica dessas drogas e até mesmo induzir a outras atividades não observadas anteriormente.

O ácido flufenâmico (Figura 2a), um antiinflamatório não-esteroidal, foi utilizado na síntese de três complexos com estanho, o $[\text{Me}_2(\text{flu})\text{SnOSn}(\text{flu})\text{Me}_2]_2$, $[\text{Bu}_2(\text{flu})\text{SnOSn}(\text{flu})\text{Bu}_2]_2$ e $[\text{Bu}_2\text{Sn}(\text{flu})_2]$, (flu = ácido flufenâmico). A caracterização foi feita por espectroscopia vibracional e de RMN. Os novos compostos foram testados em células de câncer da linhagem A549, sendo que apenas os dois últimos apresentaram atividade antitumoral.¹⁵

O aciclovir (Figura 2b) é um agente antiviral ativo contra o vírus do herpes. A complexação do aciclovir com estanho levou à formação de compostos do tipo $[\text{R}_2\text{SnL}]_n$, onde R = Me, Et, n-Bu, n-Oct e Ph e L = aciclovir. Os produtos exibiram a capacidade de inibição moderada de algumas linhas celulares de câncer, como BSC-1 e L929, e de uma série de vírus, especialmente os vírus herpes simplex 1 e varicela-zoster que são responsáveis por herpes.¹⁵

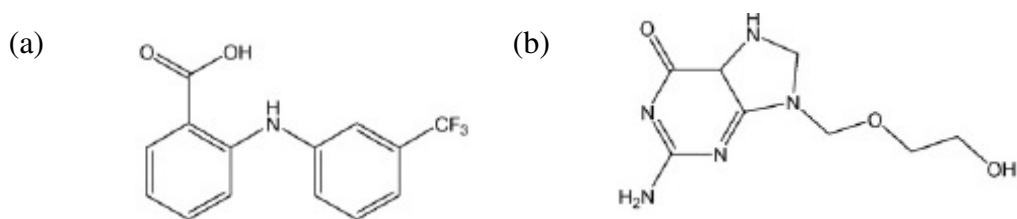


Figura 2: Estrutura do: (a) Ácido flufenâmico; (b) aciclovir

Complexos de Sn(IV) com bases de Schiff derivadas de salicilaldeídos e aminopiridinas de fórmula geral $\text{Me}_2\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{L}$ foram testados contra células de câncer humano das linhagem

K562 (leucemia), HeLa (tumor cervical) e L929 (fibrossarcoma). Os resultados foram comparados com os produzidos pela cisplatina, carboplatina e oxaloplatina, substâncias já utilizadas no tratamento de cânceres. Os complexos se mostraram ativos, com citotoxicidade igual ou maior que a dos padrões. Os ligantes utilizados, mostrados na Figura 3, não apresentam atividade frente a essas linhagens de células ¹⁵, o que é significativamente interessante, pois mostra que a complexação destes ao Sn permitiu a observação de atividades biológicas diferentes das que possuíam isoladamente.

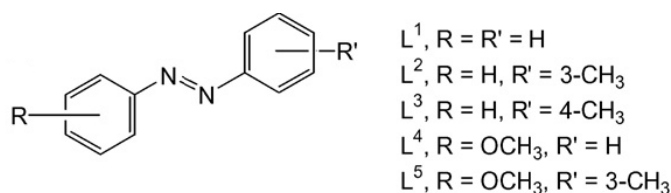


Figura 3: Bases de Schiff derivadas de salicilaldeídos e aminopiridinas, utilizadas como ligante

IV. Lapachol

O lapachol é uma substância natural, de coloração amarela, extraída pela primeira vez do lenho de uma árvore argentina conhecida popularmente pelo nome de lapacho, da qual se originou seu nome. Inicialmente isolado da *Tabebuia avellanedae*, a lapacho ou Ipê Roxo, o lapachol pode ser extraído de várias outras plantas, como as árvores das famílias *Scrophulariaceae*, *Malvaceae*, *Verbenaceae*, *Proteaceae*, *Leguminosae* e *Sapotaceae*. Dentre estas, se destacam as da família *Bignoniaceae* (*Tabebuia* e *Tecoma*), comuns no Brasil, por apresentarem alto teor da substância. ^{16, 17}

A estrutura do lapachol ficou por algum tempo incerta. Paternò, quem em 1882 primeiramente isolou este composto, sugeriu a estrutura de uma hidroxinaftoquinona com radical penteno, na qual ambos os grupos substituintes estariam no anel da quinona. Porém, a localização da dupla ligação do grupo penteno não havia sido determinada (Figura 4). Hooker, um século mais tarde, a fim de estabelecer a estrutura correta do composto de Paternò, sintetizou um composto a partir da condensação do isovaleraldeído com a hidroxinaftoquinona, Figura 5, obtendo um produto de coloração avermelhada. Devido à diferença de coloração entre o composto natural e o sintetizado, Hooker verificou que não se tratava do mesmo composto, porém um isômero, correspondente ao isolapachol, Figura 4a.

Desta forma, atribuiu-se a estrutura da 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona ao lapachol, Figura 4b. ^{16, 17}

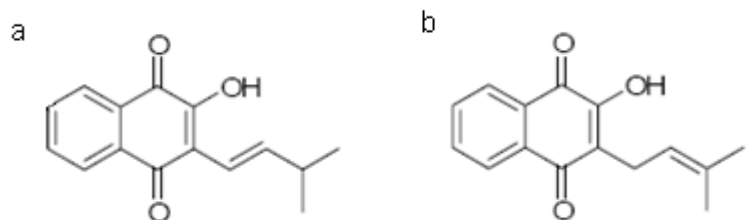


Figura 4: Estruturas propostas inicialmente para o lapachol: a diferença está na posição da dupla ligação da cadeia lateral.

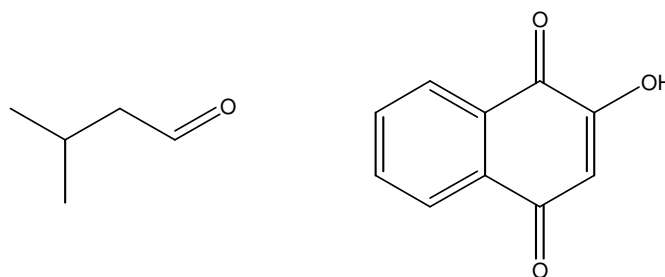


Figura 5: Estrutura do isovaleraldeído, à esquerda, e da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona, à direita, utilizados na síntese de Hooker.

IV.1. Atividades biológicas do lapachol

Quinonas possuem significativa atividade biológica. Elas têm sido amplamente estudadas por suas atividades antitumoral, antifúngica, antiviral, tripanomicida, moluscicida, leishmanicida, antiinflamatória, entre outras. ¹⁶⁻¹⁹

A característica principal desse grupo é a facilidade em formar radicais semiquinonas por biorredução, o que pode acelerar as condições de hipóxia intracelular, levando as células à morte. As naftoquinonas, inclusive o lapachol, podem também induzir a formação intracelular de espécies oxigênio-reativas, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o ânion-radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o radical hidroxila (HO^{\cdot}), levando a célula a um estágio de estresse oxidativo. Estas espécies, por serem altamente reativas podem causar danos a alguns componentes celulares, tanto de células normais como de células tumorais. ^{16, 18}

Atividade antitumoral

O lapachol passou por ensaios clínicos, mostrando-se altamente ativo contra tumores cancerosos, como o carcinoma de Walker-256 e do sarcoma de Yoshida. Embora sua capacidade de induzir a redução de tumores e a sua ação analgésica, a manifestação de muitos efeitos colaterais indesejáveis, como anemia, levou à interrupção dos ensaios clínicos.^{16, 18}

Apesar de o lapachol possuir efeitos benéficos contra o câncer, não significa que ele seja uma boa droga antineoplásica. Apesar da ausência de toxicidade significativa quando administrada por via oral, mesmo quando ingerido em grandes doses (até 50 mg/Kg/dia) não se conseguiu atingir níveis plasmáticos necessários para mostrar efeito terapêutico (30-35 mg/mL, no caso do carcinoma de Walker-256). Em doses maiores que 50mg/Kg/dia, efeitos tóxicos como náuseas, vômito e aumento reversível do tempo de coagulação do sangue, começam a aparecer.^{16, 19}

O lapachol não mostrou atividade contra leucemia L1210, porém, na forma de sal sódico, a atividade contra esse tipo de câncer foi observada. Isso ocorre porque o sal é mais polar e, conseqüentemente, mais solúvel nos fluidos corporais, o que aumenta os níveis sanguíneos do composto.¹⁹

A atividade antitumoral do lapachol pode estar relacionada à sua interação com ácidos nucleicos. Ao mesmo tempo, tem sido proposto que as naftoquinonas interagem com os pares de base da hélice do ADN, inibindo a síntese do ARN e sua replicação. O mecanismo de ação pode ocorrer pelo processo de biorredução do lapachol.^{16, 18}

O lapachol mostrou-se também importante atividade anti-metastático, através de alterações no perfil protéico das células, inibindo a invasibilidade celular.¹⁶

Atividade antiparasitária

As quinonas naturais ou sintéticas são usadas como drogas no tratamento de doenças parasitárias, e atribui-se seu efeito a habilidade de interferir na bioatividade de enzimas conhecidas como topoisomerasas, um grupo de enzimas essenciais na replicação do ADN nas células.

O lapachol, usado como barreira tópica para a pele, é ativo contra o *Trypanosoma cruzi*, o causador da doença de Chagas, doença sem cura conhecida até hoje. Do mesmo modo previne a penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni*, parasita responsável pela doença

conhecida como esquistossomose. O uso de formulação oral do lapachol também é efetivo contra a penetração na pele.^{16, 17}

Atividade antimicrobiana e antifúngica

A atividade antibiótica do lapachol foi verificada contra certos microorganismos Gram-positivos e ácido-resistentes, porém possui baixa atividade contra Gram-negativos, exceto contra o gênero *Brucella*.¹⁹

Como muitas quinonas, o lapachol é capaz de inibir o mecanismo de respiração celular através da interferência no sistema de transporte de elétrons. Acredita-se que a atividade contra o *Plasmodium lapohuræ*, causador da malária, ocorra em decorrência dessa capacidade. Entretanto, o exato mecanismo de ação não é conhecido.¹⁶

O lapachol apresenta ainda atividade contra *H. pylori*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Cryptococcus neoformans*.¹⁶

A ação antifúngica do lapachol pode estar relacionada à sua capacidade de interagir com a membrana celular desses microorganismos.¹⁶

Atividade antiviral

O lapachol apresenta atividade contra vírus do herpes tipo I e II, atividade inseticida contra *Aedes aegypti* e atividade larvicida contra *Artemia salina*. Lapachol e outras naftoquinonas mostraram também atividade contra quatro cepas da gripe, poliomielite e o vírus da estomatite vesicular. Supõe-se que o mecanismo de ação dessas quinonas ocorra via inibição das enzimas ADN transcriptase reversa e ARN polimerase do retrovírus.¹⁶

IV.2. Complexos metálicos de lapachol

O lapachol possui basicamente dois potenciais sítios de ligação a metais, a saber, os oxigênios em posição *orto*, que adquire a função ceto-enólica. Dependendo do metal envolvido e de seu estado de oxidação, a coordenação pode ocorrer somente pelo oxigênio enólico (grupo hidroxil) ou por ambos os oxigênios ceto-enólicos.²⁰

Complexos de cobre, zinco e cádmio com lapachol foram obtidos por Oliveira *et al* (1997), por oxidação eletroquímica direta. No complexo de cobre, $\text{Cu}(\text{LpO})_2\text{bpy}$, (LpOH = lapachol, bpy = bipyridina), o lapachol liga-se ao metal somente através do oxigênio enólico (Figura 6). Primeiramente, o produto obtido na síntese de Cu^0 e o lapachol foi o $\text{Cu}^{\text{I}}(\text{LpO})$, o qual se isomeriza para $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LpOSQ})$ (LpOSQ = radical diânion lapacholato-semiquinona) e subseqüentemente reage *in situ* dando $\text{Cu}^{\text{II}}(\text{LpO})_2$. Já nos complexos de $\text{Zn}(\text{II})$ e $\text{Cd}(\text{II})$, o lapachol forma um quelato com os oxigênios ceto-enólico (Figura 7).²⁰

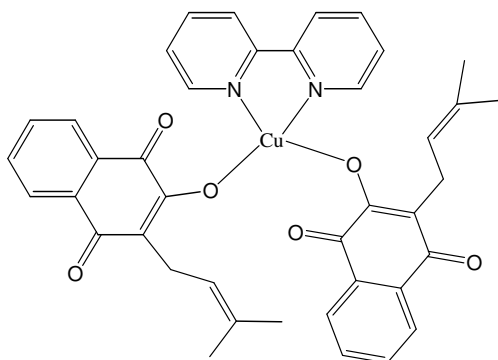


Figura 6: Representação do complexo $\text{Cu}(\text{LpO})_2\text{bpy}$, sintetizado por Oliveira *et al*.

Hernández-Molina *et al* sintetizaram complexos de cobre(II), cobalto(II) e níquel(II) com o lapachol, também com estequiometria 1:2, metal:ligante. Os complexos obtidos foram caracterizados por análise elementar, espectroscopia de massa, voltametria cíclica e por cristalografia de raios-X. A análise do cristal dos complexos mostrou que o lapachol se comportou como ligante bidentado, nos três casos²¹, como mostrado na Figura 7.

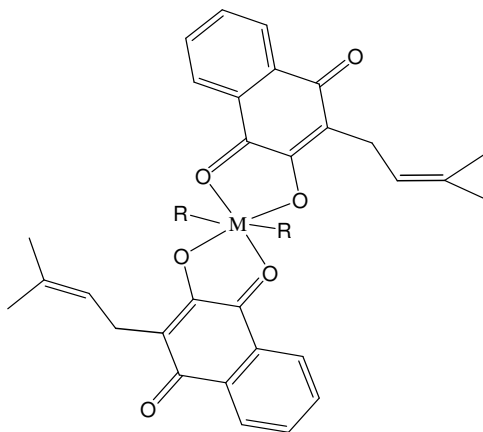


Figura 7: Representação do complexo sintetizado por Oliveira *et al* ($\text{M} = \text{Zn}$ ou Cd) e Hernández-Molina *et al* ($\text{M} = \text{Cu}$, Co ou Ni ; $\text{R} = \text{EtOH}$).

Objetivos:

O objetivo deste trabalho foi a síntese e caracterização de compostos de coordenação com antimônio, bismuto e estanho com esse versátil ligante, o lapachol. A citotoxicidade dos compostos foi avaliada para as células tumorais da linhagem K562, apontando a potencialidade desses complexos contra esse tipo de câncer.

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Sintetizar complexos com a 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona com cloretos trifenílicos de antimônio(V), bismuto(V) e estanho(IV).
- Caracterizar os compostos através da espectroscopia de ultravioleta-visível, de infravermelho e de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , da condutividade molar, análise elementar, termogravimetria e espectrometria de massas.
- Verificar o sítio de ligação do lapachol a esses metais.
- Verificar a atividade citotóxica dos complexos contra as células de leucemia da linhagem K562.

Materiais e Métodos

Reagentes e solventes utilizados

O clorofórmio, a acetona e o tetraidrofurano foram obtidos da Merk em grau PA. A trietilamina, o lapachol, os cloretos de trifenilestanho (IV), trifenilantimônio (V) e trifenilbismuto (V) foram obtidos da Sigma-Aldrich, também em grau PA.

Os solventes utilizados para o teste de solubilidade foram obtidos da Merk, exceto o DMSO, que foi obtido da Vetec, em grau PA.

Equipamentos

Todas as análises de caracterização foram realizadas no Departamento de Química, da Universidade Federal de Minas Gerais.

As dosagens de C, H e N foram feitas em um Analisador CHN 2400 Perkin-Elmer.

As dosagens de Sb e Sn foram feitas em um espectrômetro modelo Hitachi-Z8200 acoplado a um forno de grafite Hitachi. A dosagem de Bi foi calculada pela TG.

As medidas de condutividade foram realizadas em DMSO, em um condutivímetro DIGIMED DM 31, à temperatura de 28°C.

Espectros de absorção UV-Vis foram obtidos em um Espectrofotômetro de Absorção Ultravioleta-visível Cary 100 Conc ELO 3077209, em cubetas de 1 cm. O solvente utilizado foi DMSO.

As curvas termogravimétricas foram obtidas em uma Termobalança Shimadzu TGA-50H. Utilizou-se atmosfera de ar sintético com razão de fluxo de 50 mL/min. A razão de aquecimento foi de 10 °C/min e a temperatura final de 750 °C.

Os espectros de absorção IV foram obtidos em um Espectrofotômetro Perkin Elmer FTIR spectrum GX, na região de 4000 a 400 cm^{-1} , utilizando pastilha de KBr.

Os experimentos de RMN 1D de ^1H e ^{13}C e 2D (HMQC e HMBC) foram feitos a 400 MHz em um espectrômetro Bruker AVANCE DRX 400, à temperatura ambiente. As amostras foram analisadas em DMSO deuterado e CDCl_3 , usando TMS como referência.

A análise por espectrometria de massas de ionização por electrospray foi feita em um aparelho LCQ Fleet, com *Íon trap*. O solvente utilizado foi acetonitrila. Os complexos sintetizados com o lapachol (LpOH) como ligante foram analisados tanto no modo positivo quanto no negativo, por EM-ESI, em acetonitrila.

Células e culturas

A linhagem celular K562 foi adquirida no Banco de Células do Rio de Janeiro (número CR083 da coleção BCRJ). A linhagem foi cultivada em meio RPMI 1640 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), contendo L-glutamina e suplementado com 10% de soro fetal bovino, a 37 °C, em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. A cultura foi iniciada com uma concentração de 10⁵ células/mL e crescida de forma exponencial a aproximadamente 8 x 10⁵ células/mL em três dias. A viabilidade das células foi verificada por exclusão com azul de Tripán utilizando microscópio ótico.

Para o estudo da inibição do crescimento celular, 1 x 10⁵ células/mL foram incubadas por 72 horas na ausência e na presença de várias concentrações dos compostos a serem testados, obtendo-se curvas dose-resposta.

A sensibilidade das células aos compostos foi avaliada através da concentração de compostos necessária para inibir 50% do crescimento celular, a CI₅₀. A CI₅₀ foi determinada com a ajuda do programa computacional OriginPro7, tratando-se os dados com ajuste sigmoidal (Boltzmann).

Os ensaios foram realizados com a participação da aluna de doutorado Flávia Cristina Silva de Paula, sob orientação da Profa. Elene Cristina Pereira-Maia (Departamento de Química – UFMG).

Síntese dos complexos

1) (LpOPh₃Sb)₂O

Lapachol (0,121 g, 0,5 mmol) foi dissolvido em 20 mL de clorofórmio. Adicionou-se 70 µL (0,5 mmol) de trietilamina, havendo formação do íon lapacholato. O cloreto de trifênil antimônio (V) (0,212 g, 0,5 mmol) foi adicionado em seguida, havendo formação de uma solução alaranjada. Após remoção do solvente, obteve-se um sólido alaranjado, que foi dissolvido em acetona, lavado com água destilada por três vezes para a remoção do cloreto de trietilamônio produzido. A indução à precipitação também foi feita com água. O sólido alaranjado resultante foi seco, pesado e analisado.

2) LpOPh₃Sn

Lapachol (0,121 g, 0,5 mmol) foi dissolvido em 20 mL de clorofórmio. Adicionou-se 70 μ L (0,5 mmol) de trietilamina, havendo formação do íon lapacholato. O cloreto de trifetil estanho (IV) (0,192 g, 0,5 mmol) foi adicionado em seguida, havendo formação de uma solução marrom. Após remoção do solvente, obteve-se um sólido marrom que foi dissolvido em acetona, lavado com H₂O por três vezes para a remoção do cloreto de trietilamônio. A indução à precipitação também foi feita com água. O sólido marrom resultante foi seco, pesado e analisado.

3) LpOPh₃BiOH

Lapachol (0,121 g, 0,5 mmol) foi dissolvido em 20 mL de tetraidrofurano. Adicionou-se 70 μ L (0,5 mmol) de trietilamina, havendo formação do íon lapacholato. O cloreto de trifetil bismuto (V) (0,255 g, 0,5 mmol) foi adicionado em seguida, havendo formação de uma solução vermelho escuro. Após remoção do solvente, obteve-se um sólido vermelho que foi dissolvido em acetona, lavado com H₂O por três vezes para a remoção do cloreto de trietilamônio produzido. A indução à precipitação também foi feita com água. O sólido vermelho resultante foi seco, pesado e analisado.

Os resultados de solubilidade, de absorção UV-Vis e IV e termogravimetria são apresentados para os três complexos, em conjunto. Os resultados de RMN e EM-IES foram discutidos em separado para cada complexo.

Resultados e Discussões

I. Solubilidade

Os três complexos, designados por $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, LpOPh_3Sn e $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, possuem a mesma característica de solubilidade do ligante, apresentando tendência a solubilizar em solventes de média à baixa polaridade, ou seja, solventes que se encontram entre a H_2O (índice de polaridade 9,0) e o *n*-hexano (índice de polaridade 0), na escala de polaridade.

Para a execução do teste de solubilidade foram acrescentados cerca de 2 mg dos produtos obtidos em 1 mL dos solventes, à temperatura ambiente, deixado por cerca de 30 segundos no banho de ultra-som.

A Tabela 1 mostra o resultado desse teste de solubilidade dos compostos em diferentes solventes.

Tabela 1: Resultados do Teste de solubilidade, a 25 °C, dos produtos obtidos.

Solvente	Índice de polaridade*	LpOPh_3Sn	$(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$	$\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$
Água	9,0	Insolúvel	Insolúvel	Insolúvel
DMSO	7,2	Solúvel	Solúvel	Pouco solúvel
Acetonitrila	5,8	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Etanol	5,2	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Acetona	5,1	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Metanol	5,1	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Acetato de etila	4,4	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Clorofórmio	4,1	Solúvel	Solúvel	Solúvel
THF	4,0	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Diclorometano	3,1	Solúvel	Solúvel	Solúvel
CCl_4	1,6	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Hexano	0,0	Pouco solúvel	Pouco solúvel	Pouco solúvel

* <http://www.phenomenex.com/assets/628216AC-1041-473D-ABBB-6C323B4C69B2.pdf>

II. Espectroscopia de absorção na região do Ultra-violeta/visível

Para se confirmar a complexação e caracterizar os produtos sintetizados, realizou-se a leitura da absorção na região UV-Vis, em DMSO, para cada composto e para o lapachol. Determinou-se o comprimento de onda de absorção máxima e calculou-se a absorptividade molar (ϵ) de cada espécie. O espectro obtido pode ser visto na Figura 8.

De acordo com Portugal et al, em solução de metanol, etanol ou propanol, o lapachol exibe três bandas de absorção na região do UV-Vis, centradas em 330, 390 e 490 nm, à temperatura ambiente, sendo esta última relativa ao isômero *orto* quinona do composto, existente devido à tautomerização ceto-enólica. Porém, em solventes que não possuem hidrogênio facilmente ionizável, como o DMSO, apenas duas bandas aparecem no espectro de absorção, as de 330 e 390 nm.²²

Os espectros de UV-Vis dos derivados de lapachol sintetizados mostrou alterações na banda exibida em 390 nm, como podem ser vistos na Figura 8. Houve deslocamento dessa banda de absorção, para todos os complexos, para a região de menor energia. Os dados obtidos a partir da leitura da absorção UV-Vis dos complexos e do ligante se encontram na Tabela 2.

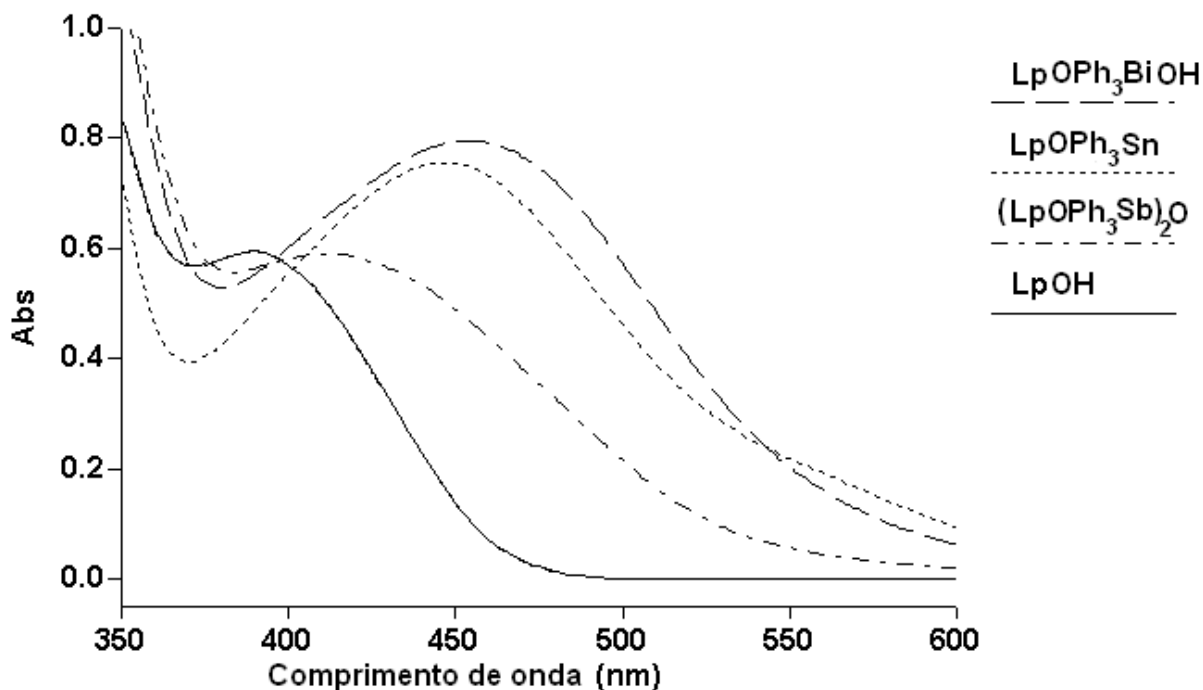


Figura 8: Espectro UV-Vis dos complexos obtidos na região de 600 a 350 nm, em DMSO.

Tabela 2: Dados determinados por espectroscopia UV-Vis, para os complexos em DMSO

Composto	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	ϵ ($10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$)
LpOPh₃BiOH	452	2,2
LpOPh₃Sn	447	1,8
(LpOPh₃Sb)₂O	411	1,7
LpOH	390	1,1

De acordo com Portugal et al, para LpOH em etanol, a absorvidade molar em 390 nm, ϵ_{390} , é de $1,4 \times 10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$.²² O valor determinado da absorvidade molar para o lapachol em DMSO, como visto na tabela 2, é de $1,1 \times 10^3 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$, valor próximo ao encontrado em etanol.

III. Termogravimetria

A análise por termogravimetria visava à verificação da presença de água de cristalização ou de hidratação dos compostos sintetizados.

Pelas Figuras 10-12 verifica-se que as características das curvas TG dos complexos foram semelhantes, havendo duas perdas de massa: uma em cerca de 200 °C, referente à perda do ligante, e outra por volta de 300 °C. Ao final da análise, restou um resíduo esbranquiçado do complexo LpOPh₃Sn e um resíduo amarelado de LpOPh₃BiOH, porém para o (LpOPh₃Sb)₂O não foi encontrado nenhum resíduo, indicando a formação de um produto de decomposição volátil. A curva TG do ligante pode ser visto na Figura 9.

Pelas curvas termogravimétricas, não foi observada perda de massa por volta de 100 °C, indicando que os complexos não possuem água de coordenação ou de hidratação.

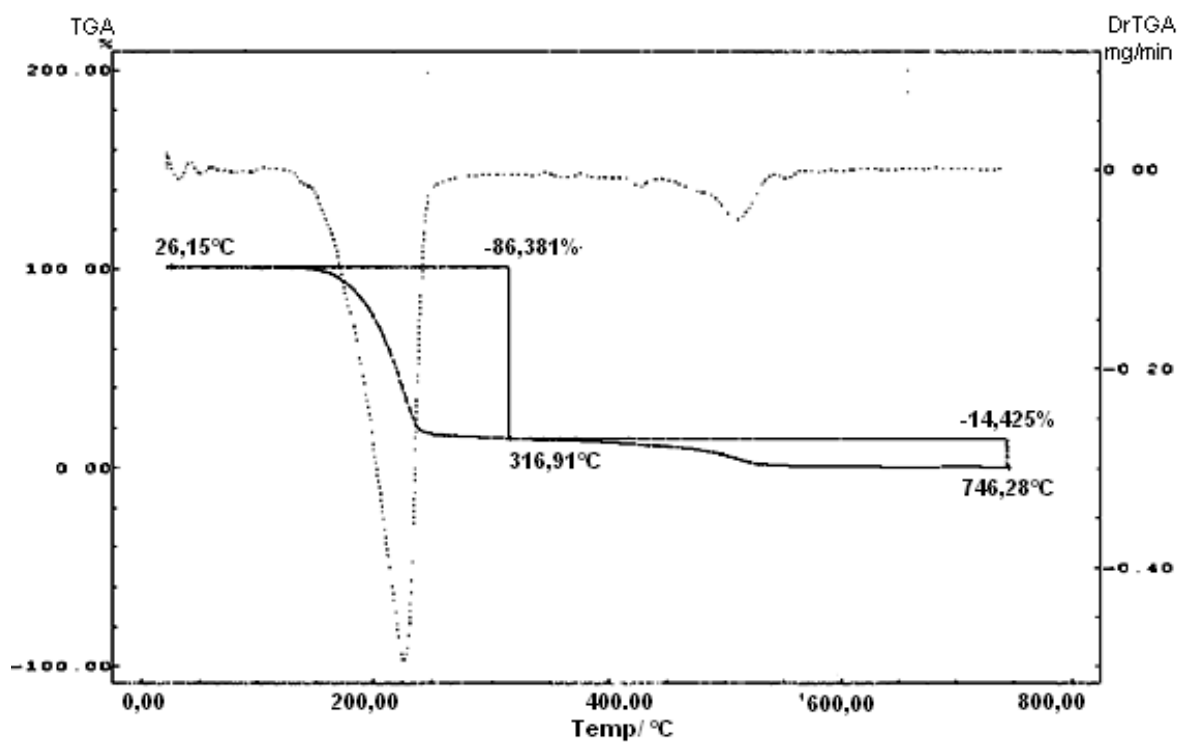


Figura 9: Curva termogravimétrica do ligante lapachol.

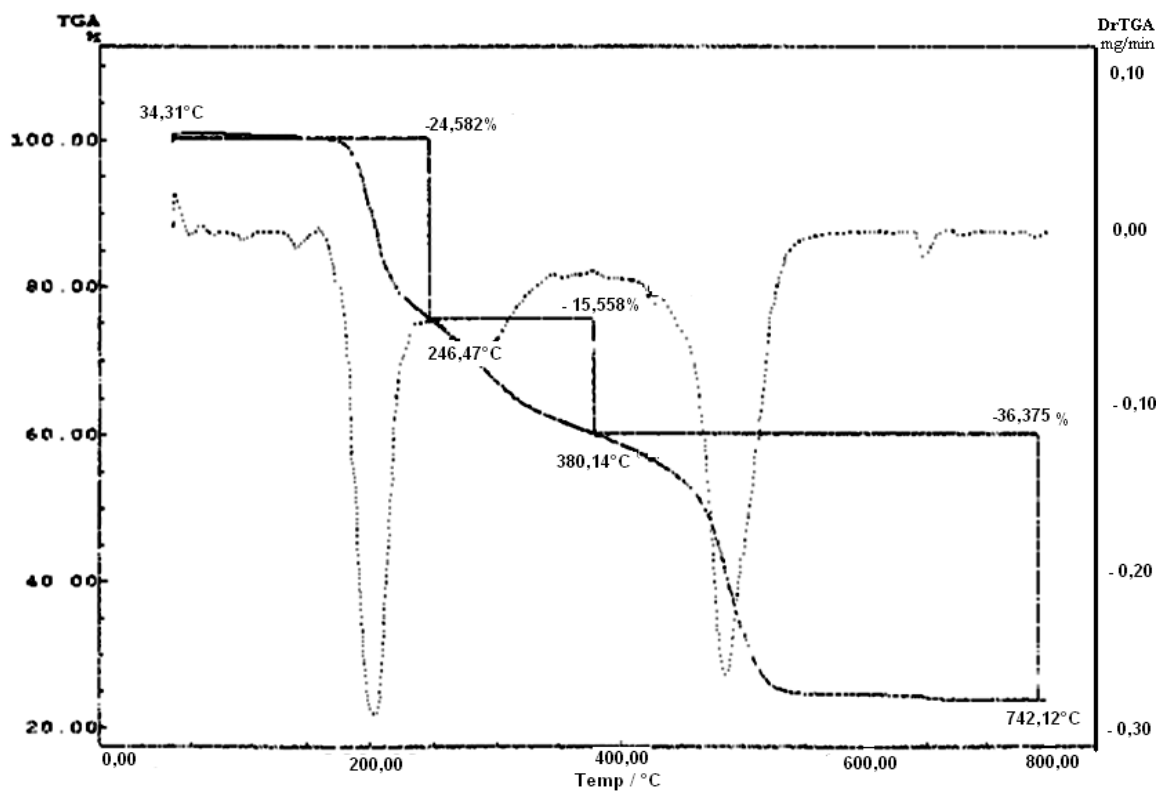


Figura 10: Curva termogravimétrica do complexo LpOPh₃Sn.

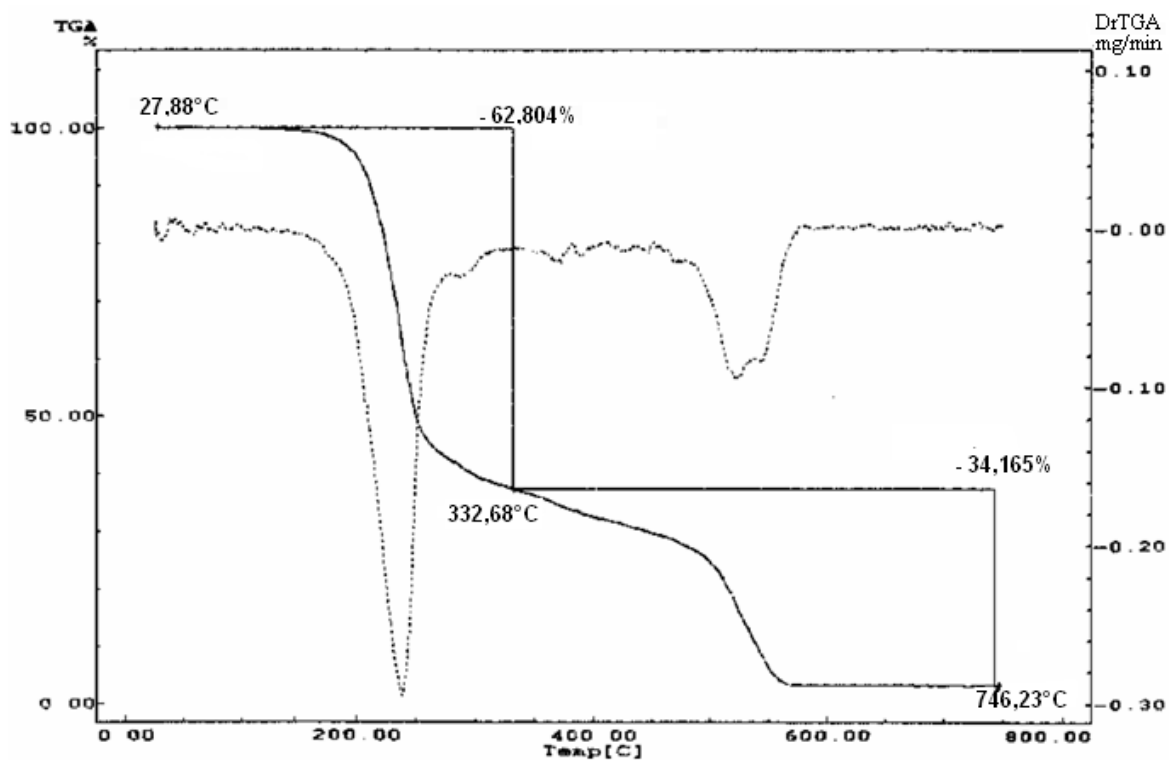


Figura 11: Curva termogravimétrica do complexo $(LpOPh_3Sb)_2O$.

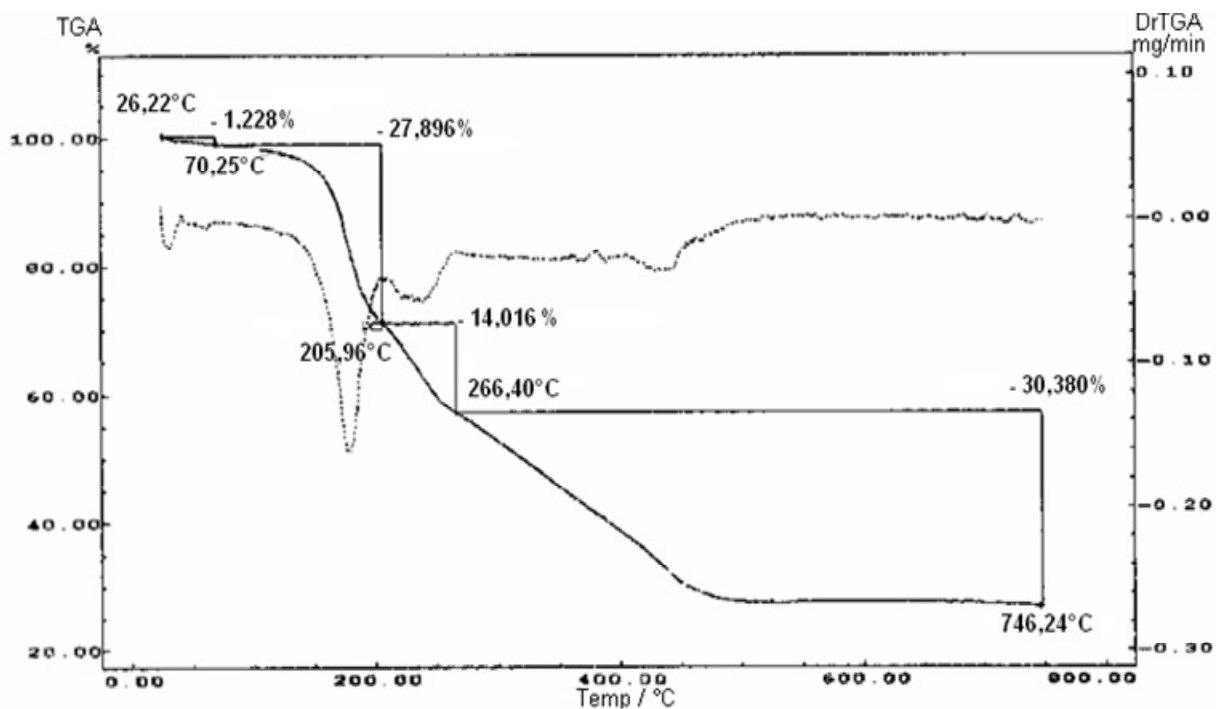


Figura 12: Curva termogravimétrica do complexo $LpOPh_3BiOH$.

IV. Espectrometria na região do Infravermelho

O lapachol, LpOH, no estado sólido, apresenta-se predominantemente sob a forma dimérica, estrutura estabilizada por ligações de hidrogênio intermoleculares entre o oxigênio da carbonila e hidrogênio da hidroxila em *orto*²³, como mostrado na Figura 13. No espectro de IV desse composto, observa-se uma banda intensa e aguda em 3353 cm⁻¹ que corresponde ao estiramento O–H da hidroxila em interação de hidrogênio e outra pouco intensa em 3420 cm⁻¹, correspondendo à fração monomérica na qual a hidroxila está livre.^{23, 24} Nos espectros dos três complexos analisados, a banda em 3353 cm⁻¹ desaparece, indicando a ausência do grupo hidroxila nesses complexos. Os espectros dos complexos podem ser vistos nas Figuras 14-16 e o do ligante na Figura 17.

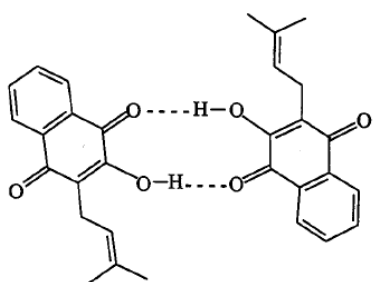


Figura 13: Estrutura dimérica do lapachol, encontrada no estado sólido e em soluções de concentração maior que 10⁻⁴ mol/L

Outra região importante no espectro de IV para o estudo dos complexos é a região de carbonila. O LpOH apresenta dois grupos carbonila, um absorvendo em 1660 cm⁻¹ e o outro em 1639 cm⁻¹, correspondendo ao C-1 e C-4, respectivamente.²³ Nos complexos, a banda de C-1 sofre deslocamento para menor frequência em relação ao ligante, como é evidenciado no Tabela 3. O deslocamento ocorre devido à complexação do oxigênio ao metal, que enfraquece o caráter da dupla ligação. A carbonila C-4 sofre leve deslocamento. Ainda nessa região, pode existir uma contribuição da vibração da ligação dupla C2=C3 do anel, conjugada à vibração do grupo C=O.²³

A banda referente ao estiramento C–O da hidroxila também sofreu deslocamento de, em média, 30,8 cm⁻¹, para região de maior frequência, Tabela 3. Isso também pode ser entendido em termos da complexação.

Tabela 3: Atribuições das bandas de absorção de IV de maior importância dos complexos e do lapachol (cm^{-1}).

Composto	Lapachol	LpPh ₃ Sn	Δ	(LpPh ₃ Sb) ₂ O	Δ	LpPh ₃ BiOH	Δ
$\nu(\text{O-H})/\text{cm}^{-1}$	3353,67	-	-	-	-	-	-
$\nu(\text{C=O})^*/\text{cm}^{-1}$	1661,49	1569,25	92,24	1562,86	98,63	1551,39	110,1
$\nu(\text{C=O})^{**}/\text{cm}^{-1}$	1639,39	1634,89	-4,5	1641,01	1,62	1624,48	14,91
$\nu(\text{C2=C3})/\text{cm}^{-1}$	1592,92	1593,75	0,83	1591,28	-1,64	1586,57	-6,35
$\nu(\text{C-O})/\text{cm}^{-1}$	1028,75	1062,92	34,17	1058,74	29,99	1057,1	28,35

* Refere-se ao carbono 1

** Refere-se ao carbono 4

A banda visualizada em 2993 cm^{-1} no espectro de LpOH refere-se ao estiramento C–H do carbono sp^2 (C-12), da cadeia lateral. As bandas referentes ao estiramento axial assimétrico e simétrico do grupo metileno (CH_2 , C-11) são vistas por volta de 2905 e 2851 cm^{-1} , respectivamente. A banda na região de 2969 cm^{-1} corresponde ao estiramento assimétrico do grupo CH_3 (C-14 e C-15).^{23, 24} Já nos complexos, a banda de estiramento C–H, é vista acima de 3050 cm^{-1} , as do grupo metileno, na região entre 2908 a 2850 cm^{-1} e em 2960 cm^{-1} , a banda referente a CH_3 .

A região compreendida entre $1400\text{-}700 \text{ cm}^{-1}$ exibe bandas de combinação entre os diferentes tipos de vibrações, como a união C–C, C–O, deformações dos grupos C–H e do grupo O–H com a dos anéis.²³ A região de 900 a 675 cm^{-1} mostra as vibrações de deformação angular fora do plano da ligação C–H de compostos polinucleares; o anel naftoquinônico absorve nessa região. Nos complexos, não houve alterações nessas duas regiões.

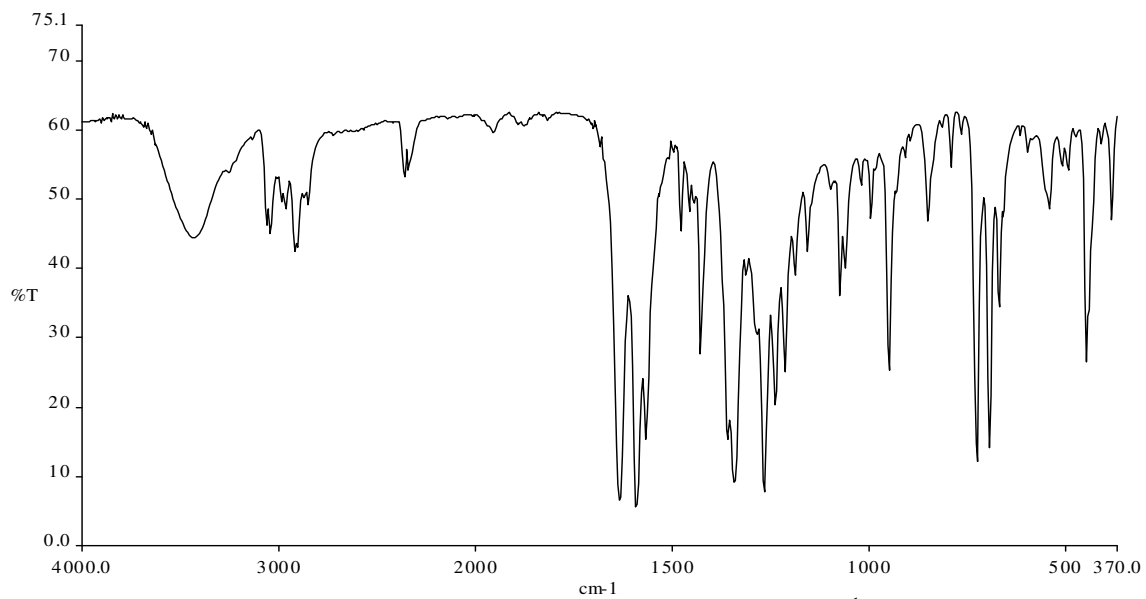


Figura 14: Espectro de IV do LpOPh₃Sn na região de 4000 a 400 cm⁻¹.

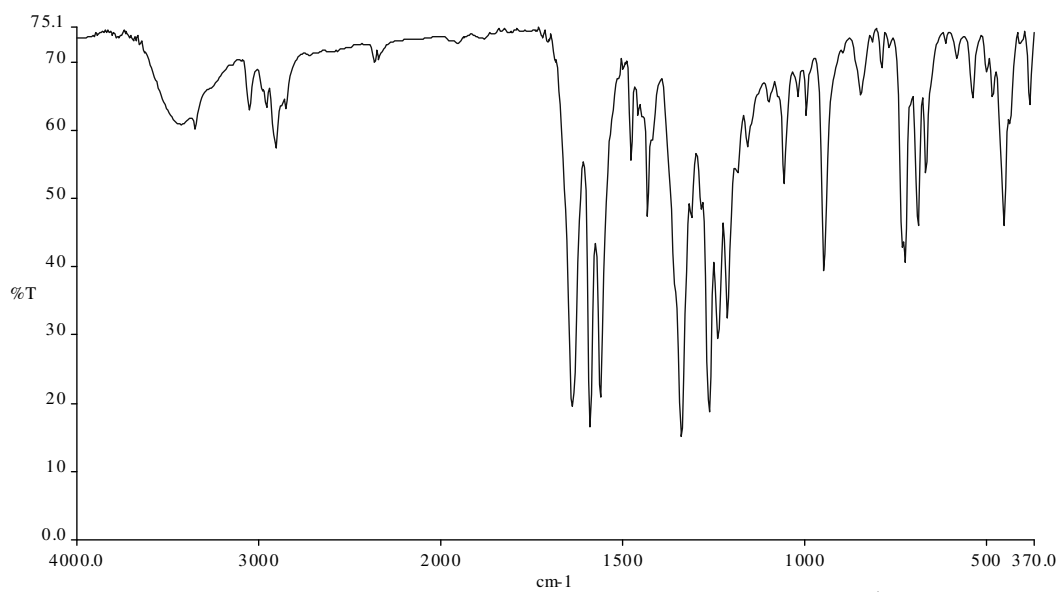


Figura 15: Espectro de IV do (LpOPh₃Sb)₂O na região de 4000 a 400 cm⁻¹.

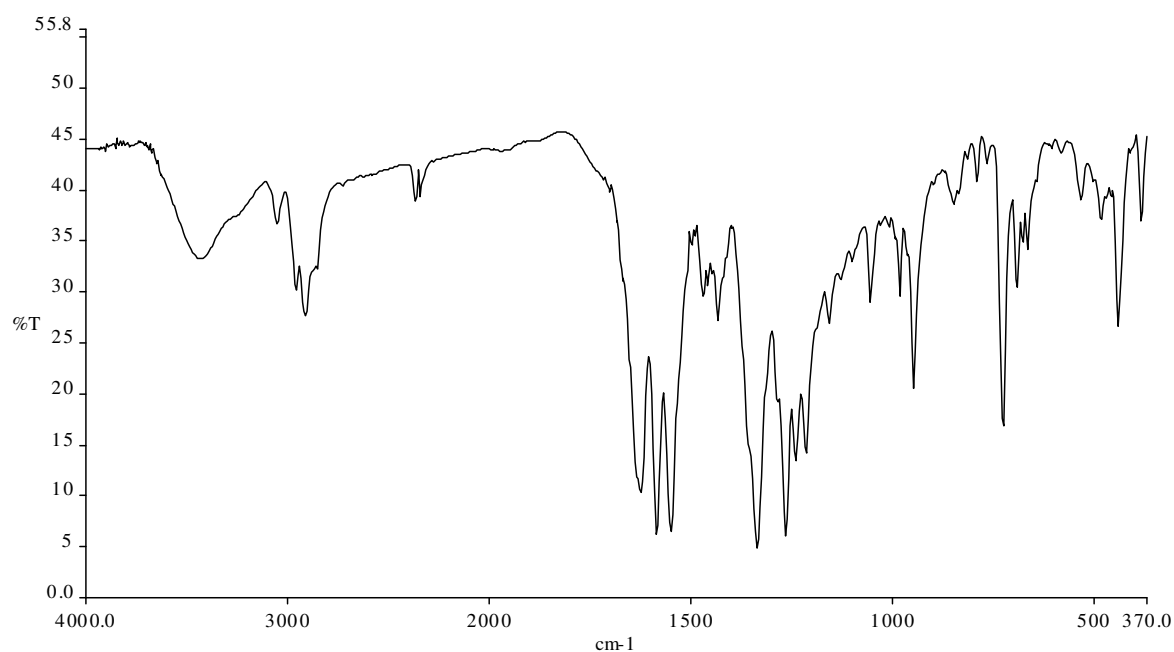


Figura 16: Espectro de IV do LpOPh₃BiOH na região de 4000 a 400 cm⁻¹.

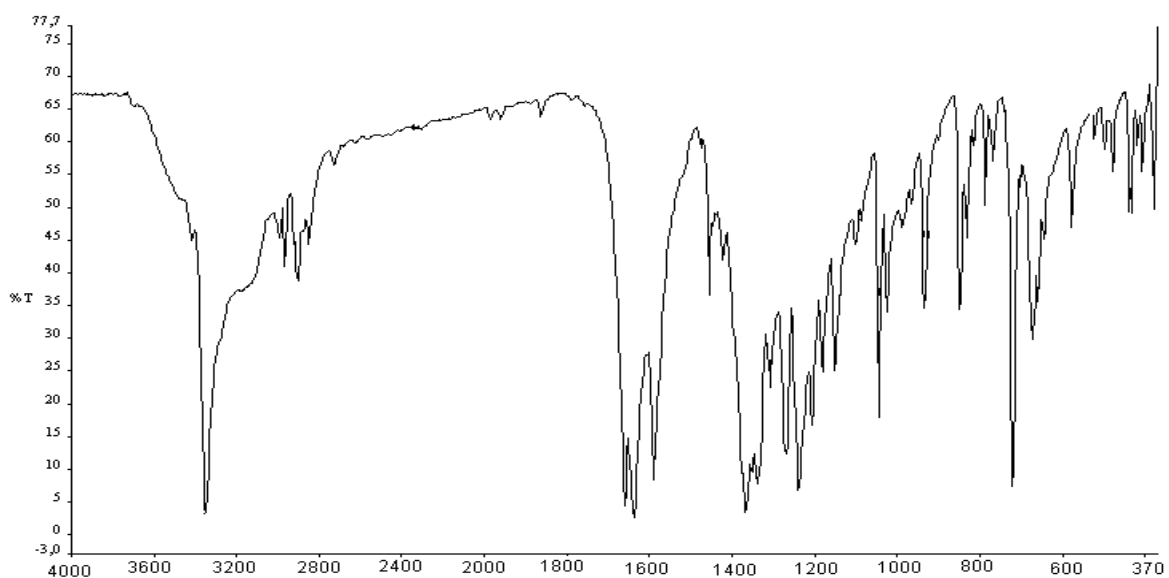


Figura 17: Espectro de IV do lapachol, na região de 4000 a 400 cm⁻¹.

V. RMN e EM-IES

V.1. Complexo de Sn

As atribuições aos sinais de ^{13}C e ^1H do complexo LpOPh_3Sn foram feitas em comparação com os deslocamentos químicos e forma dos sinais de RMN ^1H e ^{13}C do lapachol (experimental e da literatura – Arruda et al, 2006)²⁵ e do cloreto de trifenilestanho (www.aist.go.jp/RIODB/SDBS)²⁶ e os espectros de HMBC e HMQC obtidos de cada complexo auxiliaram na atribuição dos sinais de ^1H e ^{13}C vistos nos espectros dos complexos.

a. Interpretação dos espectros de ^1H , ^{13}C , HMQC e HMBC

^1H (em DMSO)

A Figura 18 mostra a estrutura do cloreto de trifenilestanho, do lapachol e a estrutura proposta do complexo de estanho, destacando-se os hidrogênios. Esta figura será utilizada juntamente com a Tabela 5 para a identificação dos sinais presentes no espectro de RMN ^1H do composto LpOPh_3Sn . Este espectro pode ser visto na figura 19. Na molécula do lapachol, a numeração dos H foi feita em relação ao carbono mais próximo dele. Assim, o hidrogênio da hidroxila está mais próximo do C-2, por isso ele corresponde a H-2.

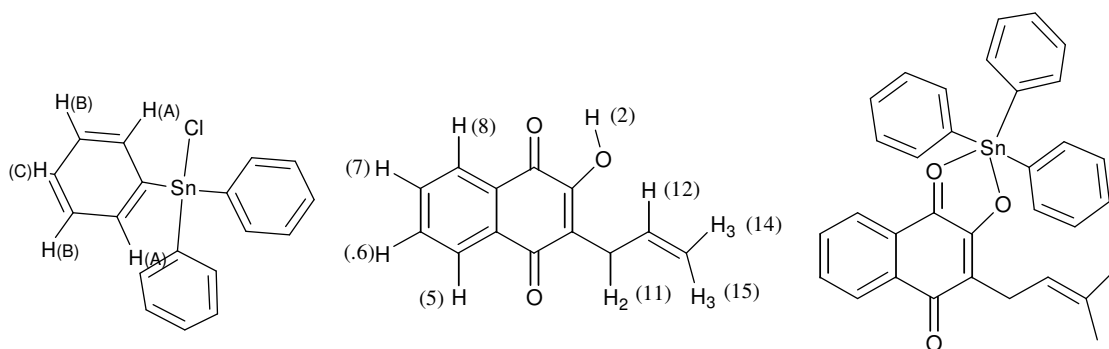


Figura 18: Estrutura do cloreto de trifenilestanho, à esquerda, do lapachol, ao centro, e do LpOPh_3Sn , à direita, evidenciando os hidrogênios para a atribuição no espectro de RMN ^1H .

Na Tabela 5 podem-se observar os deslocamentos químicos de ^1H do lapachol e do complexo LpOPh_3Sn obtidos em DMSO. As constantes de acoplamento foram calculadas para o lapachol. Podem-se observar também os deslocamentos químicos dos hidrogênios do cloreto de trifenilestanho e do lapachol, obtidos de um banco de dados da internet ²⁶ e de

Arruda *et al*²⁵, respectivamente. As atribuições dos sinais de ¹H para o complexo foram feitas considerando-se que não haveria mudanças no valor dos deslocamentos químicos devidos à complexação, já que os hidrogênios não fazem parte dos sítios de ligação do lapachol, exceto o hidrogênio hidroxílico. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios do cloreto de trifetil estanho também não seriam alterados.

Tabela 5: Dados de RMN ¹H, em *d*₆-DMSO, do complexo LpOPh₃Sn, do LpOH e Ph₃SnCl. O traço duplo na tabela separa os sinais dos H do Ph₃SnCl (em cima) e os do LpOH (embaixo).

Atribuição	δ/ppm LpOPh ₃ Sn	δ/ppm LpOH, <i>mult</i> , (J Hz) determinada	δ/ppm, <i>mult</i> , (J Hz) literatura
H (A) _6 H similares	7,788		7,852 ⁽²⁶⁾
H (B) _6 H similares	7,381		7,460
H (C) _3 H similares	7,341		7,410
H-2_1H		11,02 <i>s</i>	7,2
H -5_ 1 H, similar ao H-8	7,796	8,005 <i>dd</i> (7,7 e 1,3)	8,1 <i>dd</i> (6,4 e 1,3) ⁽²⁵⁾
H -6_ 1 H, similar ao H-7	7,661	7,857 <i>td</i> (7,8 e 1,4)	7,7 <i>td</i> (6,4 e 1,3)
H -7_ 1 H, similar ao H-6	7,555	7,807 <i>td</i> (7,8 e 1,3)	7,7 <i>td</i> (6,4 e 1,3)
H -8_ 1 H, similar ao H-5	7,576	8,005 <i>dd</i> (7,7 e 1,3)	8,1 <i>dd</i> (6,4 e 1,3)
H-11_ 2 H	3,154	3,196 <i>d</i> (7,2)	3,30 <i>d</i> (6,7)
H -12_ 1 H	5,121	5,162 <i>t</i> (7,2)	5,20 <i>t</i> (6,7)
H -14_ 3 H	1,578	1,756 <i>s</i>	1,75 <i>s</i>
H -15_ 3 H	1,533	1,665 <i>s</i>	1,65 <i>s</i>

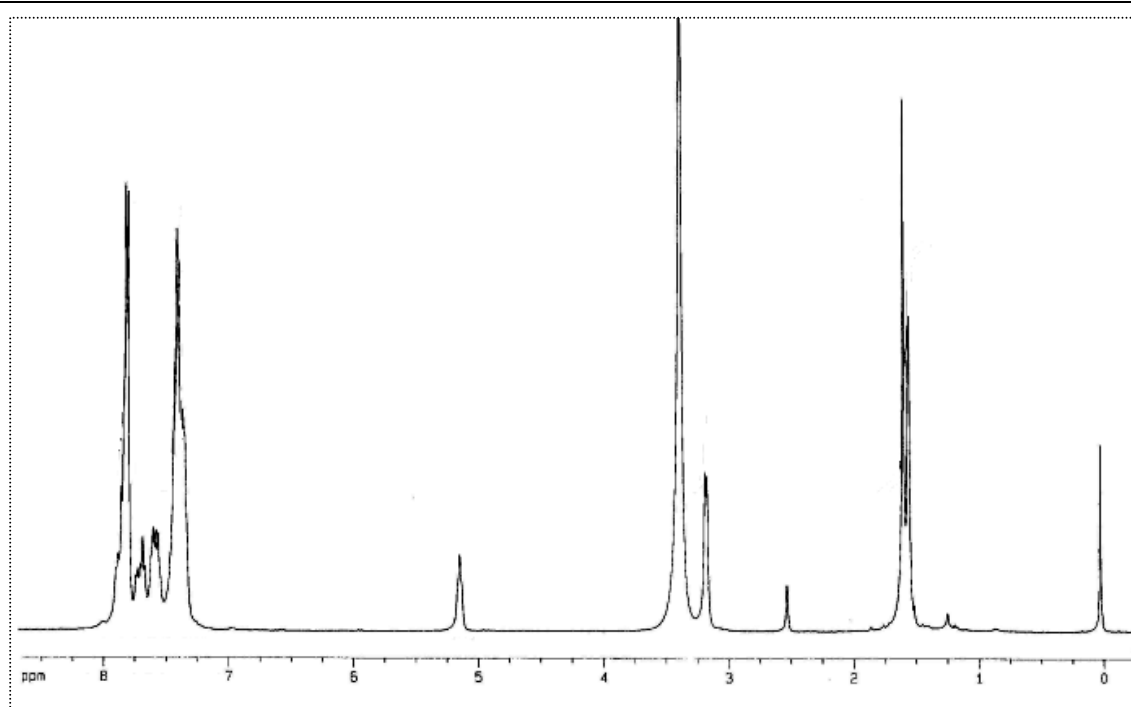


Figura 19: Espectro de RMN ¹H de LpOPh₃Sn, em DMSO, a 400 MHz.

Pela análise do espectro da figura 19 e da Tabela 5, observou-se que o sinal do H-5 separou-se do sinal H-8, hidrogênios equivalentes no ligante livre. Observou-se também a ausência do sinal correspondente ao H-2. Todos os sinais de hidrogênio sofreram um pequeno deslocamento para campo alto, quando houve a complexação, porém, não foram muito significativos.

^{13}C (em DMSO)

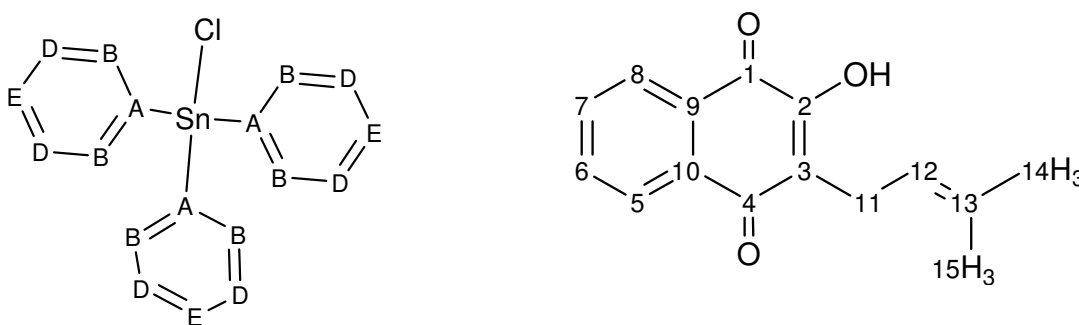


Figura 20: Estrutura do cloreto de trifenilestanho, à esquerda, e do lapachol, à direita, evidenciando os carbonos para a atribuição no espectro de RMN ^{13}C .

Para facilitar a visualização dos carbonos aos quais foram atribuídos os sinais de RMN ^{13}C do complexo, imputou-se números aos carbonos do lapachol e letras aos do Ph₃SnCl, como visto na figura 20. A Tabela 5 mostra os deslocamentos químicos do LpOH (a partir do espectro obtido em DMSO e da literatura), do Ph₃SnCl (obtido num banco de dados da internet) e do LpOPh₃Sn (obtido em DMSO). Os números e letras dos carbonos estão de acordo com a figura 20.

Os carbonos das carbonilas (C-1 e C-4) do ligante LpOH mostram sinal em campo mais baixo que os demais carbonos, por estarem mais desprotegidos pela retirada da densidade eletrônica pelo oxigênio. Pelo espectro de RMN ^{13}C , Figura 22, e pela Tabela 5, verifica-se, com a complexação, um deslocamento do sinal de C-1 para campo alto, que pode ser explicado pelo enfraquecimento da dupla ligação carbono-oxigênio após a ligação ao metal, que passa a retirar menos densidade eletrônica das vizinhanças; dessa forma, o carbono fica mais blindado. O deslocamento de 6 ppm para campo baixo é observado para o sinal de C-2. Isso ocorre devido a atração dos elétrons pelo metal, que é um centro positivo, e que por efeito indutivo, retira densidade eletrônica de átomos de grupos próximos. Para C-3 também

foi observado certo deslocamento devido à influência do deslocamento da nuvem eletrônica pelo metal.

Quanto ao sinal da carbonila C-4, deslocado cerca de 2 ppm para campo baixo, o que se pode pensar é que o deslocamento ocorre por causa da modificação da densidade eletrônica do anel, já que anteriormente à complexação, podia existir ressonância que os carbonos 2,3 e 4, como mostrado na Figura 21, e, após a complexação, as duplas ficam em posições fixas.

Tabela 5: Dados de RMN ^{13}C em d_6 -DMSO do complexo LpOPh_3Sn , do LpOH e Ph_3SnCl . O traço duplo na tabela separa os sinais dos C do Ph_3SnCl (acima) e os do LpOH (abaixo).

Atribuição	δ/ppm LpOPh_3Sn	δ/ppm LpOH determinado	δ/ppm literatura ^{25,26}
C(A) _ 3 C similares	145,040		143,660
C(B) _ 2 C similares	135,920		136,950
C(B) _ 2 C similares	135,690		135,880
C(B) _ 2 C similares	135,460		134,840
C(E) _ 3 C similares	128,454		128,900
C(D) _ 2 C similares	129,840		129,860
C(D) _ 2 C similares	128,045		128,260
C(D) _ 2 C similares	127,702		126,750
<hr/>			
C-1 _ C = O	182,698	184,16	184,50
C-2 _ C--O—Sn	161,115	155,02	152,70
C-3 _ C = C	123,984	122,93	123,50
C-4 _ C = O	183,250	181,05	181,70
C-5 _ similar ao C-8	125,103	125,58	126,0
C-6 _ similar ao C-7	133,966	134,42	134,80
C-7 _ similar ao C-6	131,913	131,89	132,80
C-8 _ similar ao C-5	125,103	125,65	126,70
C-9	129,843	129,91	129,40
C-10	132,529	131,90	132,90
C-11 _ CH_2	22,415	22,01	22,60
C-12 _ C sp^2 secundário	122,343	120,66	119,60
C-13 _ C sp^2 terciário	130,481	133,07	133,80
C-14 _ CH_3	25,345	25,73	25,70
C-15 _ CH_3	17,589	17,71	17,80

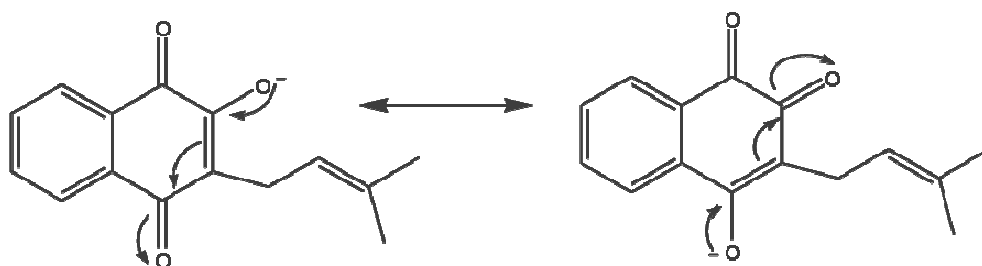


Figura 21: Estruturas de ressonância do lapachol

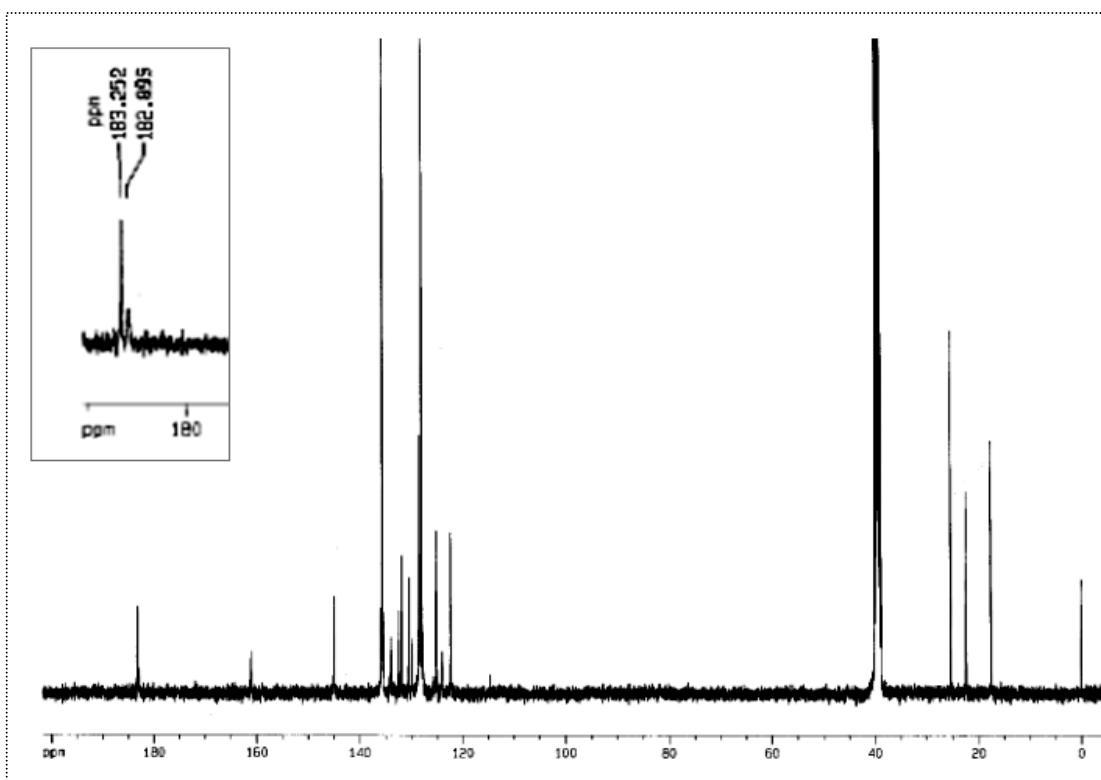


Figura 22: Espectro de RMN ^{13}C do complexo LpOPh_3Sn , em DMSO. A região ampliada mostra os sinais das duas carbonila, sendo que o sinal pouco intenso em 182 ppm refere-se à carbonila C-1 e o outro sinal, em 183 ppm à C-4.

HMQC (correlação entre C e H diretamente ligados) e HMBC (correlação entre C e H à distância)

Para se confirmar a atribuição dos sinais de carbono vistos no RMN ^{13}C , utilizou-se as técnicas de HMQC e HMBC. A Tabela 6 e a Figura 23 contêm relações de HMBC para o LpOH . Por esta tabela e figura, pode-se verificar quais átomos de hidrogênio e carbono acoplam-se.

A correlação dos carbonos e hidrogênios aromáticos pode ser vista na Figura 24, que mostra uma parte do espectro de HMQC do complexo LpOPh_3Sn .

Pelo espectro 2D HMBC, Figura 25, pode-se distinguir o sinal da carbonila C-1 do sinal da carbonila C-4, pela diferença existente nas vizinhanças destas. A carbonila C-4 acopla tanto a H-11 como a H-5. Por outro lado, o C-1 acopla somente a H-8. Embora o acoplamento

de C-1 a H-8 não tenha sido visto no espectro 2D HMBC, a relação de C-4 com H-5 e H-11 foi perfeitamente vista, o que confirma as atribuições realizadas para as carbonilas.

Tabela 6: Correlação C/H à distância para o lapachol

Carbono	Correlação
C-1	H-8
C-2	H-11
C-3	H-11 e H-12
C-4	H-5 e H-11
C-5	H-6 e H-7
C-6	H-5, H-7 e H-8
C-7	H-5, H-6 e H-8
C-8	H-6 e H-7
C-9	H-5, H-7 e H-8
C-10	H-5, H-6 e H-8
C-11	H-12
C-12	H-11, H-14 e H-15
C-13	H-11, H-12, H-14 e H-15
C-14	H-12 e H-15
C-15	H-12 e H-14

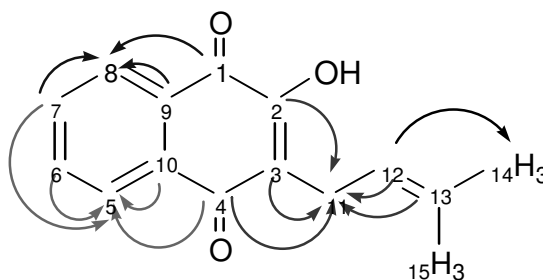


Figura 23: Estrutura do lapachol. As setas indicam os carbonos e hidrogênios que se correlacionam, segundo a técnica de HMBC.

Os espectros de HMQC e HMBC inteiros do LpOPh_3Sn podem ser visto nos anexos.

Os carbonos C-7 e C-10, que apareciam muito próximos no espectro do ligante, quase se sobrepondo, como pode ser constatado pela Tabela 5, também puderam ser facilmente identificados pelas duas técnicas, uma vez que C-10 não possui H diretamente ligado a ele e C-7 possui.

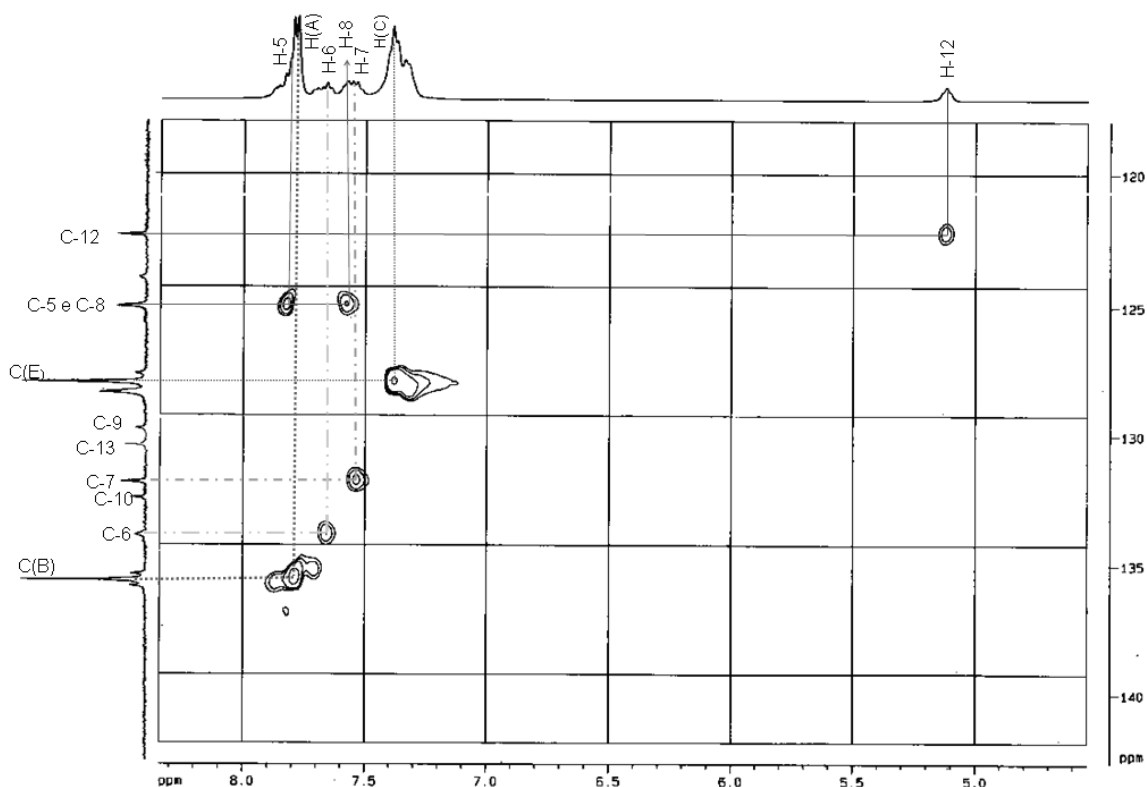


Figura 24: Espectro de HMQC do complexo $LpOPh_3Sn$, em DMSO, mostrando alguns carbonos e hidrogênios. As linhas traçadas indicam os carbonos e os hidrogênios que estão ligados.

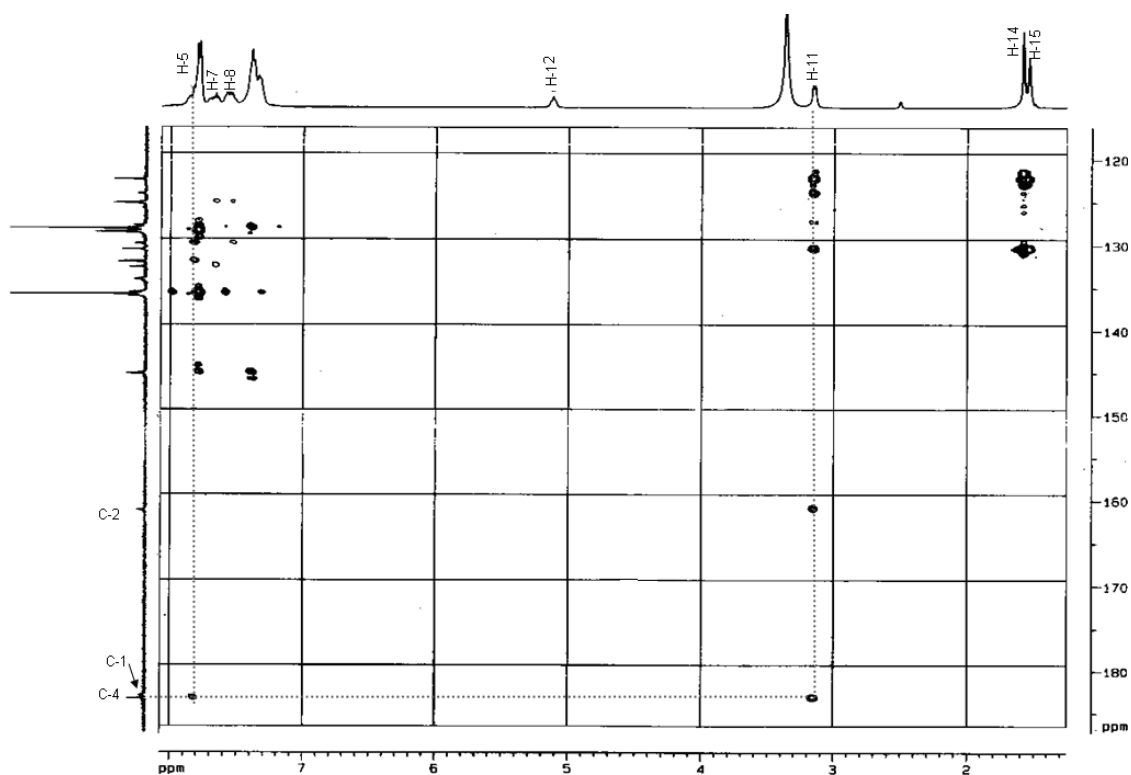


Figura 25: Espectro de HMBC do complexo $LpOPh_3Sn$, em DMSO, mostrando os carbonos aromáticos. A linha traçada indica as correlações entre C-4 e os H -5 e H-11.

b. Espectrometria de Massas

Segundo Moraes e Lago, a espectroscopia de massa de ionização por “electrospray” é uma técnica adequada para estudos de compostos pouco voláteis. Os íons observados no espectro de massa nem sempre correspondem aos íons contidos na solução, alguns podem ser gerados durante o “electrospray”. Muitos parâmetros, seja da solução ou da fonte de “electrospray”, contribuem para o surgimento de novas espécies iônicas. A natureza do solvente utilizado, a estrutura do analito, o pH da solução resultante, a tensão no capilar, o contra-eletródo e as lentes da fonte de “electrospray” são alguns destes parâmetros.²⁷

A ionização por “electrospray” pode gerar três tipos de íons:²⁸

- Íons moleculares, representados por $[M] \cdot^+$ ou $[M] \cdot^-$, originados de reações redox;
- Íons *quasi*-moleculares, que são moléculas protonadas, $[M+H]^+$ ou desprotonadas, $[M-H]^-$, oriundas de reações ácido-base; e
- Íons cationizados/anionizados, formados pela complexação com cátions, geralmente da família 1A ou ânions, como cloreto. Estes tipos de íons podem ser representados por $[M+Na]^+$ e $[M+Cl]^-$, respectivamente.

O solvente de preparo da amostra pode interferir no estado de oxidação de compostos que contenham metais. Lantanídeos com carga +3 requerem o uso de solventes como dimetilsulfóxido ou dimetilformamida para que se obtenha um espectro correspondente à espécie. Um estudo sobre a especiação de complexos metálicos, realizado por Orians, apontou a redução do cobre, de +2 para +1, no complexo do metal com 8-hidroxiquinolina. A principal espécie encontrada em solução metanólica foi o complexo de Cu(II), enquanto que em solução de acetonitrila, a espécie mais abundante foi a de Cu(I).²⁹

Soluções cujos valores de pH são baixos, em geral, favorecem a protonação dos analitos e soluções de caráter mais ácido, favorecem sua desprotonação. Caso o meio não favoreça a protonação/desprotonação, pode-se adicionar um ácido ou base fraco a fim de se facilitar a reação. Íons positivos são geralmente analisados empregando-se soluções de amostra em metanol e com baixos valores de pH. Já os íons negativos são produzidos em maior proporção a partir de soluções feitas com clorofórmio e altos valores de pH.

Em relação a moléculas orgânicas, foi observado que para policíclicos aromáticos que possuem potencial de oxidação inferior a 1,0V, a formação de espécies radicalares é predominante. Por outro lado, moléculas com baixo potencial de oxidação e que não apresentam sistemas com alta densidade eletrônica, tendem a formar íons através de reações ácido-base e/ou de coordenação a íons metálicos, como Na^+ e K^+ .²⁸

Logo, a técnica EM-ESI pode ser usada em estudos de identificação e quantificação de espécies inorgânicas e organometálicas, em estudos de especiação e até mesmo de medidas isotópicas, cada um requerendo condições específicas.²⁷

Para o complexo $LpOPh_3Sn$, as melhores condições de análise foram o modo negativo, em solução de acetonitrila, uma vez que possibilitou a observação do pico a que se atribuiu ao íon molecular do complexo. O lapachol é um composto facilmente reduzido ao radical semiquinona.¹⁶ Há possibilidade, então, de, durante a ionização, o ligante ter sofrido redução, podendo-se assim observar o pico referente ao complexo $LpOPh_3Sn$, na forma radicalar. Na Figura 26 observa-se o espectro de massa do lapachol no modo negativo, em acetonitrila; o pico m/z 241 é relativo à perda do próton hidroxílico e o pico m/z 242, relativo ao radical semiquinona.

A Figura 27 mostra o espectro do complexo $LpOPh_3Sn$. O estanho possui muitos isótopos estáveis¹; pelo espectro de massa do complexo, pôde-se verificar a presença de todos os isótopos do Sn. Os picos m/z 593 e 591, os mais intensos da região ampliada (Figura 27), referem-se ao ^{120}Sn e ^{118}Sn , respectivamente, isótopos mais abundantes do metal.

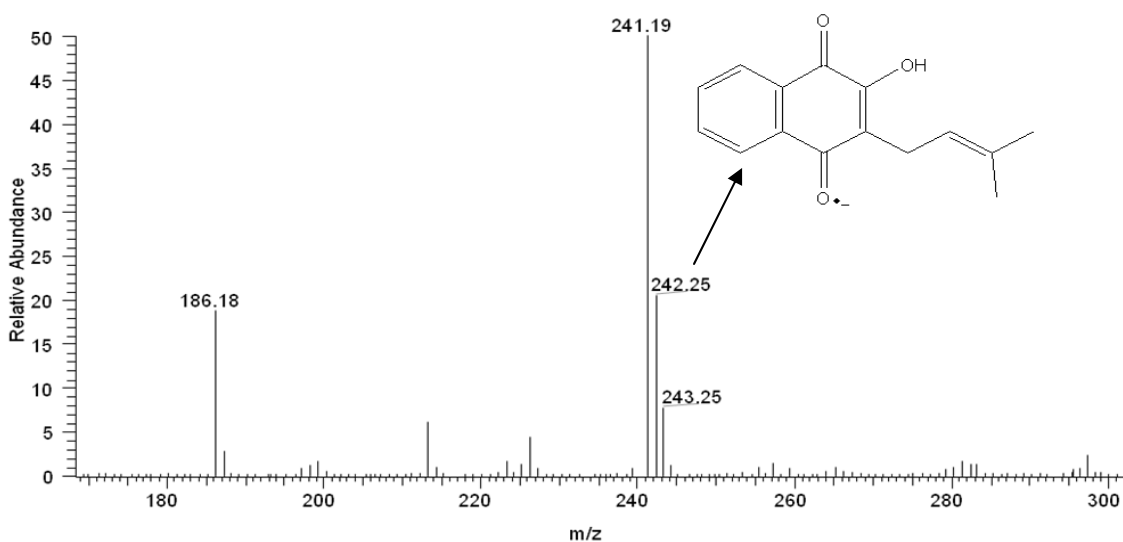


Figura 26: Espectro de massas ESI(-), em acetonitrila, do lapachol. A estrutura é do lapachol radicalar.

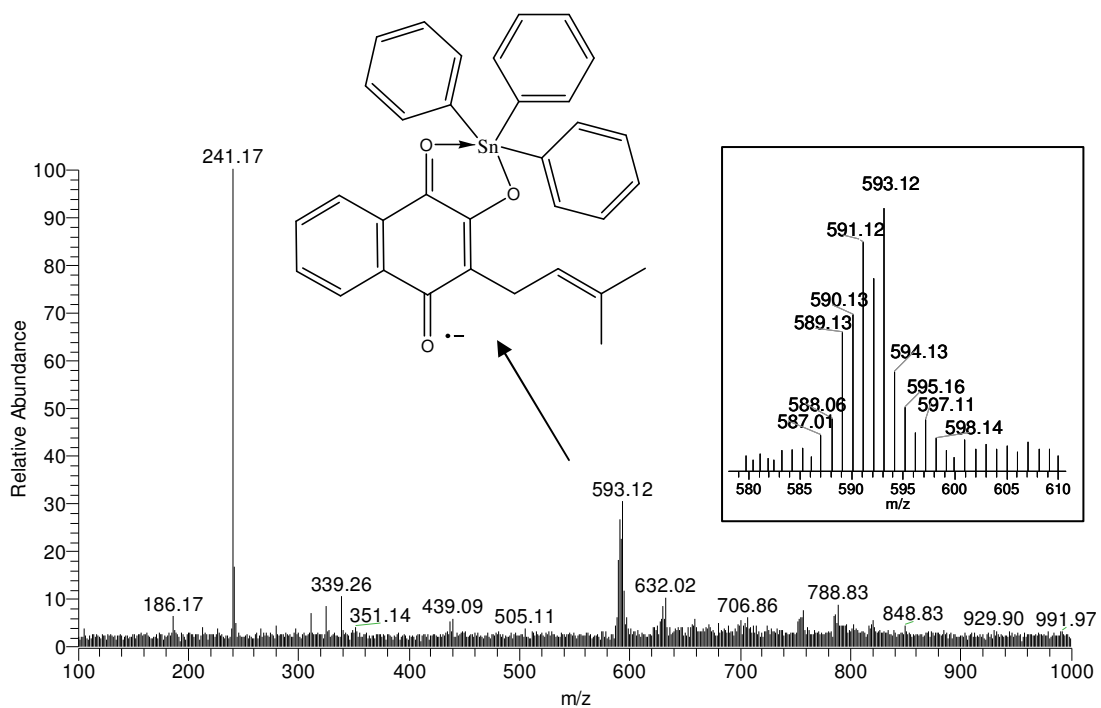
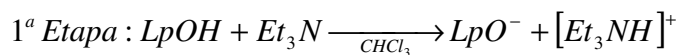


Figura 27: Espectro de massas ESI(-), em acetonitrila, do complexo LpOPh₃Sn, mostrando o íon molecular ([C₃₃H₂₈O₃Sn]⁻, de MM = 591,2912 g/mol). No detalhe, ampliação da região do íon molecular, mostrando os picos referentes aos isótopos do Sn.

c. Estrutura proposta para o complexo

A síntese desse composto pode ser resumida pelas equações de reação em duas etapas:



Na primeira etapa, a trietilamina abstrai o próton hidroxílico do lapachol; a solução de lapachol, inicialmente de coloração amarela, adquire coloração vermelho intensa. Na segunda etapa, quando se adiciona a espécie Ph_3SnCl , a solução lentamente passa à coloração marrom, indicando a complexação do lapachol ao metal. O par iônico formado, $[Et_3NH]^+Cl^-$, é removido posteriormente com água.

O rendimento da síntese foi de 75%. O complexo possui fórmula mínima $C_{33}H_{28}O_3Sn$ e massa molar de 591,29 g/mol. Análise elementar: calculado %C 67,03, %H 4,77, %Sn 20,07; encontrado %C 66,21, %H 4,40, %Sn 21,74. Condutividade em DMSO: $2,22 \text{ S} \times \text{cm}^2 \times \text{mol}^{-1}$

Baseado nas análises elementar, espectroscópicas e espectrométricas, na medida da condutividade molar dos compostos obtidos, propôs-se a seguinte estrutura para o complexo:

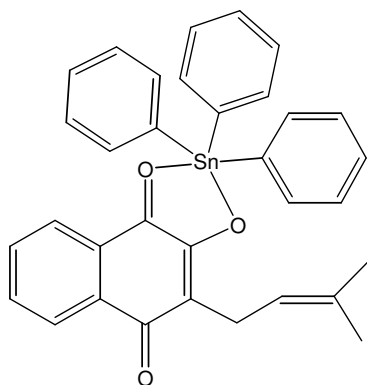


Figura 28: Estrutura proposta para o complexo $LpOPh_3Sn$.

V.2. Complexo de Sb

a. Interpretação dos espectros de ^1H , ^{13}C , HMQC e HMBC

As análises de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidas tanto em DMSO como em CDCl_3 . Embora em DMSO o composto tenha se mostrado mais estável, os sinais de ^{13}C foram pouco intensos.

^1H (em CDCl_3)

O mesmo raciocínio feito para a discussão dos espectros de RMN ^1H do complexo de estanho foi seguido para a discussão dos resultados da análise dos espectros RMN ^1H de complexo de antimônio.

A Tabela 7 mostra os deslocamentos químicos dos hidrogênios do complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ obtido em CDCl_3 e do lapachol, obtido em DMSO. As respectivas multiplicidades e constantes de acoplamento dos sinais também se encontram na Tabela 7.

Tabela 7: Dados de RMN ^1H do complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ e do LpOH em CDCl_3 .

Atribuição	δ/ppm $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, <i>mult</i> , (J Hz)	δ/ppm LpOH, <i>mult</i> , (J Hz)
H-2	-	11,020 <i>s</i>
H-5	8,019 <i>d</i> (7,6)	8,005 <i>dd</i> (7,7)
H-6	7,66 <i>t</i> (7,5)	7,857 <i>t</i> (7,8)
H-7	7,561 <i>t</i> (7,6)	7,81 <i>t</i> (7,8)
H-8	8,088 <i>d</i> (7,6)	8,005 <i>dd</i> (7,7)
H-11	3,231 <i>d</i> (6,9)	3,196 <i>d</i> (7,2)
	3,307 <i>d</i> (7,2)	
	3,413 <i>d</i> (6,8)	
H-12	5,062 <i>t</i> (6,8)	5,162 <i>t</i> (7,2)
	5,210 <i>t</i> (7,7)	
	5,250 <i>t</i> (6,8)	
H-14	1,559 <i>s</i>	1,756 <i>s</i>
	1,709 <i>s</i>	
	1,790 <i>s</i>	
H-15	1,499 <i>s</i>	1,665 <i>s</i>
	1,684 <i>s</i>	
	1,746 <i>s</i>	

O exame da Tabela 7 revela a existência de mais sinais do que o esperado para os hidrogênios 11, 12, 14 e 15. Isso pode estar ocorrendo por dois motivos principais: 1) a possível dissociação do complexo no solvente utilizado; e 2) a estrutura dimérica do complexo.

^{13}C (em CDCl_3 e DMSO)

A análise de RMN em CDCl_3 mostrou a tendência de o complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ se dissociar, ou mesmo, de se poder ocorrer reações secundárias em solução, o que explicaria a presença de sinais não esperados. Essa suposição de dissociação foi confirmada pela mudança de cor da solução, inicialmente alaranjada, e após algum tempo, amarelada, como a do ligante. Porém, informações importantes puderam ser retiradas do espectro de RMN obtido nesse solvente.

Para se atribuir os sinais de RMN ^{13}C para o complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, prosseguiu-se da mesma forma que a utilizada para o complexo de estanho. Considerando que as estruturas dos sais de cloreto do trifenil estanho e do cloreto de trifenil antimônio são semelhantes, a identificação dos carbonos foi a mesma.

Os valores do deslocamento químico dos carbonos do complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, em CDCl_3 e DMSO , e do lapachol estão mostrados na Tabela 8. Por esta tabela também se vê mais sinais do que o esperado. Como discutido anteriormente, isso ocorre pela dissociação do complexo.

Tabela 8: Dados de RMN ^{13}C do complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ em d_6 -DMSO e CDCl_3 e do LpOH , em CDCl_3 . O traço duplo separa os carbonos do Ph_3SbCl_2 e do LpOH .

Atribuição	δ/ppm $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ em DMSO	δ/ppm $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ em CDCl_3	δ/ppm LpOH em DMSO
C(A) _ C-Sb	142,980	143,502	
C(A) _ C-Sb	142,131	142,701	
C(B)	135,069	134,839	
C(D)		126,369	
<hr/>			
C-1 _ C=O	183,744	182,664	184,160
C-2 _ C--O--Sb	157,523	158,107	155, 020
C-3 _ C=C	125,556	126,611	122,930
C-4 _ C=O		184,921	181,052
C-5	126,057	126,774	125,580
C-6	134,586	134,660	134,420
	134,285	134,312	
C-7	131,998	131,965	131,890
	131,623	130,697	
	131,112	130,424	
	130,525	130,285	
	130,413	130,054	
C-8	128,918		125,650
C-9	129,543		129,910
	129,195		
	129,109	129,118	
C-10	132,969	132	131,900
	132,868	132,374	
	132,187	131,730	
C-11		23,173	22,010
	22,557	22,631	
C-12	121,044	121,744	120,660
		121,308	
		119,677	
C-13	133,314	133,360	133,070
		133,398	
C-14	25,416	25,758	25,730
	25,273	25,635	
C-15	17,713	18,038	17,710
	17,363	17,901	
		17,715	

HMQC e HMBC (em CDCl_3)

As figuras 29 e 30 mostram os espectros de HMQC e HMBC do complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, respectivamente, em CDCl_3 .

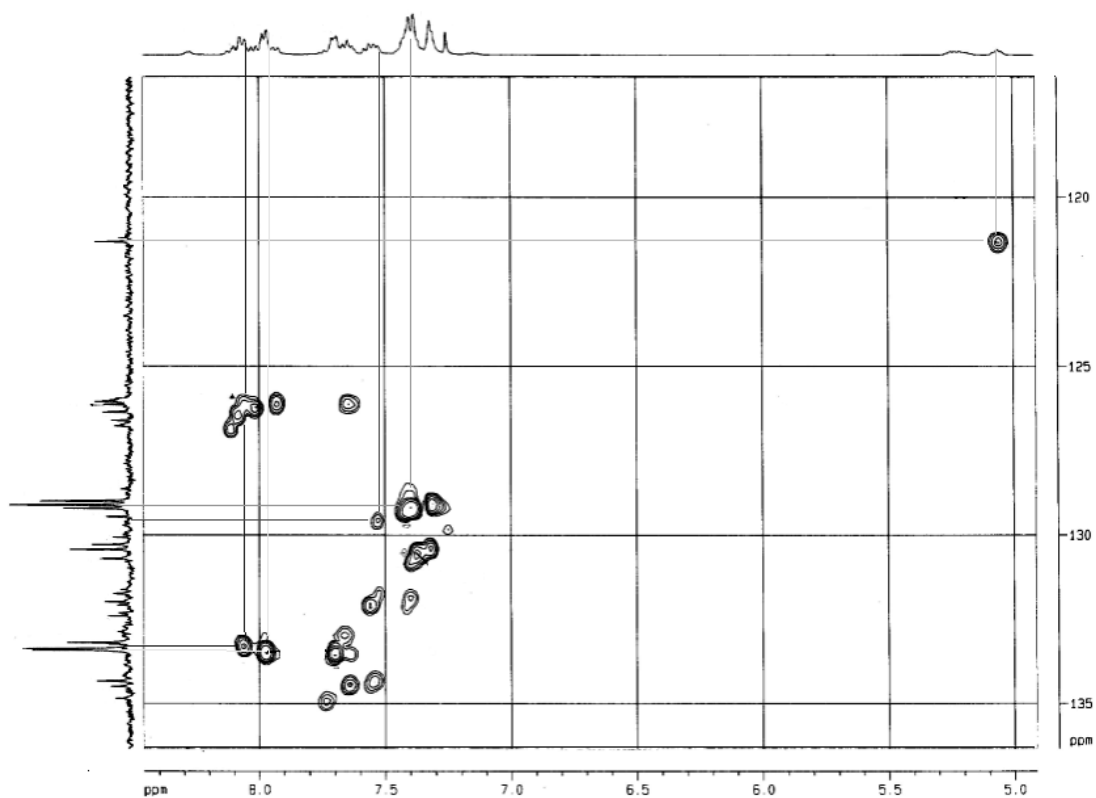


Figura 29: Parte do espectro de HMQC do composto $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, em CDCl_3 . As linhas traçadas indicam a relação de alguns carbonos e hidrogênios a eles ligados.

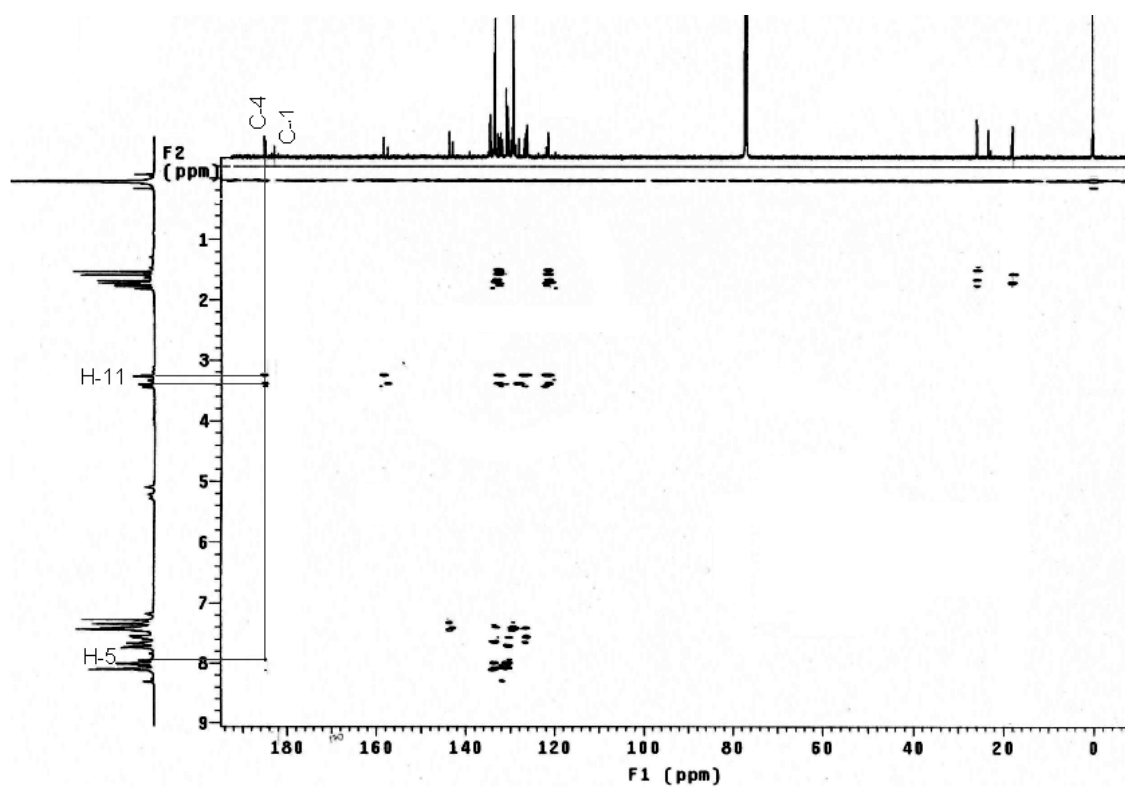


Figura 30: Espectro HMBC do composto $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, em CDCl_3 . A linha traçada indica a carbonila mais próxima de C-11 e C-5.

A figura 30 mostra que, da mesma forma como ocorre para o complexo de estanho, há uma inversão nos sinais de C-1 e C-4 em relação ao seu deslocamento no ligante, ou seja, o sinal de C-1 se desloca para campo alto e o sinal de C-4 se desloca para campo baixo. Portanto, a técnica HMBC foi importante para a confirmação das atribuições dos sinais das carbonilas para o complexo, já que de outra forma poderia-se confundir os sinais das carbonilas.

b. Espectrometria de Massa

O modo positivo foi o mais adequado para a análise do complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, uma vez que visualizou-se o pico relativo à $\text{LpOPh}_3\text{Sb}^+$, de m/z 592,98. O espectro de massas desse complexo, em acetonitrila, pode ser visto na Figura 31.

O espectro de massas indicou também a dimerização de um composto de fórmula mínima $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{SbO}$, $\text{MM} = 369,07$, que provavelmente foi produzido durante a ionização da amostra. O pico m/z 738 corresponde ao dímero desse composto. Após fragmentação do pico m/z 369,02 não se observou a presença de m/z 241, que seria referente ao ligante. Outros íons fragmentados do dímero também não mostraram o pico do íon referente ao ligante, o que levou a propor a estrutura mostrada no espectro.

A Figura 31 ainda mostra a estrutura proposta para o pico m/z 592,98, que contém o ligante. Quando se fragmentou esse pico, pôde-se visualizar o pico em m/z 241. Ao se ampliar as regiões dos picos m/z 369, 592 e 738, observou-se os picos referentes aos isótopos 121 e 123 do Sb.

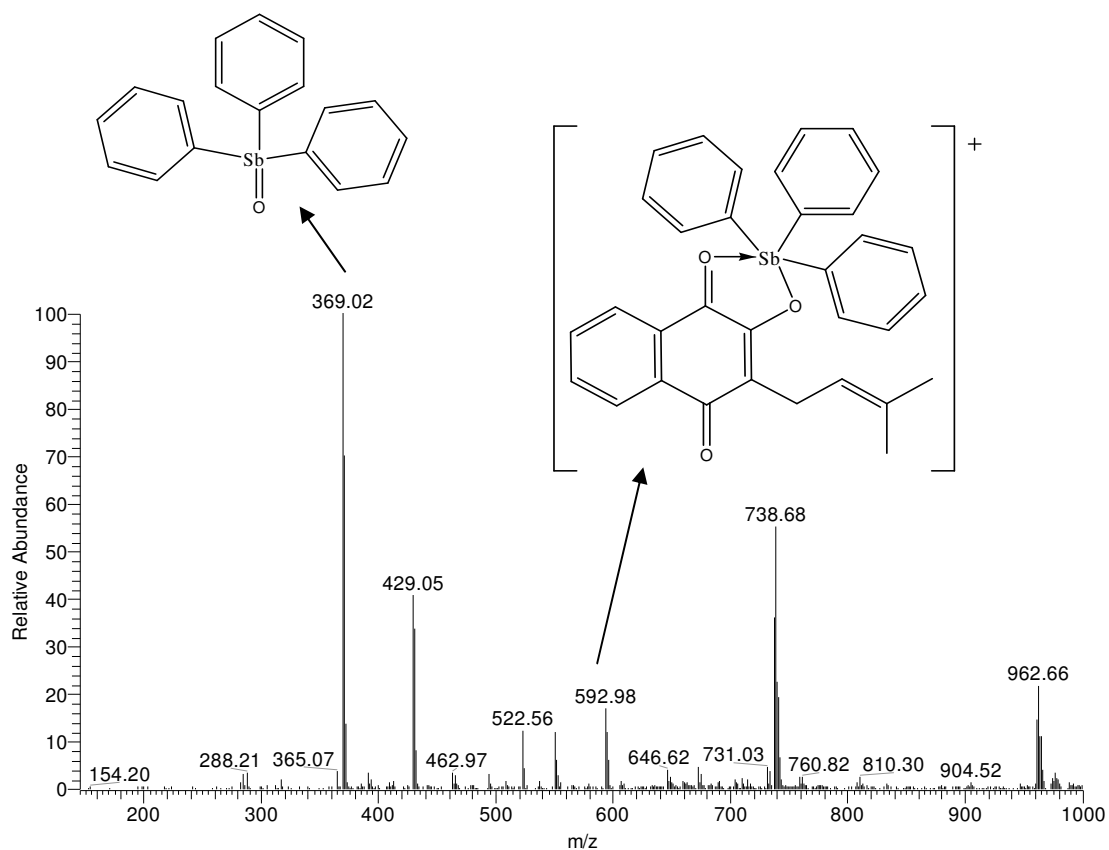
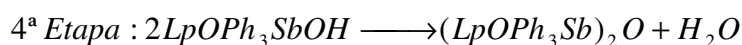
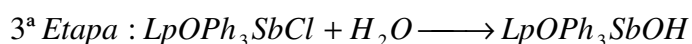
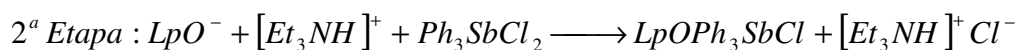
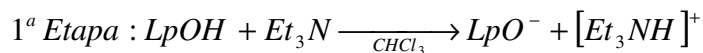


Figura 31: Espectro de massa ESI(+), em acetonitrila, do complexo $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, mostrando o íon $[\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Sb}]^+$, $\text{MM} = 593,5812$ g/mol.

c. Estrutura proposta para o complexo

A síntese de $(LpOPh_3Sb)_2O$ pode ser resumida pelas seguintes equações de reação:



Na primeira etapa, a trietilamina abstrai o próton hidroxílico do lapachol; a solução de lapachol, inicialmente de coloração amarela, adquire coloração vermelho intensa. Na segunda etapa, quando se adiciona a espécie Ph_3SbCl_2 , a solução lentamente torna-se alaranjada, indicando a complexação do lapachol ao antimônio. Para retirar o $[Et_3NH]^+Cl^-$ remanescente da reação, adiciona-se água. A terceira etapa pode ser vista como a hidrólise do antimônio, com a liberação do íon cloreto. A quarta etapa é a dimerização do complexo, com liberação de H_2O .

O rendimento da síntese foi de 71%. O complexo possui fórmula mínima $C_{66}H_{56}O_7Sb_2$ e massa molar de 1204,68 g/mol. Análise elementar: calculado %C 65,80, %H 4,68, %Sb 20,21; encontrado %C 66,65, %H 4,30, %Sb 19,53. Condutividade em DMSO: $2,96 \text{ S} \times \text{cm}^2 \times \text{mol}^{-1}$

Logo, a estrutura proposta para este complexo é:

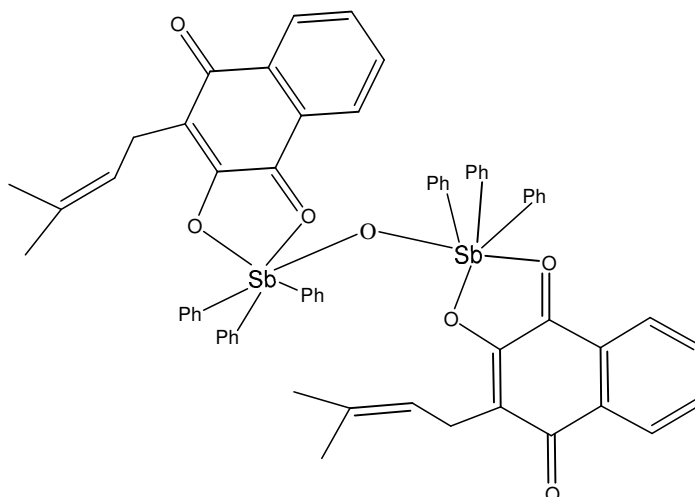


Figura 32: Estrutura proposta para o complexo $(LpOPh_3Sb)_2O$.

V.3. Complexo de Bi

a. Interpretação dos espectros de ^1H , ^{13}C , HMQC e HMBC

As atribuições dos sinais de ^{13}C e ^1H do composto formado a partir do lapachol e o sal de Bi foram confirmadas pelos espectros de HMQC e pela comparação com os espectros do lapachol.

^1H (em CDCl_3)

Os deslocamentos químicos, as multiplicidades dos sinais e as respectivas constantes de acoplamento dos hidrogênios do complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$ observados pelo espectro de RMN de ^1H obtido em CDCl_3 podem ser vistos na Tabela 9. O espectro de RMN ^1H pode ser visto na Figura 33 e a ampliação da região de H aromáticos na Figura 34.

Tabela 9: Dados de RMN de ^1H do composto $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, em CDCl_3

Atribuição	δ/ppm , <i>mult.</i> , (J Hz)
H-5	8,018 <i>d</i> (7,4)
	8,213 <i>d</i> (7,6)
H-6	7,744 <i>t</i> (7,8)
H-7	7,961 <i>t</i> (7,6)
H-8	8,527 <i>d</i> (7,6)
	8,136 <i>d</i> (7,4)
H-11	3,255 <i>d</i> (6,8)
	3,380 <i>d</i> (6,8)
H-12	5,109 <i>t</i> (6,8)
	5,239 <i>t</i> (6,1)
H-14	1,654 <i>s</i>
H-15	1,676 <i>s</i>

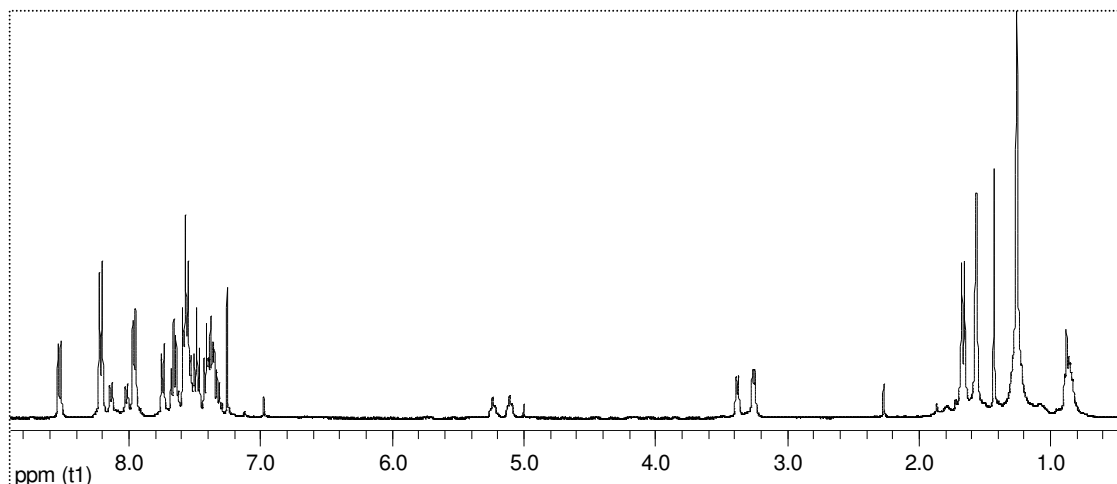


Figura 33: Espectro de RMN ^1H do composto $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, em CDCl_3 .

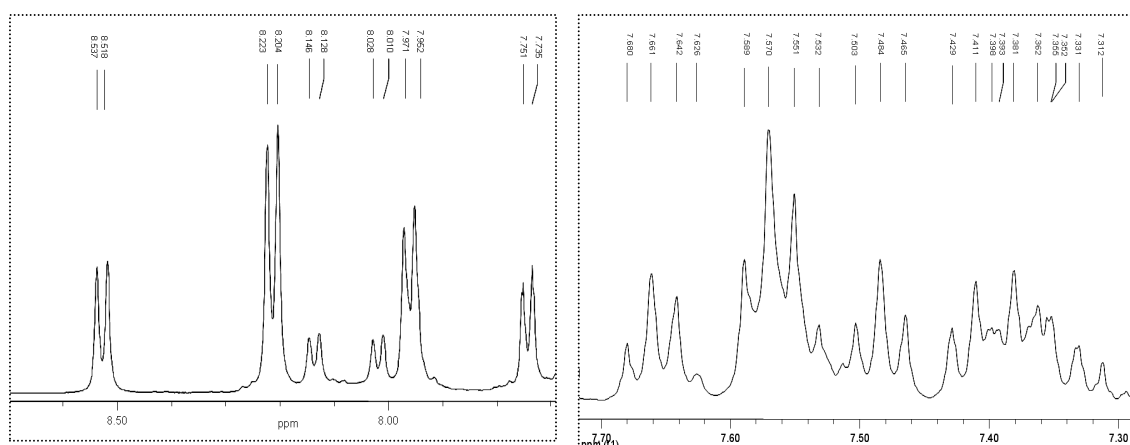


Figura 34: Duas regiões do espectro de RMN ^1H de $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, em CDCl_3 . À esquerda, de 7,4 a 8,6 ppm; à direita de 7,3 a 7,7 ppm.

^{13}C (em CDCl_3)

A figura 35 mostra o espectro de RMN ^{13}C do complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$ em CDCl_3 . Como pode ser observado, existem mais sinais do que o esperado para o produto obtido. Isso ocorre, provavelmente, por causa de polimerização do complexo. A região ampliada no espectro refere-se às carbonilas.

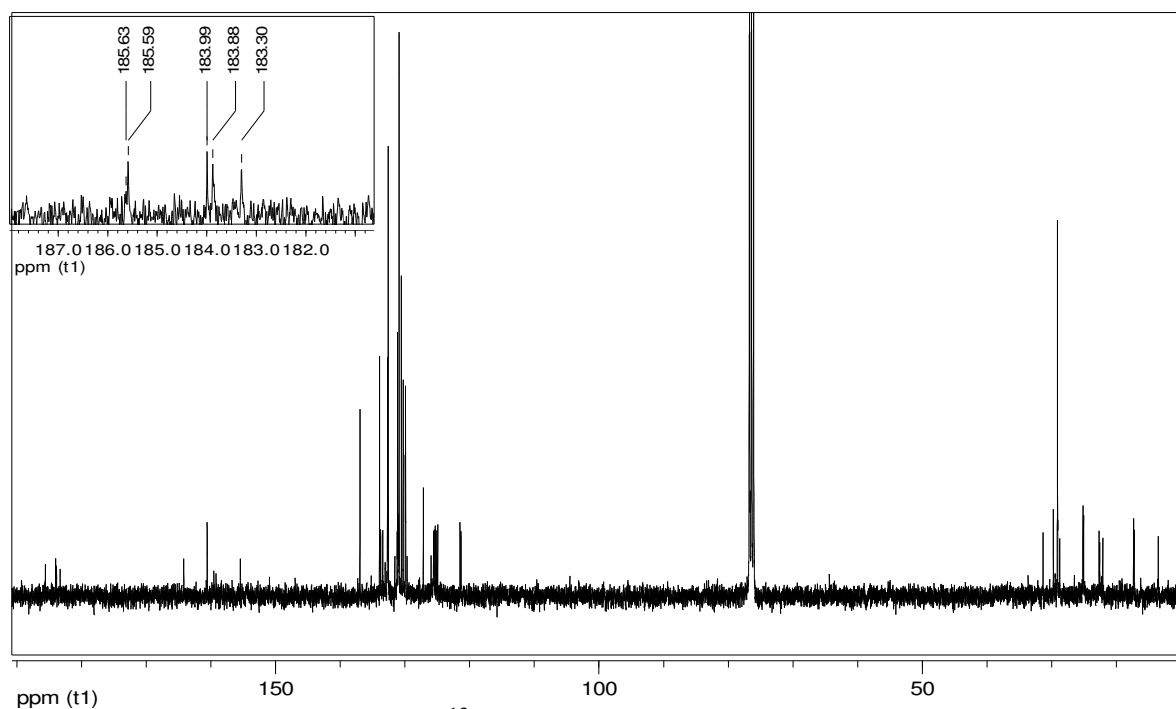


Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C do complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, em CDCl_3

HMQC (em CDCl_3)

Na Figura 36 encontra-se o espectro de HMQC do complexo obtido em CDCl_3 . Por esta figura, verifica-se que existe correspondência entre os sinais de C e H que apareceram nos espectros de ^1H e ^{13}C além dos sinais já previstos. O espectro foi separado em duas regiões para melhor visualização dos sinais.

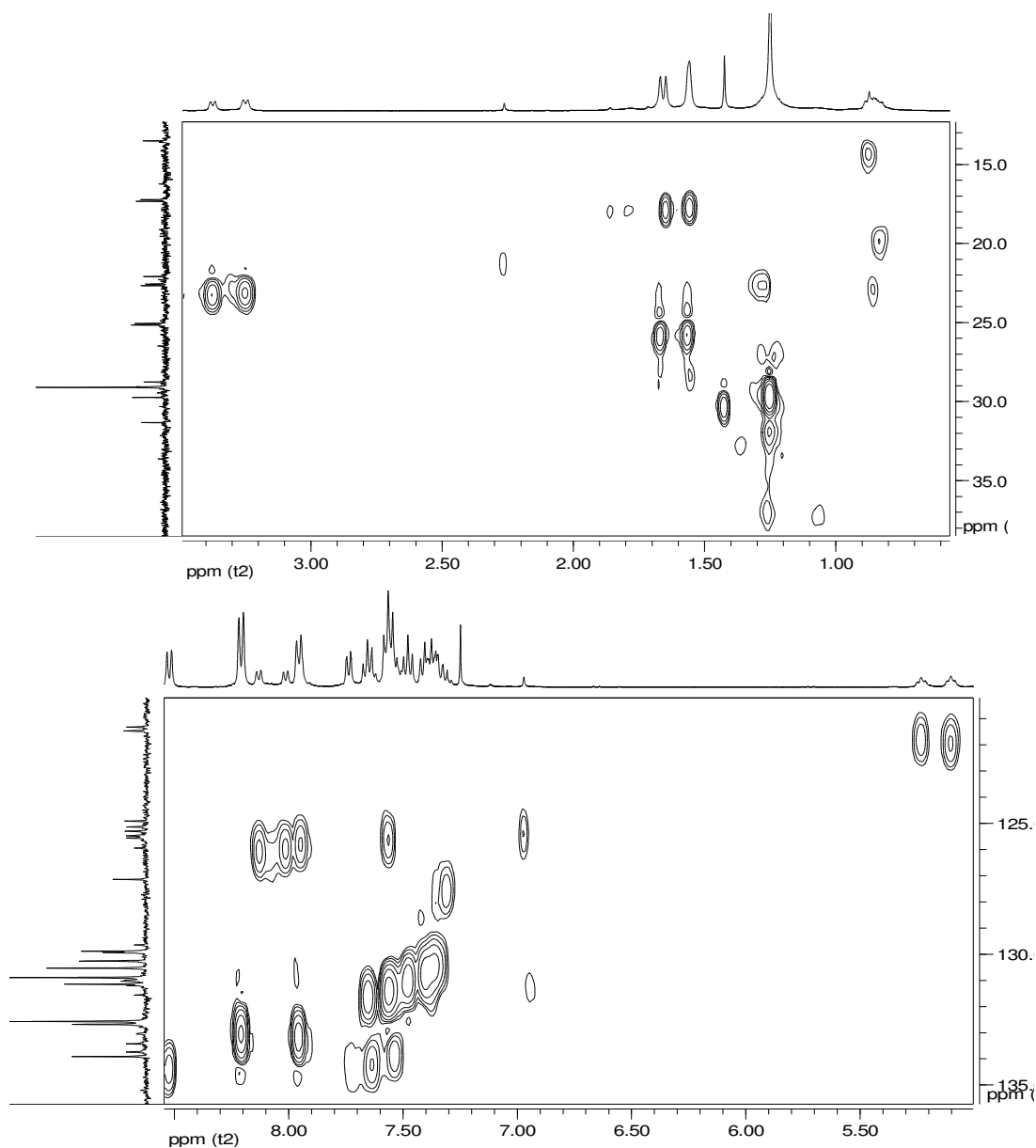


Figura 36: Espectro de HMQC do composto $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, em CDCl_3 . Região de campo alto, em cima, e região de campo baixo, embaixo.

b. Espectrometria de Massas

O modo positivo foi o mais adequado para a análise do complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, uma vez que permitiu a visualização do pico m/z 680, que pode ser atribuído ao íon $\text{LpOPh}_3\text{Bi}^+$. Com a fragmentação deste pico, visualizou-se facilmente o pico relativo ao ligante, pico em m/z 241, confirmando sua presença na molécula do complexo. A figura 37 mostra o espectro de massas, no modo positivo, obtido em acetonitrila, para $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$.

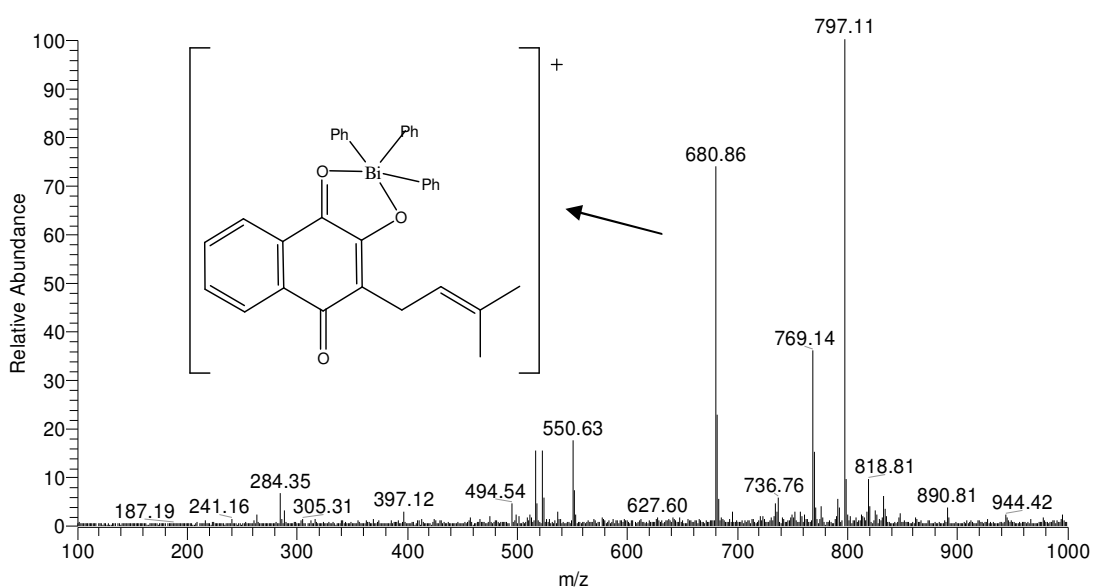
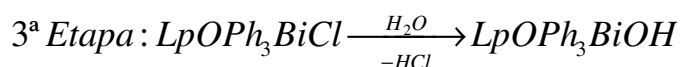
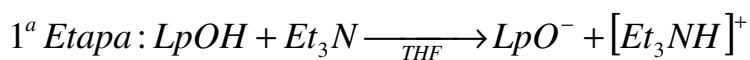


Figura 37: Espectro de massa ESI(+), em acetonitrila, do complexo $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$, mostrando o íon $[\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{Bi}]^+$, de $\text{MM} = 681,56 \text{ g/mol}$.

c. Estrutura proposta para o complexo

A síntese de $LpOPh_3BiOH$ pode ser resumida pelas seguintes equações de reação:



Na primeira etapa, a trietilamina abstrai o próton hidroxílico do lapachol; a solução de lapachol, inicialmente de coloração amarela, adquire coloração vermelho intensa. Na segunda etapa, quando se adiciona a espécie Ph_3BiCl_2 , a solução lentamente torna-se menos avermelhada, indicando a complexação do lapachol ao bismuto. A terceira etapa pode ser vista como a hidrólise do bismuto, com a liberação do íon cloreto.

O rendimento da síntese foi de 79%. O complexo possui fórmula mínima $C_{33}H_{28}O_4Bi$ e massa molar de 698,56 g/mol. Análise elementar: calculado %C 56,73, %H 4,18, %Bi 29,98; encontrado %C 58,37, %H 4,38, %Bi 27,31. Condutividade em DMSO: $3,47 \text{ S} \times \text{cm}^2 \times \text{mol}^{-1}$

Logo, a estrutura proposta para este complexo é:

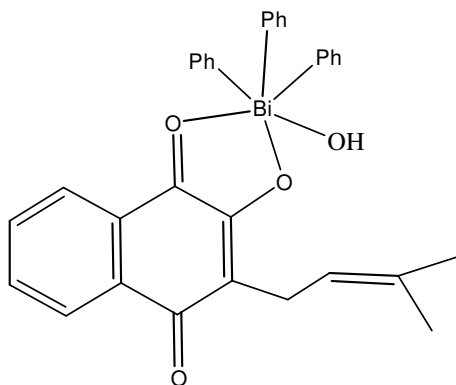


Figura 38: Estrutura proposta para o complexo $LpOPh_3BiOH$.

A interpretação dos espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C é difícil, pois os sinais de hidrogênio e de carbono do anel benzênico do lapachol e dos Ph_3MCl_n ($n=1$ ou 2) situam-se numa mesma região, havendo, algumas vezes, sobreposição de sinais. Portanto, as técnicas HMQC e HMBC foram imprescindíveis para a caracterização dos complexos.

A fim de se comparar os complexos pelo deslocamento químico de RMN ^{13}C , agrupou-se os dados em duas tabelas, uma com os dados obtidos em DMSO, Tabela 10, e outra com os dados obtidos em CDCl_3 , Tabela 11.

Os maiores deslocamentos observados para a carbonila C-1 e para C-2 foram em DMSO para os complexos LpOPh_3Sn (1,46 e 6,095 ppm) e $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$ (0,93 e 5,095 ppm) e em DCCl_3 para $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ (1,86 e 5,4 ppm). A carbonila em C-4 de $\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$ não pôde ser observada quando o espectro foi obtido em DMSO, enquanto em CDCl_3 visualiza-se 2 sinais próximos, que pôde-se atribuir a esse carbono. Como discutido para o complexo de Sb, pode haver dissociação parcial do complexo em clorofórmio e, para o complexo de Bi, há a possibilidade de polimerização.

Tabela 10: Dados de RMN ^{13}C dos complexos e do ligante em DMSO

Atribuição	LpOH	$(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$	LpOPh_3Sn	$\text{LpOPh}_3\text{BiOH}$
C-1	184,16	183,775	182,698	183,227
C-2	155,02	157,523	161,115	160,115
C-3	122,93	125,556	123,984	124,856
C-4	181,05	183,712	183,250	-
C-5	125,58	126,057	125,103	125,546
C-6	131,89	131,998	133,966	132,369
C-7	134,42	134,586	131,913	135,005
C-8	125,65	128,918	125,103	126,003
C-9	129,91	132,969	129,843	130,874
C-10	131,9	129,543	132,529	132,699
C-11	22,01	22,557	22,415	22,548
C-12	120,66	121,044	122,343	121,779
C-13	133,07	133,314	130,481	133,689
C-14	25,73	25,416	25,345	25,324
C-15	17,71	17,713	17,589	17,634

Tabela 11: Dados de RMN ^{13}C dos complexos e do ligante em CDCl_3

Atribuição	LpOH	(LpOPh ₃ Sb) ₂ O	LpOPh ₃ Sn	LpOPh ₃ BiOH
C-1	184,500	182,664	184,672	183,308
C-2	152,700	158,107	156,528	156,046
C-3	123,500	126,046	126,006	122,075
C-4	181,700	184,921	185,076	185,530
C-5	126,000	126,132	126,342	125,743
C-6	132,800	134,320	135,050	131,503
C-7	134,800	133,395	132,802	134,032
C-8	126,700	126,364	126,491	125,907
C-9	129,400	131,962	130,503	130,255
C-10	132,900	133,356	133,524	133,654
C-11	22,600	23,173	23,330	23,1799
C-12	119,600	121,308	121,006	121,927
C-13	133,800	132,848	132,125	133,18
C-14	25,700	25,635	25,771	25,670
C-15	17,800	17,715	18,080	17,838

VI. Estudo da citotoxicidade dos complexos

Os valores de CI_{50} dos complexos sintetizados, do lapachol e dos sais de partida estão mostrados na Tabela 12. Todos os compostos se mostraram capazes de inibir o crescimento das células cancerosas da linhagem K562. A atividade dos complexos cresce na ordem: $(LpOPh_3Sb)_2O < LpOPh_3BiOH < LpOPh_3Sn$.

Tabela 12: Valores da concentração inibitória de 50% do crescimento celular, a CI_{50} .

Composto	CI_{50} (μM)
LpOH	9,19
Ph_3SnCl	0,20
Ph_3BiCl_2	> 10
Ph_3SbCl_2	17,62
$LpOPh_3Sn$	0,17
$LpOPh_3BiOH$	3,90
$(LpOPh_3Sb)_2O$	18,22

Pela Tabela 12, constata-se que a concentração de $LpOPh_3BiOH$ necessária para inibir em 50% o crescimento das células é cerca de 2,4 vezes menor que a concentração de LpOH necessária para observar-se o mesmo efeito. Pelos dados obtidos nos testes com esses compostos, pôde-se montar gráficos com curvas dose-resposta para o ligante lapachol e para o composto. As Figuras 39 e 40 mostram essas curvas. Pelos gráficos, verifica-se que a inibição do crescimento celular é dependente da concentração do composto adicionado, em ambos os casos. Também se observa que, em 10 μM , o composto $LpOPh_3BiOH$ (Figura 40) inibe o crescimento das células em quase 100%, já o LpOH (Figura 39) inibe pouco mais de 50%. O sal Ph_3BiCl_2 , na concentração de 10 μM , inibe apenas 6% do crescimento celular, o que mostra que ele é bem menos ativo que o complexo formado e que o ligante.

A Figura 41 mostra a curva dose-resposta para o complexo $LpOPh_3Sn$ e para o sal de partida Ph_3SnCl . O composto $LpOPh_3Sn$ é o mais ativo da série, porém esta atividade não é significativamente diferente da do sal metálico de partida, o Ph_3SnCl . Este fato não significa necessariamente que o composto não seja promissor como antitumoral, pois ele pode ser menos tóxico para células normais do que o sal metálico de partida. Como a atividade deste composto é relativamente alta, estudos complementares sobre a toxicidade do composto estão previstos. O complexo de antimônio também apresentou atividade semelhante à apresentada

pelo cloreto de trifetil antimônio, mas o complexo de antimônio é menos eficaz do que o ligante livre. Os dados determinados no teste biológico para esses dois compostos foram utilizados para se obter a curva dose-resposta, visualizada na figura 42.

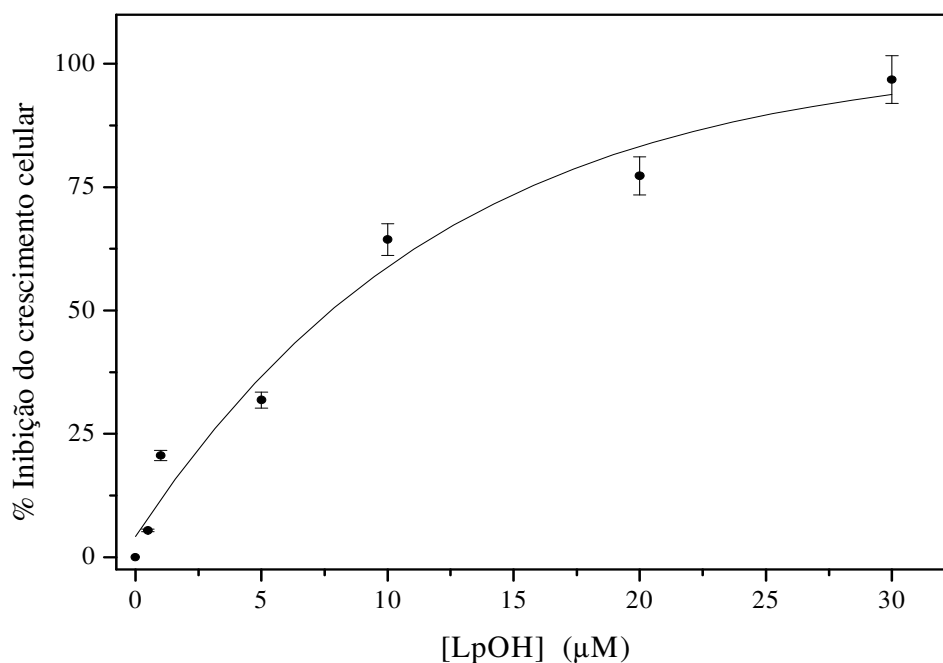


Figura 39: Curva dose-resposta para o teste de citotoxicidade do lapachol

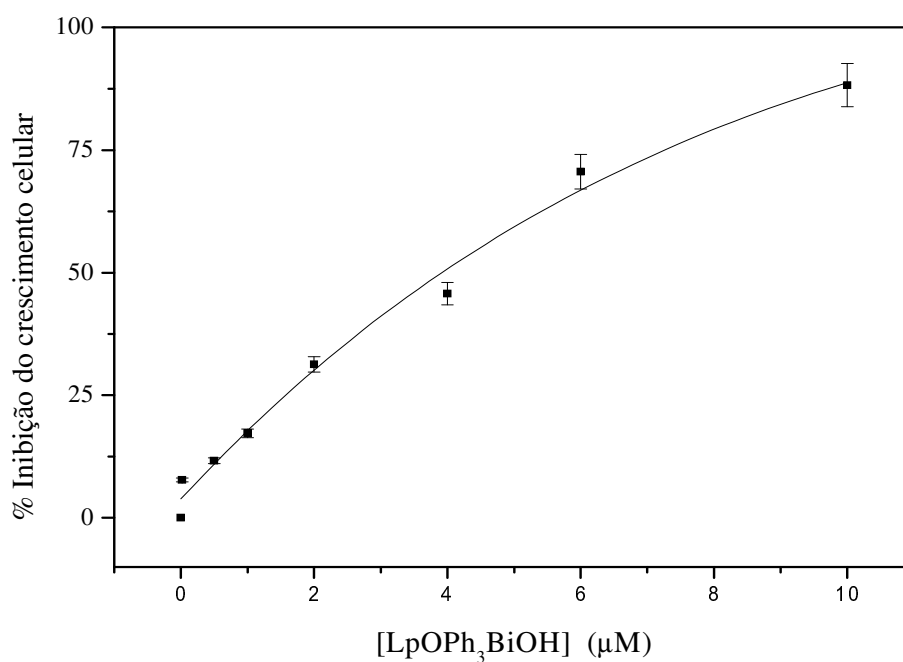


Figura 40: Curva dose-resposta para o teste de citotoxicidade do LpOPh₃BiOH

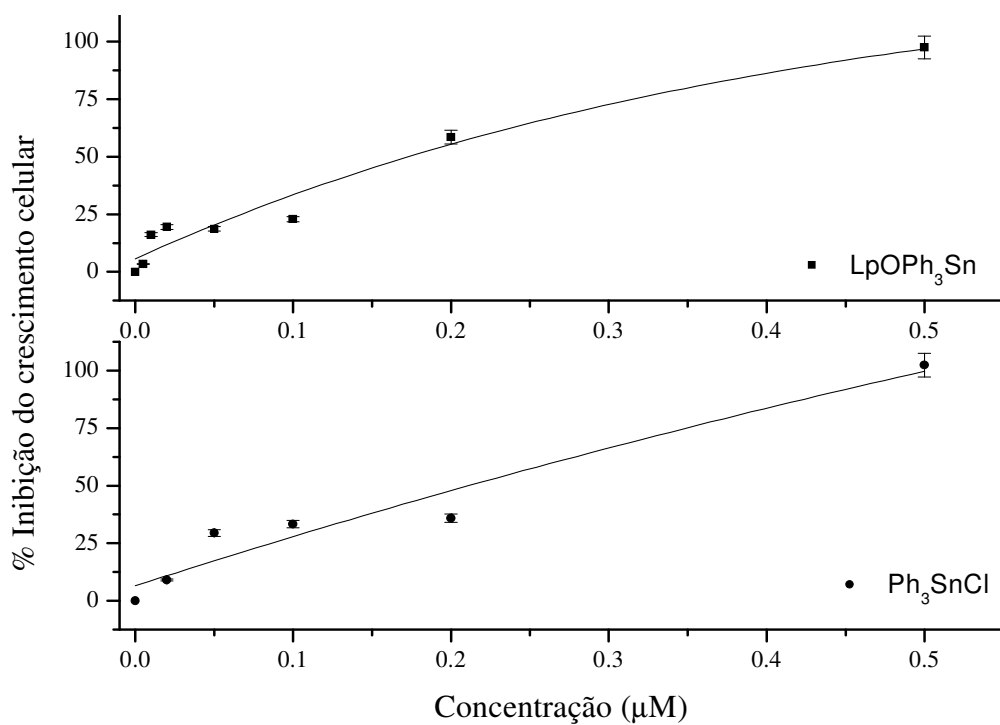


Figura 41: Curva dose-resposta para o teste de citotoxicidade dos compostos LpOPh₃Sn, em cima, e Ph₃SnCl, embaixo.

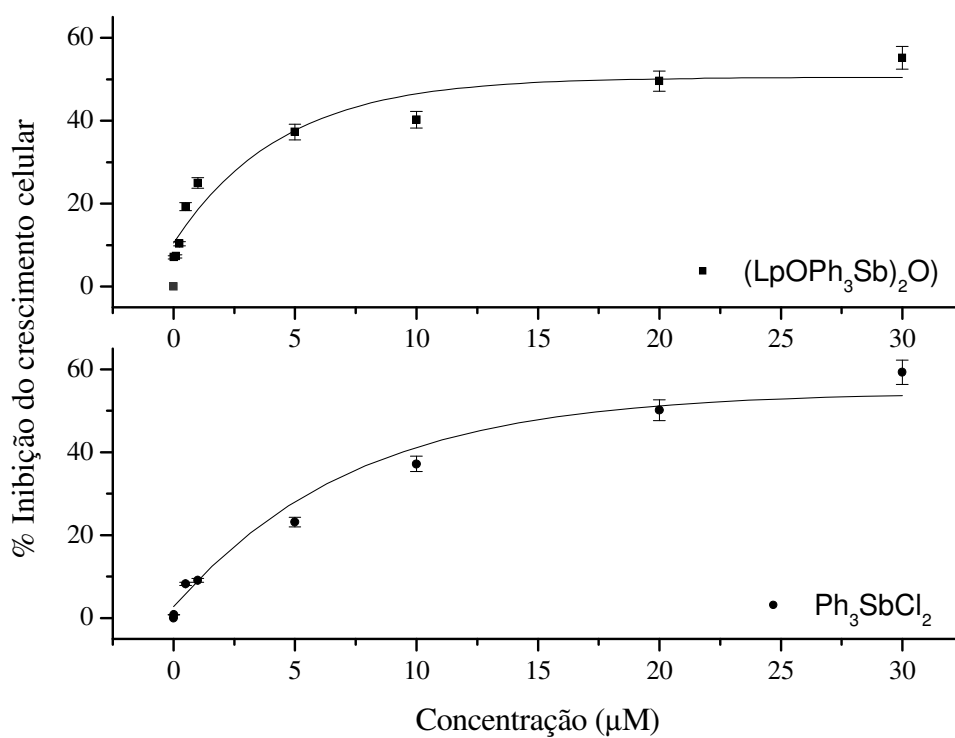


Figura 42: Curva dose-resposta para o teste de citotoxicidade dos compostos (LpOPh₃Sb)₂O, em cima, e Ph₃SbCl₂, embaixo.

Conclusão

Este trabalho descreveu a síntese e caracterização de três novos compostos de coordenação contendo lapachol como ligante. Os metais utilizados foram antimônio (V), bismuto (V) e estanho (IV).

Análises espectrométricas e espectroscópicas indicaram que a complexação ocorre pelos átomos de oxigênio do ligante através da formação de um quelato, e que o estanho passaria de uma estrutura tetracoordenada a uma estrutura pentacoordenada; Sb e Bi passariam da estrutura pentacoordenada a hexacoordenada. Nos três casos, houve perda dos íons cloretos pelos metais. A interação do lapachol com metais causa algumas mudanças em suas propriedades; essas mudanças foram evidenciadas pelas espectroscopias de UV-Vis, IV e de RMN.

Além destas análises, foi realizado testes de solubilidade dos compostos, que se mostraram insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, inclusive em dimetilsulfóxido. Essa característica foi importante, pois o DMSO é muito usado em testes biológicos, que também constitui interesse do estudo.

Os ensaios citotóxicos foram realizados com células tumorais da linhagem K562, os quais mostraram que todos os complexos são ativos contra essa linhagem de células. A concentração dos compostos necessária para inibir o crescimento das células em 50% foi determinada e comparada com a do lapachol. Um resultado muito importante é que o complexo $LpOPh_3BiOH$ apresentou um aumento da atividade em relação ao lapachol: ele é 2,4 vezes mais ativo que o ligante livre. O sal de partida, cloreto de trifetil bismuto, não exibe nenhum efeito sobre o crescimento das células tumorais na faixa de concentração estudada.

A pesquisa na área de complexação de metais a ligantes biologicamente ativos como o lapachol é promissora, como mostrado neste estudo. Os complexos em estudo podem apresentar ainda outras atividades biológicas não averiguadas neste trabalho. Mas, assim como muitos complexos metálicos que exibem atividades biológicas e não se conhece o exato mecanismo de ação destes, não se sabe como os complexos sintetizados atuam no meio biológico e quais seriam suas moléculas-alvo. Seria interessante e necessário estudar os mecanismos de ação dos complexos nos organismos, para que se possam direcionar as pesquisas na busca de drogas mais seguras e eficazes.

Referências

-
- ¹ King, R. B. *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, vol. 1 e 8 John Wiley & Sons, NY, USA. 1^a edição, 1994.
- ² Bueding E, Mansour JM. *The relationship between inhibition of phosphofructokinase activity and the mode of action of trivalent organic antimonials on Schistosoma mansoni*. Br J Pharmacol Chemother. 1957; 12(2):159-65.
- ³ Demicheli, C., Figueiredo, T.L., Carvalho, S., Sinesterra, R.D., Lopes, J.C.D., Frézard, F. *Physico-chemical characterization of meglumine antimoniate*. Biometals, vol. 12, p.63-66. 1999.
- ⁴ Sun, H.; Yan, S. C.; Cheng, W. S. *Interaction of antimony tartrate with the tripeptide glutathione. Implication for its mode of action*. Eur. J. Biochem. **2000**, 267, 5450-5457
- ⁵ Demicheli, C.; Frézard, F.; Lecouvey, M.; Garnier-Suillerot, A. *Antimony(V) complex formation with adenine nucleosides in aqueous solution*. Biochimia et Biophysica Acta. **2002**. 1570, 192-198.
- ⁶ Demicheli, C.; Frézard, F.; Santos, L. S. ; Ferreira, C. S.; Bouchemal, N.; Hantz, E. ; Eberlin, M. N. *Synthesis and characterization of Sb(V)-adenosine and Sb(V)-guanosine complexes in aqueous solution*. Inorg. Chim. Acta. **2006**, 350, 159-167
- ⁷ Hansen, H. R.; Pergantis, S. A. *Mass spectrometric identification and characterization of antimony complexes with ribose-containing biomolecules and an RNA oligomer*. Anal. Bioanal. Chem. **2006**, 385, 821-833
- ⁸ Klüfers, P.; Mayer, P. *Polyol metal complexes. Part 54: Multiply deprotonated purine nucleosides as ligands in bismutates and antimonates*. Z. Anorg. Allg. Chem. **2007**, 903-907
- ⁹ Goodwin, L. C.; Page, J. E. *A study of the excretion of organic antimonials using a polarographic procedure*. Biochem. J. 37, **1943**, 198-209
- ¹⁰ Burgura, J. L.; Burguera, M.; Pena, Y. P.; Lugo, A.; Galignani, M.; Añez, N. *Selective determination of antimony (III) and antimony (V) in blood serum and urine by hydride generation and atomic absorption spectrometry*. J. Braz. Chem. Soc. 1, **1990**, 72-75

-
- ¹¹ Frézard, F.; Demicheli, C.; Ferreira, C. S.; Costa, M. A. P. Glutathione-induced conversion of pentavalent antimony to trivalent antimony in meglumine antimoniate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, **2001**, 913-916
- ¹² Lucumi, A.; Robledo, S.; Gama, Saravia, N. G. *Sensitivity of Leishmania viannia panamensis to pentavalent antimony is correlated with the formation of cleavable DNA-protein complexes.* *Antimicrob. Agents Chemother.* 42, **1998**, 1990-1995
- ¹³ Wang, Y.; Xu, Li. *pH-dependent displacement of [Bi(citrate)]⁻ with cysteine: Synthesis, spectroscopic and X-ray crystallographic characterization of Bi(cysteine)₃.* *J. Inorg. Biochem.* **2008**, 988-991. Short Communication.
- ¹⁴ Ahmad, S.; Isab, A. A.; Ali, S.; Al-Arfaj, A. R. *Perspectives in bioinorganic chemistry of some metal based therapeutic agents.* *Polyhedron*, 25, **2006**, 1633-1645
- ¹⁵ Hadjikakou, S. K.; Hadjiliadis, N. *Antiproliferative and anti-tumor activity of organotin compounds.* *Coord. Chem. Rev.* 253, **2009**, 235-249. Disponível online em www.sciencedirect.com
- ¹⁶ Hussain, H.; Krohn, K.; Ahmad, V. U.; Miana, G. A.; Green, I. R. *Lapachol: an overview.* *ARKIVOC*, **2007**, 145-171
- ¹⁷ Araújo, E.L., Alencar, J.R.B., Rolim, P.J.N. Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 12, **2002**, 57-59.
- ¹⁸ Ferreira, V.F., Silva, M.N. e Souza, M.C.B.V. *Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β-lapachona e derivados.* *Quim. Nova*, 26(3), **2003**, 407-416. Artigo de Divulgação.
- ¹⁹ Fonseca, S. G. C.; Braga, R. M. C.; Santana, D. P. *Lapachol – química, farmacologia e métodos de dosagem.* *Rev. Bras. Farm.*, 84, **2003**, 9-16
- ²⁰ De Oliveira, E.H.; Medeiros, G.A.; Peppe, C.; Brown, M.A.; Tuck, D.G. *The direct electrochemical synthesis of some metal derivatives of lapachol.* *Can. J. Chem.*, 75, **1997**, 499.

²¹ Hernández-Molina, R.; Kalinina, I.; Esarza, P.; Sokolov, M.; Gonzalez-Platas, J.; Estévez-Braun, A.; Pérez-Sacau, E. *Complexes de Co(II), Ni(II) and Cu(II) with lapachol*. Polyhedron, 26, **2007**, 4860-4864. Disponível online em www.sciencedirect.com.

²²Portugal, S.G.M., J.O.M. Herrera y I.M. Brinn, *Anomalous electronic absorption in lapachol-alcohol solutions*, Bull. Chem. Soc. Jpn., 70, **1997**, 71-2076.

²³ Farfan, R. A., Molina, J. R., Ottavianelli, E. *et al. Asignación de Bandas de Infrarrojo del Lapachol mediante Estudios Comparativos Teóricos y Experimentales. Inf. tecnol.* [online]. **2006**, vol.17, [citado 10 Dezembro 2008], p.63-66. Disponível na internet: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642006000500010&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0718-0764.

²⁴Silverstein, R. M.; Webster, F. X. *Spectrometric Identification of organic compounds*. John Wiley & Sons, EUA, 6ª edição, 1996

²⁵ Arruda, M. S. P.; Arruda, A. C.; Moreira, R. Y. O. *Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de Tectona grandis (Verbenaceae)*. Rev. Bras. Farmac. 1, **2006**, 392-396.

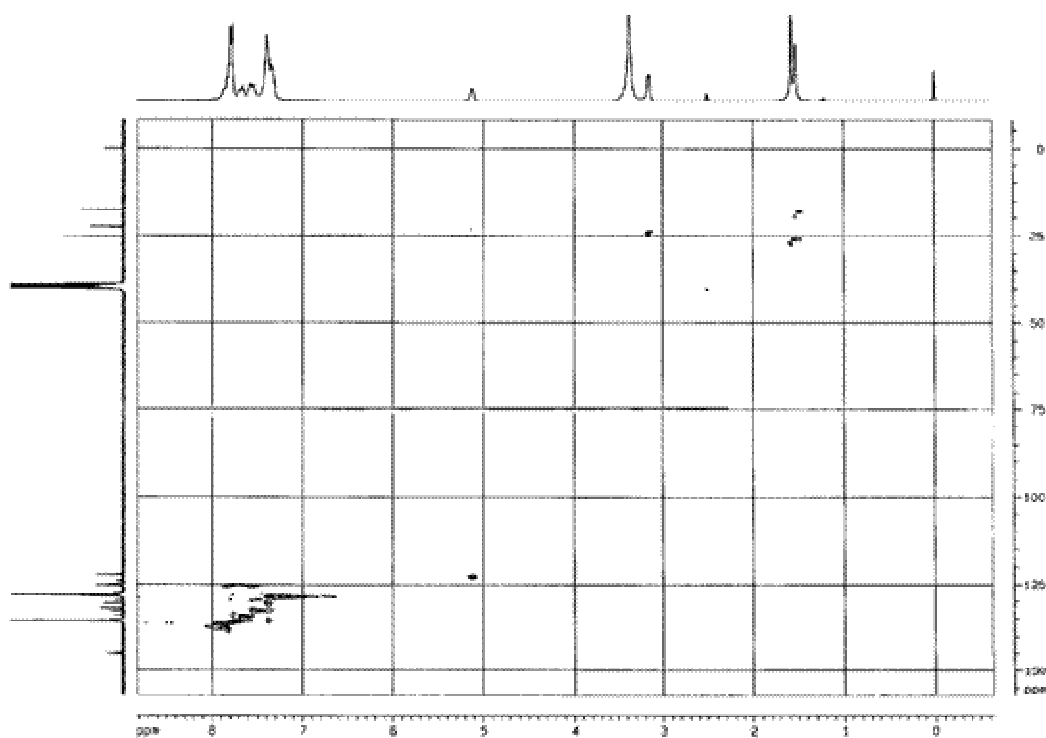
²⁶http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi, acessado em 10/12/2008

²⁷ Moraes, M. C. B.; Lago, C. L. *Espectrometria de massa com ionização por “electrospray” aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas*. Quim. Nova, 26, **2003**, 556-563

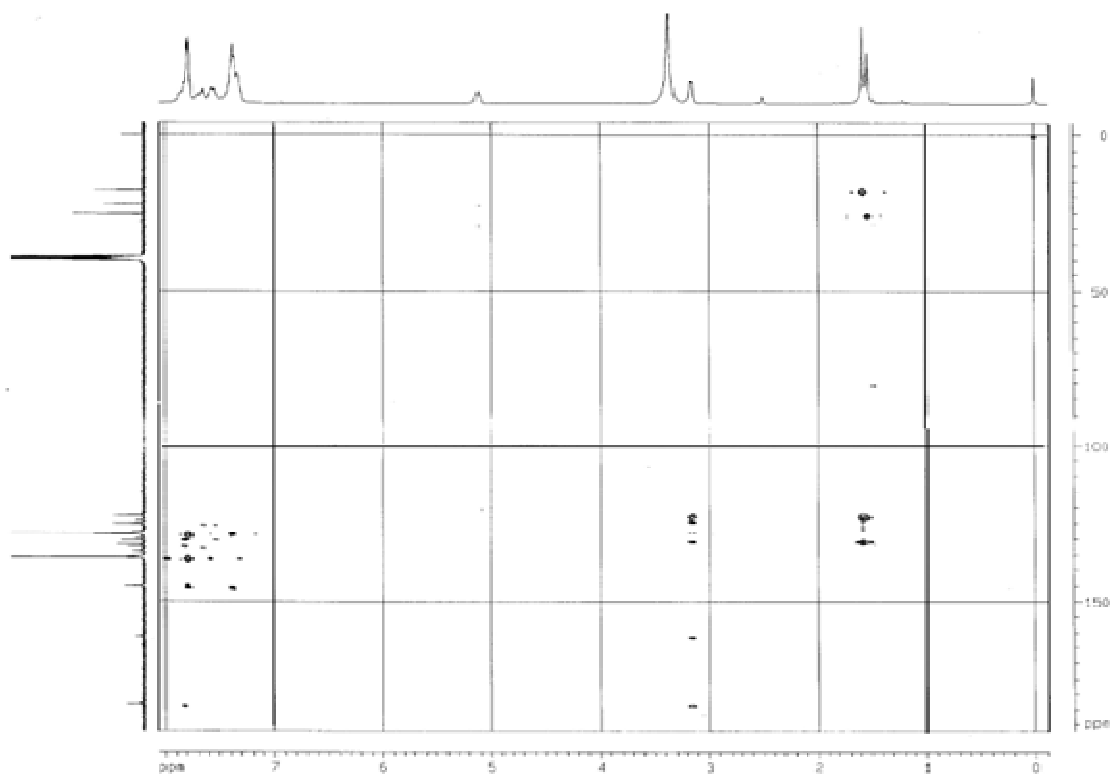
²⁸ Crotti, A. E. M.; Lopes, N. P.; Lopes, J. L. C.; Vessecchi, R. *Espectrometria de massas com ionização por “electrospray”: processos químicos envolvidos na formação de íons de substâncias orgânicas de baixo peso molecular*. Quim. Nova, 29, **2006**, 287-292

²⁹ Orians, K. J.; Thompson, J. A. J.; Ikonou, M.G.; Ross, A. R. S. *Determination of dissolved metal species by electrospray ionization mass spectrometry*. Anal. Chem. 70, **1998**, 2225-2235

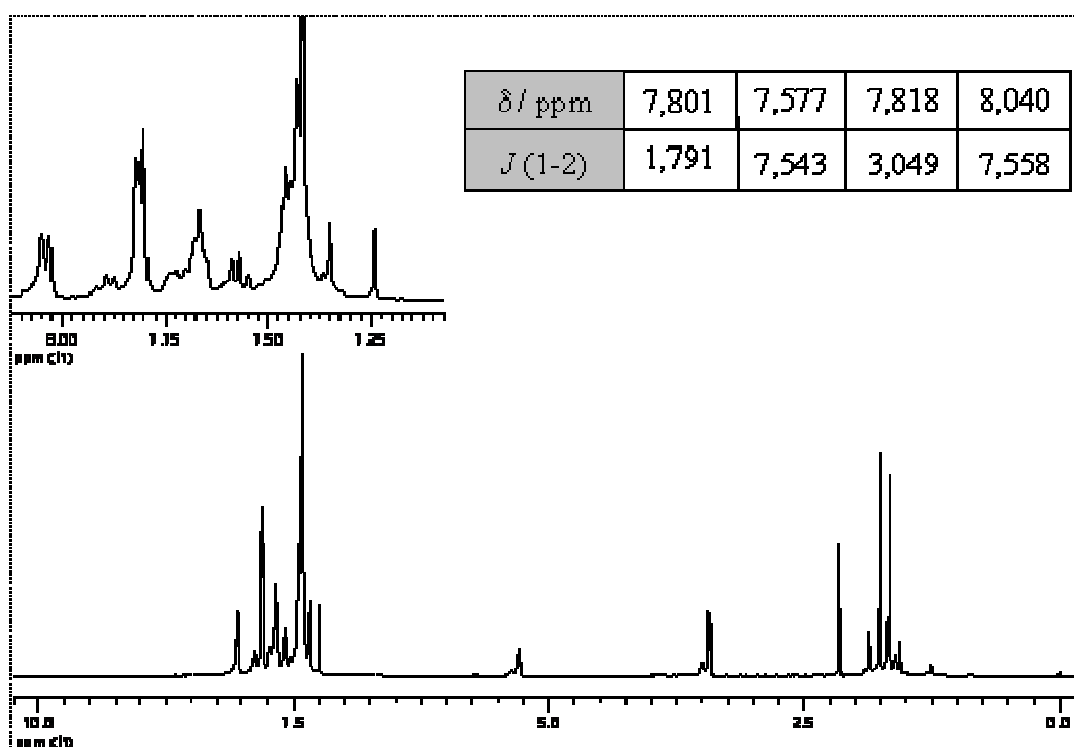
Anexos



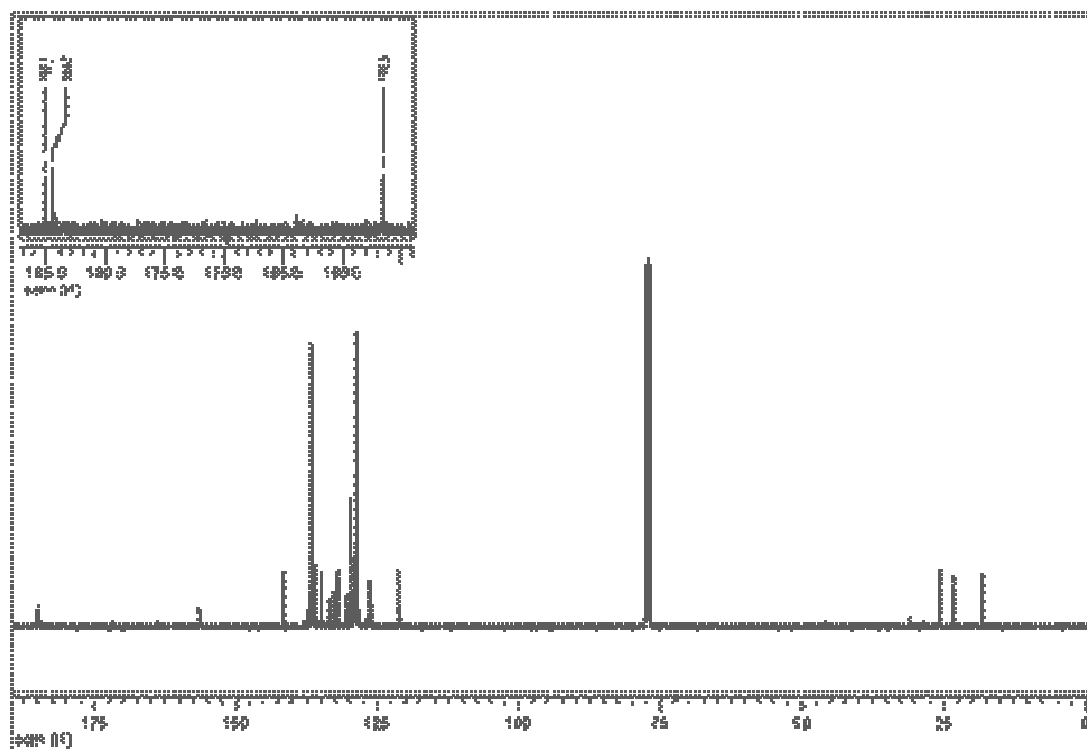
Espectro de HMQC de $LpOPh_3Sn$ em DMSO



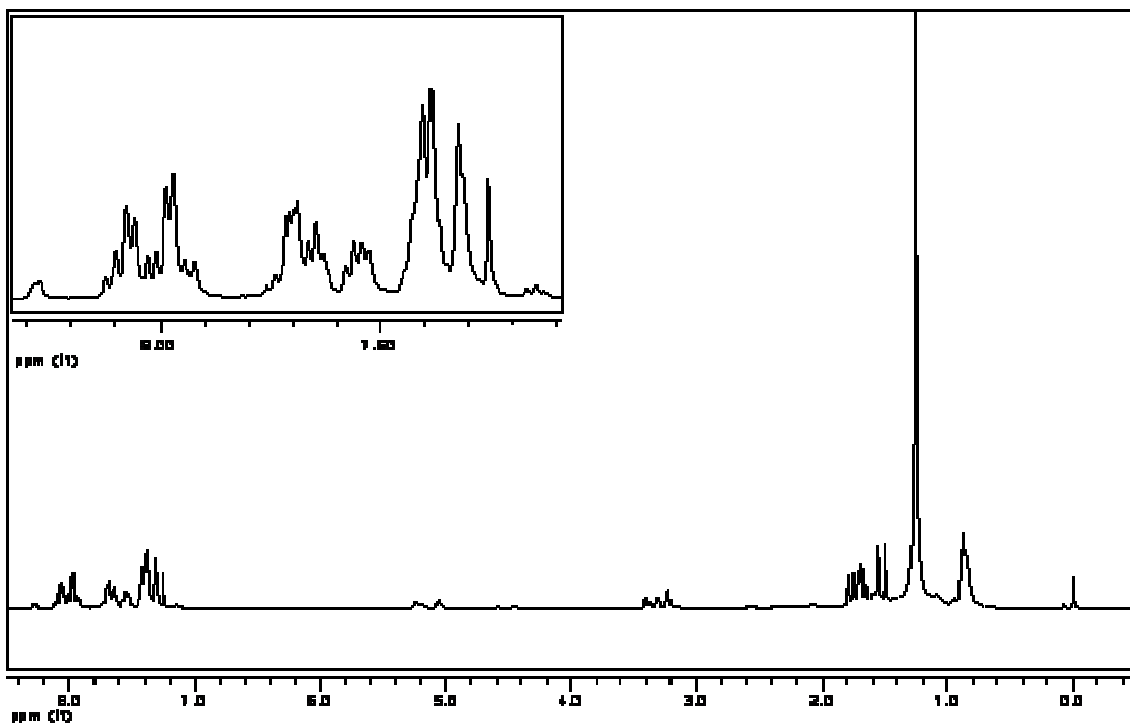
Espectro de HMBC de $LpOPh_3Sn$ em DMSO



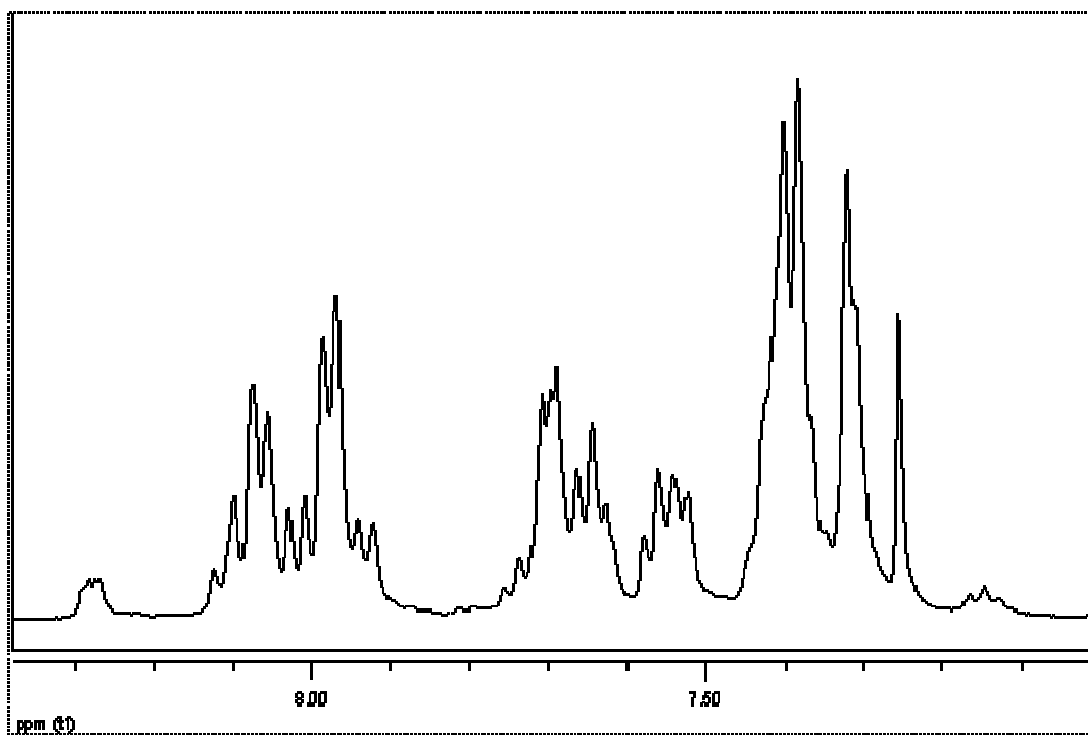
Espectro de RMN ^1H do LpOPh_3Sn em CDCl_3 .



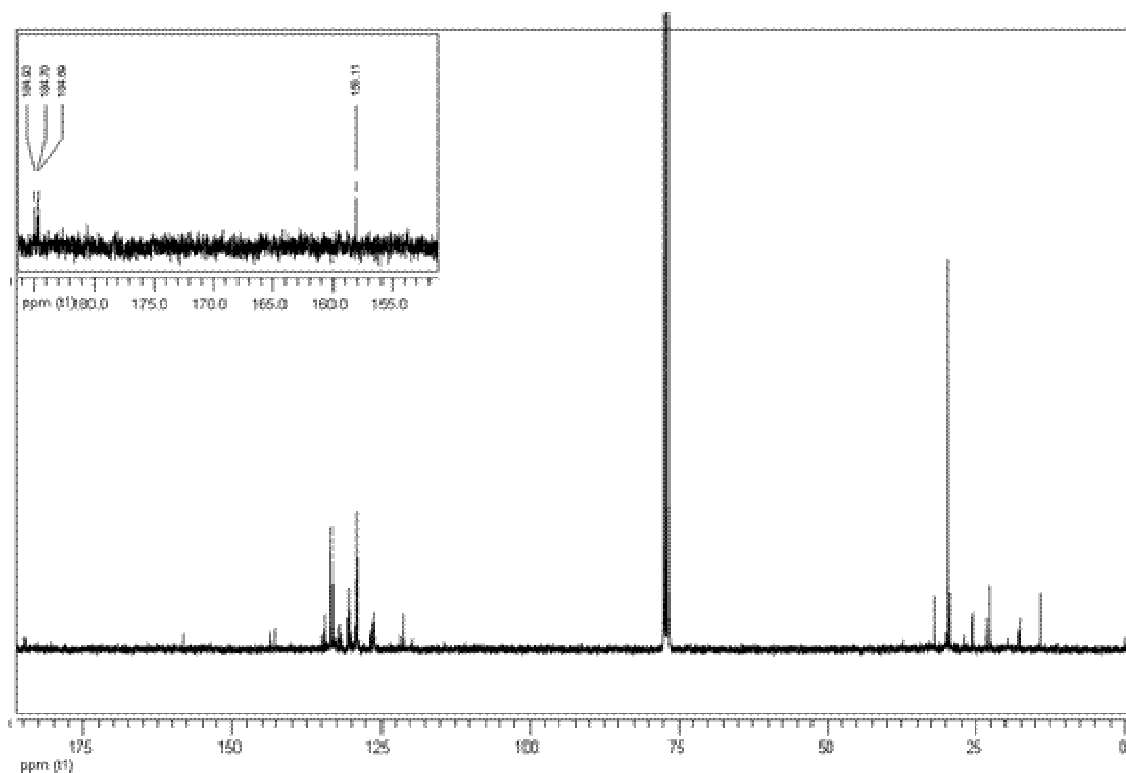
Espectro de RMN ^{13}C em CDCl_3 do composto LpOPh_3Sn



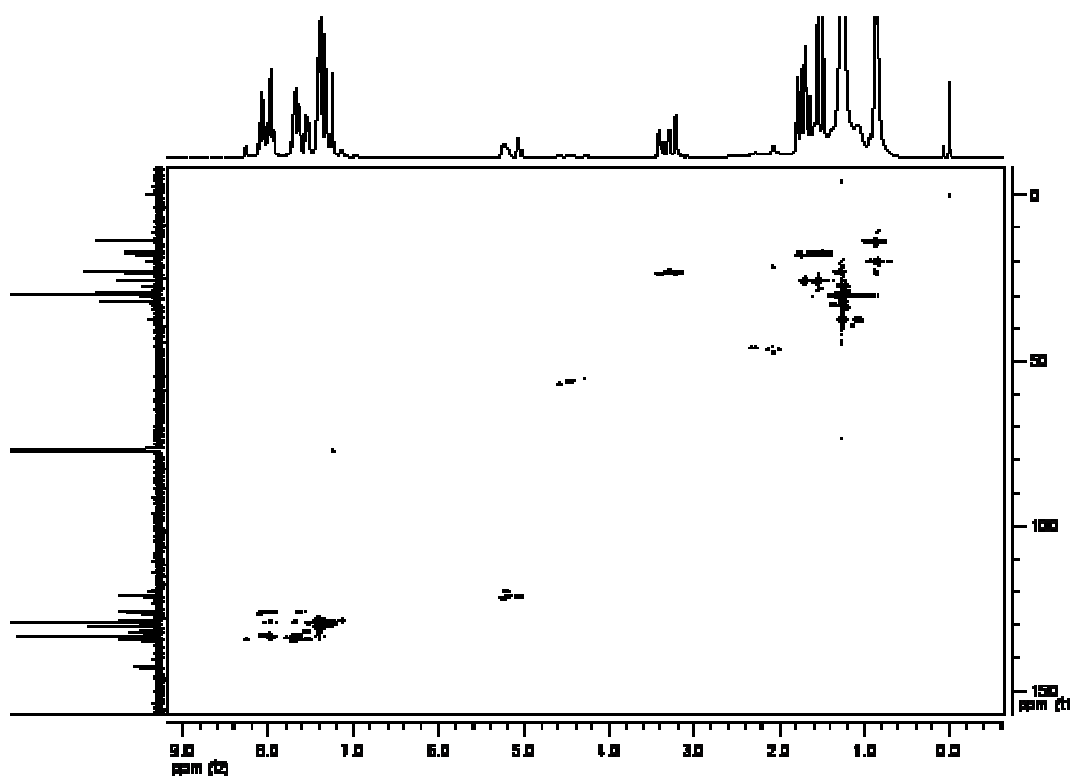
Espectro de RMN ¹H do (LpOPh₃Sb)₂O em CDCl₃



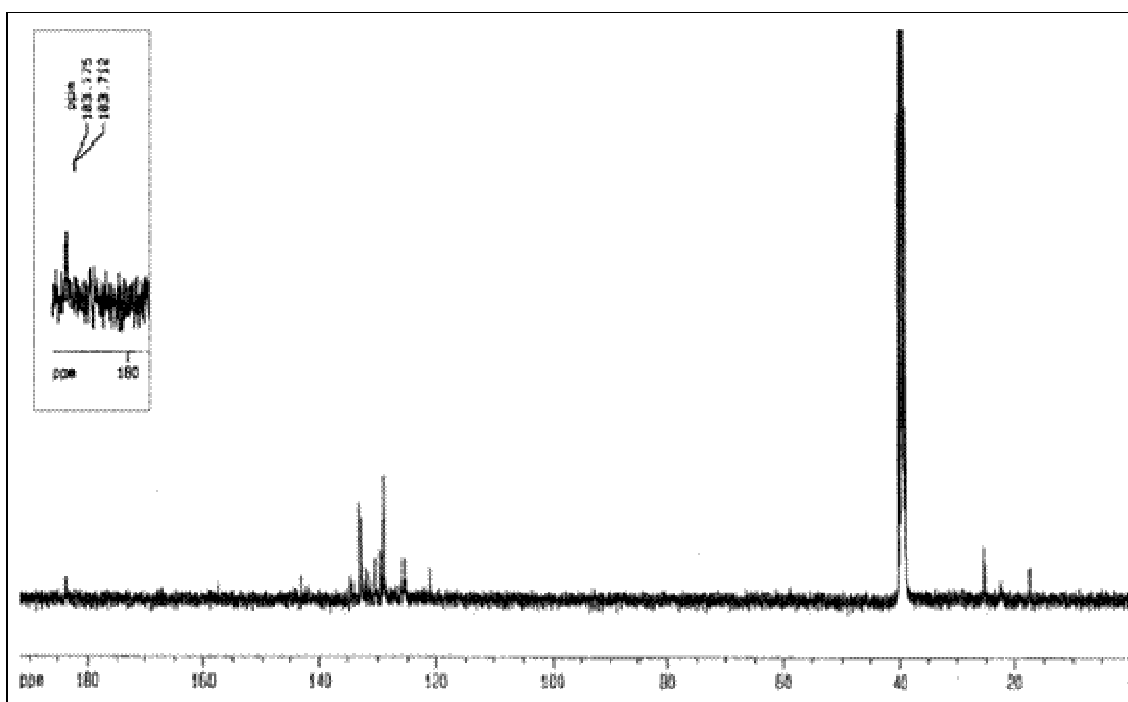
Ampliação do espectro de RMN ¹H do (LpOPh₃Sb)₂O em CDCl₃



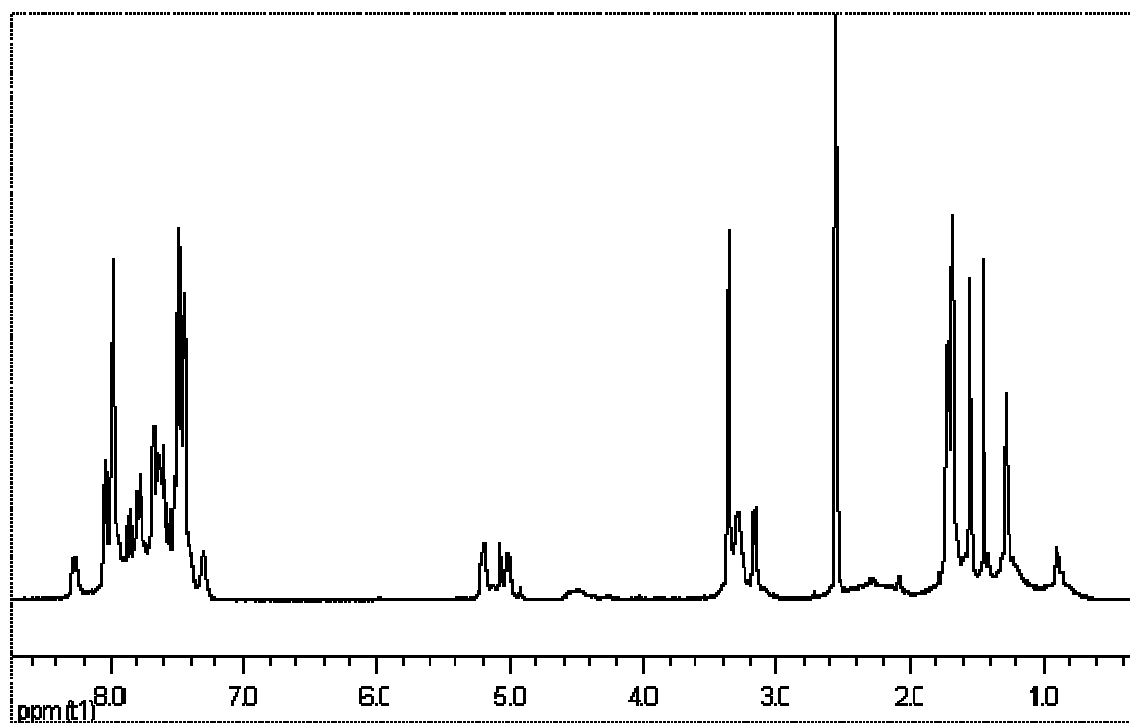
Espectro de RMN ^{13}C de $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ em CDCl_3 .



Espectro de HMQC de $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$ em CDCl_3



Espectro de RMN ^{13}C do $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, em DMSO



Espectro de RMN ^1H do $(\text{LpOPh}_3\text{Sb})_2\text{O}$, em DMSO.

M. M. Silva, E. Pereira-Maia, F. C. S. Paula, F. Frézard, C. Demicheli. Synthesis and characterization of organometallic (antimony, bismuth and tin) derivatives of lapachol. (XIV BMIC) XIV Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry and (I LABIC) I Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry, **2008**, Foz do Iguaçu. ABSTRACTS XIV BMIC I LABIC, 2008.