

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Instituto De Ciências Exatas

Departamento De Química

Victoria Carolina Romero Colmenares

**ESTUDOS DE LIGANTES DERIVADOS DE NITROBENZALDEÍDO,
NITROACETOFENONA, 1,2,4-TRIAZINA E MEMANTINA PARA A
COORDENAÇÃO DE METAIS DE IMPORTÂNCIA
FARMACOLÓGICA**

Belo Horizonte

2020

UFMG/ICEX/DQ. 1403

D. 764

Victoria Carolina Romero Colmenares

**ESTUDOS DE LIGANTES DERIVADOS DE
NITROBENZALDEÍDO, NITROACETOFENONA, 1,2,4-TRIAZINA
E MEMANTINA PARA A COORDENAÇÃO DE METAIS DE IMPORTÂNCIA
FARMACOLÓGICA**

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

Orientadora: Prof^a. Heloisa de Oliveira Beraldo.

Belo Horizonte

2020

Ficha Catalográfica

R763e Romero Colmenares, Victoria Carolina
2020 Estudos de ligantes derivados de nitrobenzaldeído,
D nitroacetofenona, 1,2,4-triazina e memantina para a
coordenação de metais de importância farmacológica
[manuscrito] / Victoria Carolina Romero Colmenares.
2020.

[xxiii], 115 f. : il.

Orientadora: Heloisa de Oliveira Beraldo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Minas Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química inorgânica - Teses. 2. Ligantes
(Bioquímica) - Teses. 3. Eletroquímica - Teses. 4.
Complexos metálicos - Teses. 5. Química farmacêutica -
Teses. 6. Agentes antineoplásicos - Teses. 7. Espectros
de infravermelho - Teses. 8. Ressonância magnética
nuclear - Teses. I. Beraldo, Heloisa de Oliveira,
Orientadora. II. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



"Estudos de Ligantes Derivados de Nitrobenzaldeído, Nitroacetofenona, 1,2,4-triazina e Memantina para a Coordenação de Metais de Importância Farmacológica"

Victoria Carolina Romero Colmenares

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Heloisa de Oliveira Beraldo - Orientadora
UFMGProfa. Isolda Maria de Castro Mendes
UFMGProfa. Dayse Carvalho da Silva Martins
UFMG

Belo Horizonte, 20 de julho de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Heloisa de Oliveira Beraldo, Presidente de comissão**, em 23/07/2020, às 17:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Dayse Carvalho da Silva Martins, Professora do Magistério Superior**, em 23/07/2020, às 19:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Isolda Maria de Castro Mendes, Professora do Magistério Superior**, em 24/07/2020, às 13:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0183057** e o código CRC **1934EFA0**.

Referência: Processo nº 23072.218883/2020-16

SEI nº 0183057

AGRADECIMENTOS

A todos os que contribuíram para realização deste trabalho, especialmente:

À minha orientadora

Professora Heloisa Beraldo pela confiança, dedicação, e suporte profissional e pessoal durante a realização de este trabalho. À Ana pela colaboração, paciência, ensinamento e amizade neste processo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Pelo apoio financeiro.

Aos professores e equipe técnica do Departamento de Química

Pelo aprendizado e ajuda ao longo de meu estagio na UFMG.

Aos pesquisadores

Profa. Renata Diniz, Dra. Jennifer Tavares Jacon Freitas, Prof. Tulio Matencio, Prof. Luiz Claudio de Almeida Barbosa, Profa. Letícia Regina de Souza Teixeira, Prof. Adão Aparecido Sabino membros do Departamento de Química (ICEX–UFMG) e aos Prof. Rafael Pinto Vieira e Prof. Mariana Torquato de Magalhães (ICB–UFMG) por a colaboração na realização deste trabalho.

Aos companheiros do laboratório 290

Andrea, Lucius, Gabriela, Graziela, Gustavo, Gabrieli, Gabriel pela ajuda, amizade, apoio e cafés durante todo este tempo.

A meus colegas ulandinos

Alix, Isabel, Jesús e Gabriela por terem me acolhido em seu lar, pela amizade, ajuda e carinho.

À república ColMeZuela e associados

Patricia, Esteban, Julian, Pilar, Marcel, Camilo, Eduard, Rafael, Ezequiel, Fanny, Xitlali, Aline, Ana, Nathany, Laura, Victor, Guillermo e Jorge por ser minha família em Brasil e amenizaram a saudade de casa. Obrigada por concluir comigo esta etapa apesar da distância.

E à minha família

Libia, Ronald, Maria, Lis e Betania por confiar em mim quando nem eu conseguia. Por ser minha origem. A raiz da árvore de minha vida.

RESUMO

Foram obtidos os complexos $[\text{Bi}(\text{L})_2\text{Cl}]$ (**1**, **4**) e os complexos $[\text{Bi}(\text{HL})_2\text{Cl}_3]$ (**2**, **3**) com *meta*-nitrobenzaldeídotiossemicarbazona (**HL1**), *para*-nitrobenzaldeído-tiossemicarbazona (**HL2**), *meta*-nitroacetofenonattiossemicarbazona (**HL3**) e *para*-nitroacetofenonattiossemicarbazona (**HL4**), os quais foram caracterizados por meio de análise elementar e de seus espectros de infravermelho e de RMN de ^1H , ^{13}C , Dept, COSY e HMQC. Foram realizados estudos de eletroquímica visando a identificação de processos relacionados ao grupo farmacológico nitro e ao metal.

Os compostos foram inativos contra células de carcinoma colorretal humano (HT-29) e células saudáveis (HEK-293), tanto em condições de normóxia quanto de hipóxia. Foram também inativos contra bactérias aeróbicas *Gram* positivas e *Gram* negativas e contra fungos. No entanto, uma vez que o potencial de redução do grupo nitro encontra-se em faixas semelhantes às de pró-fármacos biorredutíveis, esses compostos deveriam ser testados em cepas de bactérias anaeróbicas. Uma vez que demonstrou-se que ligantes análogos e seus complexos metálicos apresentam significativa atividade antitripanossoma, seria importante testar os compostos como agentes antichagásicos.

Foram também sintetizados ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**) com o objetivo de funcionalizar a memantina com um sistema quelante pois ela é um dos medicamentos principais no tratamento da Doença de Alzheimer. Esses ligantes foram caracterizados por meio de análise elementar e de seus espectros de infravermelho e de RMN de ^1H e ^{13}C . A estrutura cristalina do composto **L6** foi determinada. A capacidade de resistir em um meio biológico foi estudada por meio dos espectros eletrônicos registrados com o tempo em solução de DMSO e DMSO-tampão pH 7,2 e 1,2. **HL5** mostrou-se estável em DMSO, mas nas soluções tampão sofreu hidrólise, tendo sido descartado como agente quelante. **L6** teve um comportamento estável tanto em DMSO como nas soluções tampão, sugerindo que **L6** seria um possível agente quelante para complexar metais envolvidos em doenças neurodegenerativas.

O ligante 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**) foi sintetizado para complexar Pd(II) e Pt(II), na tentativa de se obter novos candidatos a fármacos antineoplásicos. Foram obtidos os complexos $[\text{Pd}(\text{L7})\text{Cl}_2]$ (**5**) e $[\text{Pt}(\text{L7})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{KCl}$ (**6**), os quais foram caracterizados por meio de microanálises e por meio de seus espectros de infravermelho e de RMN de ^1H , ^{13}C e de ^{195}Pt (**6**). **5** e **6** reagem com o DMSO, com a possível substituição de ligantes por moléculas do solvente, seguida de desmetalização. Os espectros de (**6**) em DMF não

variam com o tempo, mas quando se faz o experimento em DMF/tampão, o composto precipita, não sendo possível estudar suas bioatividades.

Palavras-chave: ligantes; nitrobenzaldeído tiossemicarbazona; nitroacetofenona tiossemicarbazona; 1,2,4-triazina; memantina; metais; importância farmacológica

ABSTRACT

Complexes $[\text{Bi}(\text{L})_2\text{Cl}]$ (**1,4**) and $[\text{Bi}(\text{HL})_2\text{Cl}_3]$ (**2,3**) with *meta*-nitrobenzaldehydethiosemicarbazone (**HL1**), *para*-nitrobenzaldehydethiosemicarbazone (**HL2**), *meta*-nitroacetophenonethiosemicarbazone (**HL3**) and *para*-nitroacetophenonethiosemicarbazone (**HL4**) were obtained and characterized by means of microanalyses and their infrared and ^1H , ^{13}C , Dept, COSY and HMQC NMR spectra. Electrochemistry studies on the reduction of the nitro pharmacophoric group were performed.

The compounds proved to be inactive against HT-29 colorectal cancer cells and against HEK-293 non-malignant cells in normoxia as well as in hypoxia conditions. They were also inactive against aerobic *Gram* positive and *Gram* negative bacteria, and against fungi. However, since their nitro reduction potentials are comparable to those of bio-reducible prodrugs, they should be tested against anaerobic bacterial strains and against trypanosoma, taking into consideration that similar nitro thiosemicarbazones and their metal complexes exhibited significant antitrypanosomal activity.

(3,5-dimethyl-1-iminoadamantin)methylphenol (**HL5**) and N-(2-pyridinylmethylene)-3,5-dimethyl-1-amino-adamantin (**L6**) were synthesized in order to functionalize memantine with a chelating group. The compounds were characterized by means of microanalyses and their infrared and NMR spectra. The crystal structure of **L6** was determined. The electronic spectra of **HL5** and **L6** were recorded as a function of time in DMSO and DMSO-buffer pH 7.2 and pH 1.2. **HL5** proved to be stable in DMSO but hydrolyzed in aqueous media in both pH values. **L6** revealed to be stable in DMSO and in DMSO-buffer at pH 7.2 and pH 1.2, indicating that this compound might be an interesting chelating agent to coordinate metals involved in neurodegenerative diseases.

3,3'-bis(propylsulfanyl)-5,5'-bi-1,2,4-triazine (**L7**) was synthesized as a ligand to coordinate Pd(II) and Pt(II), aiming to obtain novel antineoplastic drug candidates. $[\text{Pd}(\text{L7})\text{Cl}_2]$ (**5**) and $[\text{Pt}(\text{L7})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{KCl}$ (**6**) were obtained and characterized by means of microanalyses and their infrared and ^1H , ^{13}C and ^{195}Pt (**6**) NMR spectra. Electronic spectra showed that **5** and **6** react with DMSO, with possible replacement of the ligands by the solvent followed by decomplexation. The electronic spectra of **6** do not change in DMF but precipitation occurs in DMF-buffer precluding the evaluation of its bioactivities.

Keywords: ligands; nitrobenzaldehyde thiosemicarbazone; nitroacetophenone thiosemicarbazone; 1,2,4-triazine; memantine; metals; pharmacological relevance

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – cis-(diaminodicloro)platina(II).....	24
Figura 1.2 – Diagrama de Bertrand.....	25
Figura 1.3 – Carboplatina [cis-diamino-(1,1-ciclobutanocarboxilato)platina(II)] (esquerda) e Oxaliplatina [1,2-ciclohexanodiamino-(oxalato)platina(II)] (direita)..	26
Figura 1.4 – Subsalicilato de bismuto(III) (esquerda) e citrato de bismuto(III) (direita).....	27
Figura 1.5 – Síntese de uma base de Schiff.....	28
Figura 1.6 – (a) Equilíbrio tautomérico entre a forma tiona-tiol, (b) isômeros <i>E</i> e <i>Z</i>	29
Figura 1.7 – Tiacetazona (acima) e Perclozonia [®] (abaixo).....	29
Figura 1.8 – Triapina.....	30
Figura 1.9 – Acetilpiridina <i>N</i> (4)-fenil tiossemicarbazonas onde R = Cl ou F.....	31
Figura 1.10 – Nitrofurazon (acima), Nifurtimox (centro) e Benznidazol (embaixo).....	32
Figura 1.11 – Espécies geradas no processo redutivo do grupo –NO ₂	32
Figura 1.12 – Secnidazol.....	33
Figura 1.13 – Tubercidina (a), Roscovitina (b) e CH5138303 (c).....	35
Figura 1.14 – 3,3'-bis(propylsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.....	35
Figura 1.15 – Estrutura da 1-Amino-3,5-dimetiladamantina.....	36
Figura 2.1 – Esquema de síntese das tiossemicarbazonas HL1 – HL4	40
Figura 2.2 – Esquema de síntese HL5	41
Figura 2.3 – Esquema de síntese de L6	42
Figura 2.4 – Esquema de sínteses dos compostos: 3-(alquilsulfanil)-1,2,4-triazina (a), e 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (L7) (b).....	43
Figura 2.5 – Esquema de síntese dos complexos de bismuto(III).....	43
Figura 2.6 – Esquema de síntese do complexo de paládio(II) (5).....	44
Figura 2.7 – Esquema de síntese do complexo de platina(II) (6).....	45
Figura 3.1 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante HL3 e do complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃].....	53

Figura 3.2 – Formas tautoméricas tiona-tiol do ligante e as estruturas de ressonância quando o grupo -NO ₂ esta em posição <i>para-</i> (encima) ou <i>meta-</i> (embaixo).....	56
Figura 3.3 – Visão espacial do complexo [Bi(<i>p</i> -L4) ₂ Cl] (4).....	57
Figura 3.4 – Visão espacial do complexo [Bi(<i>m</i> -HL3) ₂ Cl ₃] (3).....	57
Figura 3.5 – Espectros de RMN de ¹ H (400 MHz) do ligante HL3 e de seu complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) em DMSO- <i>d</i> ₆	58
Figura 3.6 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) (400 MHz), em DMSO- <i>d</i> ₆	59
Figura 3.7 – Espectros de RMN de ¹³ C (400 MHz) de HL3 e de seu complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) em DMSO- <i>d</i> ₆	61
Figura 3.8 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) (400Hz), em DMSO- <i>d</i> ₆	62
Figura 3.9 – (a) Espectros de RMN de ¹ H (400 MHz) do ligante HL1 e de seu complexo [Bi(L1) ₂ Cl] (1) em DMF- <i>d</i> ₇	63
Figura 3.10 – (b) Espectros de RMN de ¹ H (400 MHz) do ligante HL1 e de seu complexo [Bi(L1) ₂ Cl] (1) em DMF- <i>d</i> ₇	63
Figura 3.11 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) em solução 5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ , DMSO.....	64
Figura 3.12 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) em solução 5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.....	64
Figura 3.13 - Voltamograma do complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) 1 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ em meio aprótico (TBAP 0,1 mol.L ⁻¹ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl ⁻ (3,0 mol.L ⁻¹); taxa de varredura de 250 mV.s ⁻¹ . As regiões reduzidas mostram uma varredura do ligante HL3 (em azul) e do sal de partida BiCl ₃ (em vermelho).....	65
Figura 3.14 – Voltamograma de pulso do complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) 1 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ em meio aprótico (TBAP 0,1 mol.L ⁻¹ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl ⁻ (3,0 mol.L ⁻¹); taxa de varredura de 250 mV s ⁻¹ e 1,9 a -2,5 V.....	67
Figura 3.15 – Voltamograma de pulso do complexo [Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3) 1 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ em meio aprótico (TBAP 0,1 mol.L ⁻¹ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl ⁻ (3,0 mol.L ⁻¹); taxa de varredura de 250 mV s ⁻¹ e -2,5 a 1,9 V.....	67

Figura 4.1 – Espectro vibracional na região do infravermelho do precursor memantina e o composto HL5	75
Figura 4.2 – Espectro vibracional na região do infravermelho do precursor memantina e o composto L6	76
Figura 4.3 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do precursor memantina e de HL5 em $\text{DMSO-}d_6$	78
Figura 4.4 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do precursor memantina e de HL5 em $\text{DMSO-}d_6$	79
Figura 4.5 – (a) Expansão do mapa de contornos COSY do composto HL5 (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$	79
Figura 4.6 – (b) Expansão do mapa de contornos COSY do composto HL5 (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$	80
Figura 4.7 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do precursor memantina e do composto L6 em $\text{DMSO-}d_6$	81
Figura 4.8 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do precursor memantina e o composto L6 em $\text{DMSO-}d_6$	81
Figura 4.9 – (a) Expansão do mapa de contornos COSY do composto L6 (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$	82
Figura 4.10 – (b) Expansão do mapa de contornos COSY do composto L6 (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$	82
Figura 4.11 – (a) Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) do precursor memantina e do composto HL5 em $\text{DMSO-}d_6$	84
Figura 4.12 – (b) Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) do precursor memantina e o composto HL5 em $\text{DMSO-}d_6$	84
Figura 4.13 – (a) Expansão do mapa de contornos HMQC do composto HL5 (400 MHz) em $\text{DMSO-}d_6$	85
Figura 4.14 – (b) Expansão do mapa de contornos HMQC do composto HL5 (400 MHz) em $\text{DMSO-}d_6$	85
Figura 4.15 – (a) Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) do precursor memantina e do composto L6 em $\text{DMSO-}d_6$	86
Figura 4.16 – (b) Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) do precursor memantina e do composto L6 em $\text{DMSO-}d_6$	86
Figura 4.17 – (a) Expansão do mapa de contornos HMQC do composto L6 (400 MHz) em $\text{DMSO-}d_6$	87

Figura 4.18 – (b) Expansão do mapa de contornos HMQC do composto L6 (400 MHz) em DMSO- <i>d</i> ₆	87
Figura 4.19 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto HL5 em solução 5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ , DMSO.....	88
Figura 4.20 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto HL5 em solução 5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.....	89
Figura 4.21 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto HL5 em solução 5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ 5% DMSO em tampão HCl pH 1,2.....	89
Figura 4.22 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto L6 em solução 5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ , DMSO.....	90
Figura 4.23 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto L6 em solução 5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.....	90
Figura 4.24 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto L6 em solução 5 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ 5% DMSO em tampão HCl pH 1,2.....	91
Figura 4.25 – Diagrama Ortep de L6 mostrando o esquema de marcação dos átomos não-H e seus elipsoides de deslocamento no nível de probabilidade de 50%.....	91
Figura 4.26 – Empacotamento molecular de L6 mostrando o esquema de interações intermoleculares não-clássicas.....	93
Figura 4.27 – Visão do empacotamento cristalino de L6 ao longo de a.....	94
Figura 5.1 – Representação Ortep do cristal MeH1. Os elipsoides foram obtidos com 50% de probabilidade. Código de simetria: <i>i</i> 2 - <i>x</i> , 2 - <i>y</i> , 2 - <i>z</i>	97
Figura 5.2 – Célula unitária do cristal ao longo a) do eixo a , b) do eixo b e c) do eixo c	98
Figura 5.3 – Ligação de hidrogênio não clássica do tipo CH···N vistas ao longo do plano bc	98
Figura 5.4 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante L7 e do complexo [Pd(L7)Cl ₂].0,5H ₂ O (5).....	101
Figura 5.5 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante L7 e do complexo [Pt(L7) ₂]Cl ₂ .2KCl (6).....	102
Figura 5.6 – Espectros de RMN de H ¹ (400 MHz) de L7 e seu complexo [Pt(L7) ₂]Cl ₂ .2KCl (6) em DMSO- <i>d</i> ₆	104

Figura 5.7 – Espectros de RMN de C^{13} (400 MHz) de L7 e seu complexo $[Pt(L7)_2]Cl_2 \cdot 2KCl$ (6) em $DMSO-d_6$	105
Figura 5.8 – (a) Espectros de ^{195}Pt RMN em $DMSO-d_6$ do tetracloroplatinato(II) de potássio (600 MHz) imediatamente após a dissolução (acima) e 15 minutos após a dissolução (abaixo).....	106
Figura 5.8 – (b) Espectros de ^{195}Pt RMN em $DMSO-d_6$ do complexo (6) (600 MHz) 30 min após a dissolução (acima) e após 4 h de dissolução (abaixo).....	107
Figura 5.9 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo de páladio(II) em solução $5 \times 10^{-5} mol.L^{-1}$, $DMSO$	108
Figura 5.10 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo de platina(II) em solução $5 \times 10^{-5} mol.L^{-1}$, $DMSO$ (no intervalo 5-20 minutos).....	109
Figura 5.11 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo de platina(II) em solução $5 \times 10^{-5} mol.L^{-1}$, $DMSO$	109
Figura 5.12 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo de platina(II) em solução $5 \times 10^{-5} mol.L^{-1}$, DMF	110
Figura 5.13 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo de platina(II) em solução $5 \times 10^{-5} mol.L^{-1}$ 5% DMF em tampão Tris-HCl pH 7,2.....	110
Figura 7.1 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante HL1 e do complexo $[Bi(L1)_2Cl]$ (1).....	114
Figura 7.2 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante HL2 e do complexo $[Bi(HL2)_2Cl_3]$ (2).....	115
Figura 7.3 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante HL4 e do complexo $[Bi(L4)_2Cl]$ (4).....	116
Figura 7.4 – Espectros de RMN de 1H (400 MHz) do ligante HL1 e de seu complexo $[Bi(L1)_2Cl]$ (1), em $DMSO-d_6$	117
Figura 7.5 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[Bi(L1)_2Cl]$ (1) (400 MHz), em $DMSO-d_6$	117
Figura 7.6 – Espectros de RMN de ^{13}C de HL1 e de seu complexo $[Bi(L1)_2Cl]$ (1) (400 MHz), em $DMSO-d_6$	118
Figura 7.7 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo $[Bi(L1)_2Cl]$ (1) (400Hz), em $DMSO-d_6$	118

Figura 7.8 – Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante HL2 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (2), em $\text{DMSO-}d_6$	119
Figura 7.9 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (2) (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$	119
Figura 7.10 – Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) de HL2 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (2), em $\text{DMSO-}d_6$	120
Figura 7.11 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (2) (400Hz), em $\text{DMSO-}d_6$	120
Figura 7.12 – Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante HL4 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L}4)_2\text{Cl}]$ (4), em $\text{DMSO-}d_6$	121
Figura 7.13 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[\text{Bi}(\text{L}4)_2\text{Cl}]$ (4) (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$	121
Figura 7.14 – Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) de HL4 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L}4)_2\text{Cl}]$ (4), em $\text{DMSO-}d_6$	122
Figura 7.15 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo $[\text{Bi}(\text{L}4)_2\text{Cl}]$ (4) (400Hz), em $\text{DMSO-}d_6$	122
Figura 7.16 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (1) (400 MHz), em $\text{DMF-}d_7$	123
Figura 7.17 – Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) de HL1 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (1), em $\text{DMF-}d_7$	124
Figura 7.18 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (1) (400Hz), em $\text{DMF-}d_7$	124
Figura 7.19 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante HL2 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (2), em $\text{DMF-}d_7$	125
Figura 7.20 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante HL2 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (2), em $\text{DMF-}d_7$	125
Figura 7.21 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante HL3 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL}3)_2\text{Cl}_3]$ (3), em $\text{DMF-}d_7$	126
Figura 7.22 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante HL3 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL}3)_2\text{Cl}_3]$ (3), em $\text{DMF-}d_7$	126
Figura 7.23 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante HL4 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L}4)_2\text{Cl}]$ (4), em $\text{DMF-}d_7$	127

Figura 7.24 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante HL4 e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (4), em $\text{DMF-}d_7$	127
Figura 7.25 – Espectros de RMN de H^1 (400 MHz) de L7 e seu complexo $[\text{Pd}(\text{L7})\text{Cl}_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (5) em $\text{DMSO-}d_6$	128
Figura 7.26 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (1) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO	129
Figura 7.27 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (1) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.....	129
Figura 7.28 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (2) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO	130
Figura 7.29 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (2) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.....	130
Figura 7.30 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (4) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO	131
Figura 7.31 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (4) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.....	131
Figura 7.32 – Voltamograma do complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (1) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl , Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} . As regiões reduzidas mostram uma varredura do ligante HL1 (em azul) e do sal de partida BiCl_3 (em vermelho).....	132
Figura 7.33 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (1) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl , Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e 1,9 a -2,5 V.....	133
Figura 7.34 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (1) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl , Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e -2,5 a 1,9 V.....	133
Figura 7.35 – Voltamograma do complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (2) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl , Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} . As regiões reduzidas mostram uma varredura do ligante HL2 (em azul) e do sal de partida BiCl_3 (em vermelho).....	134
Figura 7.36 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (2) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl , Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e 1,9 a -2,5 V.....	135

Figura 7.37 – Voltamograma de pulso do complexo [Bi(HL2) ₂ Cl ₃] (2) 1 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ em meio aprótico (TBAP 0,1 mol.L ⁻¹ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl ⁻ (3,0 mol.L ⁻¹); taxa de varredura de 250 mV.s ⁻¹ e -2,5 a 1,9 V.....	135
F/figura 7.38 – Voltamograma do complexo [Bi(L4) ₂ Cl] (4) 1 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ em meio aprótico (TBAP 0,1 mol.L ⁻¹ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl ⁻ (3,0 mol.L ⁻¹); taxa de varredura de 250 mV.s ⁻¹ . As regiões reduzidas mostram uma varredura do ligante HL4 (em azul) e do sal de partida BiCl ₃ (em vermelho).....	136
Figura 7.39 – Voltamograma de pulso do complexo [Bi(L4) ₂ Cl] (4) 1 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ em meio aprótico (TBAP 0,1 mol.L ⁻¹ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl ⁻ (3,0 mol.L ⁻¹); taxa de varredura de 250 mV.s ⁻¹ e 1,9 a -2,5 V.....	137
Figura 7.40 – Voltamograma de pulso do complexo [Bi(L4) ₂ Cl] (4) 1 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ em meio aprótico (TBAP 0,1 mol.L ⁻¹ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl ⁻ (3,0 mol.L ⁻¹); taxa de varredura de 250 mV.s ⁻¹ e -2,5 a 1,9 V.....	137

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Atribuição de tipo de eletrólito para soluções de concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	38
Tabela 3.1 – Fórmula molecular, massa molar (M), temperatura de decomposição (T de dec. °C), análise elementar de C, H e N, condutividade (Λ_M) e rendimento da reação (Rend.) para os complexos de bismuto(III) com tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.....	51
Tabela 3.2 – Principais bandas dos espectros de infravermelho (cm^{-1}) dos complexos de bismuto(III) e tiossemicarbazona derivadas nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.....	52
Tabela 3.3 – Atribuição de número de hidrogênios (N°), deslocamento químico δ (ppm), multiplicidade (M)* dos principais sinais de RMN de ^1H (400 MHz) das tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona e seus complexos de bismuto(III) em $\text{DMSO-}d_6$	54
Tabela 3.4 – Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C (400 MHz) das tiossemicarbazonas derivadas do nitrobenzaldeído e nitroacetofenona e seus complexos de bismuto(III) em $\text{DMSO-}d_6$	60
Tabela 3.5 – Parâmetros da voltametria cíclica (DMF) correspondentes aos processos $\text{R-NO}_2/\text{R-NO}_2^-$, $\text{Bi}^{\text{III}}/\text{Bi}^{\text{IV}}$ e $\text{Bi}^{\text{IV}}/\text{Bi}^{\text{V}}$ vs. Ag/AgCl , Cl^- (3,0 M) eletrodo de referência, a 250 mV.s^{-1}	69
Tabela 3.6 – Atividade citotóxica (% de viabilidade) dos complexos de bismuto(III) frente as linhagem de carcinona colorretal humano (HT-29) e células sadias (HEK-293).....	71
Tabela 4.1 – Fórmula molecular, massa molar (M), temperatura de fusão (TF(°C)), análise elementar de C, H e N e rendimento (Rend.) dos compostos ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (HL5) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (L6).....	73
Tabela 4.2 – Principais bandas dos espectros de infravermelho (cm^{-1}) do precursor memantina, os compostos (HL5) e (L6).....	74

Tabela 4.3 – Atribuição de número de hidrogênios (N°), deslocamento químico δ (ppm), multiplicidade (M)* dos principais sinais de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (HL5) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (L6).....	77
Tabela 4.4 – Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C (400 MHz) de ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (HL5) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (L6) em DMSO- d_6	83
Tabela 4.5 – Dados do refinamento da estrutura cristalina L6	92
Tabela 4.6 – Comprimentos de ligação (Å) e ângulos ($^\circ$) para L6	93
Tabela 5.1 – Fórmula molecular, massa molar (M), temperatura de fusão (TF ($^\circ\text{C}$)), e rendimento (Rend.) do ligante L7	95
Tabela 5.2 – Dados cristalográficos e refinamento da estrutura do L7	96
Tabela 5.3 – Distâncias e ângulos de ligação selecionados para o cristal L7	97
Tabela 5.4 – Geometria das ligações de hidrogênio no composto L7	98
Tabela 5.5 – Fórmula molecular, massa molar (M), temperatura de fusão (TF($^\circ\text{C}$)), análise elementar de C, H e N (valores calculados em parêntesis), condutividade (Λ_M) e rendimento da reação (Rend.), dos complexos de paládio(II) e platina(II)....	100
Tabela 5.6 – Principais bandas dos espectros de infravermelho (cm^{-1}) dos complexos de paládio(II) e platina(II) e 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.....	101
Tabela 5.7 – Atribuição de número de hidrogênios (N°), deslocamento químico δ (ppm), multiplicidade (M)* dos principais sinais de RMN de ^1H (400 MHz) da 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina e seus complexos de paládio(II) e platina(II) em DMSO- d_6	103
Tabela 5.8 – Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C (400 MHz) da 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (L7) e seu complexo de platina(II) (6) em DMSO- d_6	104

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

\uparrow	Símbolo conveno no DEPT-135 para CH e CH ₃
\downarrow	Símbolo conveno no DEPT-135 para CH ₂
¹ H	Isótopo do hidrogênio com 1 unidade de massa atmica
¹³ C	Isótopo do carbono com 13 unidades de massa atmica
¹⁹⁵ Pt	Isótopo da platina com 195 unidades de massa atmica
δ	Deslocamento químico
ϵ	Absortividade molar
λ	Comprimento de onda
ν	Número de onda
ΔE_p	Variaco de potenciais entre picos catódicos e anódicos
Λ_M	Condutividade molar
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Trifosfato de adenosina
BHI	Espécies reativas de oxigênio
CBS	College of Biological Sciences, (USA)
CCT	Coleo de Culturas Tropical (Brasil)
CHN	Análise Elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio
CIM	Concentraco Inibitória Mínima
COSY	Homonuclear Correlation Spectroscopy
dec.	Fuso com decomposio
DEPT-135	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DNA	cido Desoxirribonucleico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO -d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DMF	4,4-Dimetilformamida
DMF-d ₇	4,4-Dimetilformamida deuterado
Epa e Epc	Potenciais de pico anódico e catódico
FM	Fórmula Molecular
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
IC ₅₀	Concentraco que inibe 50% do crescimento microbiano
Ipa e Ipc	Correntes de picos anódico e catódico
J	Constante de acoplamento

MIC	Minimum Inhibitory Concentration / Concentração Inibitória Mínima
M	Massa molar
MHz	Mega-hertz
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium
NRRL	ARS Culture Collection (NRRL, USA)
ORTEP	Diagrama para a representação gráfica usada em cristalografia para representar os átomos por meio de seus elipsoides térmicos.
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhões
Rend.	Rendimento
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SDB	Caldo Sabouraud
TBAP	Perclorato de tetrabutilamônio

SUMARIO

Capítulo 1. Introdução	24
1.1. O uso de metais em Medicina.....	24
1.2. Bases de Schiff na Química Medicinal Inorgânica.....	28
1.2.1. Bases de Schiff contendo o grupo farmacológico nitro e sua importância em Química Medicinal.....	31
1.2.2. Bases de Schiff como agentes quelantes com aplicações no tratamento de Doenças Neurodegenerativas.....	33
1.3. Triazinas na Química Medicinal.....	34
1.4. Objetivo.....	36
1.4.1. Objetivos Específicos.....	36
Capítulo 2. Materiais e Métodos	37
2.1. Materiais, equipamentos e procedimentos.....	37
2.1.1. Reagentes e solventes.....	37
2.1.2. Pesagens.....	37
2.1.3. Temperatura de fusão.....	37
2.1.4. Análise elementar (CHN).....	37
2.1.5. Análises condutimétricas.....	37
2.1.6. Espectros de absorção na região do infravermelho (IV).....	38
2.1.7. Espectros de ressonância magnética nuclear (RMN).....	38
2.1.8. Estudo preliminar de estabilidade dos compostos por meio de espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis).....	38
2.1.9. Estudos Eletroquímicos de voltametria cíclica e de pulso.....	39
2.1.10. Difração de raios-X em monocristais.....	39
2.2. Sínteses de ligantes e complexos.....	40
2.2.1. Sínteses das tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.....	40
2.2.2. Síntese do derivado de 1-Amino-3,5-dimetiladamantina.....	41
2.2.2.1. Síntese de ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (HL5).....	41

2.2.2.2.	Síntese do <i>N</i> -(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (L6).....	41
2.2.3.	Síntese de 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (L7).....	42
2.2.4.	Sínteses dos complexos de bismuto(III) com as nitro-tiossemicarbazonas.....	43
2.2.5.	Síntese do complexo de paládio(II) com 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.....	44
2.2.6.	Síntese do complexo de platina(II) com 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.....	44
2.3.	Testes biológicos.....	45
2.3.1.	Avaliações da atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição.....	45
2.3.1.1.	Materiais e equipamentos.....	45
2.3.1.2.	Micro-organismos testados e meios de culturas.....	46
2.3.1.3.	Preparos das soluções estoque dos compostos.....	46
2.3.1.4.	Soluções de trabalho.....	46
2.3.1.5.	Preparações dos inócuos.....	46
2.3.1.6.	Triagem microbiológica.....	46
2.3.1.7.	Preparações das microplacas.....	47
2.3.2.	Avaliação da atividade citotóxica contra células HT-29 (normóxia e hipóxia) e HEK-293 (normóxia).....	47

Capítulo 3. Resultados. Complexos de bismuto(III) de tiossemicarbazonas derivadas nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.....	49
3.1. Caracterização dos complexos de bismuto(III) de tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.....	49
3.1.1. Análises dos complexos de bismuto(III) de tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.....	49
3.1.2. Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV).....	52
3.1.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	53
3.1.4. Estudo preliminar de estabilidade dos compostos por meio de espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis).....	64
3.1.5. Estudos eletroquímicos.....	65
3.1.5.1. Voltametria cíclica e de pulso.....	65

3.2.	Avaliação da atividade antimicrobiana frente a bactérias aeróbicas e fungos leveduriformes e atividade citotóxica.....	70
Capítulo 4. Resultados. Bases de Schiff derivadas de 1-Amino-3,5-dimetiladamantina e 2-hidroxibenzaldeído ou 2-piridina-carboxaldeído.....		72
4.1.	Caracterização dos compostos ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (HL5) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (L6).....	72
4.1.1.	Análises dos compostos ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (HL5) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (L6).....	72
4.1.2.	Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV).....	74
4.1.3.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	76
4.1.4.	Estudo preliminar de estabilidade dos compostos por meio de espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis).....	88
4.1.5.	Determinação da estrutura cristalográfica da N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (L6).....	91
Capítulo 5. Resultados. Complexos de paládio(II) e platina(II) de 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.....		95
5.1.	Análises do composto 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.....	95
5.1.1.	Determinação da estrutura cristalográfica da 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.....	96
5.2.	Caracterização dos complexos de paládio(II) e platina(II) de 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.....	99
5.2.1.	Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV).....	101
5.2.2.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	103
5.2.3.	Estudo preliminar de estabilidade dos compostos por meio de espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis).....	108
Capítulo 6. Discussão dos resultados e conclusões.....		111
Apêndice.....		113

Capítulo 1

Introdução

1.1. O uso de metais em Medicina

A evolução dos seres vivos levou a integrar os metais em nosso ciclo de vida e transformá-los em protagonistas de inúmeras funções biológicas, como por exemplo o transporte de oxigênio molecular através do sangue como parte essencial do processo respiratório.

O uso de metais em Medicina remonta às civilizações mais antigas na China, Egito e Grécia, onde prata, ouro e cobre eram empregados no tratamento de feridas, úlceras e na fabricação de recipientes para armazenar e esterilizar a água.¹ Esses primeiros passos levaram ao desenvolvimento mais refinado de compostos para a prevenção de doenças, constituindo o que atualmente conhecemos como Química Medicinal Inorgânica, a qual procura o desenvolvimento de novos compostos orgânicos ou de complexos metálicos com propriedades farmacológicas.

Em 1912, Paul Ehrlich foi um dos primeiros cientistas a propor a noção da relação estrutura-atividade, com o estudo de vários complexos de arsênio para o tratamento de sífilis, entre os quais o Salvarsan (3-amino-4-hidroxifenil-arsênio(III)), que foi prescrito para o tratamento da doença até o aparecimento da penicilina.²

Outro grande protagonista da Química Medicinal Inorgânica é o composto *cis*(diaminodicloro)platina(II) (Figura 1.1).

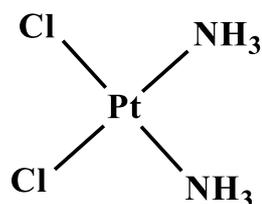


Figura 1.1 – *cis*(diaminodicloro)platina(II).

Em meados do século XX, Barnett Rosenberg e colaboradores demonstraram que esse complexo possui elevada atividade citotóxica, tornando-o o primeiro complexo utilizado no

¹ S. Medicini, M. Peana, V.M. Nurchi, J.I. Lachowicz, G. Crisponi, M.A. Zoroddu. *Coord. Chem. Rev.*, 284 (2015) 329-350.

² K.D Mjos, C. Orvig. *Chem. Revs.*, 114 (2014) 4540-4563.

tratamento de uma ampla variedade de tumores malignos, como mama, próstata, bexiga, ovário, pulmão, entre outros.^{3,4}

A ação farmacológica da cisplatina, como é chamada comercialmente até hoje, está sujeita à formação de ligações entre a platina e bases do DNA, principalmente guaninas, provocando uma deformação na estrutura, o que impede a replicação celular e leva a célula a sofrer apoptose.

Apesar do sucesso terapêutico da cisplatina, o seu uso clínico no tratamento do câncer é severamente limitado por efeitos colaterais relacionados à dose, tais como problemas neurológicos, hepáticos e nefrológicos. Tais efeitos secundários dose-dependentes podem ser representados pela Figura 1.2 (diagrama de Bertrand), a qual demonstra a existência de uma janela estreita entre a quantidade de fármaco que pode ser tolerável ou tóxico a um ser vivo. Além disso, a baixa biodisponibilidade e o aparecimento de resistência natural ou adquirida após o início do tratamento também são outros problemas associados a fármacos à base de platina que limitam seus usos clínicos.

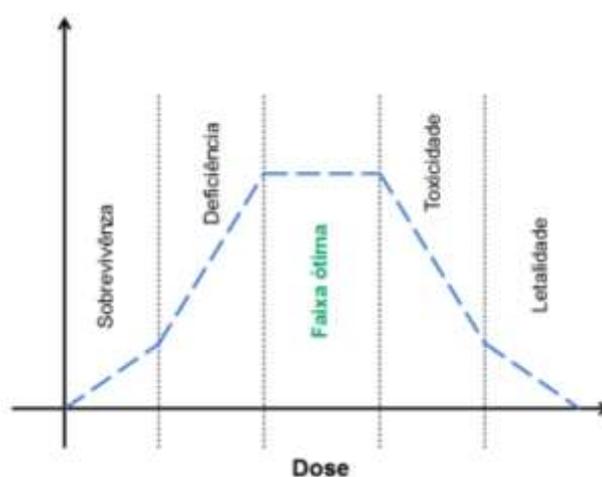


Figura 1.2 – Diagrama de Bertrand.

Os problemas relacionados ao uso da cisplatina desencadearam a busca e o desenvolvimento de novos compostos que possuam atividade antitumoral, apresentando maior biodisponibilidade e seletividade. A substituição de ligantes monodentados por quelantes, formando complexos com anéis de 5 ou 6 membros gerou uma família de metalofármacos de platina com menor reatividade química, o que reduziu os efeitos secundários e a resistência à

³ M.Vojtek, M.P.M. Marques, I.M.P.L.V.O. Ferreira, H. Mota-Filipe, C. Diniz. *Drug Disc. Today.*, 24 (2019) 1044-1058.

⁴ K.J. Franz, N. Metzler-Nolte. *Chem. Revs.*, 119 (2019) 727-729.

cisplatina⁵, como exemplos, podemos mencionar a carboplatina [cis-diamino-(1,1-ciclobutanocarboxilato)platina(II)] e a oxaliplatina [1,2-ciclohexanodiamino-(oxalato)platina(II)] (Figura 1.3), aprovadas para uso clínico de forma constante como tratamento de diferentes tumores.

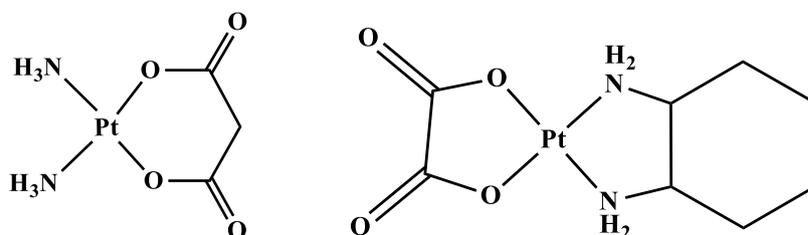


Figura 1.3 – Carboplatina [cis-diamino-(1,1-ciclobutanocarboxilato)platina(II)] (esquerda) e Oxaliplatina [1,2-ciclohexanodiamino-(oxalato)platina(II)] (direita).

Outra estratégia adotada para aumentar a seletividade e diminuir a resistência a medicamentos à base de metais é precisamente a sua substituição. A platina é um elemento pertencente ao grupo 10, período 6 da tabela periódica, com número atômico 78, configuração eletrônica [Xe] 4f¹⁴ 5d⁸ 6s², estados de oxidação II e IV, sendo caracterizada pela formação de complexos planos em seu estado de oxidação II, uma geometria que em parte é responsável por sua ação farmacológica.

Essas peculiaridades da platina chamaram a atenção para outros metais do mesmo grupo, como o paládio, que é um elemento maleável, macio, de cor branca e brilhante localizado no período 5 da tabela periódica, número atômico 46, configuração eletrônica [Kr] 4d⁸ 5s², estado de oxidação II e IV. Estudos de complexos utilizando paládio mostraram que esses compostos têm um comportamento bastante semelhante aos dos derivados de platina.⁶

Apesar dos resultados promissores, descobriu-se que o paládio possui uma labilidade cem vezes maior que a platina, reduzindo assim a sua disponibilidade. Uma possível solução a este problema seria usar ligantes fortemente coordenados para proporcionar maior estabilidade ao complexo.⁷

Bismuto é outro elemento utilizado para o desenvolvimento de candidatos a metalofármacos. Ele é um elemento que se encontra no grupo 15, acompanhado pelo nitrogênio, fosforo, arsênio, antimônio e muscóvio. Com número atômico 83, configuração eletrônica [Xe]

⁵ L. Chiang, M.R. Jones, S.L. Ferreira, T. Storr. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 12 (2012) 122-144.

⁶ H. Beraldo. *Química Nova*. 27 (2004) 461-471.

⁷ S. Medici, M. Peana, V.M. Nurchi, J.I. Lachowicz, G. Crisponi, M.A. Zoroddu. *Coord. Chem. Rev.* 284 (2015) 329-350.

$4f^{14} 5d^{10} 6s^2 6p^3$ e estados de oxidação III e V, é caracterizado como um metal pesado com uma baixa toxicidade, incomum em relação aos seus vizinhos (chumbo e estanho) com os quais durante anos foi confundido.⁸

O início do uso dos medicamentos à base de bismuto data de 1786, quando era utilizado no tratamento da dispepsia. Subsequentemente, os derivados desse metal, na forma de subsalicilato e citrato de bismuto, Pepto-Bismol® e De-nol® respectivamente (Figura 1.4), apresentaram forte atividade antibacteriana e foram utilizados com grande eficácia no tratamento de doenças gastrointestinais geradas por bactérias como a *Helicobacter pylori*⁹ as quais apresentavam resistência a uma grande variedade de antibióticos.

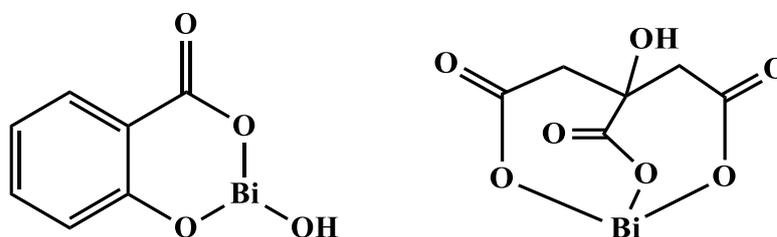


Figura 1.4 – Subsalicilato de bismuto(III) (esquerda) e citrato de bismuto(III) (direita).

Assim, a baixa toxicidade e variável número de coordenação (de 3 a 10) faz do bismuto um metal adequado para o uso em medicamentos. Atualmente, outros derivados de bismuto continuam sendo utilizados contra infecções por *H. pylori* em terapias combinadas com antibióticos.¹⁰

Complexos de bismuto apresentam também atividade antineoplásica. Um exemplo recente que pode ser mencionado é o trabalho de Li e colaboradores, os quais apresentam uma família de complexos de bismuto com *bis*(tiossemicarbazonas) derivadas de 2,6-diacetilpiridina. Esses complexos apresentaram uma maior atividade antineoplásica que seu ligante livre em células de leucemia K562.¹¹

Recentemente, Oliveira e colaboradores relataram a síntese de complexos de bismuto(III) com hidrazonas derivadas de 8-hidroxiquinolina. Quando foram testados como agentes antiparasitários em células infectadas pelo *Trypanosoma cruzi*, observou-se que

⁸ Y. Yang, R. Ouyang, L. Xu, N. Guo, W. Li, K. Feng, L. Ouyang, Z. Yang, S. Zhou, Y. Miao. *J. Coord. Chem.*, 68 (2015) 379-397.

⁹ D.P. Rocha, G.F. Pinto, R. Ruggiero, C.A. Oliveira, W. Guerra. *Quim. Nova.*, 34 (2011) 111-118.

¹⁰ M.P. Dore, H. Lu, D.Y. Graham. *Gut.*, 65 (2016) 870-878.

¹¹ M.X. Li, M. Yang, J.Y. Niu, L.Z. Zhang, S.Q. Xie. *Inorg. Chem.*, 51 (2012) 12521-12526.

enquanto os ligantes não apresentaram atividade, os complexos ($IC_{50} = 0.06 \mu M$) superaram a atividade do medicamento de referência benznidazol ($IC_{50} = 14.36 \mu M$).¹²

1.2. Bases de Schiff na Química Medicinal Inorgânica

Bases de Schiff são iminas sintetizadas através da condensação quimioseletiva entre uma amina primária e um aldeído ou cetona, com quantidades catalíticas de ácido (Figura 1.5).^{13,14} Esses ligantes caracterizam-se por serem versáteis, podem apresentar atividades antineoplásica¹⁵, antimicrobiana¹⁶, antifúngica¹⁷ ou/e antiparasitária.¹⁸

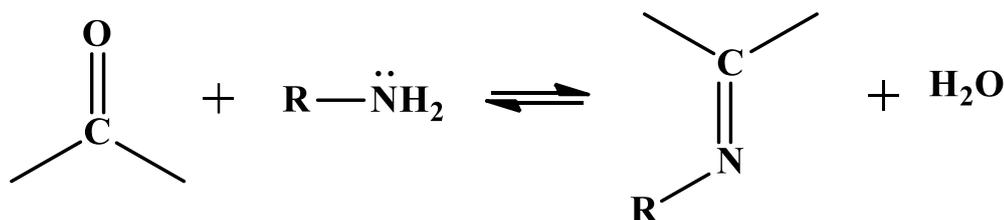


Figura 1.5 – Síntese de uma base de Schiff.

Tiossemicarbazonas são uma classe de bases de Schiff que possuem uma estrutura geral $R_1R_2C=N-NH-C=S(-N)R_3R_4$. Do ponto de vista estrutural, as tiossemicarbazonas apresentam um sistema amplamente deslocalizado, especialmente se grupos aromáticos estão ligados ao carbono azometínico, resultando na possibilidade da existência de um equilíbrio tautomérico entre as formas tiona e tiol (Figura 1.6). Além disso, as tiossemicarbazonas podem apresentar uma mistura dos isômeros configuracionais *Z* e *E* em relação à ligação $C=N$, em que a preferência por um isômero ou outro dependerá da natureza dos grupos substituintes.

Do ponto de vista biológico, as tiossemicarbazonas destacam-se por apresentarem diversas atividades farmacológicas, dentre elas as atividades antitumoral, antimicrobiana e antiparasitária.¹⁹

¹² A. P. Oliveira, A. A. Recio-Despaigne, I. P. Ferreira, R. Diniz, K. A. F. Sousa, T. M. Bastos, M. B. Pereira Soares, D. R. M. Moreira, H. Beraldo. *New J. Chem.*, 43 (2019) 18996-19002.

¹³ I.C. Mendes, L.R. Teixeira, R. Lima, H. Beraldo, N.L. Speziali, D.X. West. *J. Molec. Struct.*, 559 (2001) 355-360.

¹⁴ A.Y. Lukmantara, D.S. Kalinowski, N. Kumar, D.R. Richardson. *J Inorg Biochem.*, 141 (2014) 43-54.

¹⁵ T.A. Dos Santos, A.C. Silva, E.B. Silva, P.A. Gomes, J.W. Espíndola, M.V. Cardoso, D.R. Moreira, A.C. Leite, V.R. Pereira. *Biomed Pharmacother.*, 82 (2016) 555-560.

¹⁶ N. Sharma, D.P. Pathak. *Int J Pharm Sci Res.*, 8 (2016) 667-678.

¹⁷ L.N. Araújo Neto, M.C. Alves de Lima, J.F. Oliveira, E.R. Souza, M.D. Silva Buonafina, M.N. Vitor Anjos, F.A. Brayner, L.C. Alves, P.R. Neves, F.J. Mendonca-Junior. *Chem.-Biol. Interact.*, 272 (2017) 172-181.

¹⁸ A. Perez-Rebolledo, L.R. Teixeira, A.A. Batista, A.S. Mangrich, G. Aguirre, H. Cerecetto, M. González, P. Hernández, A.M. Ferreira, N.L. Speziali, H. Beraldo. *Eur. J. Med. Chem.*, 43 (2008) 939-948.

¹⁹ H. Beraldo, D. Gambino. *Mini Rev Med Chem.*, 4 (2004) 31-39.

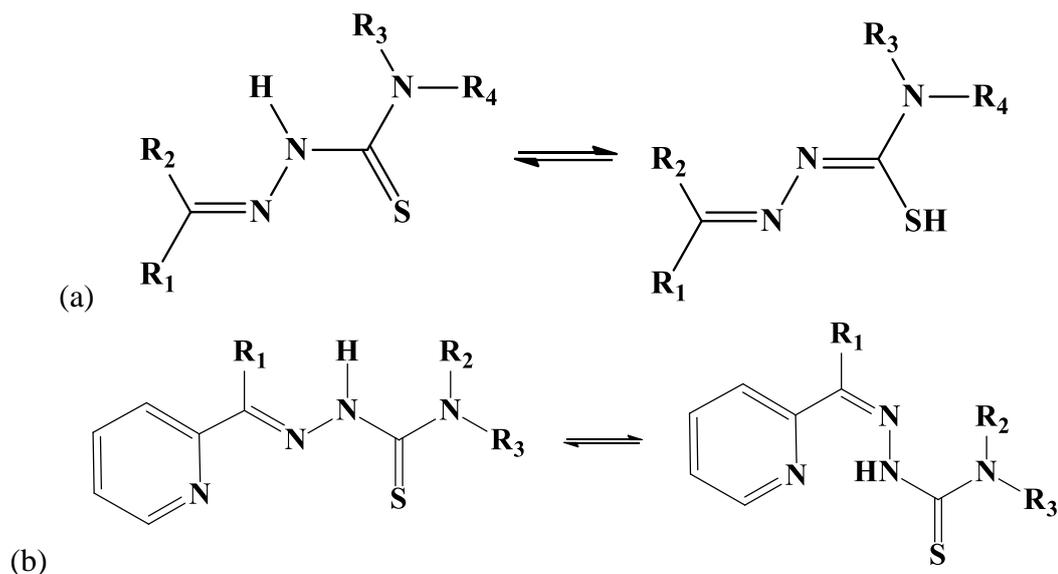


Figura 1.6 – (a) Equilíbrio tautomérico entre a forma tiona-tiol. (b) isômeros *E* e *Z*.

A atividade antimicrobiana das tiossemicarbazonas tem sido muito estudada e os estudos demonstram que algumas tiossemicarbazonas conseguem inibir seletivamente a proliferação de bactérias *Gram*-positivas ou *Gram*-negativas.²⁰ Um importante exemplo de tiossemicarbazona com atividade antimicrobiana é Perclozona[®] (Figura 1.7)²¹, um agente antibacteriano empregado em cepas de tuberculose resistentes à Tiacetazona, um composto utilizado no tratamento de tuberculose resistente a fármacos mais modernos.

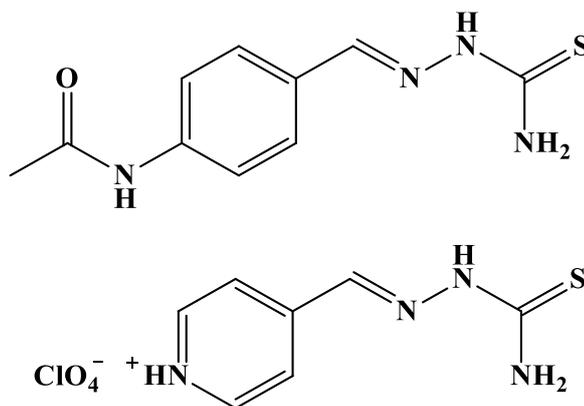


Figura 1.7 – Tiacetazona (acima) e Perclozona[®] (abaixo)

Por outro lado, a partir de 1960, a ação antifúngica de um grande número de tiossemicarbazonas foi investigada. Um trabalho que se destaca é o de Gopalakrishnan e colaboradores, que estudaram uma família de compostos *N*-hidroxi-3,3-dimetil-2,6-diarilpiperidin-4-ona-tiossemicarbazonas contra fungos *Aspergillus flavus*, *Mucor* e

²⁰ A.S. Dobek, D.L. Klayman, E.T. Dickson, J.P. Scovill, E.C. Tramont. *Antimicrob. Ag. Chem.*, 18 (1980) 27-36.

²¹ P. Gopal, T. Dick. *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 45 (2015) 430-433.

Microsporium gypseum. As tiossemicarbazonas estudadas demonstraram resultados similares aos obtidos para o fluconazol, fármaco utilizado como controle.²²

Por sua vez, estudos direcionados à atividade antitumoral revelaram que o modo de ação das tiossemicarbazonas está relacionado à sua capacidade de inibir as enzimas responsáveis pela síntese do DNA como a ribonucleotídeo redutase e a topoisomerase II α .²³

Neste contexto o composto 3-aminopiridina-2-carboxaldeído-tiossemicarbazona (Figura 1.8), comercialmente conhecido como Triapina, encontra-se em estudo de fase clínica II para o tratamento de tumores de pâncreas, rins e pulmão.²⁴

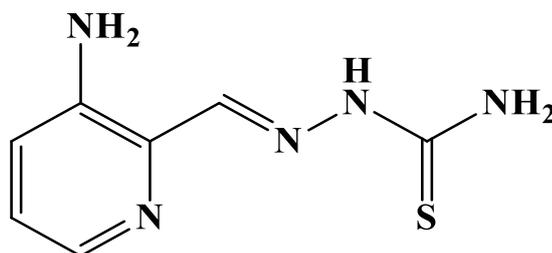


Figura 1.8 – Representação estrutural da Triapina.

A coordenação de moléculas orgânicas a metais pode resultar no aumento das propriedades farmacológicas. O complexo formado também pode possuir um mecanismo de ação distinto, apresentando uma atividade não verificada para o ligante livre ou ser o veículo para, mais tarde, desprender o ligante ou metal, os quais podem atuar separadamente. Além disso, características como a lipofilicidade da molécula são alteradas com a complexação, interferindo na facilidade com que o composto atravessa a membrana celular.

O objetivo de nossa linha de pesquisa é precisamente o desenvolvimento de ligantes e complexos para a investigação de suas propriedades biológicas. Como exemplo, podemos citar uma família de tiossemicarbazonas derivadas de 2-acetilpiridina (Figura 1.9). Estes compostos apresentaram atividades citotóxicas contra células tumorais humanas, com valores de IC₅₀ na ordem de nanomolar.²⁵

²² M. Gopalakrishnan, P. Sureshkumar, J. Thanusu, V. Kanagarajan. *Pharm. Chem. J.*, (2008) 271-276.

²³ H. Huang, Q. Chen, X. Ku, L. Meng, L. Lin, X. Wang, C. Zhu, Y. Wang, Z. Chen, M. Li, H. Jiang, K. Chen, J. Ding, H. Liu. *J. Med. Chem.*, 53 (2010) 3048-3064.

²⁴ W.R. Brockman, R.J. Thomson, M.J. Bell, H.E. Skipper. *Cancer Research.*, 16 (1956) 167-170. / R.A. Finch, M.C. Liu, A.H. Cory, J.G. Cory, A.C. Sartorelli. *Advan. Enzyme Regul.*, 39 (1999) 3-12.

²⁵ M.A. Soares, J.A. Lessa, I.C. Mendes, J.G. Da Silva, R.G. dos Santos. *Bioorg. Med. Chem.*, 20 (2012) 3396-3409.

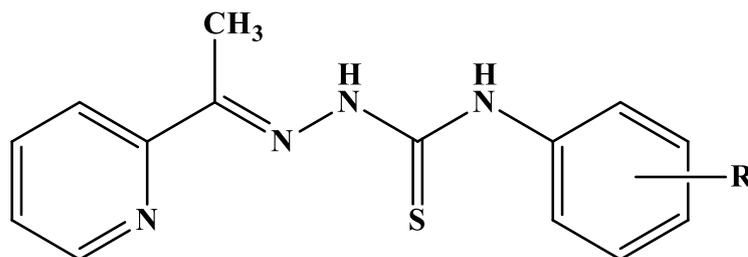


Figura 1.9 – Acetilpiridina *N*(4)-fenil tiossemicarbazonas onde R = Cl ou F.

Com essa família de ligantes foram sintetizados complexos de paládio(II), antimônio(III), platina(II), ouro(III) e bismuto(III),²⁶ e testados contra células de carcinoma colorretal HT29 e câncer mamário MCF-7. A potente atividade antineoplásica do complexo de antimônio(III) foi atribuída à inibição da enzima tiorredoxina redutase (TrxR) envolvida na biossíntese do DNA.

1.2.1. Bases de Schiff contendo o grupo farmacológico nitro e sua importância em Química Medicinal

Um grupo de grande interesse na Química Medicinal são os compostos nitroaromáticos, utilizados desde 1940 como agentes terapêuticos, como a nitrofurazona, uma semicarbazona amplamente empregada no tratamento de queimaduras e infecções tópicas. Outros nitroderivados em uso clínico são o Nifurtimox e o Benznidazol²⁷ (Figura 1.10), ambos empregados no tratamento da doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*.

Desde meados do século XX a pesquisa de reações de oxi-redução em ambientes e processos biológicos ganhou importância, pois sabe-se que radicais livres são essenciais em alguns sistemas, como por exemplo, na produção de ATP através da respiração celular nas mitocôndrias. Esses processos mantêm um equilíbrio de produção e consumo de radicais livres, mas quando se altera o ciclo por agentes externos como os medicamentos,

²⁶ G.L. Parrilha, K.S.O. Ferraz, J.A. Lessa, K.N. de Oliveira, B.L. Rodrigues, J.P. Ramos, E.M. Souza- Fagundes, I. Ott, H. Beraldo. *Eur. J. Med. Chem.*, 84 (2014) 537-544.

²⁷ J. R. Coura, L. L. d. Abreu, H. P. F. Willcox, W. Petana. *Rev. Soc. Bras. Med.*, 30 (1997) 139-144.

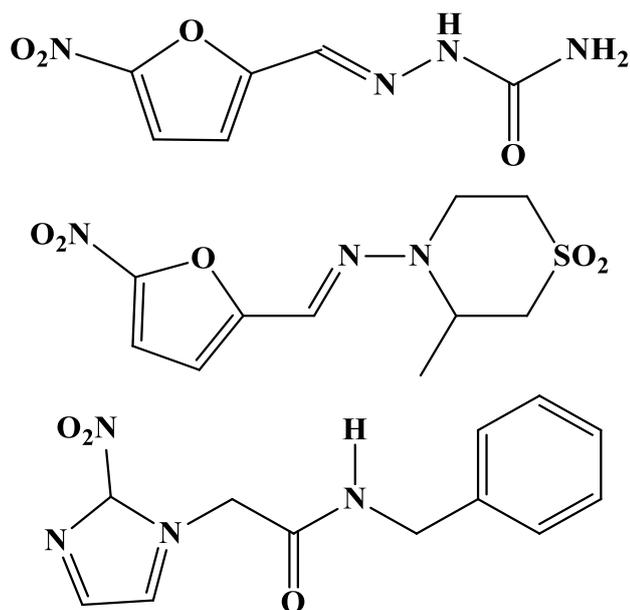


Figura 1.10 – Nitrofurazon (acima), Nifurtimox (centro) e Benznidazol (embaixo).

podem ocorrer modificações do funcionamento normal, que conduzem ao colapso celular, conhecido como estresse oxidativo.²⁸

Por exemplo, no caso do agente anti-chagásico Nifurtimox ocorre a redução do grupo nitro, formando um radical instável do tipo NO₂[•] (Figura 1.11), gerando espécies reativas de oxigênio (ROS) nocivas para os microorganismos. No benznidazol também ocorre a redução de nitrointermediários, provocando danos celulares ao modificar as biomacromoléculas.²⁹

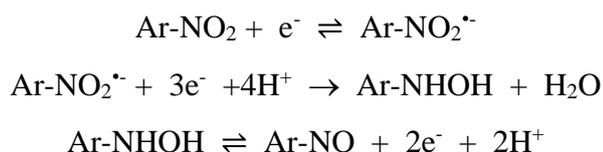


Figura 1.11 – Espécies geradas no processo redutivo do grupo -NO₂.

Oliveira e colaboradores sintetizaram uma série de complexos metálicos de hidrazonas e tiossemicarbazonas funcionalizadas com nitroimidazol ou nitrobenzeno. Estes ligantes são conhecidos como prófarmacos, que são espécies que necessitam ativar o grupo nitro no ambiente intracelular para executar sua atividade biológica.³⁰

Os ligantes e complexos de cobre(II), prata(I) e bismuto(III) com hidrazonas derivadas de secnidazol (Figura 1.12) foram inativos contra bactérias aeróbicas *Gram*-positivas e *Gram*-

²⁸ A. Abuelo, J. Hernández, J.L. Benedito, C. Castillo. *J. An. Physiol. An. Nutr.*, (2015) 1003-1016.

²⁹ C. Rodrigues, A.A. Batista, J. Ellena, E.E. Castellano, D. Benítez, H. Cerecetto, M. González, L.R. Teixeira, H. Beraldo. *Polyhedron.*, 27 (2008) 3061-3066.

³⁰ A.A. Oliveira, A.P.A. Oliveira, L.L. Franco, M. O. Ferencs, J.F.G. Ferreira, S.M.P.S. Bachi, N.L. Speziali, L.M. Farias, P.P. Magalhães, H. Beraldo. *BioMetals.*, 31 (2018) 571-584.

negativas, mas foram ativos contra cepas anaeróbicas. Neste caso a ativação ocorreu em condições anaeróbicas onde o potencial redox é adequado para provocar a redução.³¹

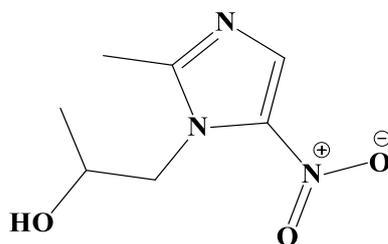


Figura 1.12 – Secnidazol.

Também foram estudadas nitro-tiossemicarbazonas com atividade antiparasitária relacionada com a formação de espécies radiculares derivadas do grupo nitro. Complexos de rutênio(II) com ligantes N4-metil-4-nitrobenzaldeído-tiossemicarbazona e N4-metil-4-nitroacetofenona-tiossemicarbazona foram avaliados como agentes antiparasitários em *Trypanosoma cruzi*, obtendo-se para os complexos, uma melhor resposta inibitória com $ID_{50} = 0,6 - 2,3 \mu M$ no teste em que o medicamento controle apresentou um valor de $7,7 \mu M$ (Nifurtimox).³²

Assim, a Química Medicinal tem dado um passo mais adiante ao propor a formação de fármacos “*in situ*”, como descrito nos casos de nitro-compostos, como profármacos, que sob condições adequadas podem formar a espécie ativa, que realizará a ação desejada, convertendo-se em uma alternativa viável e eficaz para o tratamento de diferentes doenças.

1.2.2. Bases de Schiff como agentes quelantes com aplicações no tratamento de Doenças Neurodegenerativas

O planejamento de compostos que atuem como agentes quelantes capazes de complexar metais envolvidos em diferentes doenças tem sido muito explorado. Um exemplo são as Bases de Schiff como a semicarbazonas, tiossemicarbazonas, hidrazonas, entre outras, que podem formar complexos bastante estáveis com metais que estariam implicados em doenças neurodegenerativas.

Uma delas é a Doença de Alzheimer que é associadas a um desequilíbrio entre enzimas e proteínas gerado pela presença de íons metálicos como cobre, zinco e ferro no cérebro. Os marcadores neuropatológicos da doença são as placas de peptídeos beta amilóides ($A\beta$),

³¹ A.P.A. Oliveira, J.F.G. Ferreira, L.M. Farias, P.P. Magalhães, L.R. Teixeira, H. Beraldo. *J. Braz. Chem. Soc.*, 30 (2019) 2299-2307.

³²C. Rodrigues, A. A. Batista, J. Ellena, E. E. Castellano, D. Benítez, H. Cerecetto, M. González, L. R. Teixeira, H. Beraldo. *Eur. J. Med. Chem.*, 45 (2010) 2847-2853.

depósitos extracelulares de agregados do peptídeo A β e os emaranhados intracelulares de proteína tau. Íons metálicos como cobre(II), zinco(II) e ferro(III) apresentam alta afinidade pelo peptídeo A β e o processo pode modular a agregação e induzir a formação de ROS, levando ao estresse oxidativo. A ligação de cobre(II) ao peptídeo resulta na formação de agregados não fibrilares e dano oxidativo. Assim, muitos grupos de pesquisa têm estudado agentes quelantes capazes de complexar seletivamente o excesso de cobre(II) no cérebro como candidatos a fármacos anti-Alzheimer.³³

Trabalhos como o relatado por Gomes e colaboradores mostraram que bases de Schiff derivadas de 8-hidroxiquinolina são capazes de formar complexos com cobre(II) estáveis, evitando a reação deste íon metálico com o peptídeo A β 1-40, e de bloquear a formação de ROS *in vitro*.³⁴

1.3. Triazinas na Química Medicinal

As triazinas são compostos heterocíclicos aromáticos similares ao benzeno, em que três dos carbonos são substituídos por átomos de nitrogênio. Essas moléculas podem apresentar três isômeros: 1,2,3-; 1,2,4-; 1,3,5-Triazina.

Esse grupo de compostos tem gerado muito interesse por apresentar um grande potencial terapêutico devido às suas propriedades eletrônicas, além de permitir produzir incontáveis derivados ao substituir no anel diferentes grupos e cadeias gerando distintas combinações.³⁵

Entre as quais podemos mencionar a Tubercidina (Figura 1.13(a)), uma triazina que têm origem em um produto natural e é usada como medicamento para inibir o crescimento de bactérias e a síntese do DNA em vírus.³⁶ A partir dela foram sintetizados alguns análogos como a Roscovitina, um candidato a fármaco que apresenta atividade anticancerígena por inibir a proteína CK2, que controla o crescimento e proliferação celular assim como a proteção contra a apoptoses em células cancerígenas (Figura 1.13 (b)). Outro exemplo mais recente é o composto sintetizado por Suda e colaboradores. O CH5138303 (Figura 1.13 (c)) ao conter no átomo de enxofre uma amida alifática conseguiram registrar uma excelente atividade antiproliferativa *in vitro* como *in vivo* que atua sobre a proteína Hsp90.³⁷

³³ L.R. Perez, K.J. Frank. *Dalton Trans.*, 39 (2010) 2177-2187

³⁴ L.M.F. Gomes, R.P. Vieira, M.R. Jones, M.C.P.Wang, E.M. Souza-Fagundes, J.G. Da Silva, T. Storr, H. Beraldo. *J. Inorg. Biochem.*, (2014) 106–116.

³⁵ L. Marín-Ocampo, L.A. Veloza, R. Abonia, J.C. Sepúlveda-Arias. *Eur. J. Med. Chem.*, (2019) 435-447.

³⁶ V.A. Mulamooti. *Curr. Org. Chem.* (2016) 830-838 / M.T. Migawa, J.C. Drach, L.B. Townsend. *J. Med. Chem.*, (2005) 3840-3851.

³⁷ Z. Nie, C. Perretta, P. Erickson, S. Margosiak, R. Almassy, J. Lu, A. Averill, K.M. Yager, S. Chu. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 4191-4195 / A. Suda, K. Kawasaki, S. Komiyama, Y. Isshiki, D.-O. Yoon, S.-J. Kim, Y.-J.

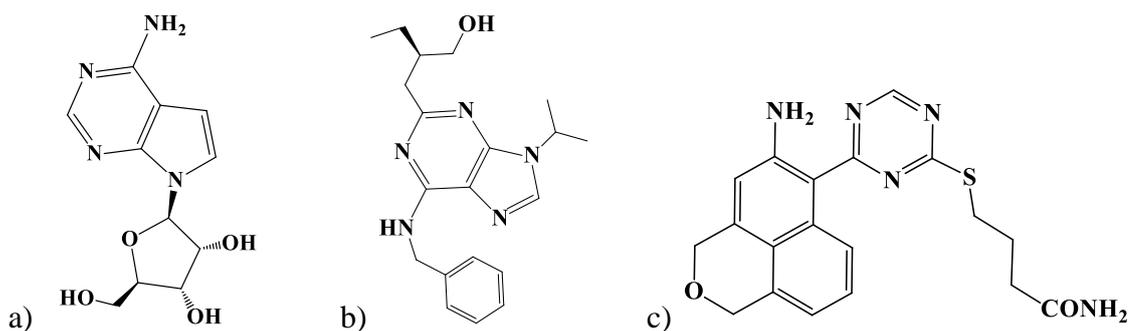


Figura 1.13 – Tubercidina (a), Roscovitina (b) e CH5138303 (c).

As propriedades biológicas das triazinas e especialmente antitumorais dos compostos antes mencionados têm fornecido a base para o desenvolvimento de derivados sintéticos com atividade farmacológica como 3,3'-bis(propylsulfanyl)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (Figura 1.14) o qual apresenta um sítio quelante N-N de grande interesse para complexação com diferentes metais, formando complexos com perfil farmacológico distinto daquele do ligante original.

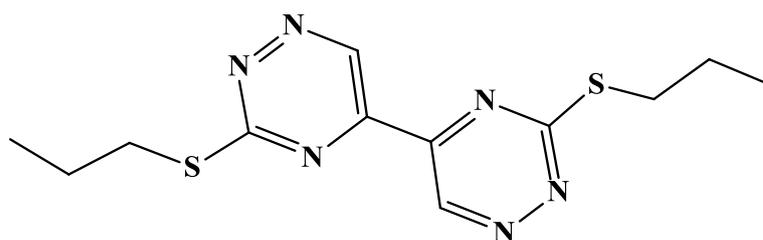


Figura 1.14 – 3,3'-bis(propylsulfanyl)-5,5'-bi-1,2,4-triazina

1.4. Objetivos

O presente trabalho teve como objetivo sintetizar ligantes orgânicos do tipo bases de Schiff contendo grupos nitro e bis-triazinas para complexá-los a diferentes metais e estudar as

bioatividades dos complexos. Considerando-se que memantina (Figura 1.15) é um dos vários fármacos disponíveis para o tratamento da Doença de Alzheimer, que pode aliviar os sintomas nas fases intermédias e avançadas da doença, a síntese de bases de Schiff derivadas de memantina e que possuem um grupo quelante, como proposto no presente trabalho torna-se de grande interesse.

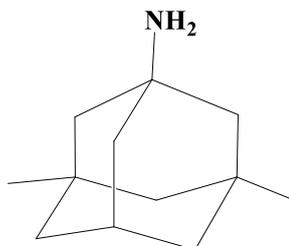


Figura 1.15 – Estrutura da 1-Amino-3,5-dimetiladamantina.

1.4.1. Objetivos Específicos

- Sínteses e caracterização de complexos de bismuto(III) com uma serie de tiossemicarbazonas derivadas do *meta*-NO₂ e *para*-NO₂-benzaldeido e *meta*-NO₂ e *para*-NO₂-acetofenona.
- Avaliação da atividade antimicrobiana dos ligantes e complexos de bismuto(III) das nitro tiossemicarbazonas contra fungos e bactérias
- Avaliação da atividade citotóxica dos ligantes e complexos de bismuto(III) em células tumorais
- Sínteses e caracterização de complexos de platina(II) e paládio(II) com 3,3'-bis(propylsulfanyl)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.
- Avaliação da atividade citotóxica dos ligantes e complexos de paládio(II) e platina(II) em células tumorais.
- Sínteses e caracterização dos compostos do tipo base de Schiff derivados da Memantina.

Capítulo 2.

Materiais e Métodos

2.1. Materiais, equipamentos e procedimentos.

2.1.1. Reagentes e solventes

As reações foram realizadas utilizando reagentes com alto grau de pureza, sendo usados sem purificação prévia. Todos eles foram adquiridos de fontes comerciais (Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, Fluka, Merck, Synth, Vetec, Quimex e Strem Chemicals). Os solventes deuterados foram de procedência da Cambridge Isotope Laboratories, Inc.

2.1.2. Pesagens

No caso das medidas de massa foram realizadas nas balanças analíticas Gehaka – AG200, com sensibilidade de 0,0001 g e Sartorius-MSU225S, com sensibilidade de 0,00001 g.

2.1.3. Temperatura de fusão

As faixas de temperatura de fusão ou decomposição dos compostos foram determinadas em um equipamento digital Micro-Química Equipamentos LTDA modelo MQAPF-302, pertencente ao laboratório da prof^a Lucienir Pains Duarte no Departamento de Química da UFMG.

2.1.4. Análise elementar (CHN)

A análise das porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP) e no Departamento de Química da UFMG. Em ambos os casos, o equipamento utilizado foi Perkin Elmer, modelo CHN-2400.

2.1.5. Análises condutimétricas

As medidas de condutividade molar eletrolítica (Λ_M) dos complexos foram realizadas em soluções de dimetilsulfóxido (DMSO) ou dimetilformamida (DMF) com uma concentração na ordem de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, à temperatura ambiente. O equipamento utilizado foi um

condutivímetro YSI Conductivity Bridge, modelo 31, com célula condutimétrica de constante 0,088 cm⁻¹. Os resultados foram analisados conforme as atribuições apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Atribuição de tipo de eletrólito para soluções de concentração 1 x 10⁻³ mol.L⁻¹.³⁸

Solvente	Λ_M (cm ² Ω ⁻¹ mol ⁻¹)	Tipo de eletrólito
DMSO	50 – 70	1:1
	–	2:1
DMF	65 – 90	1:1
	130 – 170	2:1

2.1.6. Espectros de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de infravermelho (IV) foram registrados na região 400 – 4000 cm⁻¹, usando-se pastilha de KBr como suporte e foram feitos em um espectrômetro Perkin Elmer FT-IR System-Spectrum GX, alocado ao Departamento de Química da UFMG.

2.1.7. Espectros de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H, ¹³C, ¹⁹⁵Pt, DEPT-135, COSY e HMQC foram feitos em soluções de DMSO-*d*₆ e DMF-*d*₇, no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear de Alta Resolução (LAREMAR) do Departamento de Química – UFMG. Os espectrômetros utilizados foram: AVANCE DRX 400 (400 MHz) e AVANCE DRX 600 (600 MHz).

2.1.8. Estudo preliminar de estabilidade dos compostos por meio de espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os estudos de estabilidade dos ligantes e complexos em solução foram realizados por espectroscopia eletrônica, utilizando um espectrofotômetro HP8453 *diode array* – Hewlett Packard e cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico. As soluções dos complexos foram preparadas na concentração de 2,0 x 10⁻⁴ e 5,0 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹ em DMSO ou DMF e em soluções de 5% de DMSO e tampão pH 7,2 Tris-HCl (NaCl 50 mM/Tris-HCl 5 mM) e pH 1,2 (fluido gástrico simulado sem enzimas).³⁹ Os espectros eletrônicos foram registrados na faixa de 200 –

³⁸ J. W. Geary. *Coord. Chem. Rev.*, 7 (1971) 81.

³⁹ Farmacopeia Brasileira. 5ta ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>

800 nm em função do tempo: 0, 30, 60, 90 e 120 minutos e em alguns casos após, 6, 8 ou 24 horas.

2.1.9. Estudos eletroquímicos de voltametria cíclica e de pulso

As medidas de voltametria cíclica foram realizadas no laboratório do prof. Tulio Matencio (Dep. de Química – UFMG), utilizando-se um potenciostato PGSTAT AUTOLAB 30, acoplado a um microcomputador, que registra e armazena os dados obtidos utilizando os softwares de controle FAR e GPES. Foi utilizada uma célula eletroquímica de vidro Pyrex® com capacidade total de 5,0 mL, provida de tampa de teflon com cinco orifícios, para o encaixe dos três eletrodos, além de uma entrada e saída para o sistema de purga com gás nitrogênio. Os eletrodos empregados foram: eletrodo de trabalho de carbono vítreo ($d = 4$ mm), eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl saturado e eletrodo auxiliar de platina.

Antes de cada medida experimental, o eletrodo de trabalho foi previamente polido utilizando-se Alumina Nº 2 (óxido de alumínio – granulometria $0,3 \mu\text{m}$). Esse eletrodo foi ativado utilizando-se uma solução de Na_2SO_4 (0,5 M) em água deionizada. As soluções dos ligantes e complexos foram preparadas na concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF (grau espectroscópico) contendo o eletrólito de suporte perclorato de tetrabutilamônio ([TBAP] = $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$). Os experimentos de voltametria foram feitos à temperatura ambiente (25 e 27 °C). Inicialmente, foi empregado um potencial entre -2,5 a 2,5 V para analisar o valor adequado para as medidas de voltametria cíclica e de pulso dos complexos. As medidas foram realizadas com velocidade de varredura de 1000, 500, 250, 100 e 50 mV.s^{-1} . Antes de iniciar as medidas foi feito o processo de desaeração ou purga, no qual se borbulhou, por 10 minutos, nitrogênio gasoso para a eliminação de oxigênio dissolvido. Este procedimento é importante, porque os sinais correspondentes aos processos de oxirredução do oxigênio dissolvido podem interferir nas curvas voltamétricas.

2.1.10. Difração de raios-X em monocristais

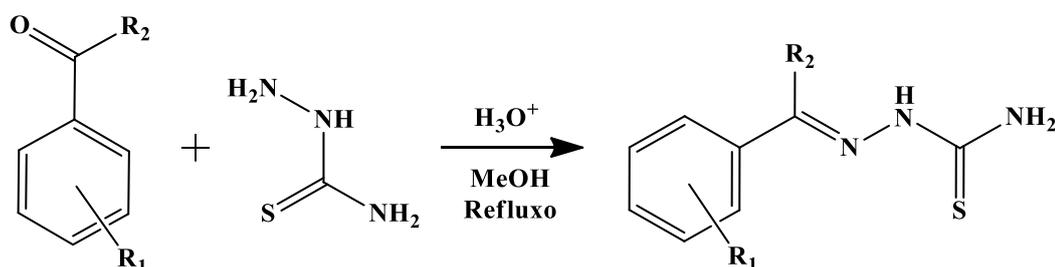
As determinações estruturais foram obtidas através da técnica de difração de raios-X em monocristal e os dados foram coletados no Laboratório de Cristalografia do Departamento de Física da UFMG (LabCri), em parceria com a prof^a. Renata Diniz e a Doutora Jennifer Tavares Jacon Freitas do Departamento de Química da UFMG. Utilizou-se o difratômetro Xcalibur, Atlas, Gemini. A integração de dados e o escalonamento das reflexões dos compostos foram

feitos utilizando o programa CrysAlis⁴⁰ e correções de absorção analítica⁴¹ empregando o programa CrysAlis suíte. As estruturas dos compostos foram resolvidas utilizando programa SHELXS.⁴² Os refinamentos foram realizados utilizando o programa SHELXL.⁴³ Todos os átomos com exceção dos hidrogênios foram refinados anisotropicamente. Os átomos de hidrogênio foram adicionados às estruturas dos compostos em posições geometricamente idealizadas e refinadas. O programa Mercury⁴⁴ foi utilizado na preparação das figuras. As análises supramoleculares e a determinação das interações intermoleculares foram feitas com a ajuda do programa Platon.⁴⁵

2.2. Sínteses de ligantes e complexos

2.2.1. Sínteses das tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.

Foram preparadas *meta*-nitrobenzaldeidotiossemicarbazona (**HL1**), *para*-nitrobenzaldeidotiossemicarbazona (**HL2**) *meta*-nitroacetofenonatossemicarbazona (**HL3**) e *para*-nitroacetofenonatossemicarbazona (**HL4**) (Figura 2.1).



HL1: R₁ = *m*-NO₂ e R₂ = -H ; **HL2:** R₁ = *p*-NO₂ e R₂ = -H
HL3: R₁ = *m*-NO₂ e R₂ = -CH₃ ; **HL4:** R₁ = *p*-NO₂ e R₂ = -CH₃

Figura 2.1 – Esquema de síntese das tiossemicarbazonas **HL1-HL4**.

As tiossemicarbazonas foram obtidas a partir da reação entre quantidades equimolares (1 mmol) da tiossemicarbazida desejada e 3-nitrobenzaldeído, 4-nitrobenzaldeído, 3-nitroacetofenona ou 4-nitroacetofenona, em álcool metílico seco, sendo necessária a adição de

⁴⁰ O. CrysAlis PRO: Agilent Technologies (2014). Agilent Technologies UK Ltd., UK, Xcalibur/ CCD system, CrysAlis PRO Software system, Version 1.171.37.34.

⁴¹ R. C. Clark, J. S. Reid. *Acta Crystallogr.*, 51 (1995) 887-897.

⁴² G.M. Sheldrick, SHELXS-97, Program for the Solution of Crystal Structures, University of Göttingen, Germany, 1997.

⁴³ G. M. Sheldrick, SHELXL-97, Program for Crystal Structure Refinement, University of Göttingen, Germany, 1997.

⁴⁴ C. F. Macrae, P. R. Edgington, P. McCabe, E. Pidcock, G. P. Shields, R. Taylor, M. Towler, J. Van De Streek. *J. Appl. Crystallogr.*, 39 (2006) 453-457.

⁴⁵ A. L. Spek. *J. Appl. Crystallogr.*, 36 (2003) 7-13.

três gotas de ácido acético glacial como catalisador. A mistura permaneceu em refluxo por 12 horas. Depois que a mistura reacional foi resfriada à temperatura ambiente, o sólido obtido foi filtrado e lavado com metanol e éter etílico, ambos gelados. Em seguida, o sólido foi secado em um dessecador. Os ligantes foram caracterizados por espectroscopia de RMN de (^1H e ^{13}C) e infravermelho, confirmando a identidade descrita na literatura para esta família de compostos.⁴⁶

2.2.2. Síntese de derivados de 1-Amino-3,5-dimetiladamantina

2.2.2.1. Síntese de ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (HL5).

O composto (Figura 2.2) foi obtido a partir da adição de quantidades equimolares (1 mmol) de cloridrato de 1-amino-3,5-dimetiladamantina e salicilaldeído, em diclorometano, adicionando-se trietilamina em uma relação 1:1 com os precursores. A mistura foi colocada em refluxo por 6 horas, seguido por 18 h de agitação à temperatura ambiente. A seguir o volume da mistura foi reduzido, adicionou-se hexano/éter e a mistura foi resfriada na geladeira por 12 h. Transcorrido o tempo, foi filtrado o precursor cloridrato de 1-amino-3,5-dimetiladamantina que não reagiu, e do sobrenadante se obteve o produto líquido de cor amarelo e denso. Ele foi secado a pressão reduzida e caracterizado por espectroscopia de RMN e infravermelho.

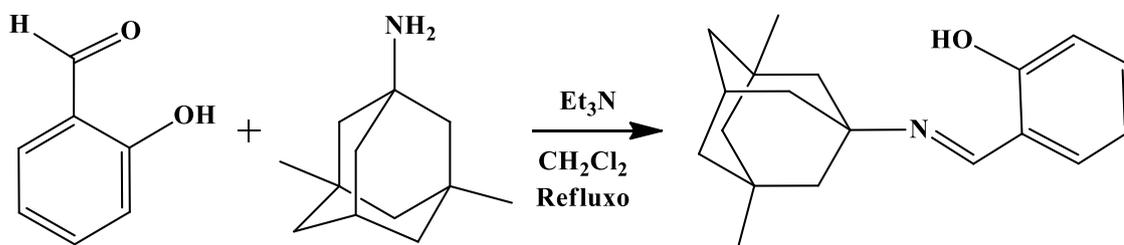


Figura 2.2 – Esquema de síntese HL5.

2.2.2.2. Síntese de N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (L6).

O composto foi obtido a partir da adição de quantidades equimolares (1 mmol) de 1-amino-3,5-dimetiladamantina desprotonada* com 2-piridina carboxaldeído em diclorometano. A mistura foi colocada em refluxo por 6 horas e acompanhada por cromatografia de camada delgada. Depois de 24 horas foi reduzido o volume da mistura, acrescentou-se hexano/éter e a mistura foi resfriada na geladeira por 12 h. Transcorrido o tempo, filtrou-se o precursor 1-amino-3,5-dimetiladamantina que não havia reagido, e o solvente foi reduzido. O líquido obtido de cor âmbar é denso e foi secado à pressão reduzida e protegido da luz. O composto foi

⁴⁶ M.A.S. Aslam, S. Mahmood, M. Shahid, A. Saeed, J. Iqbal. *Eur. J. Med. Chem.*, 46 (2011) 5473-5479.

caracterizado por espectroscopia de RMN e infravermelho e análise de difração raios-X de monocristal (Figura 2.3).

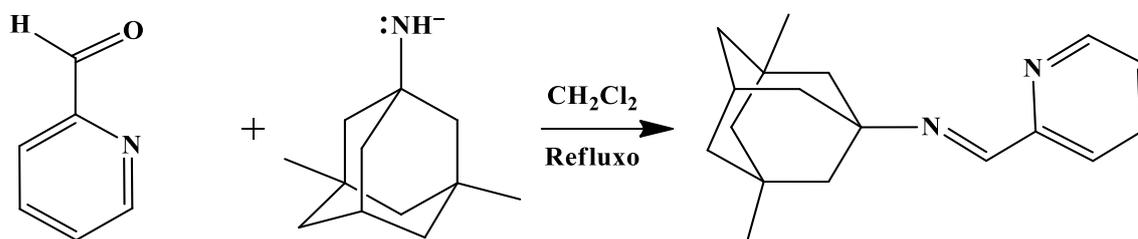


Figura 2.3 – Esquema de síntese de **L6**.

*Para a desprotonação do cloridrato de 1-amino-3,5-dimetiladamantina (ou cloridrato de memantina), se partiu de 500 mg de cloridrato de 1-amino-3,5-dimetiladamantina que foram dissolvidos em 10 mL de água com adição de NaOH_{cons} até saturar a solução e formar duas fases no meio. Com uma extração líquido-líquido (água-diclorometano) foram separadas as fases e foi isolada a 1-amino-3,5-dimetiladamantina no solvente orgânico.

2.2.3. Síntese de 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**)

O composto 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**) foi sintetizado em duas fases. Inicialmente 3-(alquilsulfanil)-1,2,4-triazina foi obtida a partir da adição de quantidades equimolares (55 mmol) de tiosemicarbazida e iodopropano, em um balão com etanol. A mistura foi colocada em refluxo por 5 horas e a seguir o volume da solução foi reduzido. Após, se agregou uma solução aquosa previamente preparada de glioxal a 40% e bicarbonato de sódio, mantendo uma relação 1:1. Esta mescla foi mantida com agitação a $T < 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 horas e a $T = \text{ambiente}$ por mais 12 h. Transcorrido o tempo, o produto foi isolado através de uma extração líquido-líquido (água-clorofórmio) e purificado com uma coluna de sílica.

Com 3-(alquilsulfanil)-1,2,4-triazina se preparou uma solução aquosa com um excesso de KCN e se manteve em agitação por 2 h. Passado este tempo, o produto final foi separado com uma extração líquido-líquido (água-acetato de etila) e purificado em uma coluna de sílica. O composto 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**) (Figura 2.4), foi caracterizado por temperatura de fusão, e seus espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e infravermelho, confirmando a identidade descrita na literatura.⁴⁷

⁴⁷ L. Xue, D. Shi, J.R. Harjani, F. Huang, J.G. Beveridge, T. Dingjan, K. Ban, S. Diab, S. Duffy, L. Lucantoni, S. Fletcher, F.C.K. Chiu, S. Blundell, K. Ellis, S.A. Ralph, G. Wirjanata, S. Teguh, R. Noviyanti, M. Chavchich, D. Creek, R.N. Price, J. Marfurt, S.A. Charman, M.E. Cuellar, J.M. Strasser, J.L. Dahlin, M.A. Walters, M.D. Edstein, V.M. Avery, J.B. Baell. *J. Med. Chem.*, 62 (2019) 2485-2498.

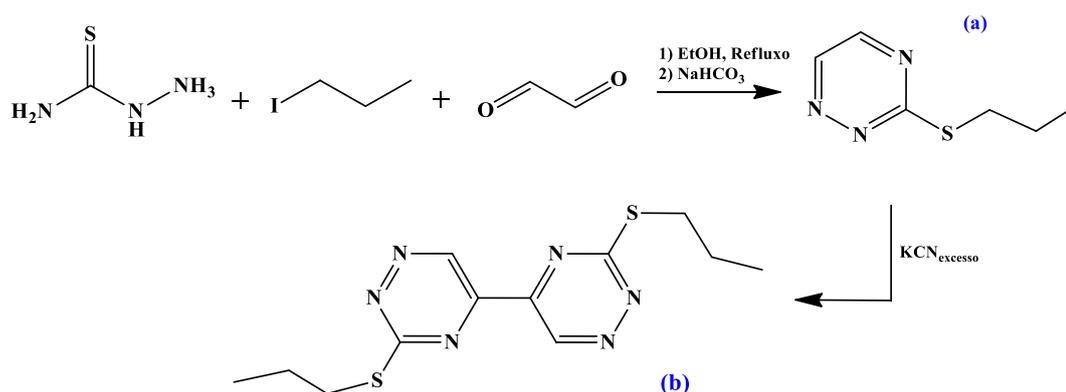


Figura 2.4 – Esquema de sínteses dos compostos: 3-(alquilsulfanil)-1,2,4-triazina (a), e 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (L7) (b).

2.2.4. Sínteses dos complexos de bismuto(III) com nitro-tiossemicarbazonas

Foram preparados quatro novos complexos de bismuto(III): [(*bis*(*meta*-nitrobenzaldeídotossemicarbazonato)(cloro)bismuto(III)] [Bi(L1)₂Cl] (**1**), [(*bis*(*para*-nitrobenzaldeídotossemicarbazona(tricloro)bismuto(III)] [Bi(HL2)₂Cl₃] (**2**), [*bis*(*meta*-nitroacetofenonatossemicarbazona)(tricloro)bismuto(III)] [Bi(HL3)₂Cl₃] (**3**) e [*bis*(*para*-nitroacetofenonatossemicarbazonato)(cloro)bismuto(III)] [Bi(L4)₂Cl] (**4**).

Os complexos de bismuto(III) foram obtidos a partir da adição de quantidades equimolares (1 mmol) da tiossemicarbazona desejada (**HL1**, **HL2**, **HL3** e **HL4**) e do cloreto de bismuto(III) em metanol seco (Figura 2.5).

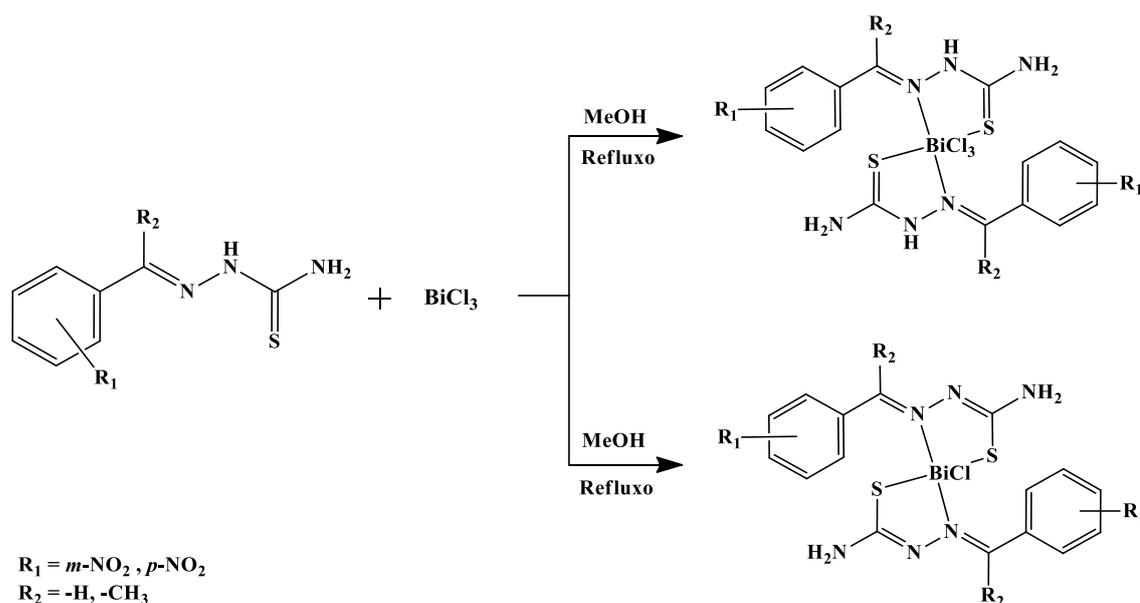


Figura 2.5 – Esquema de síntese dos complexos de bismuto(III).

A mistura foi submetida a refluxo e agitação por 4 horas. Decorrido este período, os precipitados amarelos formados foram isolados por filtração a pressão reduzida e lavados com metanol e éter etílico, todos gelados. Em seguida, os sólidos foram secados em dessecador.

Os compostos foram caracterizados por temperatura de fusão, análise elementar, medidas de condutimetria, e por seus espectros de infravermelho e RMN de ^1H , ^{13}C , DEPT-135, COSY e HMQC.

2.2.5. Síntese do complexo de paládio(II) com 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina

O complexo $[(3,3'\text{-bis(propilsulfanil)-5,5'\text{-bi-1,2,4-triazin)}(\text{dicloro})\text{paládio(II)}]$ $[\text{Pd}(\text{L7})\text{Cl}_2]$ (**5**) (Figura 2.6) foi obtido por meio da reação entre 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**) e tetracloropaldato(II) de potássio em uma relação 2:1 em metanol/acetona (1:1).

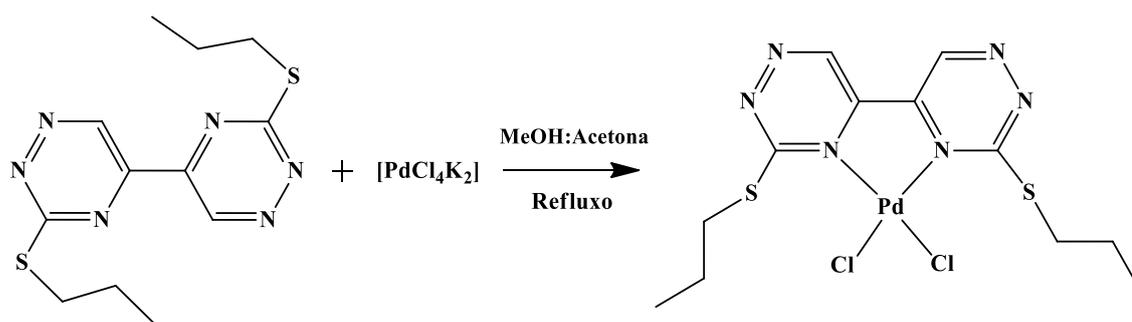


Figura 2.6 – Esquema de síntese do complexo de paládio (II) (**5**)

A mistura foi submetida a refluxo e agitação por 4 horas. Decorrido esse período, o precipitado formado de cor amarela foi isolado por filtração a pressão reduzida e lavado com metanol e éter etílico, todos gelados. Em seguida, o sólido foi secado em dessecador. O composto foi caracterizado por temperatura de fusão, análise elementar, medidas de condutimetria, e por seus espectros de RMN de ^1H e infravermelho.

2.2.6. Síntese do complexo de platina(II) com 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina

O complexo cloreto de $[\text{bis}(3,3'\text{-bis(propilsulfanil)-5,5'\text{-bi-1,2,4-triazin)}\text{platina(II)}]$ $[\text{Pt}(\text{L7})_2]\cdot 2\text{Cl}$ (**6**) (Figura 2.7) foi obtido por meio da reação entre 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**) e tetracloroplatinato(II) de potássio em uma relação 1:1 em metanol/acetona (1:1).

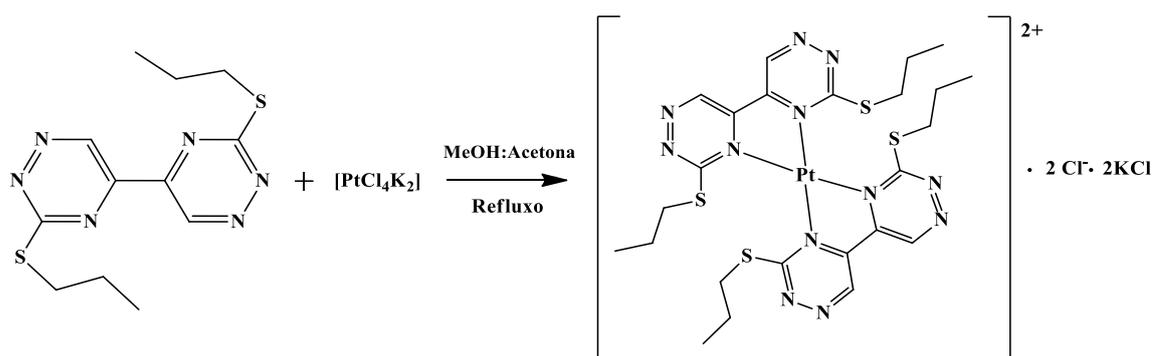


Figura 2.7 - Esquema de síntese do complexo de platina (II) (6)

A mistura foi submetida a refluxo e agitação por 4 horas. Decorrido este período, o precipitado de cor roxa formado foi isolado por filtração a pressão reduzida e lavado com metanol e éter etílico, todos gelados. Em seguida, o sólido foi secado em dessecador. O composto foi caracterizado por temperatura de fusão, análise elementar, medidas de condutimetria, e seus espectros de RMN de 1H , ^{13}C , ^{195}Pt e infravermelho.

2.3. Testes biológicos

2.3.1. Avaliações da atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição⁴⁸

2.3.1.1. Materiais e equipamentos

O cultivo e a manipulação dos micro-organismos foram efetuados em capela de fluxo laminar (Capela VECO, modelo JLF 912, série FL 5799). Os materiais utilizados na manipulação dos micro-organismos foram autoclavados em autoclave vertical Fanen, modelo 415/3, série J03610. As transferências de pequenas quantidades de soluções líquidas, assim como as diluições, foram feitas por meio de micropipetas automáticas Digipet de 5 – 50 μL , série 05012635; Finnpiquette Colour 4027, Lab systems de 200 – 1000 μL , série E19971 e Kacil de 100 μL , série 0037201. Os testes com bactérias e fungos utilizaram incubação em estufa Quimis Q 316.12, série 807.131. A leitura da absorvância dos ensaios biológicos, realizados em microplacas foi feita em leitora ELISA (Thermoplate, modelo: TP-READER).

⁴⁸ I.P. Ferreira. Tese de Doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais. 2013.

2.3.1.2. Micro-organismos testados e meios de culturas

Para estudar a atividade antibacteriana e antifúngica dos compostos, foram utilizadas cepas das coleções ATCC (*American Type Culture Collection*, USA), CBS (*College of Biological Sciences*, USA), CCT (*Coleção de Culturas Tropical* (Brasil)), NRRL (*ARS Culture Collection* (NRRL, USA)) e LABB (Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios Departamento de Química, UFMG). Os micro-organismos testados foram: **Bacterias Gram-positivas:** *Bacillus cereus* (ATCC 11778); *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). **Bacterias Gram-negativas:** *Escherichia coli* (ATCC 25723); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); e **Fungos não filamentosos:** *Candida dubliniensis* (isolado clínico 28); *Candida glabrata* (ATCC 90030); *Candida tropicalis* (ATCC 750).

A avaliação das atividades dos compostos foi realizada pelo método da microdiluição, empregando placas de 96 poços e como o meio líquido BHI – infuso de cérebro e coração (Himedia) para as bactérias e SBD – caldo Sabouraud (Sigma-Aldrich) para as leveduras.

2.3.1.3. Preparo das soluções estoque dos compostos

Utilizaram-se soluções estoque dos compostos em DMSO com concentração de 6,25 mg.mL⁻¹.

2.3.1.4. Soluções de trabalho

As soluções de trabalho foram preparadas ao diluir 40 µL da solução estoque em 960 µL de meio de BHI para as bactérias e SBD para as leveduras.

2.3.1.5. Preparações dos inóculos

Na preparação dos inóculos as cepas foram incubadas por 24 h a 35 °C em meio de BHI para as bactérias e SBD para as leveduras. A turvação foi ajustada em 74 – 75% de transmitância em um comprimento de onda de 600 nm.

2.3.1.6. Triagem microbiológica ⁴⁹

Na avaliação da atividade antimicrobiana foi feita previamente uma triagem conforme o procedimento descrito no item 2.3.1.7. A atividade foi avaliada em uma concentração fixa de 50 µg.mL⁻¹.

⁴⁹A.S. Zacchino, M.P. Gupta. Corpus Editorial y Distribuidora Rosario (2007) 99.

2.3.1.7. Preparações das microplacas

- **Avaliação da atividade dos compostos**

Foram adicionados 100 µL da solução de trabalho nos poços e, a seguir, adicionaram-se 100 µL da solução do inóculo padronizada (item 2.3.1.3). Realizou-se o experimento em quadruplicata para cada composto.

- **Controle dos complexos**

Foram adicionados 100 µL da solução trabalho nos poços e, a seguir, acrescentaram-se 100 µL de água destilada estéril.

- **Controle do crescimento dos microrganismos**

Foram adicionados 100 µL do meio de cultura (BHI ou SBD) nos poços e, a seguir, foram adicionados 100 µL do inóculo dos microrganismos.

- **Controle do meio de cultura**

Para o controle da esterilidade do meio de cultura, foram adicionados 100 µL do meio de cultura (BHI ou SBD) nos poços e, a seguir, foram adicionados 100 µL de água destilada estéril. As microplacas foram incubadas a 37 °C durante 48 horas. Realizaram-se leituras em uma leitora ELISA no comprimento de onda fixo de 490 nm com 24 h e 48 h para os testes de atividade antibacteriana.

- **Cálculo da percentagem de inibição**

A percentagem de inibição foi calculada pela seguinte relação:

$$\% \text{ inibição} = 100 - (EC - CC) \times 100 / (CH - CM)$$

Onde: EC é a absorbância dos compostos avaliados; CC é a absorbância do composto controle em água; CH é a absorbância da solução contendo o microrganismo em ágar e CM é a absorbância do meio de cultura.

2.3.2. Avaliação da atividade citotóxica contra células HT-29 (normóxia e hipóxia) e HEK-293 (normóxia)

Os ensaios de atividade citotóxica foram realizados no Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG em parceria com Prof^a. Elaine Maria de Souza-Fagundes, do Departamento de Fisiologia, UFMG.

As células de carcinoma colorretal (HT-29) e rim embrionário humano (HEK-293) foram mantidas em meio DMEM (Sigma Aldrich, EUA) com soro fetal a 10% (GIBCO BRL, Grand Island, NY) e enriquecidas com solução antibiótica a 1% (100 UI/mL de penicilina e 100

$\mu\text{g/mL}$ de estreptomicina (GIBCO BRL, Grand Island, NY). A atividade citotóxica foi baseada na taxa de redução mitocondrial de 3-(4-brometo de 5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) em cristais de formazan.¹⁴⁵ Resumidamente, as células HT-29 e HEK-293 foram plaqueadas na densidade de 5×10^3 células por poço (placa de 96 poços) e pré-incubadas durante a noite para estabilização em condições de hipóxia (1% O₂, 5% CO₂, 94% N₂ a 37 °C) e normóxia (5% de CO₂, 95% de ar atmosférico a 37°C), conforme descrito por Harrison *et al.*⁵⁰ Após a estabilização, todas as células foram incubadas com os compostos e o controle positivo tirapazamina (TPZ) por 72 h, utilizando sete diluições em série (100 - 0,0064 μM), sob condições de hipóxia e normóxia. O IC₅₀ (concentração inibitória de 50% de proliferação celular) foi calculado por regressão não linear usando o software GraphPad Prism Versão 5.01 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA).

Todos os compostos foram testados em quatro experimentos independentes realizados em triplicata e o solvente DMSO 0,5% foi usado como controle. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão da média da porcentagem de viabilidade em relação ao controle negativo (DMSO, 0,5%).

⁵⁰ L.R. Harrison, D. Micha, M. Brandenburg, K.L. Simpson, C.J. Morrow, O. Denny, C. Hodgkinson, Z. Yunus, C. Dempsey, D. Roberts, F. Blackhall, G. Makin, C. Dive, *J. Clin. Invest.*, 121 (2011) 1075-1087.

Capítulo 3.

Complexos de bismuto(III) de tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona

As tiossemicarbazonas apresentam uma ampla gama de aplicações terapêuticas^{51,52} e a coordenação desses compostos a metais, em muitos casos, resulta em aumento significativo das atividades farmacológicas.^{53,54}

Compostos à base de bismuto já são utilizados no tratamento de doenças do trato gastrointestinal e de infecções causadas pela bactéria *Helicobacter pylori*⁵⁵ e contra outros micro-organismos, e também exibiram ação citotóxica contra células tumorais.⁵⁶

Sendo assim, tiossemicarbazonas contendo o grupo farmacológico nitro foram obtidas, assim como seus complexos de bismuto(III), os quais foram avaliados quanto às suas atividade antimicrobiana e antineoplásica.

3.1. Caracterização dos complexos de bismuto(III) de tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.

As sínteses das tiossemicarbazonas já foram descritas pelo nosso grupo de pesquisa.⁵⁷ As sínteses dos complexos foram realizadas de acordo o procedimento descrito no Capítulo 2, seção 2.2.4. Os complexos obtidos foram testados para determinar sua atividade antimicrobiana frente a bactérias aeróbicas e fungos leveduriformes, e suas atividades citotóxicas em linhagens de células tumorais e sadias foram avaliadas.

3.1.1. Análises dos complexos de bismuto(III) de tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.

Na tabela 3.1 apresentam-se os dados da análise elementar e as medidas de condutimetria que sugerem a formação de quatro complexos inéditos de bismuto(III):

⁵¹ N.P. Prajapati, H.D. Patel. *Synth. Commun.*, 49 (2019) 2767-2804.

⁵² J. Wahbeh, S. Milkowski. *Slas Technol.*, 24 (2019) 161-168.

⁵³ D. Rogolino, A. Cavazzoni, A. Gatti, M. Tegoni, G. Pelosi, V. Verdolino, C. Fumarola, D. Cretella, P.G. Petronini, M. Carcelli. *Eur. J. Med. Chem.*, 128 (2017) 140-153.

⁵⁴ J. Xu, T. Zhou, Z. Xu, X. Gu, W. Wu, H. Chen, Y. Wang, L. Jia, T. Zhu, R. Chen. *J. Mol. Struct.*, 1128 (2017) 448-454.

⁵⁵ G.G. Briand, N. Burford. *Chem. Rev.*, 99 (1999) 2601.

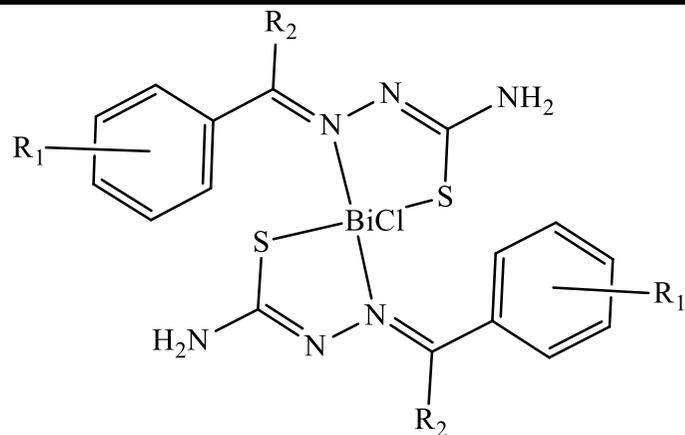
⁵⁶ I.P. Ferreira, E.D.L. Piló, A.A. Recio-Despaigne, J.G. Da Silva, J.P. Ramos, L.B. Marques, P.H.D.M. Prazeres, J.A. Takahashi, E.M. Souza-Fagundes, W. Rocha, H. Beraldo. *Bioorg. Med. Chem.*, 24 (2016) 2988-2998.

⁵⁷ A.A. Oliveira, A.P.A. Oliveira, L.L. Franco, M.O. Ferencs, J. Ferreira, S. Bachi, N.L. Speziali, L.M. Farias, P.P. Magalhaes, H. Beraldo. *Biometals.*, 31 (2018) 571-584.

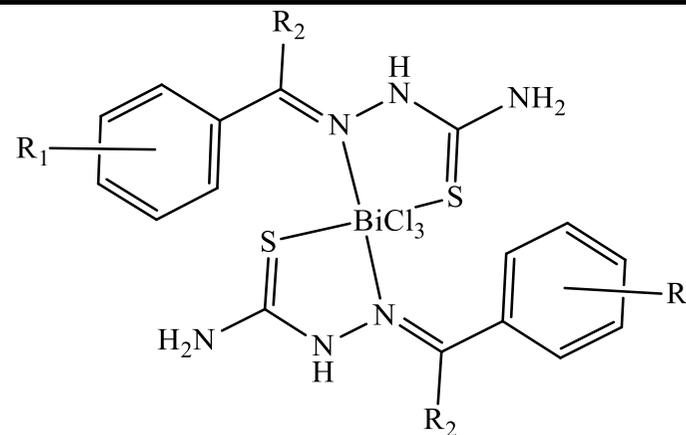
[[*bis*(*meta*-nitrobenzaldeídotossemicarbazonato)(cloro)bismuto(III)] [Bi(L1)₂Cl] (**1**),
[[*bis*(*para*-nitrobenzaldeídotossemicarbazona(tricloro)bismuto(III) [Bi(HL2)₂Cl₃] (**2**),
[[*bis*(*meta*-nitroacetofenonatossemicarbazona)(tricloro)bismuto(III)] [Bi(HL3)₂Cl₃] (**3**) e
[[*bis*(*para*-nitroacetofenonatossemicarbazonato)(cloro)bismuto(III) [Bi(L4)₂Cl] (**4**) com *meta*-
nitrobenzaldeídotossemicarbazona (**HL1**), *para*-nitrobenzaldeídotossemicarbazona (**HL2**),
meta-nitroacetofenonatossemicarbazona (**HL3**) e *para*-nitroacetofenonatossemicarbazona
(**HL4**).

Tabela 3.1 – Fórmula molecular, massa molar (M), temperatura de decomposição (T de dec. °C), análise elementar de C, H e N, condutividade (Λ_M) e rendimento da reação (Rend.) para os complexos de bismuto(III) com tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.

Compostos	Fórmula molecular	Aspecto	M (g.mol ⁻¹)	T de dec. (°C)	Análise elementar*			Λ_M (cm ² Ω ⁻¹ mol ⁻¹)	Rend. (%)
					%C	%H	%N		
[Bi(L1) ₂ Cl] (1)	C ₁₆ H ₁₄ N ₈ ClBiS ₂ O ₄	Pó amarelo	690,891	182,0	28,12(27,82)	1,73(2,04)	16,12(16,22)	6,85	65,5
[Bi(HL2) ₂ Cl ₃] (2)	C ₁₆ H ₁₆ N ₈ Cl ₃ BiS ₂ O ₄	Pó amarelo	763,813	183,4	24,94(25,16)	2,10(2,11)	14,34(14,67)	10,08	56,3
[Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3)	C ₁₈ H ₂₀ N ₈ Cl ₃ BiS ₂ O ₄	Pó amarelo	791,867	181,4	27,42(27,30)	2,70(2,55)	13,92(14,15)	14,30	58,8
[Bi(L4) ₂ Cl] (4)	C ₁₈ H ₁₈ N ₈ ClBiS ₂ O ₄	Pó amarelo	718,945	192,4	29,53(30,07)	2,12(2,52)	15,10(15,59)	10,05	69,8



(1) R₁ = *m*-NO₂; R₂ = H (4) R₁ = *p*-NO₂; R₂ = CH₃



(2) R₁ = *p*-NO₂; R₂ = H (3) R₁ = *m*-NO₂; R₂ = CH₃

*Experimental, (Calculado)

3.1.2. Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) dos complexos de bismuto(III) foram obtidos em pastilhas de KBr e as atribuições baseadas em comparações com os espectros dos ligantes. As principais bandas de vibrações analisadas nos espectros foram: $\nu(\text{N-H})$, $\nu(\text{C=N})$, $\nu(\text{C=S})$, e $\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}(\text{NO}_2)$, Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Principais bandas dos espectros de infravermelho (cm^{-1}) dos complexos de bismuto(III) e tiossemicarbazona derivadas nitrobenzaldeído e nitroacetofenona.

Composto	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C=N})$	$\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}(\text{NO}_2)$	$\nu(\text{C=S})$
HL1	3396	1524	1472 / 1348	820
[Bi(L1) ₂ Cl] (1)	3414	1532	1480 / 1348	812
HL2	3492	1580	1452 / 1342	820
[Bi(HL2) ₂ Cl ₃] (2)	3398	1594	1412 / 1344	804
HL3	3406	1504	1434 / 1348	810
[Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3)	3404	1522	1480 / 1364	766
HL4	3480	1506	1448 / 1340	838
[Bi(L4) ₂ Cl] (4)	3476	1516	1490 / 1338	828

Nos espectros de infravermelho das tiossemicarbazonas livres as bandas atribuídas ao estiramento $\nu(\text{N-H})$ encontram-se em 3492 – 3396 cm^{-1} . Nos complexos (**1-4**) esta absorção foi observada em 3480 – 3398 cm^{-1} .

A vibração correspondente a $\nu(\text{C=S})$ foi observada em 838 – 810 cm^{-1} , nos espectros das tiossemicarbazonas livres. Nos espectros do IV dos complexos de bismuto(III) observam-se deslocamentos para 828 – 766 cm^{-1} , sugerindo a coordenação através do enxofre. Ao serem comparadas as bandas atribuídas aos estiramentos $\nu(\text{C=N})$, na região de 1580 – 1504 cm^{-1} nos espectros dos ligantes, são observados deslocamentos para 1594 – 1516 cm^{-1} nos complexos. Assim, é possível sugerir que as tiossemicarbazonas estão ligadas ao bismuto(III) através do sistema quelante $\text{N}_{\text{imina}}\text{-S}$.^{58,59} Na Figura 3.1 são mostrados os espectros de *meta*-nitroacetofenonattiossemicarbazona (**HL3**) e seu complexo [Bi(HL3)₂Cl₃] (**3**), na região do infravermelho entre 4000 – 400 cm^{-1} .

⁵⁸ D.C. Reis, A.A.R. Despaigne, J.G. Da Silva, N.F. Silva, C.F. Vilela, I.C. Mendes, J.A. Takahashi, H. Beraldo. *Molecules.*, 18 (2013) 12645-12662.

⁵⁹ A.D. Khalaji, E. Shahsavani, N. Feizi, M. Kucerakova, M. Dusek, R. Mazandarani, C.R. *Chimie.*, 20 (2017) 534-539.

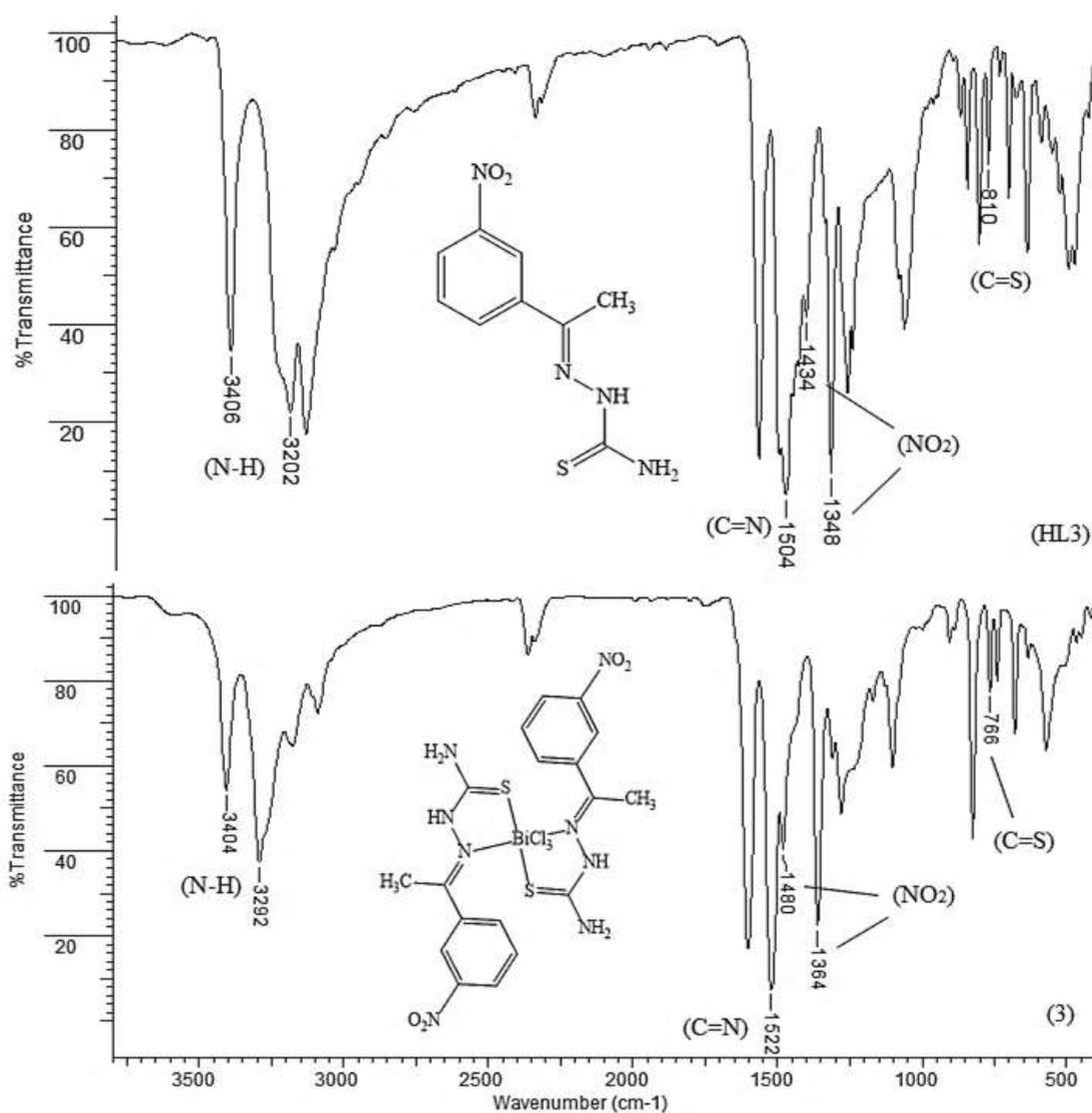


Figura 3.1 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante **HL3** e do complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**).

3.1.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

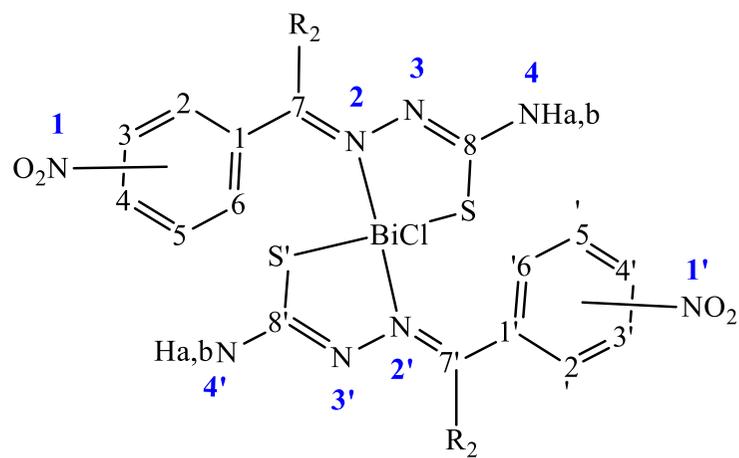
Nos espectros de RMN de ^1H , os sinais foram atribuídos usando como base o deslocamento químico, multiplicidade e a correlação homonuclear COSY. Os sinais de RMN de ^{13}C foram atribuídos utilizando o DEPT-135 para determinar o deslocamento químico e tipo de carbono, e suas atribuições foram feitas também com o auxílio de RMN bidimensional heteronuclear HMQC. Os espectros foram obtidos em $\text{DMF-}d_7$ e $\text{DMSO-}d_6$. Neste último, os complexos apresentaram maior solubilidade.

Os principais sinais atribuídos nos espectros de RMN de ^1H dos complexos bismuto(III) e das tiossemicarbazonas livres encontram-se listados nas Tabela 3.3.

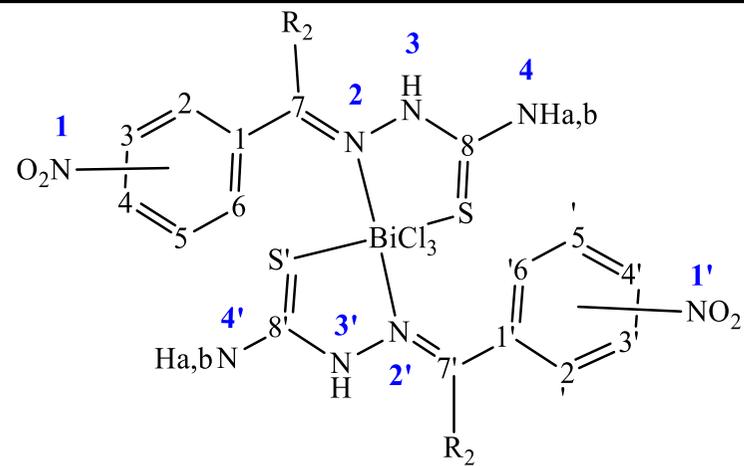
Tabela 3.3 – Atribuição de número de hidrogênios (N°), deslocamento químico δ (ppm), multiplicidade (M)* dos principais sinais de RMN de ^1H (400 MHz) das tiossemicarbazonas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona e seus complexos de bismuto(III) em DMSO- d_6 .

Atribuição	N°	HL1	(1)	HL2	(2)	HL3	(3)	HL4	(4)
N3-H	1	11,62 (s)	11,61 (s)	11,71 (s)	11,69 (s)	10,40 (s)	10,37 (s)	10,47 (s)	10,43 (s)
N4-H _{a,b}	2	8,32 (s)	8,31 (d) (J = 5,66 MHz)	8,41 (s) 8,24 (s)	8,39 (s) 8,24 (s)	8,44 (s) 8,23 (s)	8,37 (s) 8,13 (s)	8,47 (s) 8,17 (d†) (J = 8,86 MHz)	8,44 (s) 8,13 (s)
H2	1	8,65 (m)	8,65 (s)	8,02 (d) (J = 8,96 MHz)	8,09 (d) (J = 8,87 MHz)	8,60 (m)	8,60 (m)	8,17 (d†) (J = 8,86 MHz)	8,18 (d†) (J = 9,15 MHz)
H6	1	8,24 (d) (J = 7,57 MHz)	8,24 (d) (J = 7,76 MHz)	8,02 (d) (J = 8,96 MHz)	8,09 (d) (J = 8,87 MHz)	8,40 (s)	8,42 (d) (J = 7,95 MHz)	8,17 (d†) (J = 8,86 MHz)	8,18 (d†) (J = 9,15 MHz)
H7	1	8,14 (s)	8,15 (s)	8,11 (s)	8,12 (s)	–	–	–	–
H4	1	8,24 – 8,16 (m)	8,21 (dd) (J = 8,12 / 1,79 MHz)	–	–	8,18 (s)	8,21 (dd) (J = 8,08 / 1,45 MHz)	–	–
H5	1	7,68 (dd†) (J = 7,9 MHz)	7,68 (dd†) (J = 7,9 MHz)	8,22 (d) (J = 8,92 MHz)	8,22 (d) (J = 8,86 MHz)	7,66 (dd†) (J = 7,98 / 8,05 MHz)	7,68 (dd†) (J = 8,04 MHz)	8,23 (d†) (J = 9,43 MHz)	8,22 (d†) (J = 9,16 MHz)
H3	1	–	–	8,22 (d) (J = 8,92 MHz)	8,22 (d) (J = 8,87 MHz)	–	–	8,23 (d†) (J = 9,43 MHz)	8,22 (d†) (J = 9,16 MHz)

* = (s) singlete; (d) dublete; (dd) duplo dublete; (m) multiplete; (†) largo; (–) Ausência do sinal.



(1) *m*- NO_2 ; $\text{R}_2=\text{H}$ (4) *p*- NO_2 ; $\text{R}_2=\text{CH}_3$



(2) *p*- NO_2 ; $\text{R}_2=\text{H}$ (3) *m*- NO_2 ; $\text{R}_2=\text{CH}_3$

No caso das nitro-tiossemicarbazonas foi verificada a pureza através dos espectros de RMN de ^1H , onde foram observados os sinais característicos dos ligantes, como os hidrogênios aromáticos e aqueles hidrogênios provenientes da tiossemicarbazida.

A família de ligantes tem a tendência de formar equilíbrio tautomérico entre as formas tiona/tiol.⁶⁰ No caso dos compostos estudados no presente trabalho a configuração tiol interage com o anel nitro substituído, formando estruturas de ressonância aromáticas que conferem estabilidade (Figura 3.2). A coordenação ao bismuto(III) não acarreta grandes variações na densidade eletrônica, o que poderia se refletir na semelhança entre os espectros das nitro-tiossemicarbazonas e os complexos de bismuto(III) (Tabela 3.3).

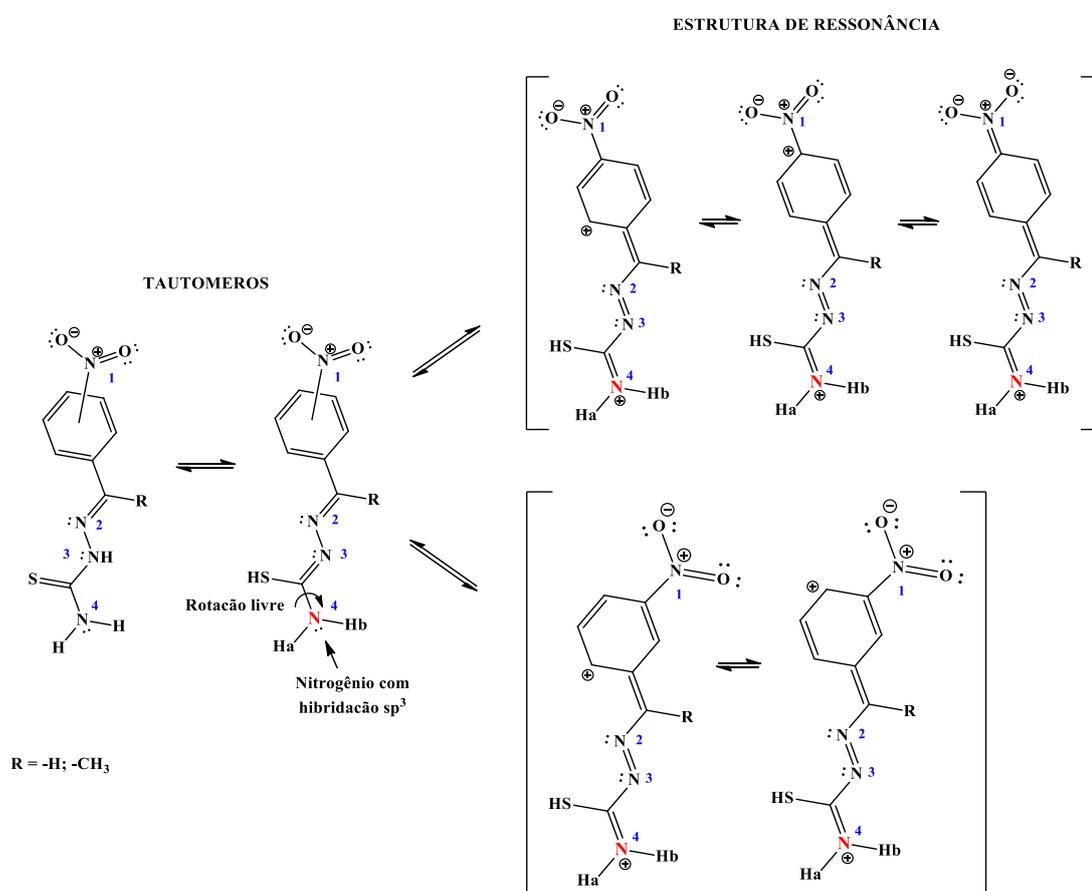


Figura 3.2 – Formas tautoméricas tiona-tiol do ligante e as estruturas de ressonância quando o grupo $-\text{NO}_2$ esta em posição *para*- (acima) ou *meta*- (embaixo).

Apesar de haver poucas diferenças entre os espectros de ligantes e complexos foi possível observar um padrão nos complexos que nos permite afirmar que não ocorre

⁶⁰ R.P. Tenório, A.J.S. Góes, J.G. de Lima, A.R. de Faria, A.J. Alves, T.M.d. Aquino. *Quim. Nova.*, 28 (2005) 1030-1037.

descomplexação em solução. Este padrão depende da localização do grupo nitro no anel aromático (*para*- ou *meta*-).

Nos complexos (2) e (4), onde o grupo nitro está em posição *para*- não há diferença no deslocamento químico de ^1H nem ^{13}C em relação ao ligante. O fenômeno ocorre pela estabilidade do ligante quando forma um sistema conjugado desde o grupo $-\text{NO}_2$ até $-\text{N}4-\text{H}_{a,b}$ (Figura 3.3). Este sistema não é perturbado ao formar os complexos, mas a maior rigidez da molécula do complexo define melhor os sinais nos espectros de ^1H RMN.

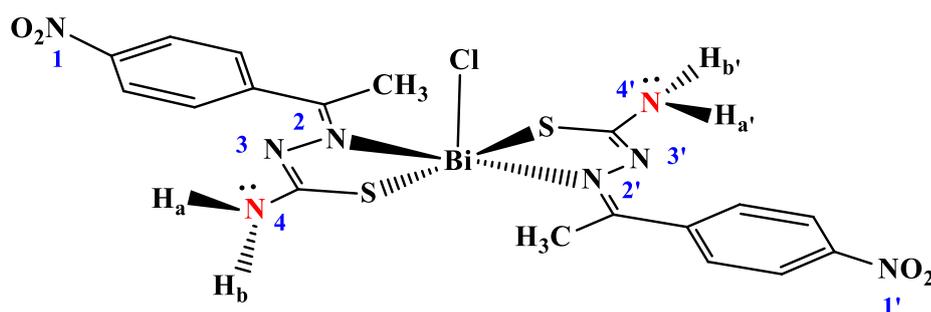


Figura 3.3 – Visão espacial do complexo $[\text{Bi}(p\text{-L4})_2\text{Cl}]$ (4).

Para os complexos (1) e (3), onde o grupo nitro está em posição *meta*- foi possível observar diferenças especialmente no deslocamento do sinal $-\text{N}4-\text{H}_{a,b}$. Nos espectros dos ligantes livres os prótons da amina aparecem sobrepostas em 8,32 ppm no caso de **HL1**, e separados em 8,44 e 4,23 ppm no caso de **HL3**.

Nos complexos a rotação dos hidrogênios fica restrita: primeiro pela rigidez do enlace de coordenação com o bismuto; e segundo pela participação do par de elétrons livres da amina na estrutura de ressonância da tiossemicarbazona (Figura 3.4). Todas essas condições geram uma diferença magnética nos prótons $-\text{N}4-\text{H}_a$ e $-\text{N}4-\text{H}_b$ visível nos espectros na figura 3.5, onde se pode observar para o complexo (1) um duplete em 8,31 ppm e para o complexo (3) um deslocamento dos dois singletos para 8,37 e 8,13 ppm.

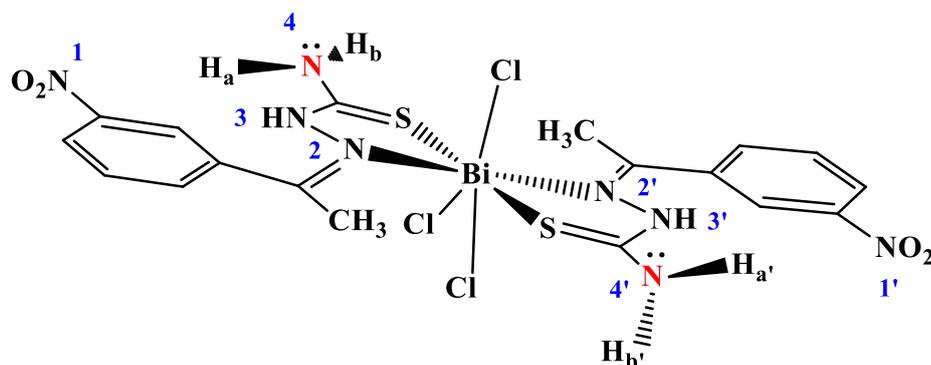


Figura 3.4 – Visão espacial do complexo $[\text{Bi}(m\text{-HL3})_2\text{Cl}_3]$ (3).

Além disso, nos espectros de RMN de ^1H dos complexos é possível observar um singlete que foi atribuído ao N3–H, mostrando que não ocorre a desprotonação do nitrogênio N3–H após a coordenação no caso dos complexos (2) e (3). Este sinal do próton da imina pode-se observar nos espectros dos complexos (1) e (4), sugerindo a possível re-protonação do N3 por efeito do solvente hidratado.⁶¹ Os sinais de hidrogênio N3–H são observados entre 10,40 – 11,71 ppm no ligante livre, e sofreram um mínimo deslocamentos para 10,37 – 11,69 ppm em alguns dos complexos.⁶²

Na Figura 3.5 apresentam-se o espectro de RMN de ^1H do ligante *m*-nitro-tiossemicarbazona **HL3** e os espectros de RMN de ^1H e de correlação homonuclear COSY de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (3).

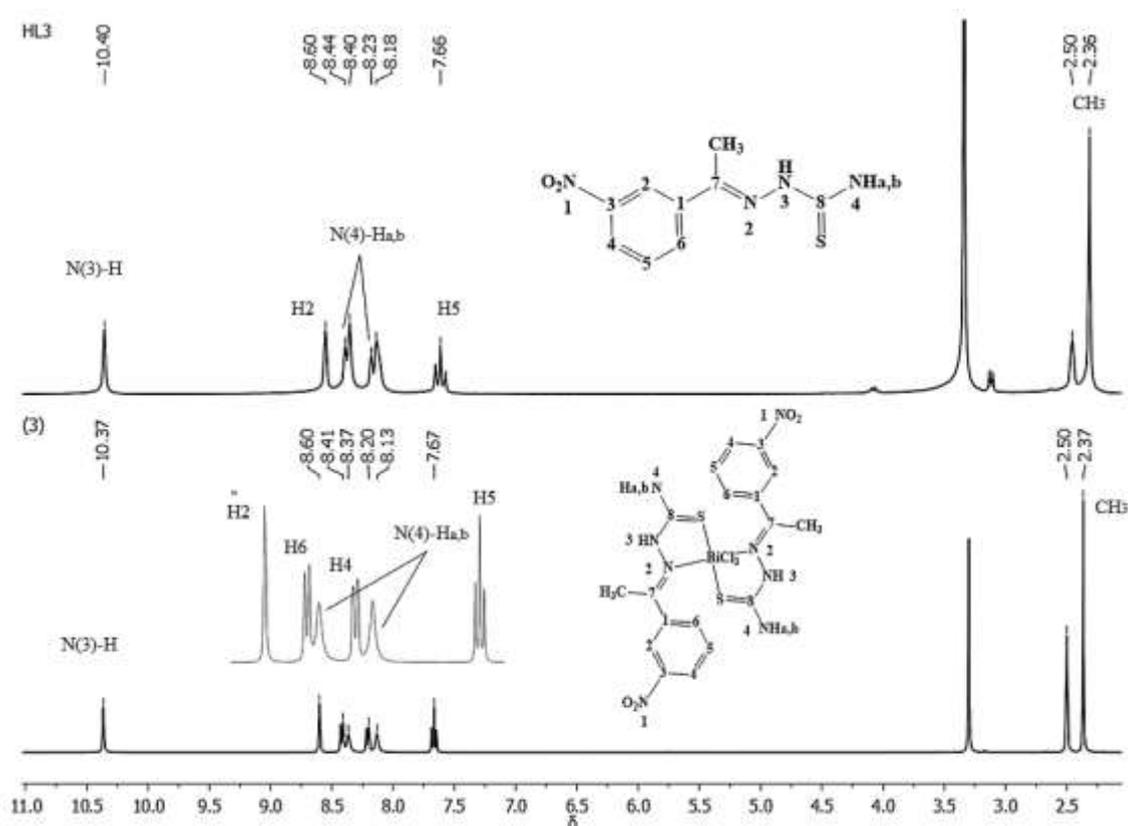


Figura 3.5 – Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL3** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (3) em $\text{DMSO}-d_6$.

⁶¹ A.A. Recio Despaigne, J.G.D. Silva, A.C.M.d. Carmo, O.E. Piro, E.E. Castellano, H. Beraldo. *Inorg. Chim. Acta.*, 362 (2009) 2117-2122.

⁶² N.V. Loginova, T.V. Kovalchuk, A.T. Gres, N.P. Osipovich, G.L. Polozov, Y.S. Halauko, Y.V. Faletrov, H.I. Harbatsevich, A.V. Hlushko, I.I. Azarko, Y.V. Bokshits. *Polyhedron.*, 88 (2015) 125-137.

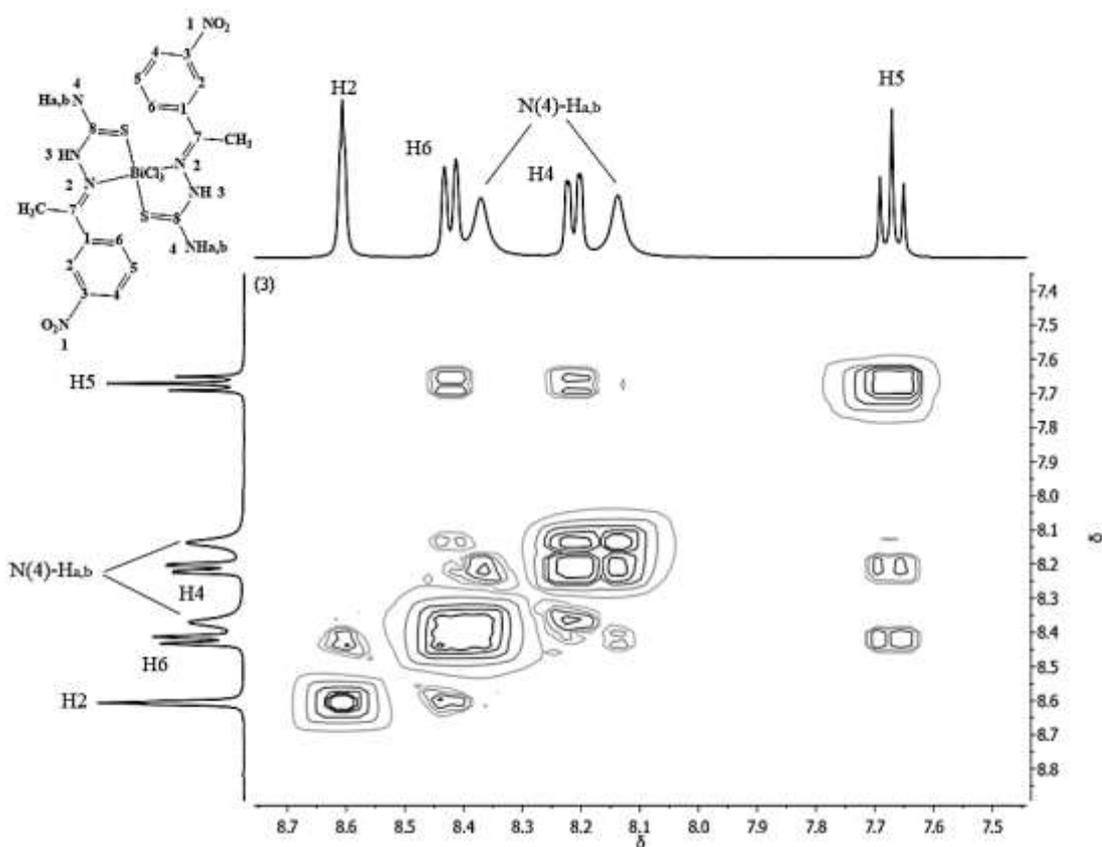
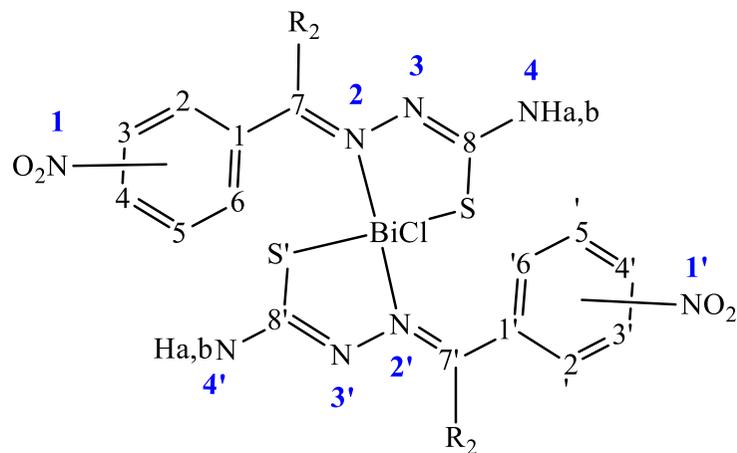


Figura 3.6 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}3)_2\text{Cl}_3]$ (3) (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$.

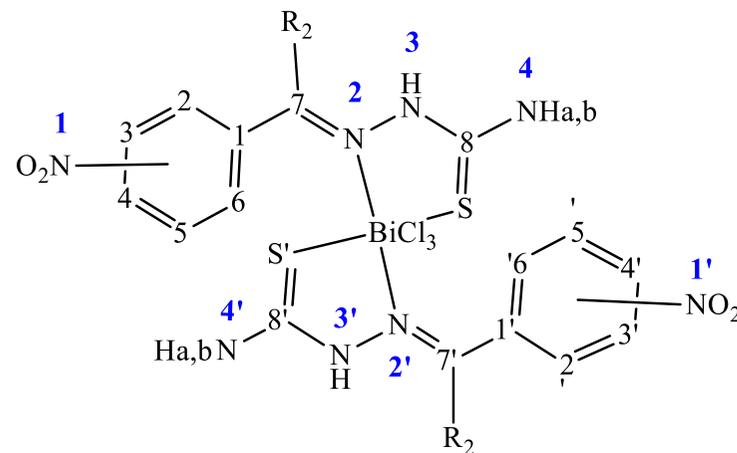
Os principais sinais atribuídos nos espectros de RMN de ^{13}C dos complexos de bismuto(III) e tiossemicarbazonas livres encontram-se listados nas Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C (400 MHz) das tiossemicarbazonas derivadas do nitrobenzaldeído e nitroacetofenona e seus complexos de bismuto(III) em $\text{DMSO-}d_6$.

Atribuição	HL1	(1)	HL2	(2)	HL3	(3)	HL4	(4)
C2	121,36	121,36	128,16	128,16	121,02	120,96	123,23	123,20
C6	133,52	133,52	128,16	128,16	132,96	132,89	123,23	123,20
C7	139,94	139,93	139,55	139,55	148,20	148,18	145,25	145,26
C8	178,31	178,32	178,49	178,49	179,20	179,19	179,30	179,30
CH_3	–	–	–	–	14,08	14,02	13,91	13,89
C4	123,92	123,92	147,59	147,59	123,60	123,57	147,39	147,39
C5	130,11	130,11	123,77	123,77	129,71	129,66	127,72	127,70



(1) *m*- NO_2 ; $\text{R}_2=\text{H}$ (4) *p*- NO_2 ; $\text{R}_2=\text{CH}_3$



(2) *p*- NO_2 ; $\text{R}_2=\text{H}$ (3) *m*- NO_2 ; $\text{R}_2=\text{CH}_3$

– Ausência de sinal

Nos espectros de RMN de ^{13}C dos complexos (1-4) em $\text{DMSO-}d_6$, não foi observada variação significativa ao comparar com os sinais das tiossemicarbazonas livres, o que é um comportamento que pode acontecer com os complexos de bismuto(III), já que se trata de um metal representativo, que deve fazer ligações fracas com a tiossemicarbazona, principalmente quando o ligante estiver na forma neutra, em que existe um enxofre de tiona.

A Figura 3.7 apresenta os espectros de RMN de ^{13}C do ligante *m*-nitrotiossemicarbazona **HL3** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**) e os espectros de RMN de ^{13}C e HMQC de $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**) encontram-se na Figura 3.8.

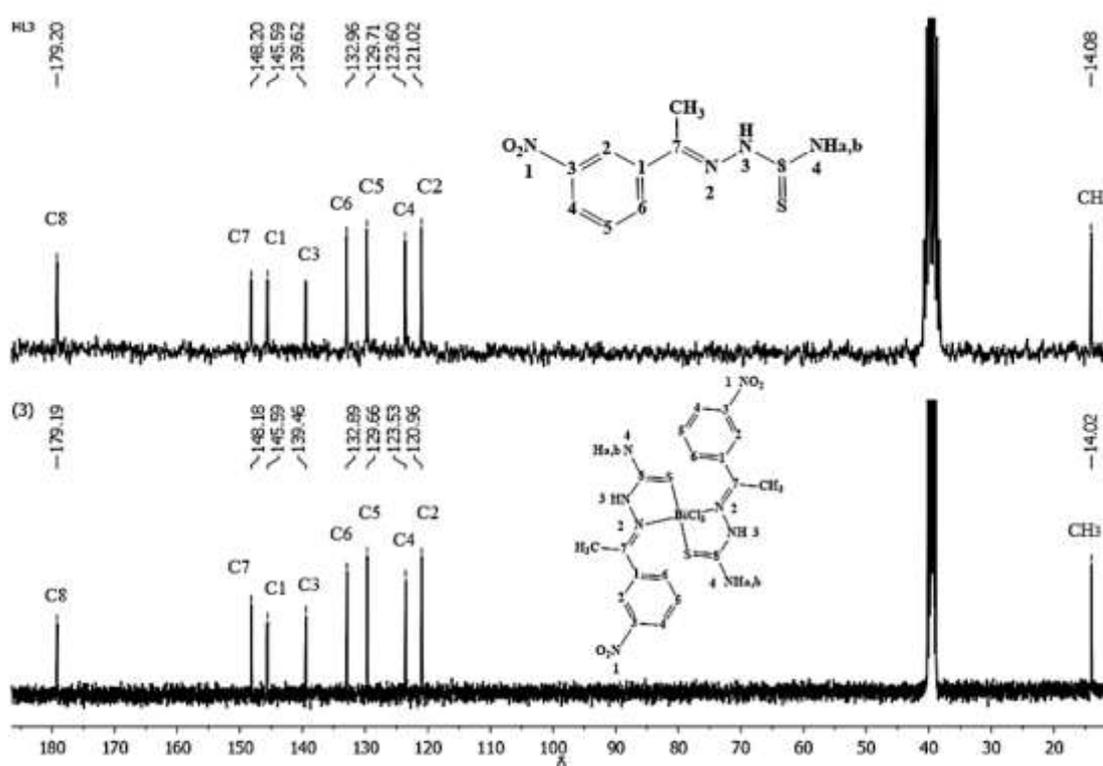


Figura 3.7 – Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) de **HL3** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**) em $\text{DMSO-}d_6$.

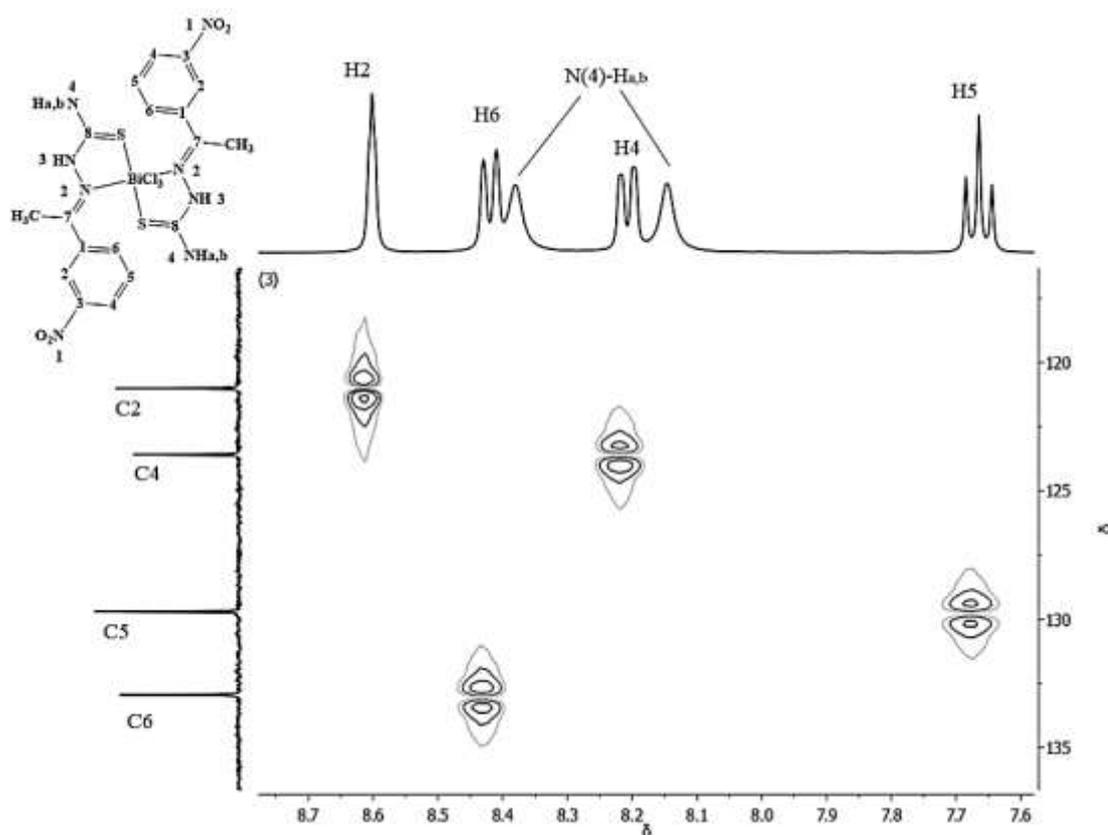


Figura 3.8 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo $[Bi(HL3)_2Cl_3]$ (3) (400Hz), em $DMSO-d_6$.

Os espectros de RMN de 1H de todos os complexos foram registrados também em $DMF-d_7$. O espectro do complexo $[Bi(L1)Cl_2]$ (1) mostrou pequena variação em relação ao do ligante livre na região dos prótons aromáticos (Figura 3.9 e 3.10), sugerindo que não haveria descomplexação. Em todos os outros casos os espectros dos complexos são iguais aos dos ligantes livres, indicando a re-protonação em DMF.

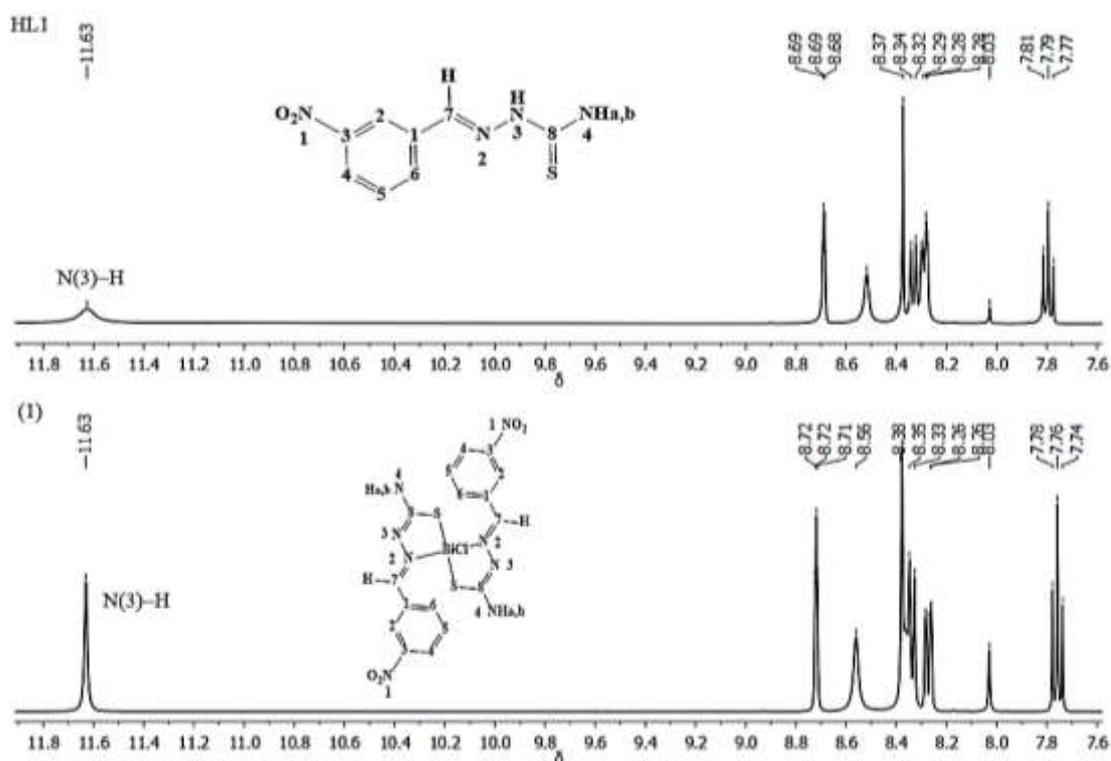


Figura 3.9 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL1** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (**1**) em $\text{DMF-}d_7$.

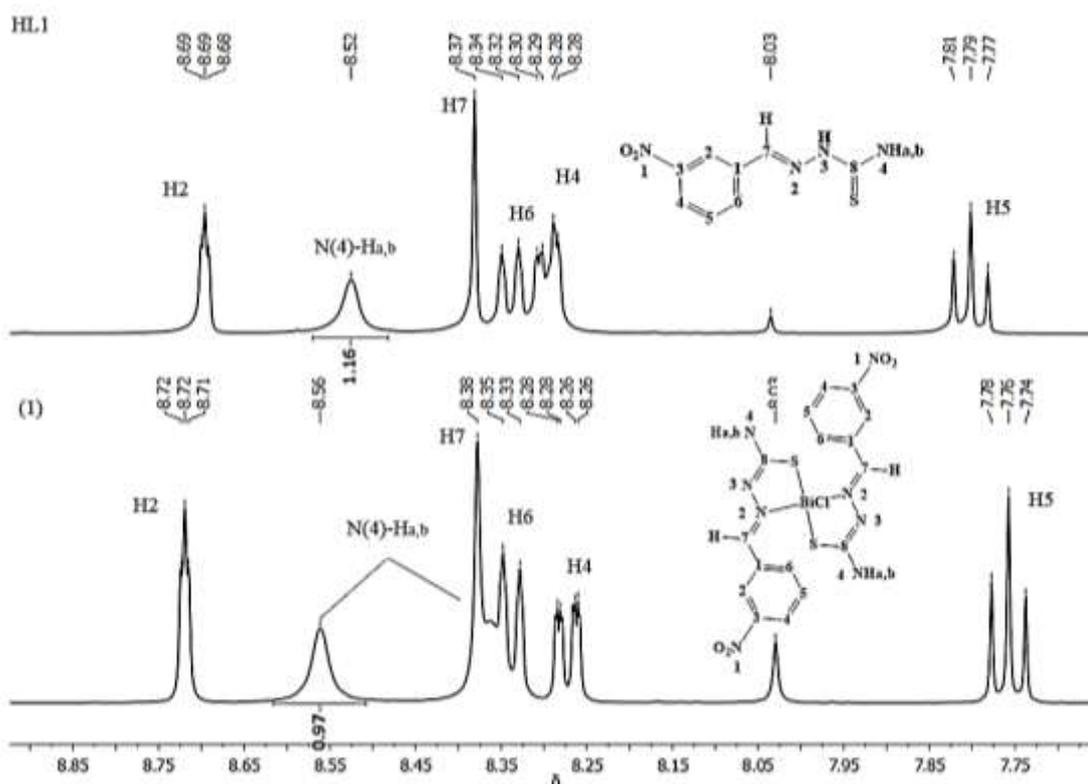


Figura 3.10 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL1** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (**1**) em $\text{DMF-}d_7$.

3.1.4. Estudo preliminar de estabilidade dos compostos por meio de espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os espectros no UV-Vis para os complexos de bismuto(III) em DMSO e uma solução 5% DMSO/Tris-HCl em pH 7,2 não apresentaram variações significativas com tempo, sugerindo que os complexos são estáveis. Haveria também a possibilidade de desmetalção imediata nesses solventes, mas os estudos eletroquímicos indicam que isso não deve ocorrer.

A Figura 3.11 mostra os espectros eletrônicos do complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**) ao longo do tempo em DMSO e a Figura 3.12 os espectros eletrônicos do complexo (**3**) em solução de 5% DMSO/Tris-HCl em pH 7,2.

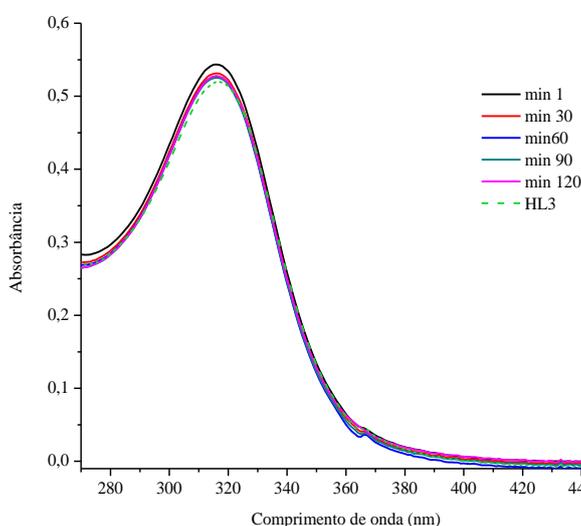


Figura 3.11 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO.

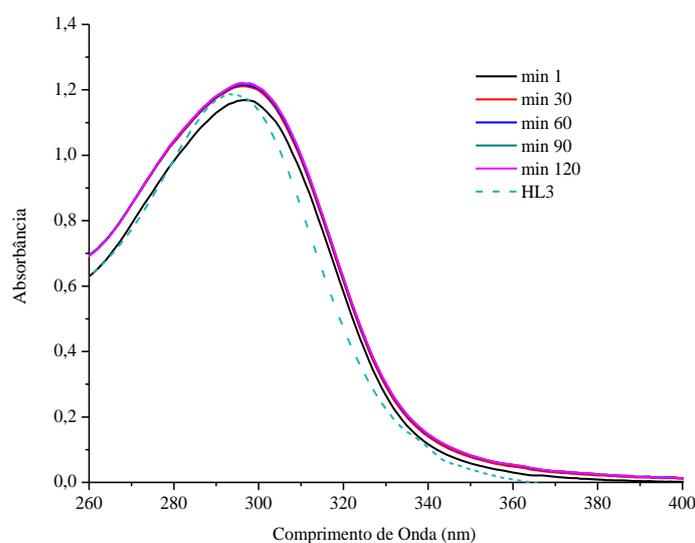


Figura 3.12 – Espectros eletrônicos com o tempo do complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.

3.1.5. Estudos eletroquímicos

3.1.5.1. Voltametria cíclica e de pulso

Estudos de voltametria cíclica foram realizados com os complexos de bismuto(III) em disco de eletrodo de platina. As medidas foram feitas usando $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutilamônio $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{ClO}_4]$ como eletrólito de suporte, em soluções de DMF ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). Os voltamogramas de todos os complexos são parecidos, e por essa razão serão apresentados apenas os voltamogramas cíclicos do ligante **HL3** e do complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**) a 250 mV.s^{-1} , de $-2,5$ a $2,0 \text{ V}$ (Figura 3.13), para mostrar o comportamento eletroquímico para essa série de complexos.

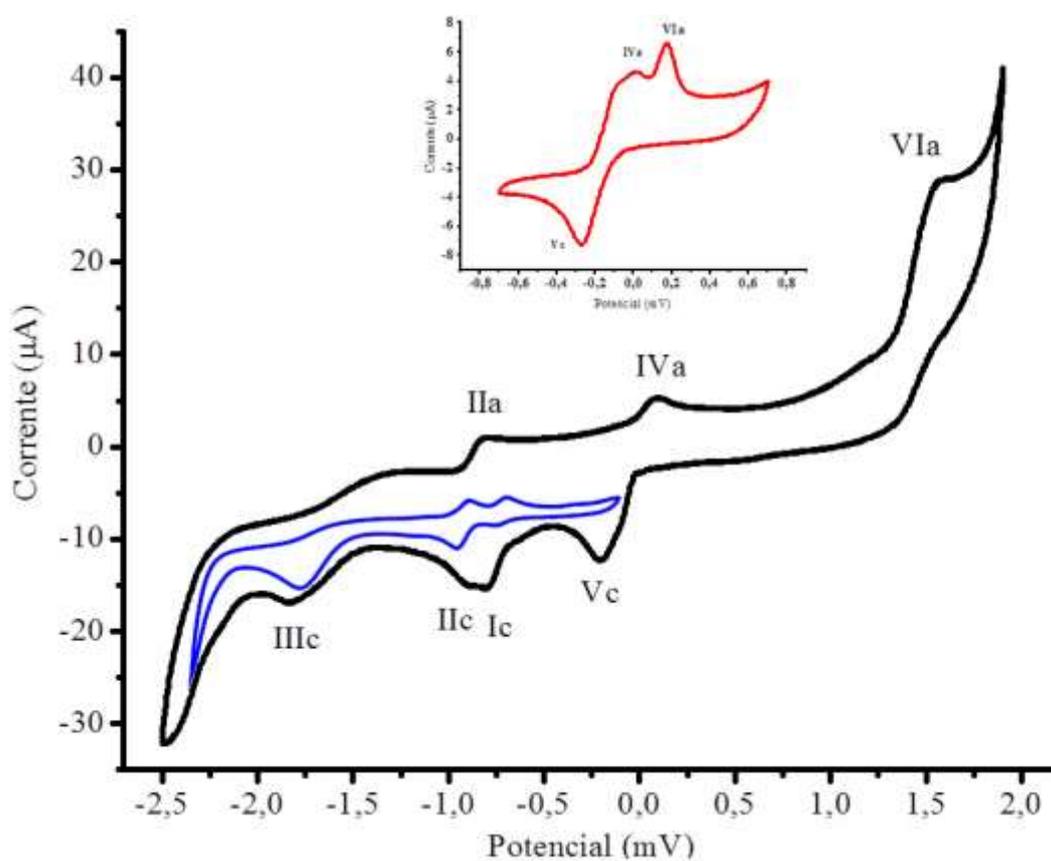
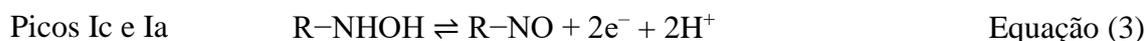
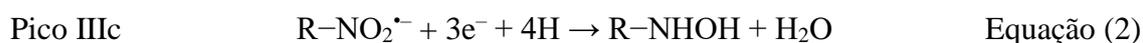


Figura 3.13 – Voltamograma do complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl , Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} . As regiões reduzidas mostram uma varredura do ligante **HL3** (em azul) e do sal de partida BiCl_3 (em vermelho).

Os voltamogramas cíclicos dos complexos apresentam alguns pares de picos anódicos e catódicos bem definidos que estão descritos na Tabela 3.5. Um dos principais pares de picos anódicos e catódicos corresponde à formação do anion radical nitro. A literatura mostra as relações entre ação biológica de compostos biorredutíveis e a viabilidade de redução, representada por E_{pc} (potencial de pico catódico). Daí a relevância dos estudos eletroquímicos.^{63,64}

Nos complexos de bismuto(III) foi identificado processo *quasi*-reversível como o par redox $R-NO_2/R-NO_2^{\cdot-}$ (picos IIc e IIa, Eq. 1) Além disso, esses complexos também apresentaram dois processos irreversíveis: o pico IIIc entre -2,25 e -1,25 V atribuído à redução do $R-NO_2^{\cdot-}/R-NHOH$ (Eq. 2); e o pico VIa entre 1,0 e 1,9 V atribuído às mudanças de estado de oxidação do bismuto ($IV \rightarrow V$) (Eq. 5).

Os pares de picos IIc/IIa e os picos IIIc, Ic, IVa, Vc e VIa são representados pelas Equações (1-5).



Para a identificação dos processos de mudanças de estado de oxidação do bismuto ($III \rightarrow IV$) (picos Vc e IVa na Eq. 4) e o processo do par redox $R-NHOH/R-NO$ (picos Ic e Ia Eq.3) foi necessário realizar voltametria de pulso para diminuir a taxa de varredura. Esta técnica conseguiu separar todos os processos que ocorrem na solução e especificamente na região de -1,0 e 0,5 mV (Figuras 3.14 e 3.15).

⁶³ F.C. de Abreu, F.S. de Paula, A.F. dos Santos, A.E.G. Sant'Ana, M.V. de Almeida, E.T. César, M.N. Trindade, M.O.F. Goulart. *Bioorg. Med. Chem.*, 9 (2001) 659-664.

⁶⁴ F.R. Paulai, S.H.S. Serrano, L.R. Tavares. *Quím. Nova.*, 32 (2009) 1013-1020.

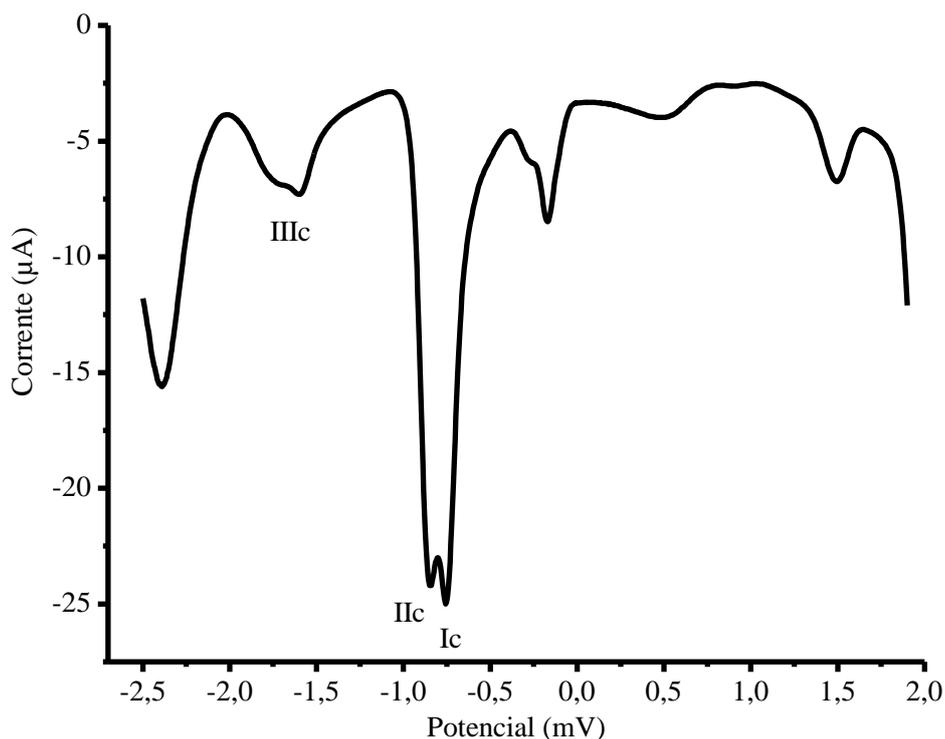


Figura 3.14 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}3)_2\text{Cl}_3]$ (**3**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV s^{-1} e 1,9 a -2,5 V.

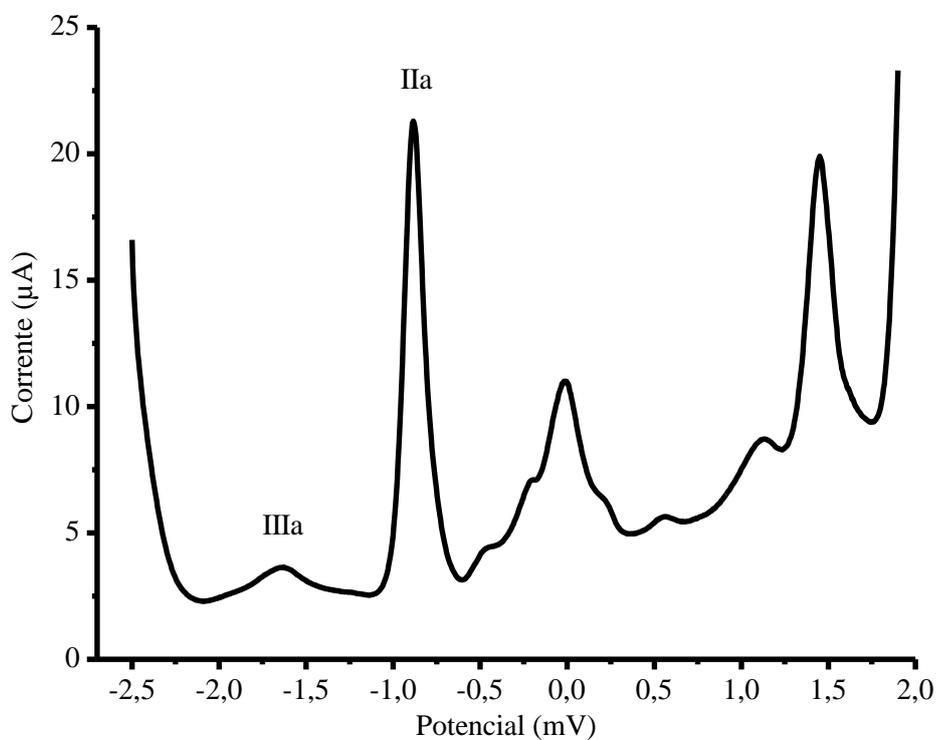


Figura 3.15 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}3)_2\text{Cl}_3]$ (**3**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV s^{-1} e -2,5 a 1,9 V.

A Tabela 3.5, mostra os valores de potenciais de pico catódico e anódico (E_{pa} e E_{pc}), variações de potenciais entre picos catódicos e anódicos [$\Delta E_p = (E_{pa} - E_{pc})$] e a corrente de pico I_{pa}/I_{pc} do processo *quasi*-reversível.

Os valores de potenciais de oxidação (E_{pIIc} e E_{pIIa}) dos complexos de bismuto(III) encontram-se na faixa de -2,0 a -0,5 V. Os ligantes livres também exibiram processos *quasi*-reversíveis estáveis bem definidos, condizentes com processos de transferência monoelétrica (sistema IIc/IIa) com E_{pIIc} em -0,87 mV, correspondente ao anion radical nitro estável ($R-NO_2^-$). Assim, os complexos apresentaram potenciais de redução quase iguais aos dos ligantes sugerindo que os ligantes e complexos poderiam ser reduzidos no ambiente intracelular.

Tabela 3.5 – Parâmetros da voltametria cíclica (DMF) correspondentes aos processos $R-NO_2/R-NO_2^-$, Bi^{III}/Bi^{IV} e Bi^{IV}/Bi^V vs. Ag/AgCl, Cl^- (3,0 M) eletrodo de referência, a $250\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Composto	$R-NO_2/R-NO_2^-$				Bi^{III}/Bi^{IV}			Bi^{IV}/Bi^V	
	EpIIc (V)	EpIIa (V)	ΔE_p (V)	IpIIa/IpIIc (V)	EpVc (V)	EpIVa (V)	ΔE_p (V)	Ep (V)	EpVIa (V)
HL1	-0,91	-0,83	0,08	0,41	–	–	–	*	–
[Bi(L1) ₂ Cl] (1)	-0,91	-0,85	0,06	*	-0,14	0,09	0,05	*	1,73
HL2	-0,88	-0,82	0,06	0,53	–	*	–	*	–
[Bi(HL2) ₂ Cl ₃] (2)	-0,80	-0,75	0,05	0,94	0,12	0,04	0,08	*	1,75
HL3	-0,94	-0,88	0,06	0,46	–	–	–	*	–
[Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3)	-0,87	-0,79	0,08	*	–	0,09	–	*	1,58
HL4	-0,88	-0,80	0,08	4,34	–	*	–	*	–
[Bi(L4) ₂ Cl] (4)	-0,96	-0,87	0,09	0,82	–	0,004	–	*	1,57
BiCl₃	–	–	–	–	-0,25	-0,09	0,16	*	0,19

.....* = Processos que não conseguimos identificar com a voltametria cíclica.

3.2. Avaliação da atividade antimicrobiana frente a bactérias aeróbicas, fungos leveduriformes e atividade citotóxica.

Foi realizada a triagem para as tiossemicarbazonas e seus complexos de bismuto(III), como descrito no Capítulo 2.3. A triagem foi utilizada como um teste preliminar para avaliar os efeitos dos complexos frente às bactérias *Gram*-positivas: *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus sanguinis*, bactérias *Gram*-negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* e frente aos fungos leveduriformes *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida lusitaniae*.

Os resultados da triagem mostraram que todos os complexos não apresentam atividades frente às bactérias *Gram*-negativas e *Gram*-positivas, pois apresentaram uma porcentagem inibitória do crescimento desses micro-organismos muito baixa na concentração de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Portanto, esses compostos não foram submetidos ao ensaio da Concentração Inibitória Mínima – CIM pelo método da microdiluição.

A atividade citotóxica das tiossemicarbazonas livres e de seus complexos de bismuto(III), foi testada frente à linhagem de carcinoma colorretal humano (HT-29) e células sadias de rim embrionário humano (HEK-293) em condições de normóxia e hipóxia. A Tabela 3.6 mostra os valores de % de inibição da proliferação celular dos ligantes e complexos de bismuto(III) a 20 μM e 100 μM . Os resultados dos testes mostraram que todos os ligantes e complexos foram inativos em normóxia e em hipóxia contra todas as células.

Tabela 3.6 – Atividade citotóxica (% de viabilidade) dos complexos de bismuto(III) frente as linhagem de carcinona colorretal humano (HT-29) e células sadias (HEK-293)

Compostos	Linhagem de célula HT-29				Célula sadia HEK-293	
	Normoxia		Hipoxia		Normoxia	
	20 μ M	100 μ M	20 μ M	100 μ M	20 μ M	100 μ M
HL1	97,7 \pm 13,0	85,1 \pm 11,3	97,5 \pm 18,0	86,7 \pm 8,3	99,7 \pm 4,6	90,6 \pm 6,6
[Bi(L1) ₂ Cl] (1)	98,5 \pm 7,5	87,2 \pm 1,4	107,2 \pm 9,4	86,0 \pm 12,6	93,1 \pm 3,2	71,5 \pm 9,2
HL2	90,23 \pm 10,0	95,5 \pm 9,5	90,8 \pm 22,9	97,4 \pm 4,6	89,9 \pm 9,5	104,0 \pm 8,9
[Bi(HL2) ₂ Cl ₃] (2)	103,2 \pm 7,0	109,0 \pm 12,5	114,3 \pm 24,9	102,3 \pm 7,2	88,7 \pm 8,1	78,1 \pm 16,4
HL3	91,1 \pm 10,9	78,3 \pm 8,3	89,1 \pm 20,5	81,8 \pm 10,0	91,9 \pm 10,9	79,2 \pm 19,1
[Bi(HL3) ₂ Cl ₃] (3)	84,5 \pm 3,3	77,3 \pm 2,0	96,8 \pm 25,1	83,3 \pm 7,4	82,7 \pm 13,3	66,2 \pm 12,5
HL4	82,0 \pm 2,0	84,7 \pm 4,0	93,1 \pm 2,5	91,6 \pm 12,1	88,2 \pm 10,7	114,4 \pm 7,4
[Bi(HL4) ₂ Cl] (4)	87,3 \pm 2,4	99,4 \pm 3,3	95,7 \pm 12,3	95,9 \pm 4,5	87,7 \pm 10,9	88,0 \pm 14,8

Capítulo 4.

Bases de Schiff derivadas de 1-Amino-3,5-dimetiladamantina e 2-hidroxibenzaldeído ou 2-piridina-carboxaldeído

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados experimentais da preparação e caracterização de novas bases de Schiff derivadas da 1-amino-3,5-dimetiladamantina (memantina) com 2-hidroxibenzaldeído (salicilaldeído) ou 2-piridina-carboxaldeído, além de um complexo de cobre(II). Dessa forma, foram obtidos ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**). Os ligantes foram desenhados de modo a funcionalizar a memantina, um medicamento usado no tratamento da Doença de Alzheimer, com um sistema quelante.

4.1. Caracterização dos compostos ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**).

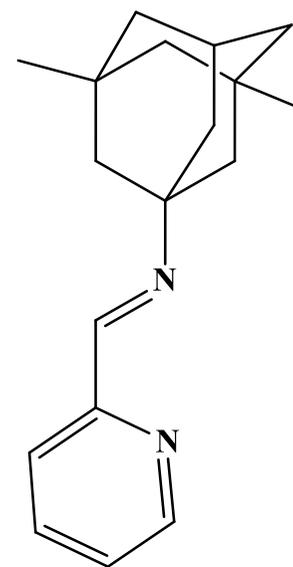
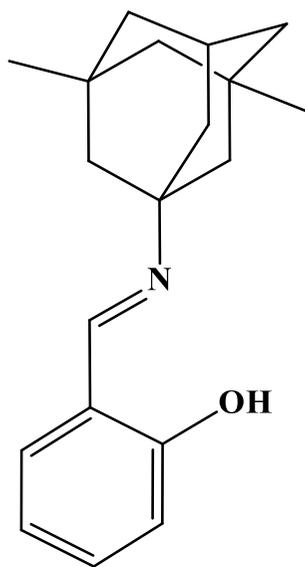
As sínteses dos compostos foram realizadas de acordo o procedimento descrito no Capítulo 2, seção 2.2.2, para os ligantes e o complexo, respectivamente. Os compostos foram caracterizados por análise elementar, faixas de fusão, espectroscopias no infravermelho e de RMN de ^1H , ^{13}C , COSY e HMQC.

4.1.1. Análises dos compostos ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**).

Os dados apresentados na tabela 4.1, para análise elementar sugerem a formação de dois compostos inéditos derivados da 1-Amino-3,5-dimetiladamantina: ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**).

Tabela 4.1 - Fórmula molecular, massa molar (M), temperatura de fusão (TF(°C)), análise elementar de C, H e N e rendimento (Rend.) dos compostos ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**).

Compostos	Aspecto	Fórmula molecular	M (g.mol ⁻¹)	T F (°C)	Análise elementar*			Rend. (%)
					%C	%H	%N	
HL5	Líquido amarelo	(C ₁₉ H ₂₅ NO)	283,41	–	80,59(80,52)	8,38(8,89)	4,96(4,94)	45,41
L6	Cristal âmbar	(C ₁₈ H ₂₄ N ₂)	268,40	43 – 45	80,15(80,55)	9,02(9,01)	10,29(10,44)	42,10



*Experimental, (Calculado) ; dec = Decomposição

4.1.2. Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) dos compostos **HL5** e **L6** foram obtidos com um acessório ATR para análises de amostras líquidas. As atribuições foram feitas baseadas em comparações com o espectro do precursor. As principais bandas de vibrações analisadas nos espectros foram: $\nu(\text{NH}_2)$, $\nu(\text{C}=\text{N})$, $\nu(\text{C}-\text{O})$ (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Principais bandas dos espectros de infravermelho (cm^{-1}) do precursor memantina, os compostos (**HL5**) e (**L6**).

Composto	$\nu_{\text{assim/sim}}(\text{NH}_2)$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}-\text{O})$
Memantina	3412 / 2746	–	–
HL5	–	1627	1280
L6	–	1644	–

Nos espectros do infravermelho as bandas atribuídas ao estiramento $\nu(\text{NH}_2)$ da memantina encontram-se em $3412 - 2746 \text{ cm}^{-1}$. Essas bandas desaparecem nos compostos **HL5** e **L6**, como foi esperado. As bandas atribuídas aos estiramentos $\nu(\text{C}=\text{N})$ foram observadas na região de $1644 - 1612 \text{ cm}^{-1}$ nos espectros dos novos compostos.

Na Figura 4.1 são mostrados os espectros na região do infravermelho da memantina e o composto **HL5** na região de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, enquanto a Figura 4.2 mostra a comparação dos espectros da memantina e o composto **L6** na região do infravermelho entre $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$.

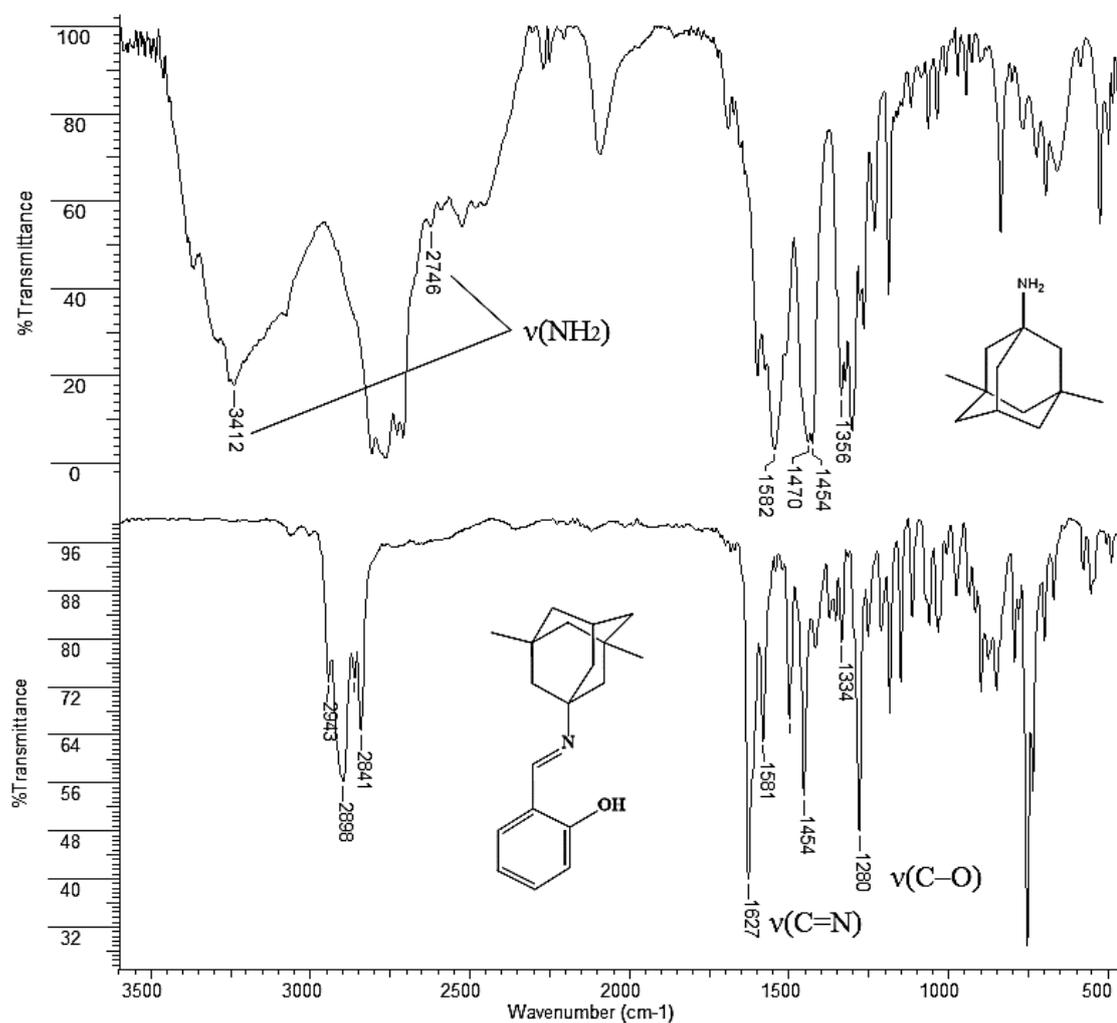


Figura 4.1 – Espectro vibracional na região do infravermelho do precursor memantina e o composto **HL5**.

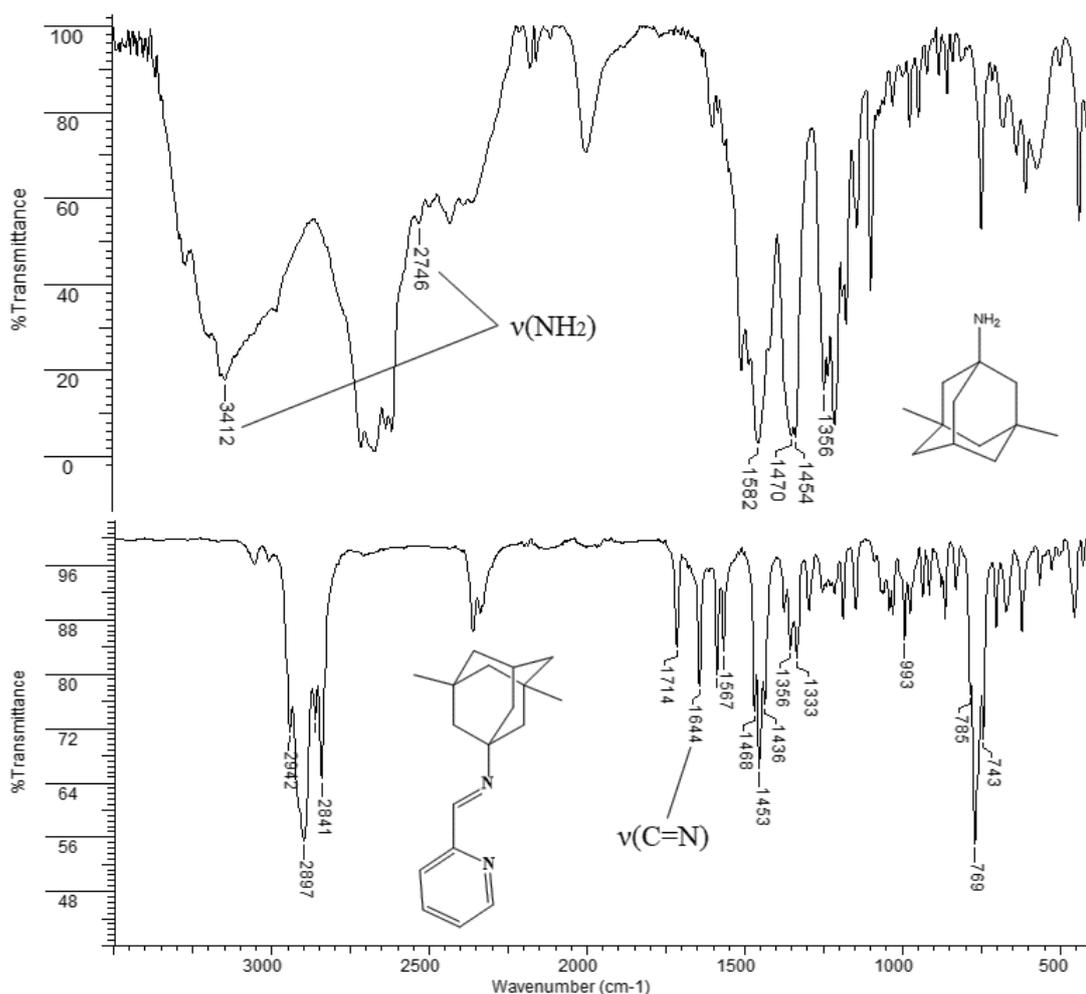


Figura 4.2 – Espectro vibracional na região do infravermelho do precursor memantina e o composto **L6**.

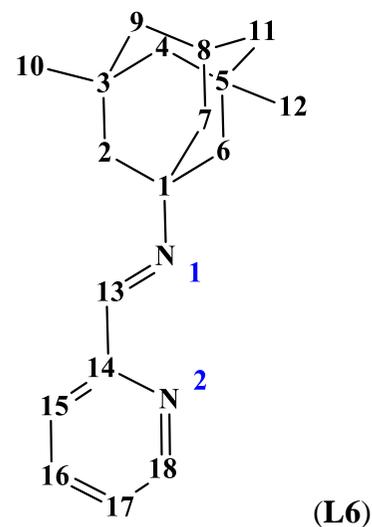
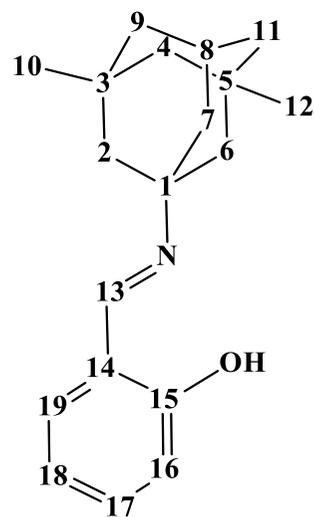
4.1.3. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Nos espectros de RMN de ^1H , os sinais foram atribuídos usando como base os deslocamentos químicos, multiplicidade e a correlação homonuclear COSY. Os sinais de RMN de ^{13}C foram atribuídos utilizando DEPT-135 para determinar o deslocamento químico e tipo de carbono (C, CH) e suas atribuições foram feitas com o auxílio de RMN bidimensional heteronuclear de HMQC. Todos os espectros foram obtidos em $\text{DMSO-}d_6$.

Os principais sinais atribuídos nos espectros de RMN de ^1H ((3,5-dimetil-1-iminoadamantina)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**) encontram-se listados nas Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Atribuição de número de hidrogênios (N°), deslocamento químico δ (ppm), multiplicidade (M)* dos principais sinais de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**).

Atribuição	N° de H	Memantina	HL5	L6
OH	1	–	14,35 (s)	–
NH ₂	2	8,13	–	–
H2/6	4	1,44 (q) (J = 11,6 Hz)	1,46 (t) (J = 12,4 Hz)	1,41 (t) (J = 9,2 Hz)
H7	2	1,64 (d) (J = 2,1 Hz)	1,64 (d) (J = 2,0 Hz)	1,60 (d) (J = 1,6 Hz)
H18	1	–	6,89 – 6,79 (m)	8,62 – 8,61 (m)
H13	1	–	8,56 (s)	8,27 (s)
H15	1	–	–	7,93 (d) (J = 7,9 Hz)
H16	1	–	6,89 – 6,79 (m)	7,84 (ddd) (J = 7,9; 1,6; 0,8 Hz)
H17	1	–	7,33 – 7,25 (m)	7,43 (ddd) (J = 7,4; 4,8; 1,2 Hz)
H19	1	–	7,46 (dd) (J = 7,6; 1,6 Hz)	–



*M = (s) simpleto; (d) dupeto; (dd) duplo dupeto; (t) triplete; (m) multipeto – Ausência de sinal

No espectro de RMN de ^1H e COSY do composto de **HL5** observa-se que o sinal referente a $-\text{NH}_2$ da memantina em 8,12 ppm desaparece, de acordo com a desprotonação da amina primária. Por outro lado, na zona do aromático surgem quatro sinais alusivos à estrutura do salicilaldeído, confirmando a formação do composto. Os espectros de RMN encontram-se nas Figuras 4.3 – 4.6.

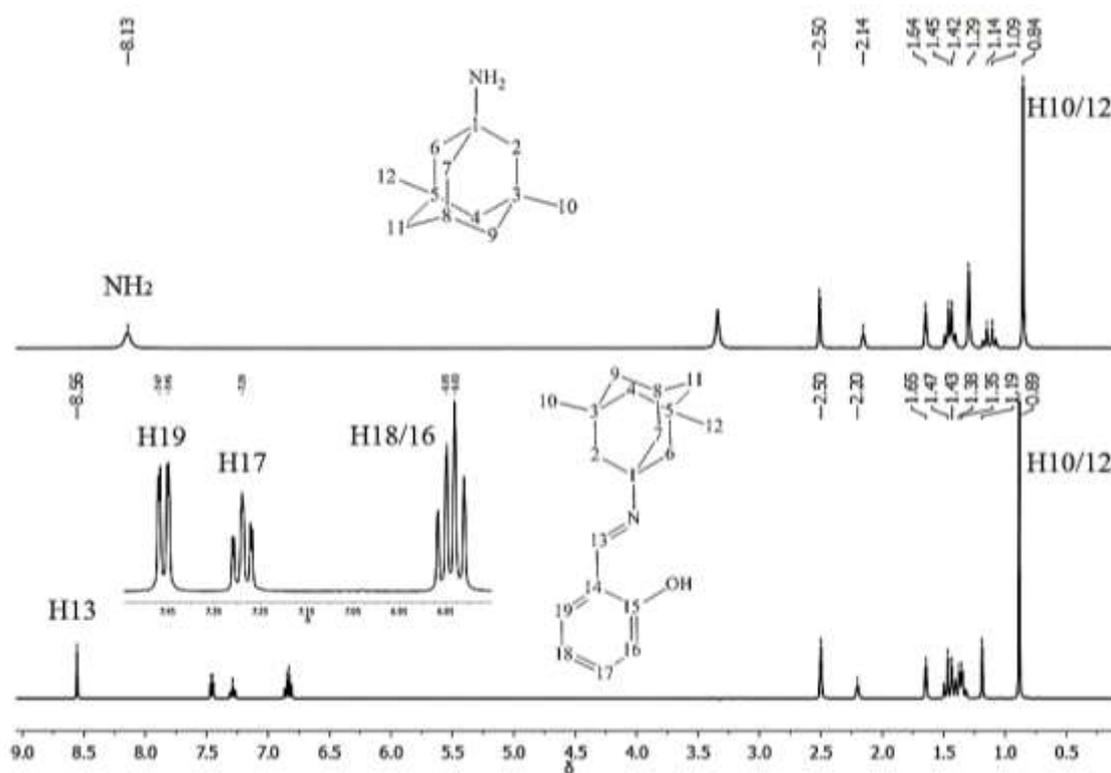


Figura 4.3 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do precursor memantina e de **HL5** em $\text{DMSO}-d_6$.

Além disso, é possível notar o deslocamento dos sinais, até em alguns casos, a mudança na multiplicidade em relação com o precursor memantina, que é o caso de H4, H9 e H11 (Figura 4.4).

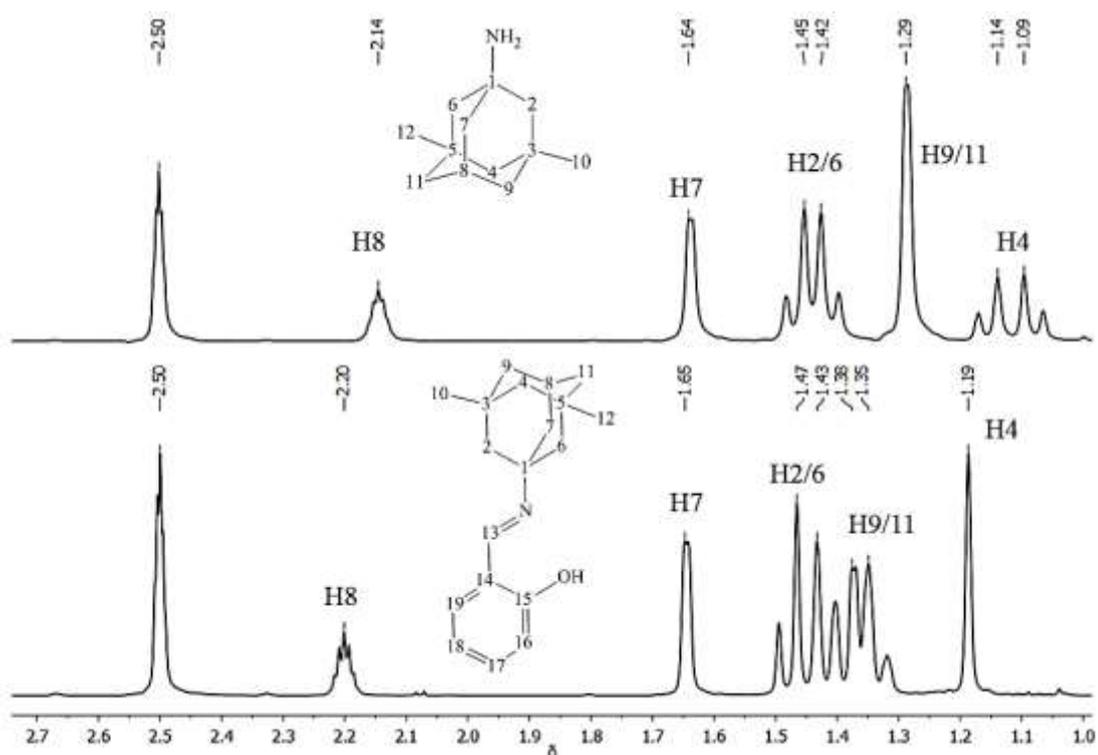


Figura 4.4 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do precursor memantina e de **HL5** em $\text{DMSO-}d_6$.

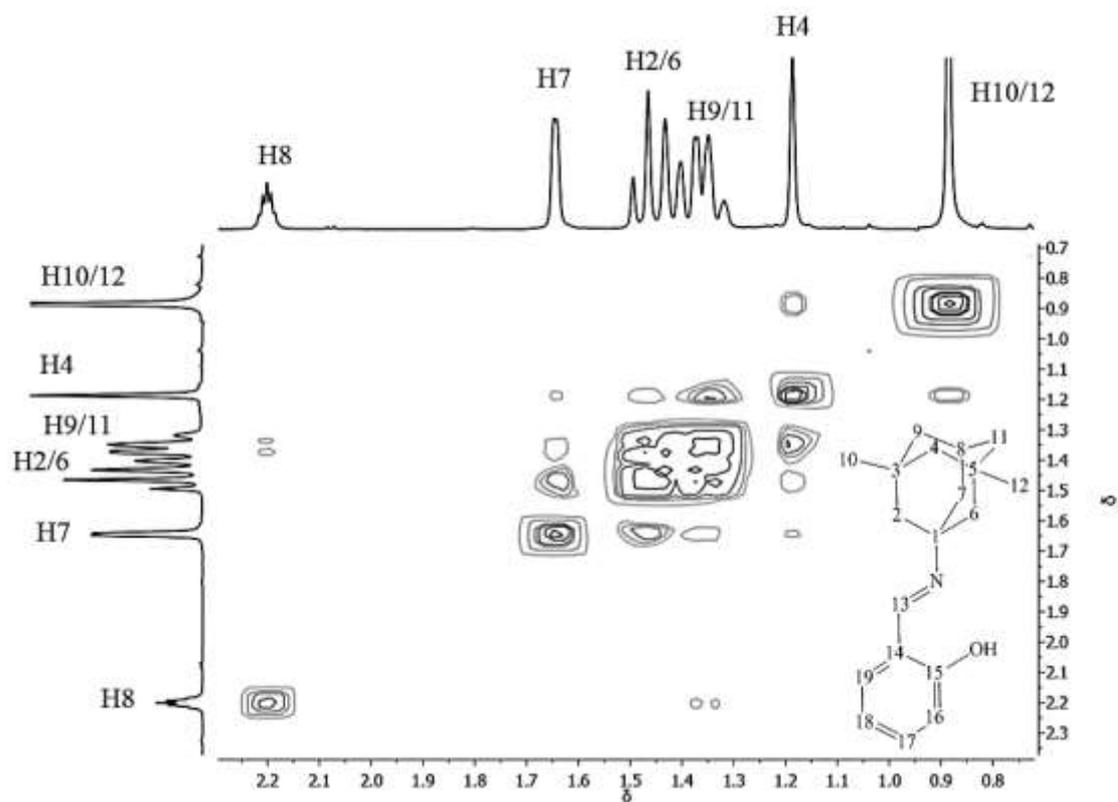


Figura 4.5 – (a) Expansão do mapa de contornos COSY do composto **HL5** (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$.

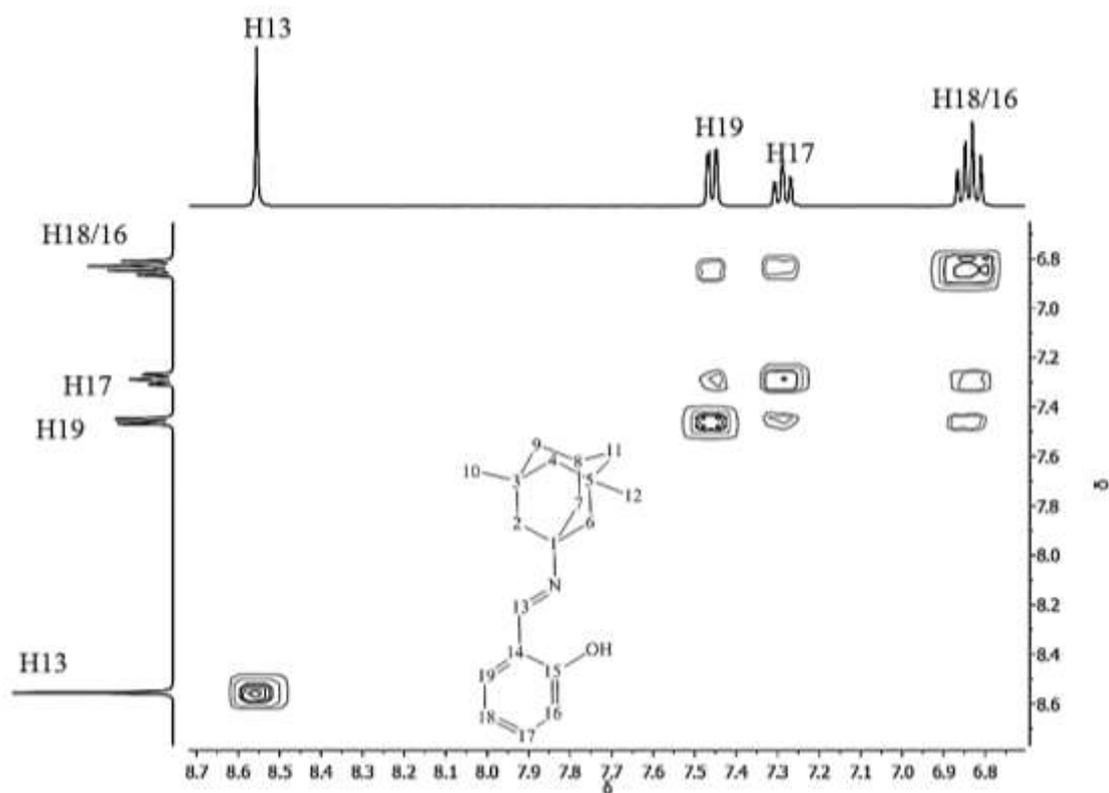


Figura 4.6 – (b) Expansão do mapa de contornos COSY do composto **HL5** (400 MHz), em DMSO- d_6 .

Para o composto **L6** nos espectros de RMN de ^1H e COSY foi possível observar que o sinal da amina primária ($-\text{NH}_2$) da memantina em 8,12 ppm desaparece, enquanto na zona do aromático surgem cinco sinais alusivos à estrutura do 2-piridina-carboxaldeído, garantia da formação do composto. Os espectros de RMN de ^1H e COSY do **L6** são representados nas Figuras 4.7 – 4.10 onde observa-se o deslocamento dos sinais e a mudança na multiplicidade em relação com o precursor memantina (no caso do H4, H9 e H11, Figura 4.8).

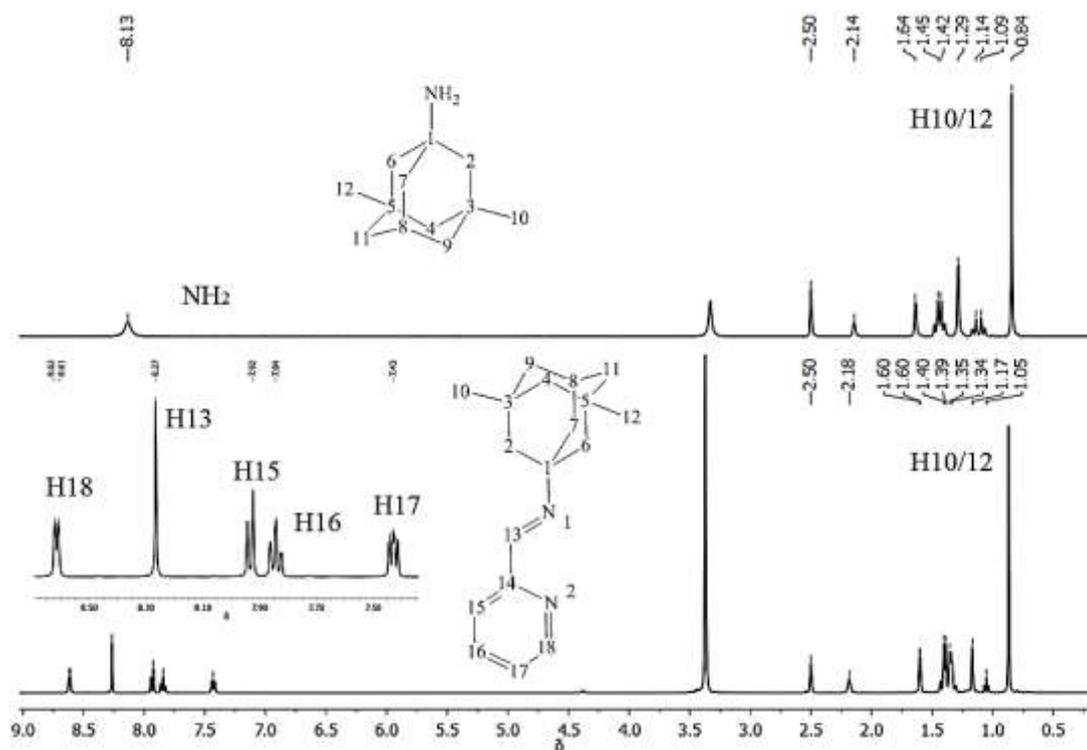


Figura 4.7 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do precursor memantina e do composto L6 em $\text{DMSO-}d_6$.

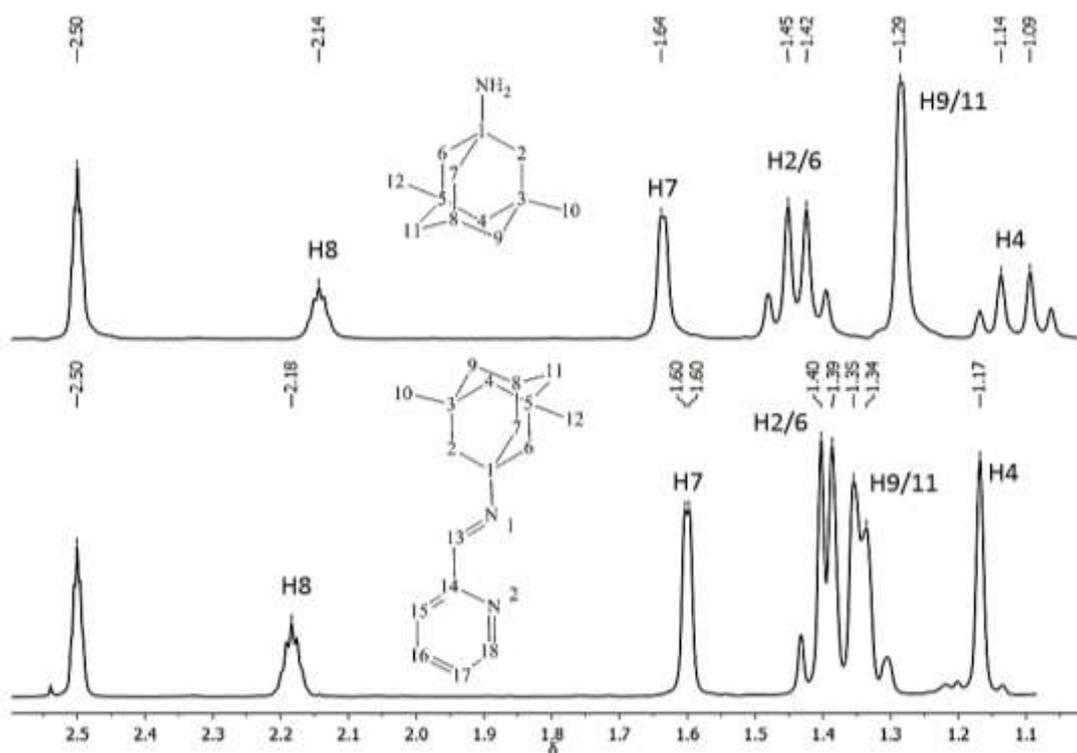


Figura 4.8 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do precursor memantina e o composto L6 em $\text{DMSO-}d_6$.

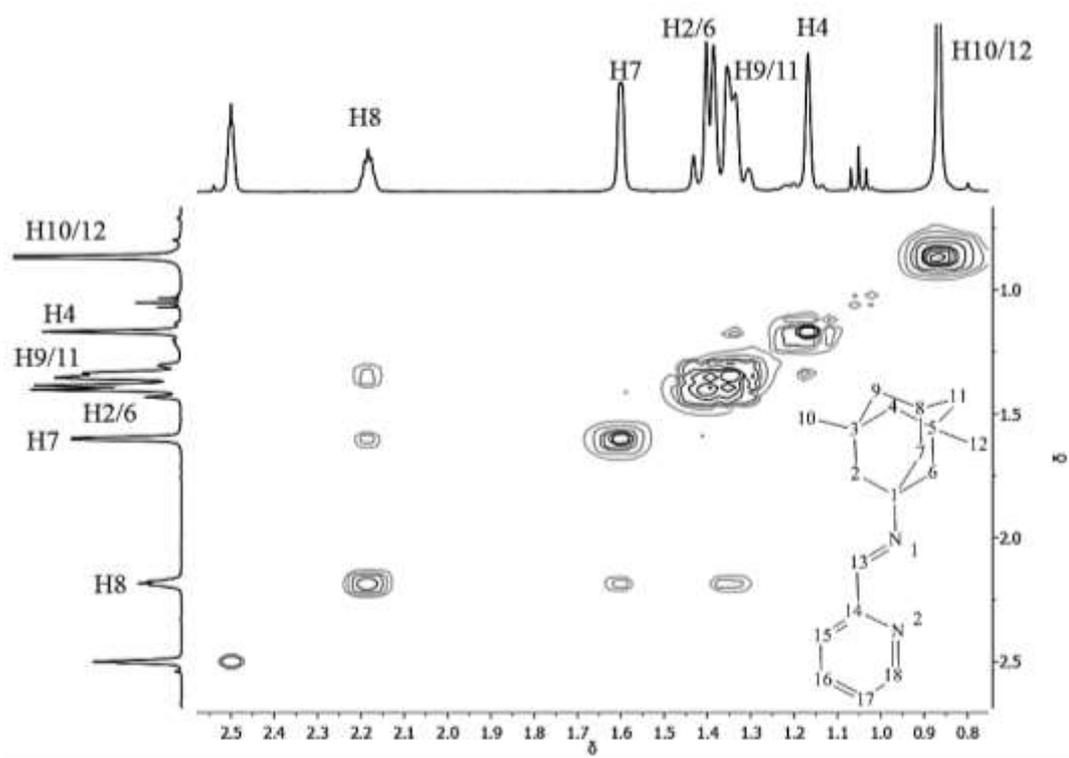


Figura 4.9 – (a) Expansão do mapa de contornos COSY do composto **L6** (400 MHz), em DMSO- d_6 .

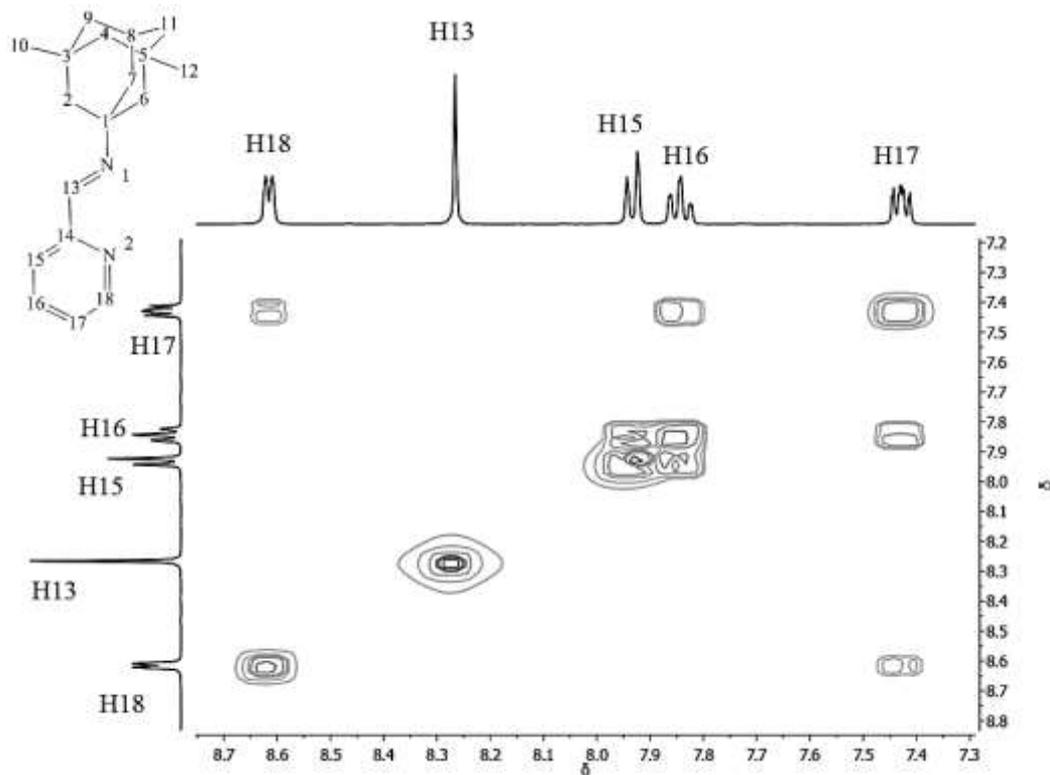
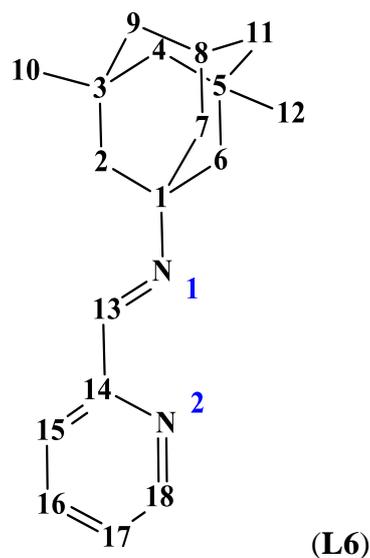
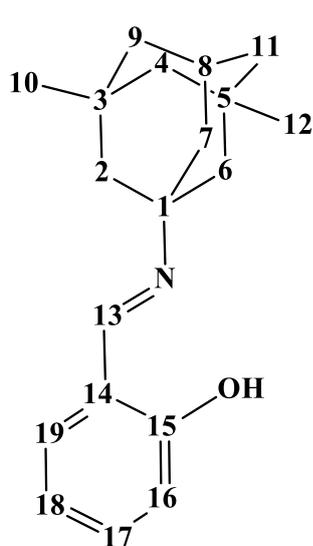


Figura 4.10 – (b) Expansão do mapa de contornos COSY do composto **L6** (400 MHz), em DMSO- d_6 .

Os principais sinais atribuídos nos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT-135 e HMQC dos compostos encontram-se listados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C (400 MHz) de ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**) em DMSO- d_6 .

Atribuição	Memantina	HL5	L6
C2/6	45,91	48,51 (↓)	48,75 (↓)
C7	38,50	41,02 (↓)	41,01 (↓)
C1	52,29	58,54	59,48
C10/12	29,53	29,96 (↑)	30,15 (↑)
C13	–	160,90 (↑)	154,96 (↑)
C14	–	118,72	156,08



– Ausência de sinal; () DEPT-135

Os espectros de RMN de ^{13}C e HMQC do precursor memantina e dos compostos **HL5** e **L6** são apresentados nas Figuras 4.11 – 4.18, mostrando em ambos os casos os deslocamentos referentes ao anel aromático, ao C14 e C13 (C=N), assim como também aos carbonos alifáticos mais próximos ao nitrogênio como o C1 (C–N), C2, C6 e C7 (>CH₂), em relação as suas posições no precursor, sugerindo a formação dos compostos.

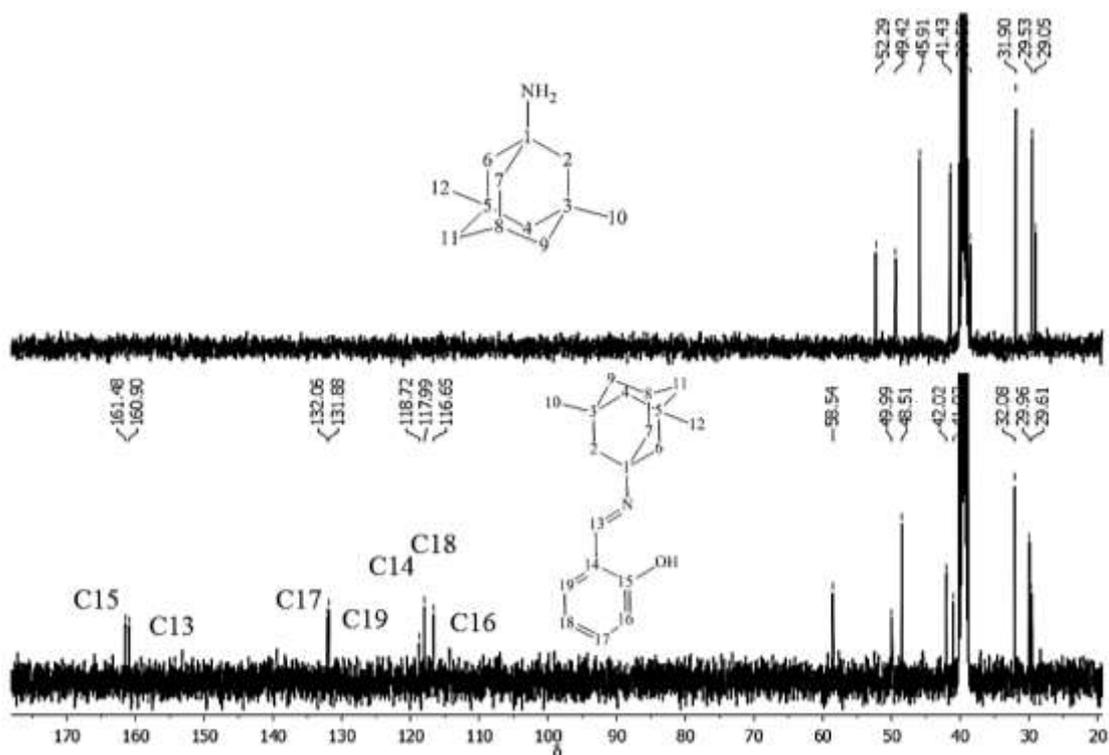


Figura 4.11 – (a) Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) do precursor memantina e do composto **HL5** em $\text{DMSO-}d_6$.

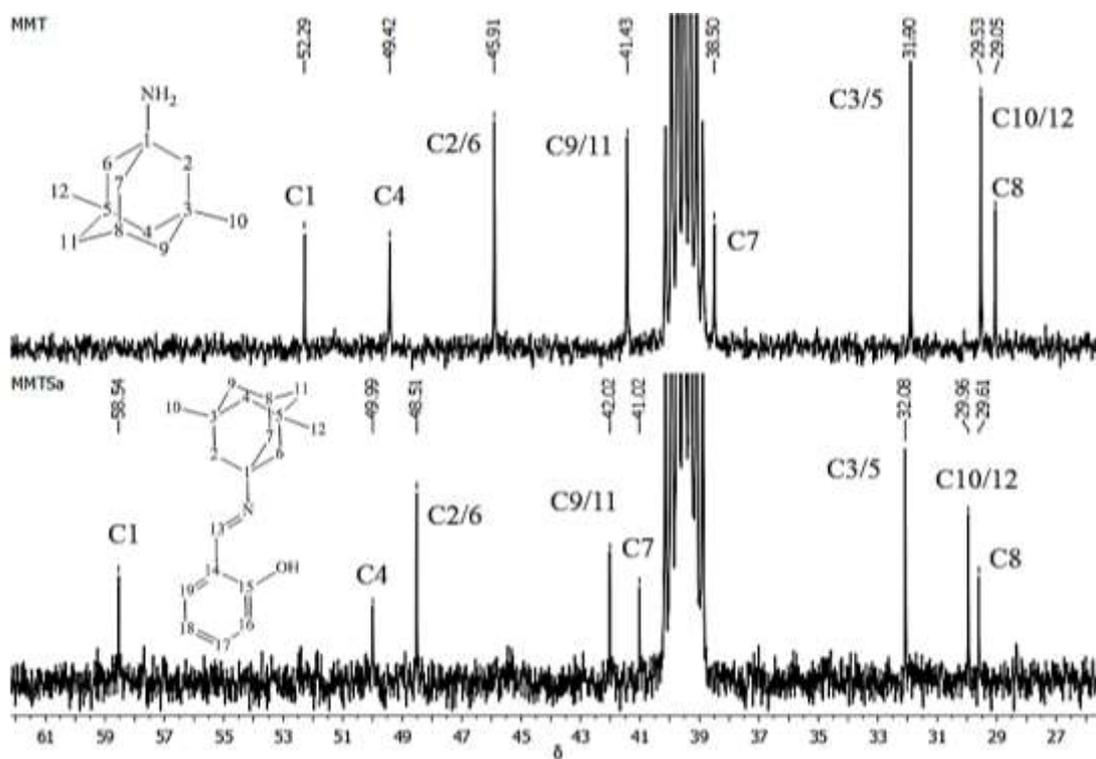


Figura 4.12 – (b) Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) do precursor memantina e o composto **HL5** em $\text{DMSO-}d_6$.

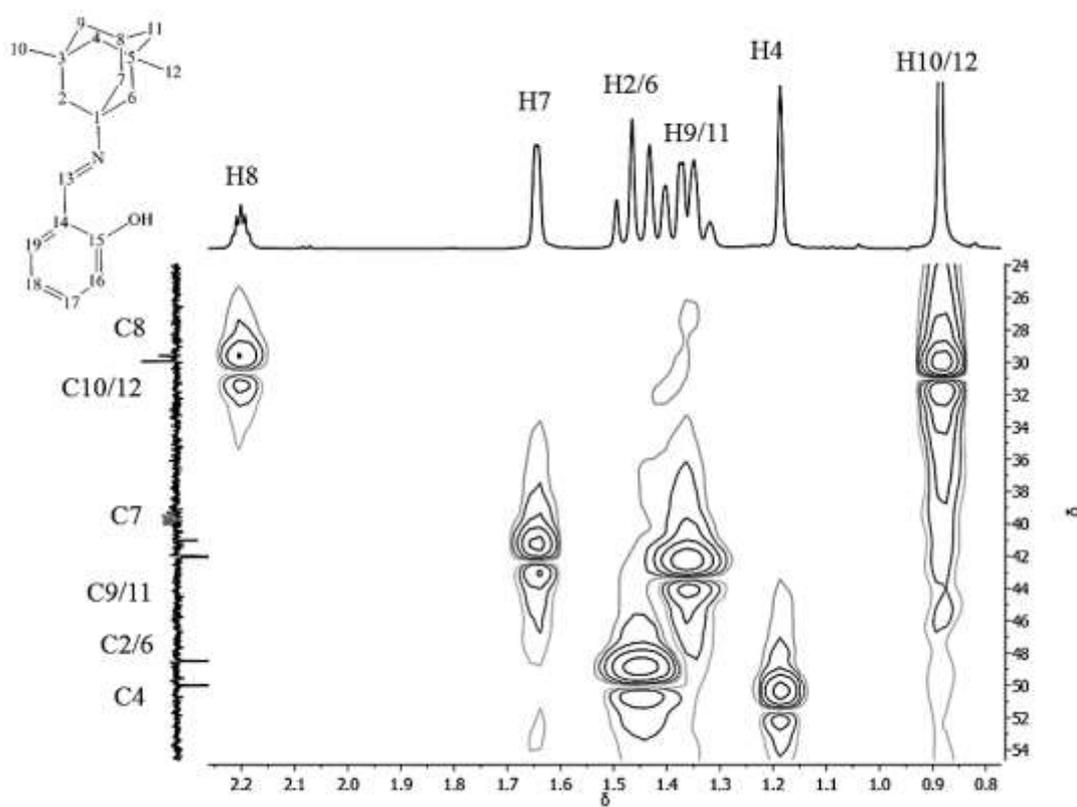


Figura 4.13 – (a) Expansão do mapa de contornos HMQC do composto **HL5** (400 MHz) em DMSO- d_6 .

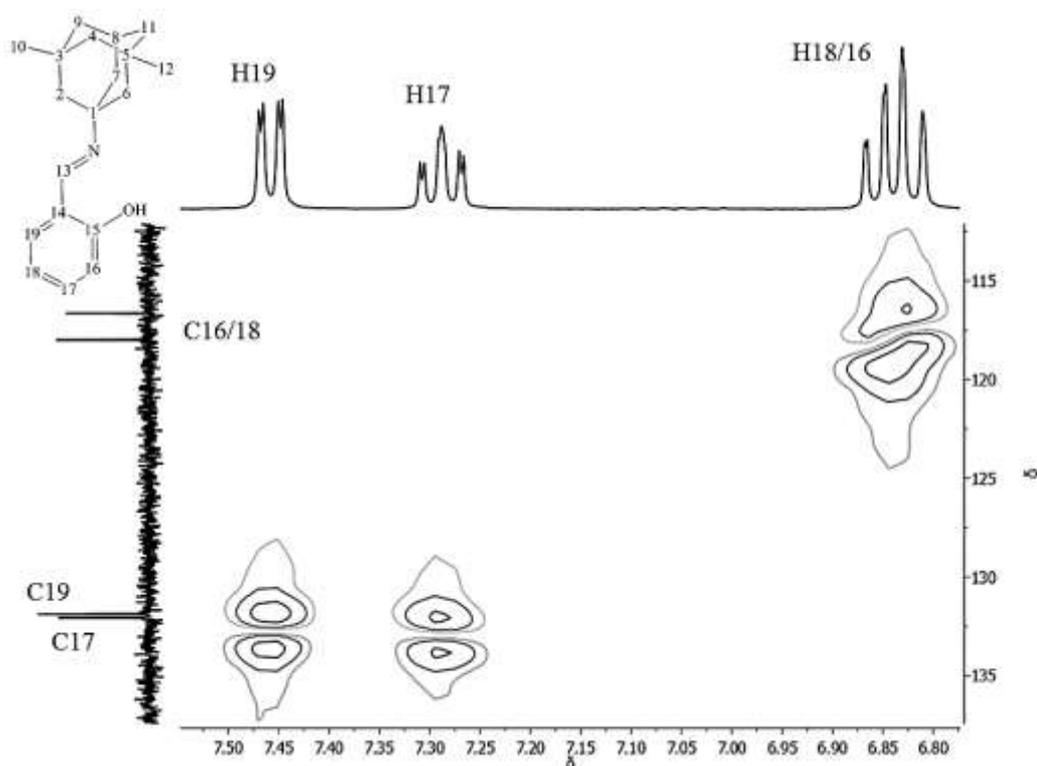


Figura 4.14 – (b) Expansão do mapa de contornos HMQC do composto **HL5** (400 MHz) em DMSO- d_6 .

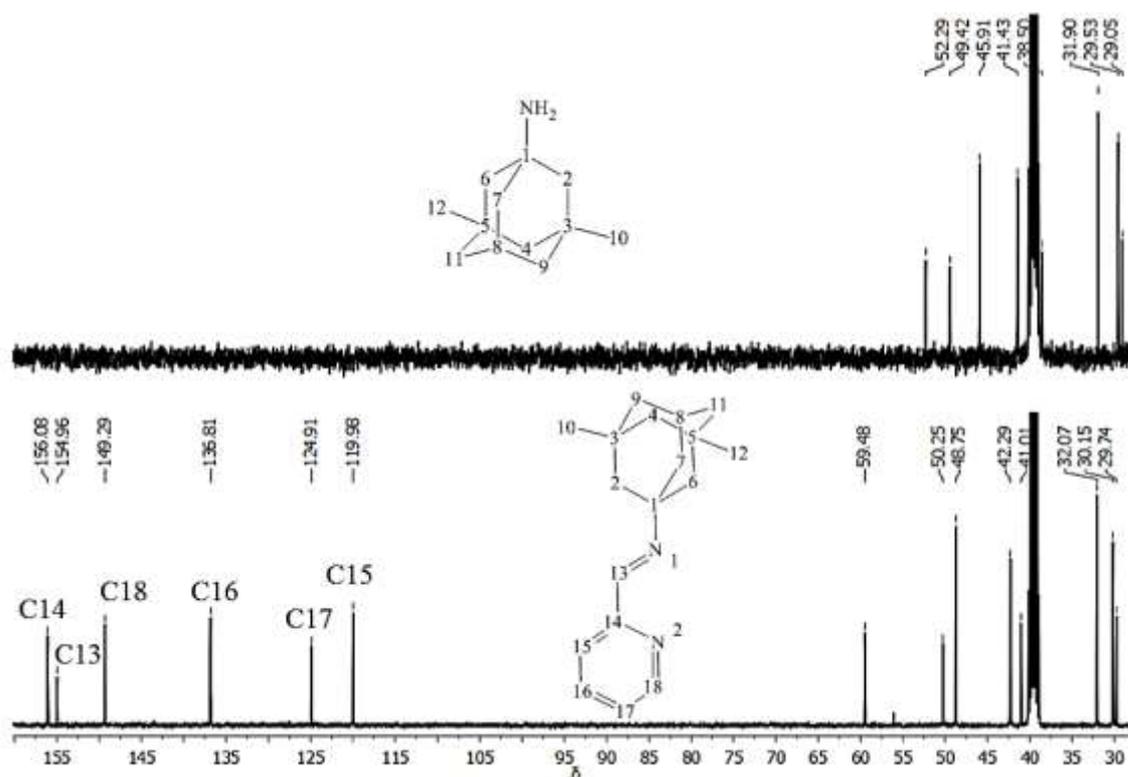


Figura 4.15 – (a) Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) do precursor memantina e do composto L6 em $\text{DMSO-}d_6$.

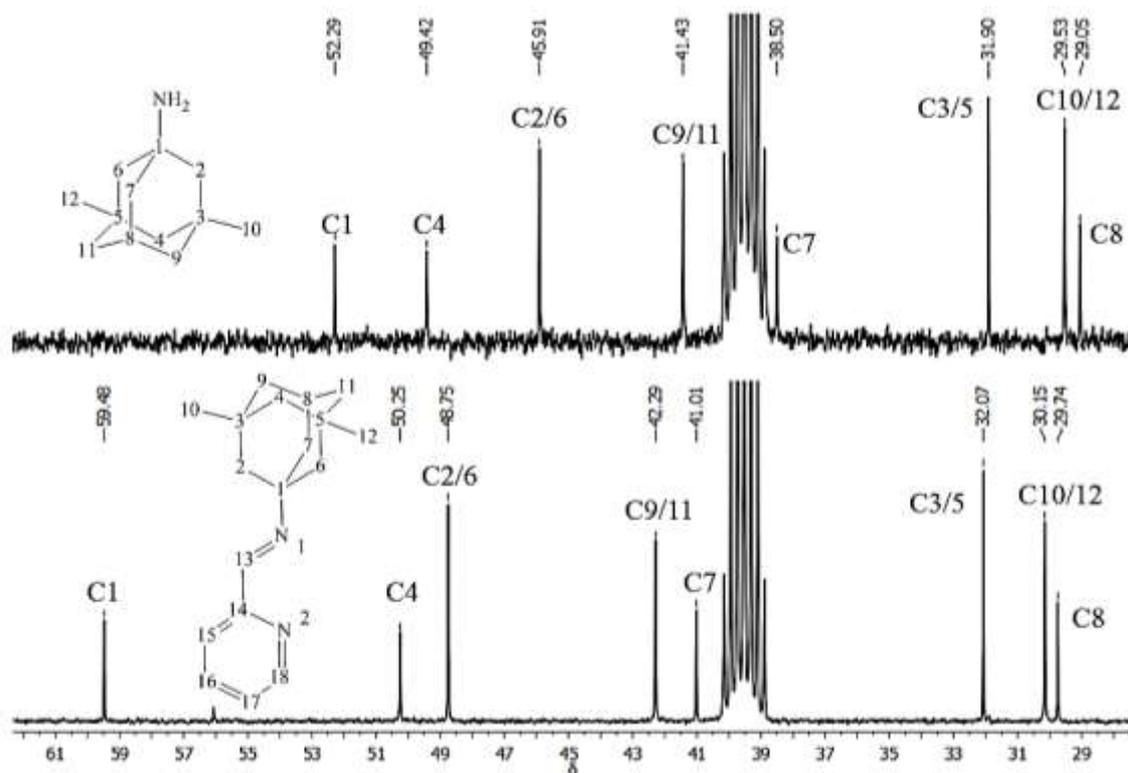


Figura 4.16 – (b) Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) do precursor memantina e do composto L6 em $\text{DMSO-}d_6$.

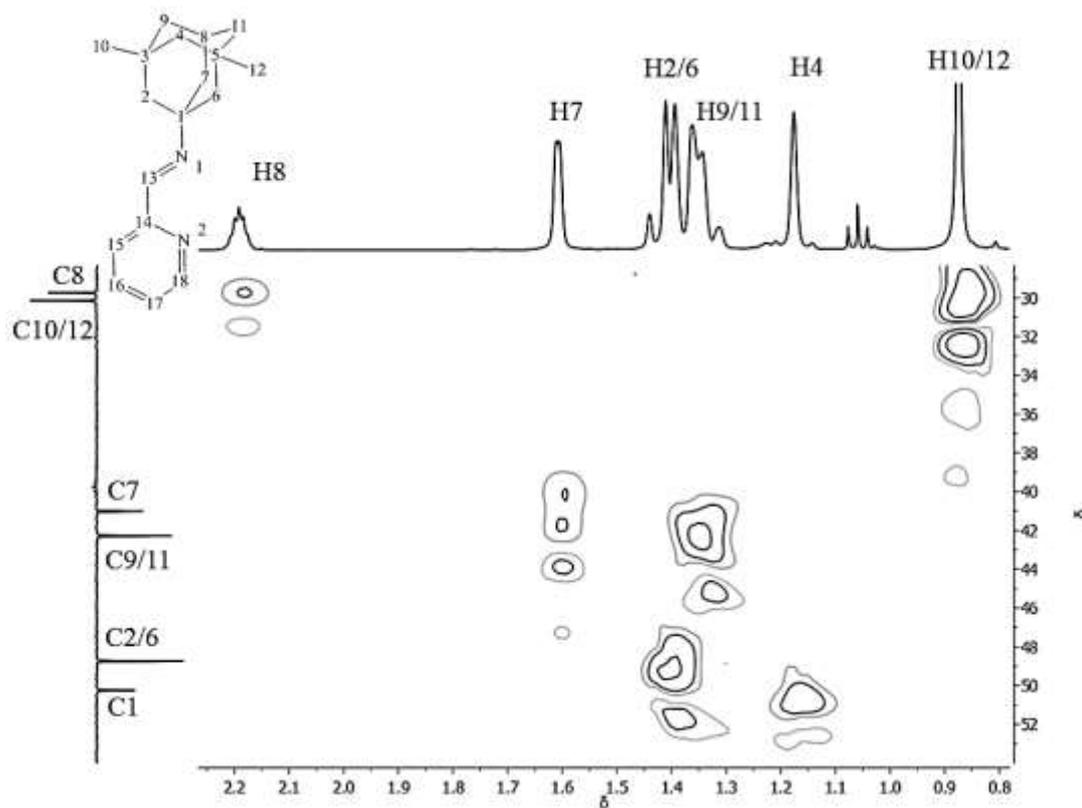


Figura 4.17 – (a) Expansão do mapa de contornos HMQC do composto **L6** (400 MHz) em DMSO- d_6 .

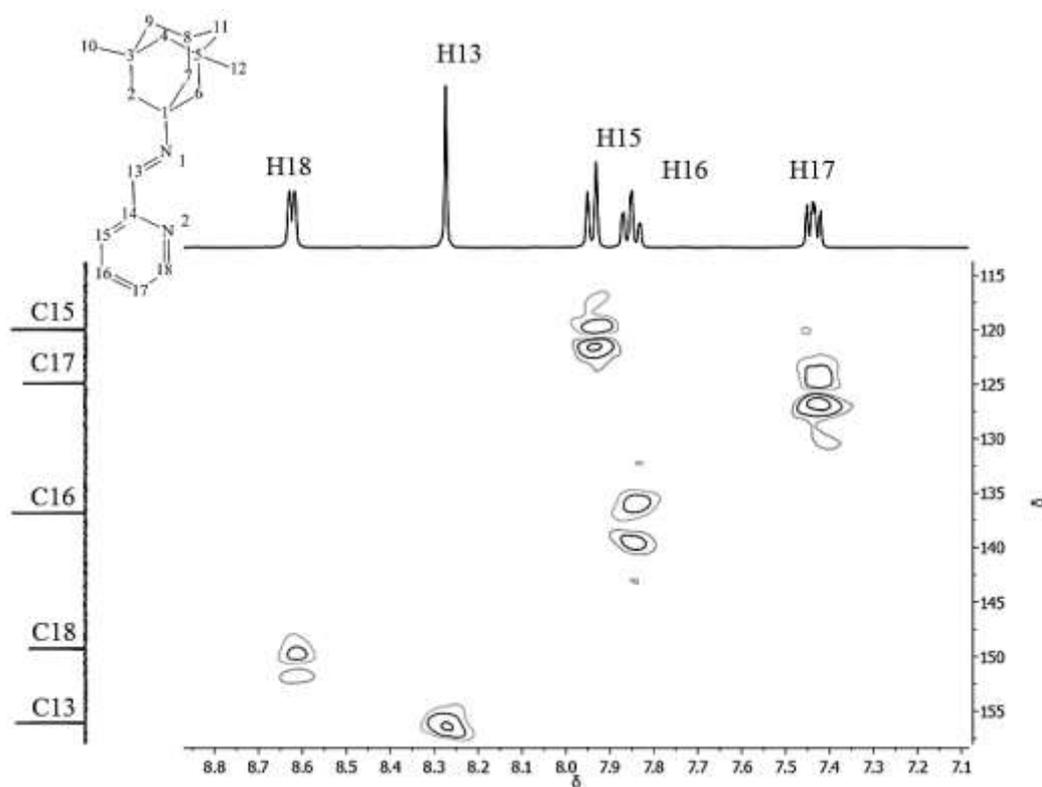


Figura 4.18 – (b) Expansão do mapa de contornos HMQC do composto **L6** (400 MHz) em DMSO- d_6 .

4.1.4. Estudo preliminar de estabilidade dos compostos por meio de espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

Os estudos de estabilidade são um dos passos importantes para continuar com o desenvolvimento de um candidato a fármaco. Com os espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível é possível observar se o composto é capaz de resistir em um meio biológico simulado durante um período de tempo. Mas os primeiros testes foram feitos em solvente orgânico puro, em nosso caso, utilizou-se DMSO onde o composto **HL5** demonstrou ser estável. Como se pode ver na Figura 4.19, não acontece nenhuma variação no máximo de absorbância nas bandas dos ligantes em 405 e 316 nm para **HL5**.

Seguidamente, foram testados em uma solução 5% DMSO (Tris-HCl) em tampão com pH sanguíneo 7,2 e pH gástrico 1,2, selecionados por serem possíveis vias de administração do candidato a fármaco.

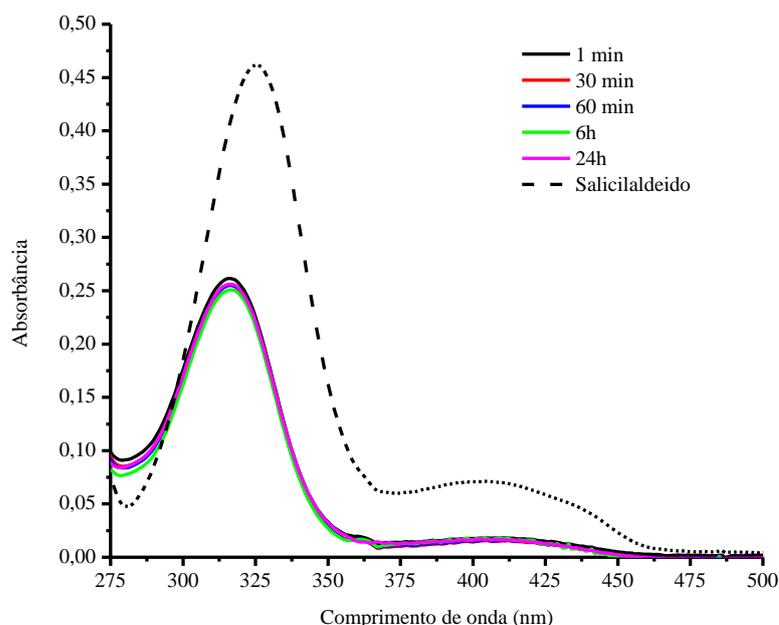


Figura 4.19 –Espectros eletrônicos com o tempo do composto **HL5** em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO.

Para **HL5** na solução 5% DMSO em tampão pH sanguíneo 7,2 é possível observar a formação de várias espécies em solução desde o início e durante o tempo do estudo. Depois de 48 h, essas espécies deram origem à formação de uma única espécie na solução: o precursor salicilaldeído, que foi identificado no espectro de absorção por apresentar duas bandas em 405 e 326 nm, (Figura 4.20). Portanto, o experimento evidencia a hidrólise do composto **HL5**.

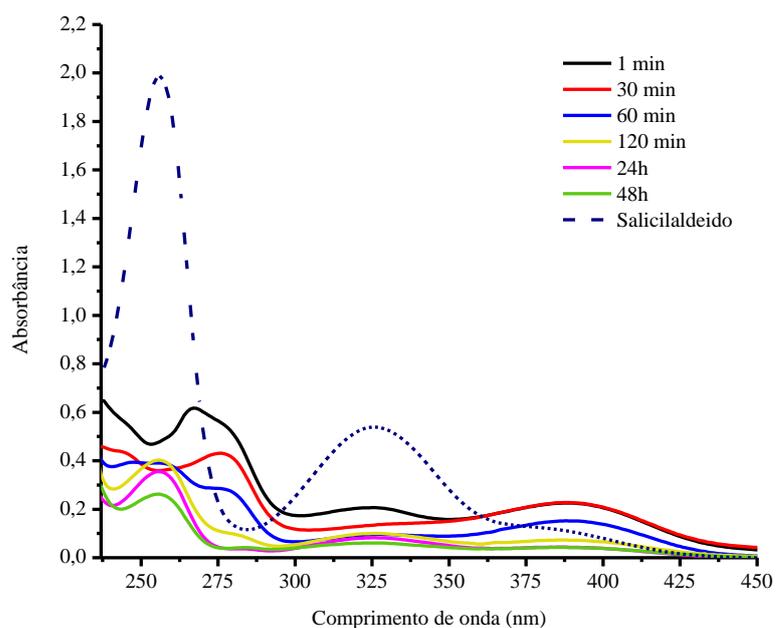


Figura 4.20 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto **HL5** em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.

No caso da solução 5% DMSO em tampão pH gástrico 1,2 o composto **HL5** também sofre hidrólise. Este processo é mais rápido e pode-se acompanhar pela diminuição dos máximos de absorvância do composto e o aumento dos máximos do precursor, que em 120 min já representa 80% aproximadamente, da amostra como se observa na Figura 4.21.

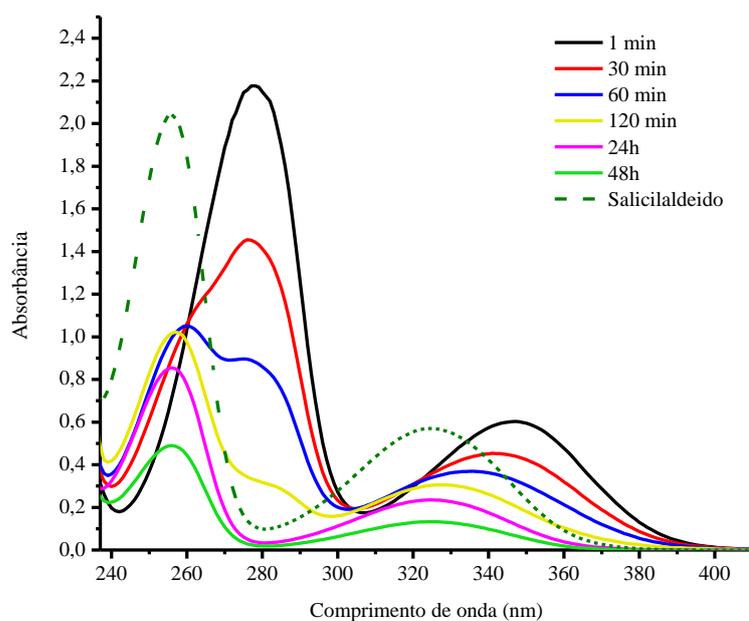


Figura 4.21 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto **HL5** em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão HCl pH 1,2.

O composto **L6** no teste em solvente orgânico puro (DMSO) demonstrou ser estável (Figura 4.22), porque não acontecem mudanças no máximo de absorvância em 273 nm.

No caso das provas com solução 5% DMSO em tampão pH sanguíneo 7,2 e pH gástrico 1,2 o composto **L6** apresentou o mesmo comportamento que no teste anterior. Ele manteve-se estável durante o período de prova observando-se só um máximo de absorvância em 266 e 260 nm na solução com pH 7,2 (Figura 4.23) e 1,2 (Figura 4.24), respectivamente.

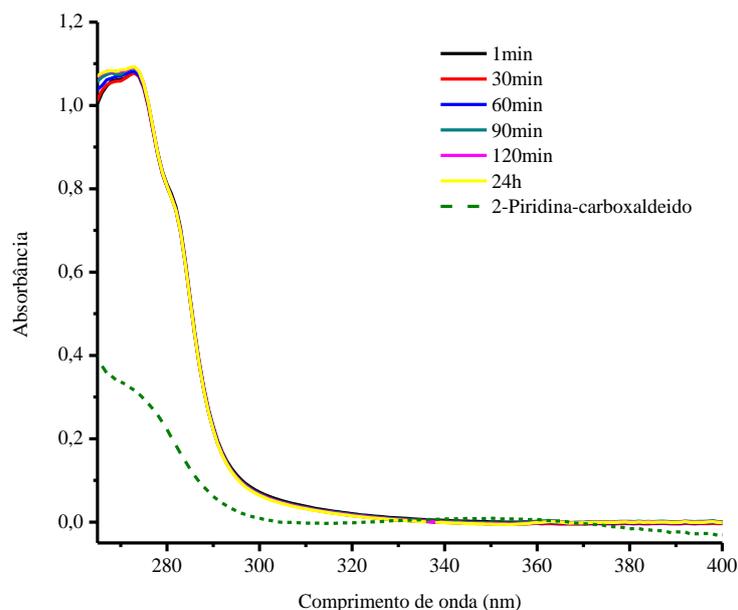


Figura 4.22 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto **L6** em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO.

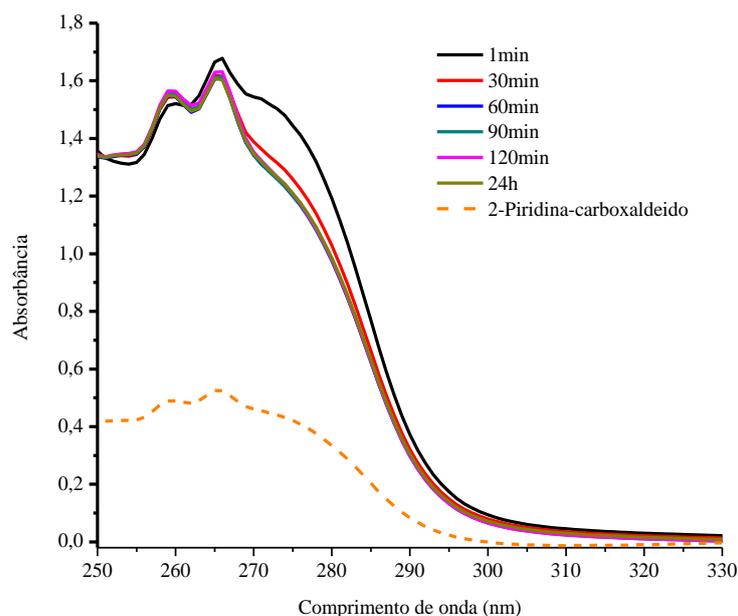


Figura 4.23 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto **L6** em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.

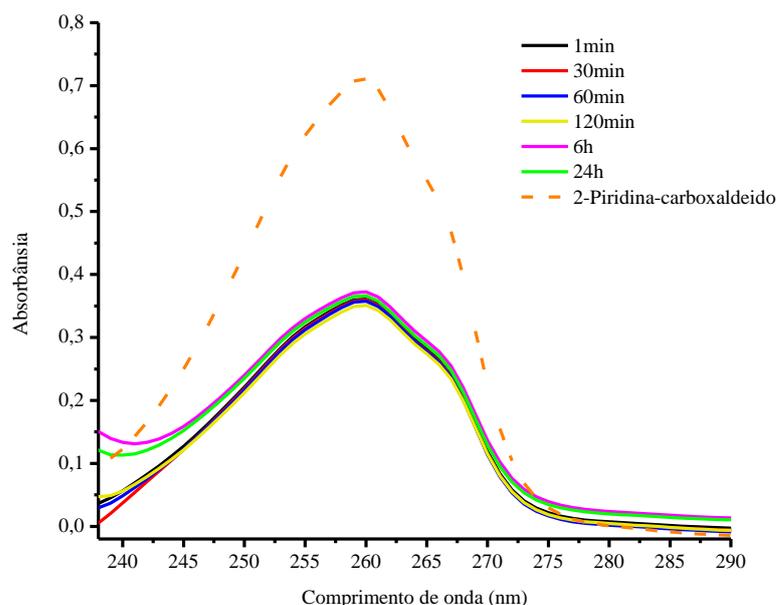


Figura 4.24 – Espectros eletrônicos com o tempo do composto **L6** em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão HCl pH 1,2.

4.1.5. Determinação da estrutura cristalográfica da N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**)

As representações estruturais e o esquema de numeração de átomos para o ligante **L6** foram apresentados na Figura 4.25. **L6** cristaliza-se no sistema monoclinico, grupo espacial P21/c, com duas moléculas na unidade assimétrica. Os dados cristalográficos foram apresentados na Tabela 4.5 e comprimentos e ângulos de ligação selecionados estão listados na Tabela 4.6.

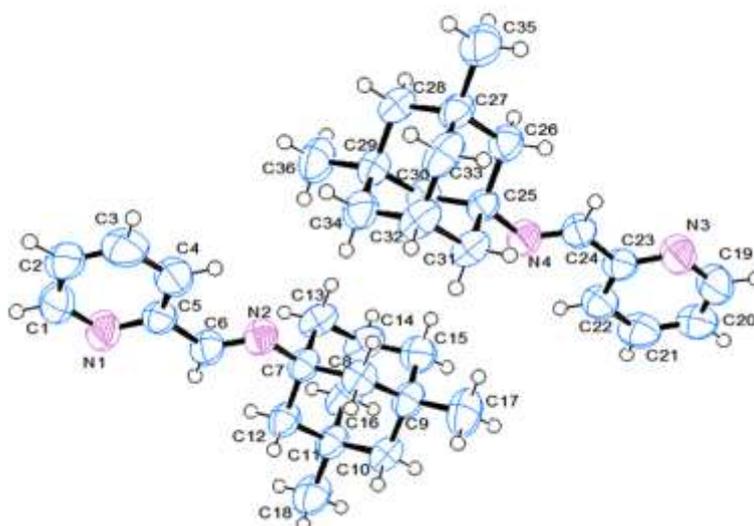


Figura 4.25 – Diagrama Ortep de **L6** mostrando o esquema de marcação dos átomos não-H e seus elipsoides de deslocamento no nível de probabilidade de 50%.

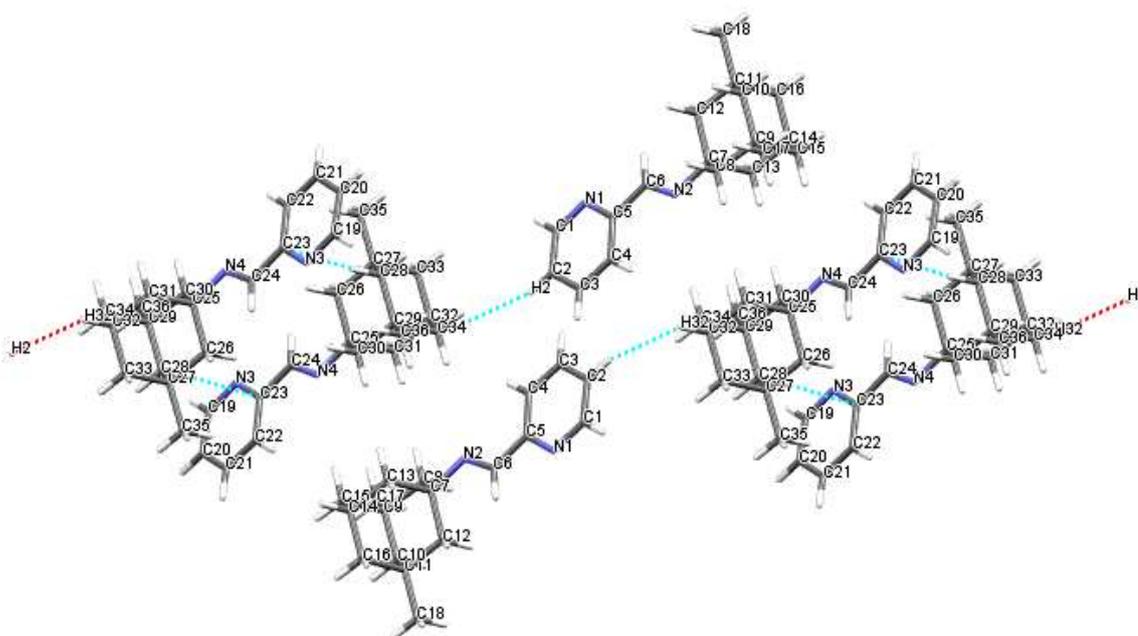
Tabela 4.5 – Dados do refinamento da estrutura cristalina **L6**.

Parâmetros	L6
Fórmula empírica	C ₁₈ H ₂₄ N ₂
Massa molecular (g.mol ⁻¹)	601,61
Comprimento de onda (λ)	0,71073
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P 21/c
Temperatura (K)	293(2)
a (Å)	11,743
b (Å)	15,438
c (Å)	18,020
α (°)	90,0
β (°)	105,48
γ (°)	90,0
Volume (Å ³)	3148,4
Z	4
Densidade (calculada) (g cm ⁻³)	1,269
Tamanho do cristal (mm ³)	0,6 x 0,6x 0,4
F(000)	1305
Coeficiente de absorção (mm ⁻¹)	0,074
Índices de Miller	- 15 ≤ h ≤ 16 - 20 ≤ k ≤ 20 - 23 ≤ l ≤ 24
Completeness to θ = 29.562 (%)	99
Intervalo de 2θ para coleta de dados (°)	2,286 to 29,562
Refleções coletadas	50770
Refleções independentes	8152
Dados / restrições / parâmetros	8152/0/362
R final [$I > 2\sigma(I)$]	R ₁ = 0,066 wR ₂ = 0,1467
R final (todos os dados)	R ₁ =0,0543 wR ₂ = 0,0921
Qualidade do ajuste em F ²	1,025
Δρmax. e Δρmim	0,000-0,000

Tabela 4.6 – Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) para **L6**.

Ligações	
C5 - C6	1,476(2)
C6 - N2	1,230(2)
C7 - N2	1,467(2)
C23 - C24	1,477(2)
C24 - N4	1,224(2)
C25 - N4	1,473(2)
Ângulos	
N1-C5-C6	115,49 (17)
N2-C6-C5	122,88(18)
N2-C7-C8	107,21(14)
N2-C7-C13	106,64(14)
N3-C23-C24	115,14(16)
N4-C24-C23	123,20(18)
N4-C25-C30	107,23(14)
N4-C25-C31	106,73(13)

No empacotamento cristalino de **L6** foram observadas interações de hidrogênio não clássicas C2-H2 ... C32 e C28-H28A ... C23 entre dois confôrmeros da molécula de **L6** (Figura 4.26 e Tabela 4.6).

**Figura 4.26** – Empacotamento molecular de **L6** mostrando o esquema de interações intermoleculares não-clássicas.

As ligações de hidrogênio não-clássicas são responsáveis pela estabilização do empacotamento cristalino em zigue-zague formado por meio do empilhamento das camadas compostas pelos dois conformêros de **L6** (Figura 4.27).

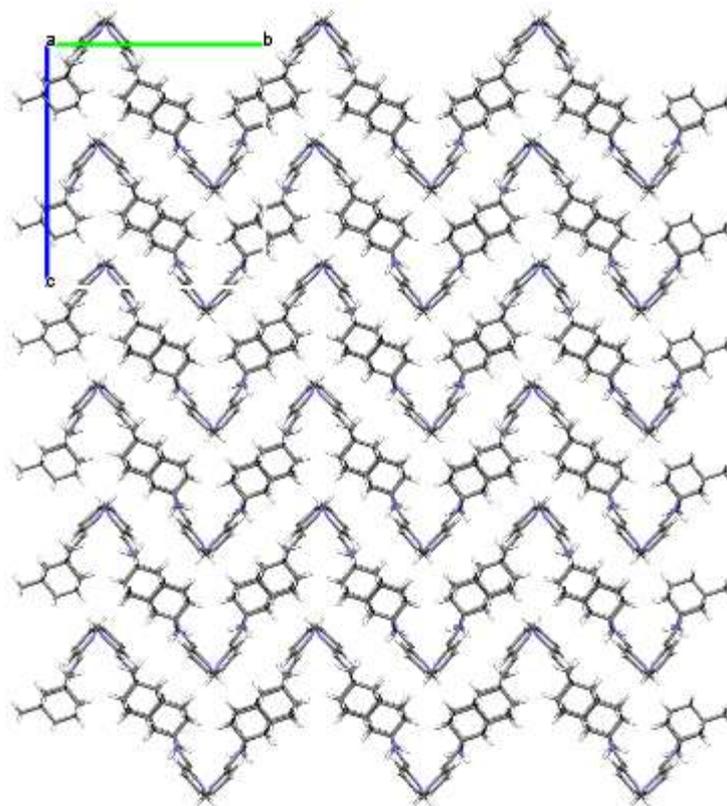


Figura 4.27 – Visão do empacotamento cristalino de **L6** ao longo de a.

Capítulo 5.

Complexos de paládio(II) e platina(II) de 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina

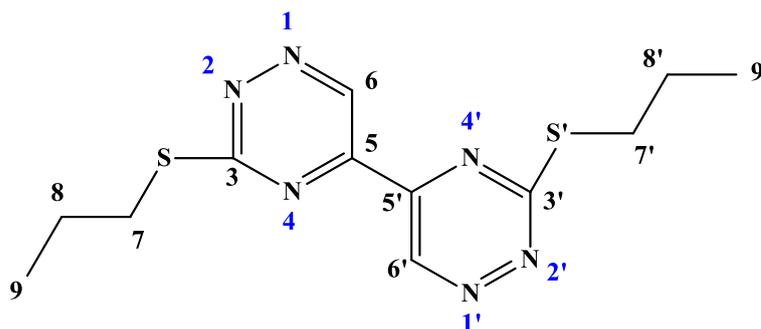
Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados experimentais referentes à síntese e a caracterização, de 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**) e seus complexos de paládio(II) (**5**) e platina(II) (**6**).

5.1. Análises do composto 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.

O ligante **L7** não é inédito⁶⁵, mas sua estrutura cristalográfica ainda não havia sido relatada. O rendimento da reação de obtenção do ligante, a temperatura de fusão e a massa molar do composto encontram-se na Tabela 5.1. Os espectros de infravermelho e de RMN serão discutidos juntamente com os de seus complexos de paládio(II) e platina(II).

Tabela 5.1 – Fórmula molecular, massa molar (M), temperatura de fusão (TF (°C)), e rendimento (Rend.) do ligante **L7**.

Compostos	Aspecto	Fórmula molecular	M (g.mol ⁻¹)	TF (°C)	Rend. (%)
L7	Cristal amarelo	C ₁₂ H ₁₆ N ₆ S ₂	308,43	75,8-77,6	67,4



⁶⁵ L. Xue, D. Shi, J.R. Harjani, F. Huang, J.G. Beveridge, T. Dingjan, K. Ban, S. Diab, S. Duffy, L. Lucantoni, S. Fletcher, F.C.K. Chiu, S. Blundell, K. Ellis, S.A. Ralph, G. Wirjanata, S. Teguh, R. Noviyanti, M. Chavchich, D. Creek, R.N. Price, J. Marfurt, S.A. Charman, M.E. Cuellar, J.M. Strasser, J.L. Dahlin, M.A. Walters, M.D. Edstein, V.M. Avery, J.B. Baell. *J. Med. Chem.*, 62 (2019) 2485-2498.

5.1.1. Determinação da estrutura cristalográfica da 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina

Cristais de **L7** foram obtidos a partir de uma solução em metanol. A Tabela 5.2 relata os dados cristalográficos de **L7**

Tabela 5.2 – Dados cristalográficos e refinamento da estrutura do **L7**.

Parâmetros	L7
Fórmula química	C ₁₂ H ₁₆ N ₆ S ₂
Massa molecular / g mol ⁻¹	308,43
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c
a / Å	11,164(1)
b / Å	6,9640(6)
c / Å	10,073(1)
α / °	90,000
β / °	101,764(11)
γ / °	90,00
V / Å ³	766,7(1)
Temperatura / K	293(2)
Z	2
D _{calc} / g cm ⁻³	1,336
Tamanho do cristal / mm	0,17 x 0,62 x 0,88
μ(Mo Kα) / cm ⁻¹	0,347
Reflexões medidas / únicas	9602 / 1972
R _{int}	0,0427
Reflexões observadas [F _o ² >2σ(F _o ²)]	1165
Parâmetros refinados	91
R _{obs} [F _o >2σ(F _o)]	0,0645
R _{all}	0,1131
wR _{obs} [F _o ² >2σ(F _o ²)]	0,1722
wR _{all}	0,2060
S	1,046
RMS / e Å ⁻³	0,055

O cristal formado não apresentou moléculas de solvatação. A figura 5.1 mostra a unidade assimétrica do composto e na figura 5.2 estão mostradas as projeções da célula unitária nos

eixos cristalográficos *a*, *b* e *c*. Na Tabela 5.3 estão os valores de distâncias e ângulos selecionados para esse cristal.

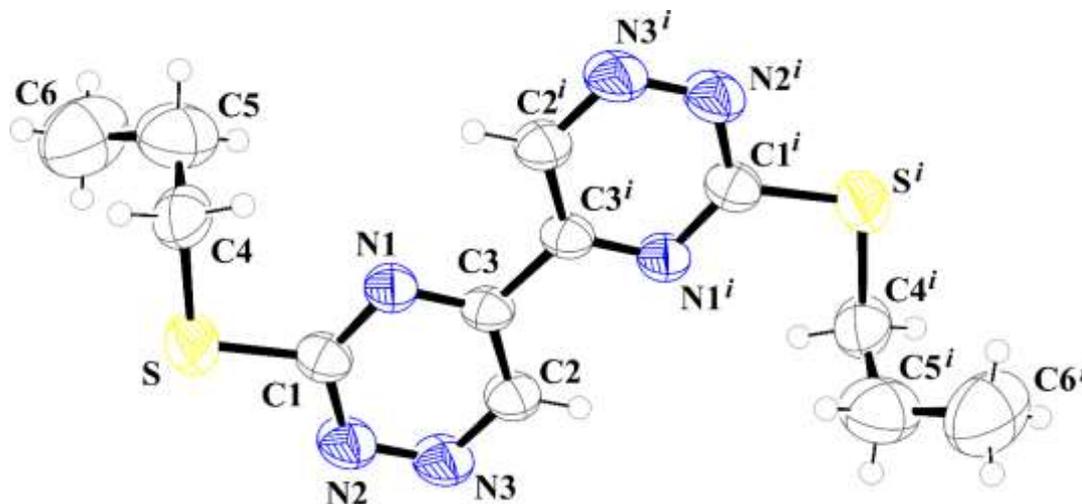


Figura 5.1 – Representação Ortepe do cristal **L7**. Os elipsoides foram obtidos com 50% de probabilidade. Código de simetria: $i = 2 - x, 2 - y, 2 - z$.

Tabela 5.3 – Distâncias e ângulos de ligação selecionados para o cristal **L7**.

Distância de ligação / Å			
C1-S	2,517(2)	N2-N3	2,383(2)
C4-S	2,603(2)	C2-N3	1,321(4)
C1-N1	1,336(3)	C3-C3 ⁱ	1,483(5)
C1-N2	1,341(4)	C3-C2	1,395(4)
N1-C3	1,320(3)		
Ângulo de ligação / °			
C4-S-C1	107,36(5)	C2-C3-C3 ⁱ	130,70(6)
N1-C1-S	129,08(6)	N1-C3-C3 ⁱ	95,28(6)
N2-C1-S	66,79(6)		

i = inversão

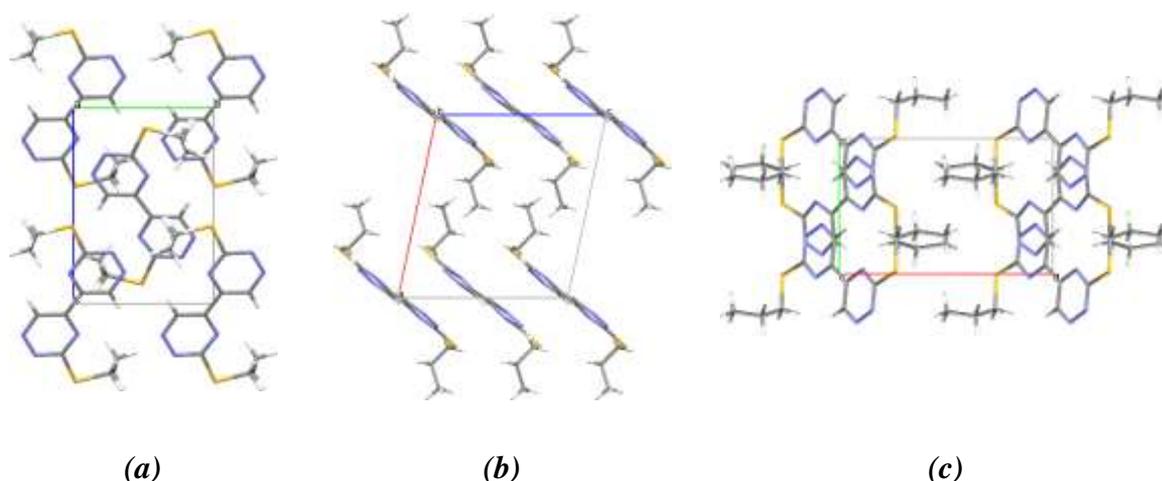


Figura 5.2 – Célula unitária do cristal ao longo a) do eixo *a*, b) do eixo *b* e c) do eixo *c*.

As interações intermoleculares que estabilizam o composto são as ligações de hidrogênio não convencionais do tipo $\text{CH}\cdots\text{N}$, cuja distância $\text{C}\cdots\text{N}$ é de 3,480(4) Å. Essas ligações foram uma rede unidimensional no plano cristalográfico *bc* (Figura 5.3). Não foram observadas interações de empacotamento π nesse cristal.

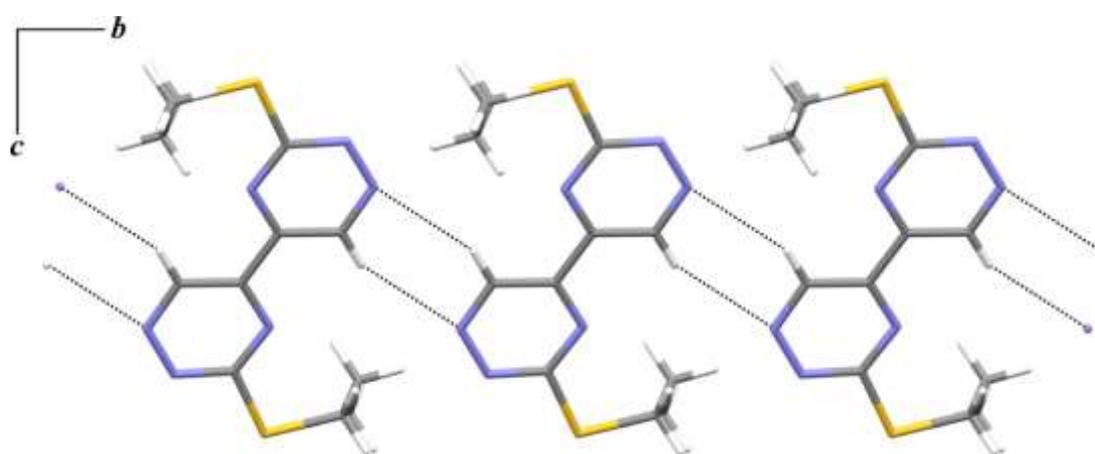


Figura 5.3 – Ligação de hidrogênio não clássica do tipo $\text{CH}\cdots\text{N}$ vistas ao longo do plano *bc*.

Tabela 5.4 – Geometria das ligações de hidrogênio no composto **L7**.

D-H \cdots A	D-H / Å	H \cdots A / Å	D \cdots A / Å	D-H \cdots A / °
C2-H2 \cdots N3 ⁱⁱ	0,930	2,66	3,480(4)	148,00

Código de simetria: *ii* (2 - *x*, 3 - *y*, 2 - *z*)

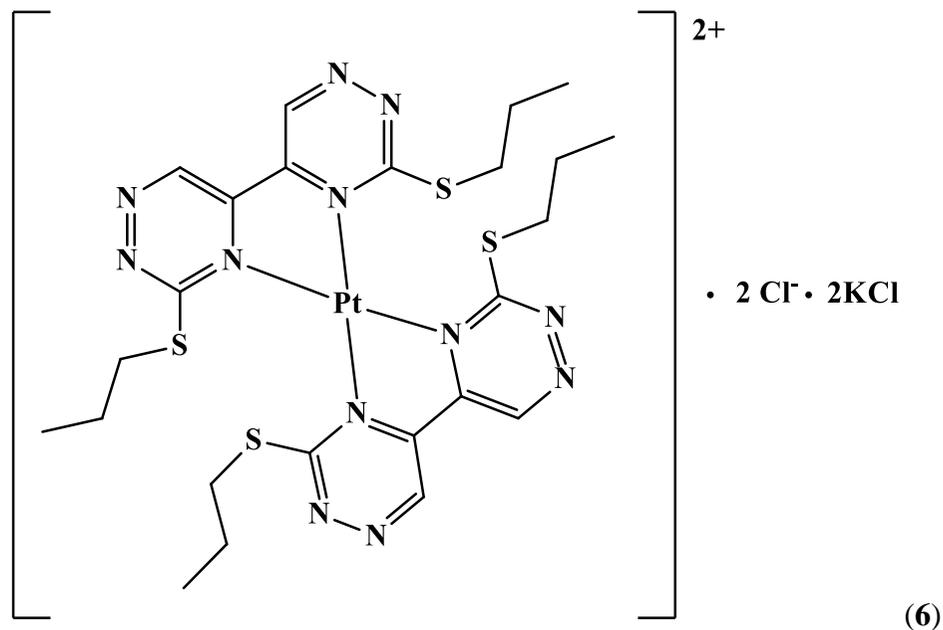
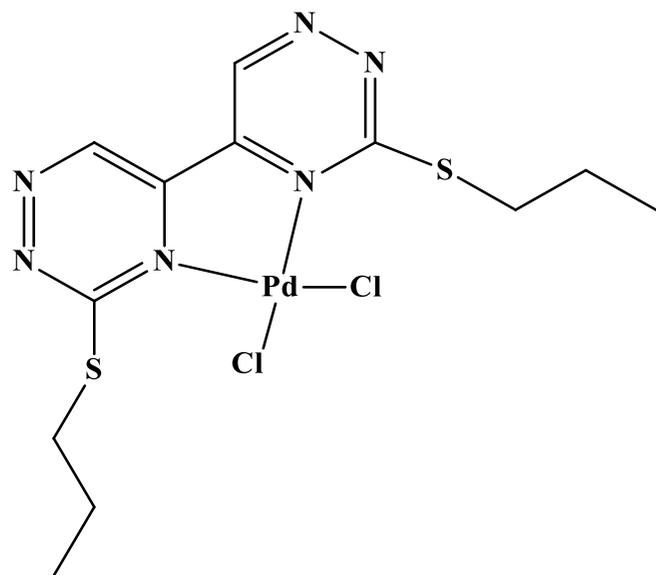
5.2. Caracterização dos complexos de paládio(II) e platina(II) de 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.

Os dados de análises elementais, medidas de condutividade molar e temperaturas de fusão são apresentados na Tabela 5.5. Os resultados sugerem a formação de dois complexos: no caso do paládio(II) só uma molécula de ligante forma o complexo $[\text{Pd}(\text{L7})\text{Cl}_2]$ (**5**), mas no caso da platina(II) duas moléculas de ligante por metal formam o complexo iônico $[\text{Pt}(\text{L7})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{KCl}$ (**6**). Esta hipótese é corroborada pelos valores de condutividades molares em DMF⁶⁶ onde o complexo (**5**) é não-eletrolítico, e o complexo (**6**) é um eletrólito 2:1.

⁶⁶ J.W. Geary. *Coord. Chem. Rev.*, 7 (1971) 81-122.

Tabela 5.5 – Fórmula molecular, massa molar (M), temperatura de fusão (TF(°C)), análise elementar de C, H e N (valores calculados em parêntesis), condutividade (Λ_M) e rendimento da reação (Rend.), dos complexos de paládio(II) (5) e platina(II) (6).

Compostos	Aspecto	Fórmula molecular	M (g.mol ⁻¹)	T F (°C)	Análise elementar			Λ_M (cm ² Ω ⁻¹ mol ⁻¹)	Rend. (%)
					%C	%H	%N		
[Pd(L7)Cl ₂].0,5H ₂ O (5)	Pó amarelo	[C ₁₂ H ₁₆ N ₆ Cl ₂ PdS ₂] 0,5 H ₂ O	494,732	248,9	28,99 (29,13)	3,30 (3,46)	16,67 (16,99)	9,00	89,27
[Pt(L7) ₂]Cl ₂ .2KCl (6)	Pó roxo escuro	[C ₂₄ H ₃₂ N ₁₂ PtS ₄]Cl ₂ 2KCl	1031,936	230,0	27,37 (27,93)	3,01 (3,13)	15,39 (16,29)	125,18	43,25



5.2.4. Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho de **L7** e de seus complexos de paládio(II) e platina(II) foram obtidos na região de 4000 a 400 cm^{-1} em pastilhas de KBr. As bandas mais representativas encontram-se na Tabela 5.6.

Tabela 5.6 – Principais bandas dos espectros de infravermelho (cm^{-1}) dos complexos de paládio(II) (**5**) e platina(II) (**6**) e 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina.

Atribuição	$\nu(\text{C}=\text{C})$	$\nu(\text{N}=\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{C}-\text{S})$
L7	1618	1514	1478	776
(5)	1618	1534	1492	792
(6)	1620	1520	1488	730

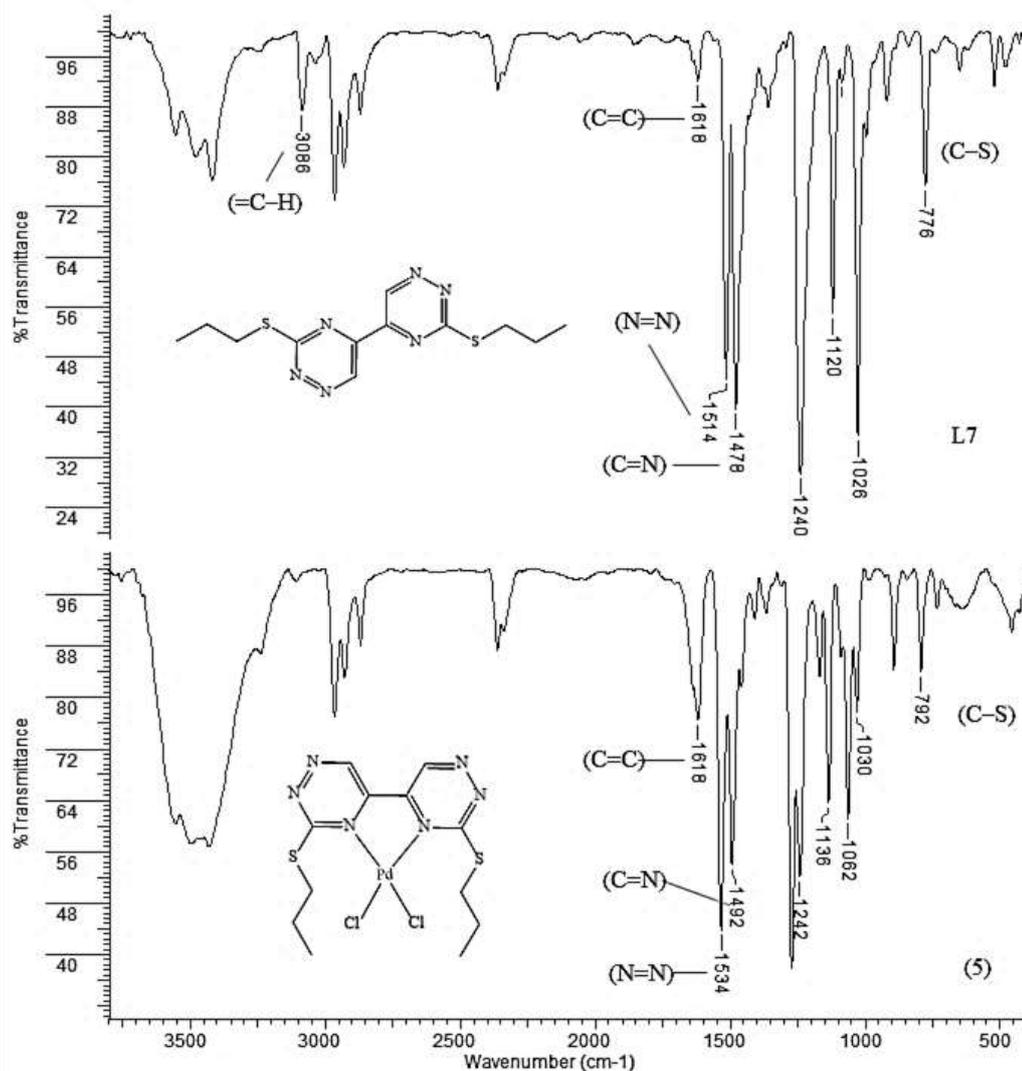


Figura 5.4 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante **L7** e do complexo $[\text{Pd}(\text{L7})\text{Cl}_2] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (**5**).

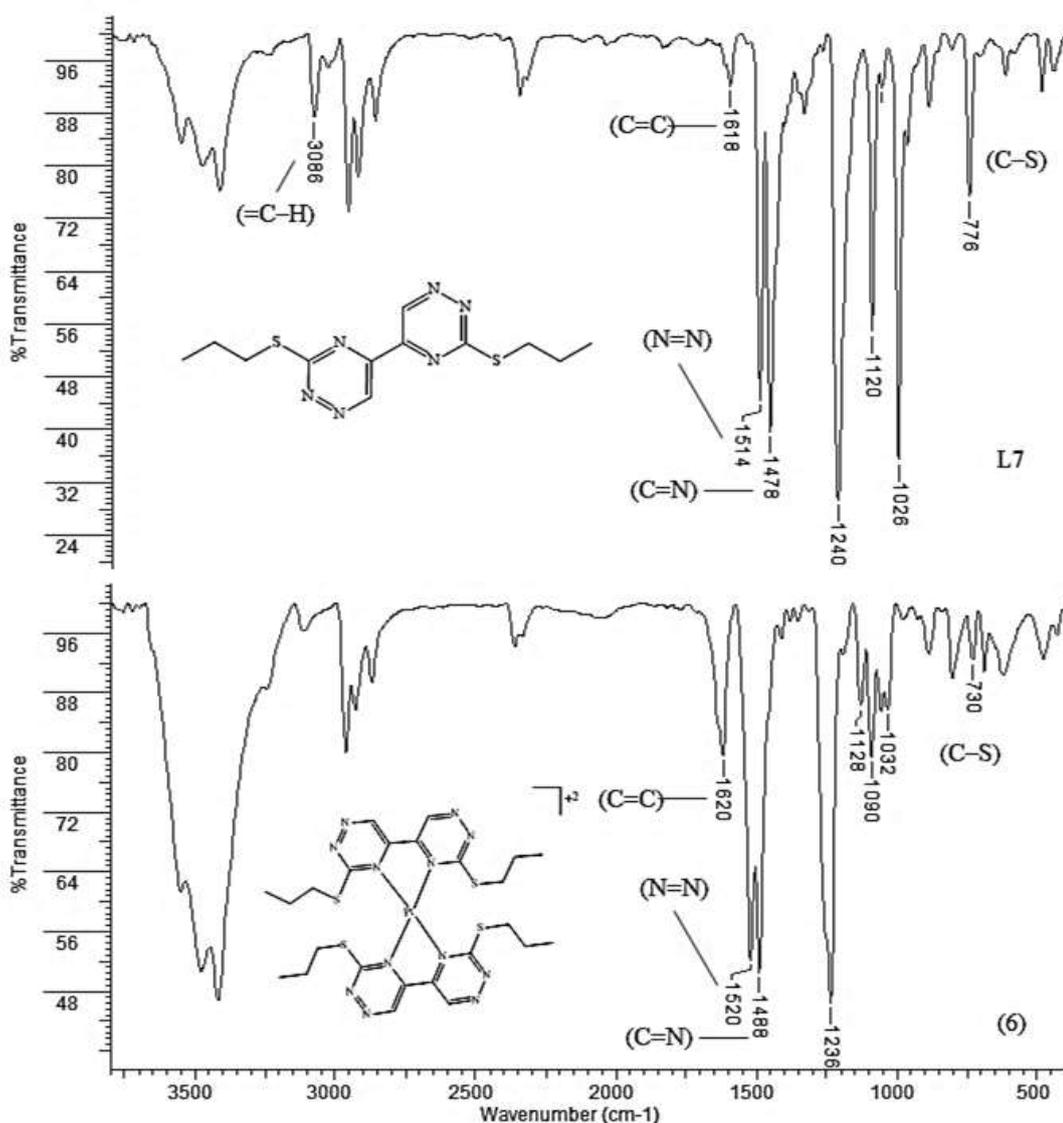


Figura 5.5 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante **L7** e do complexo [Pt(L7)₂]Cl₂·2KCl (**6**).

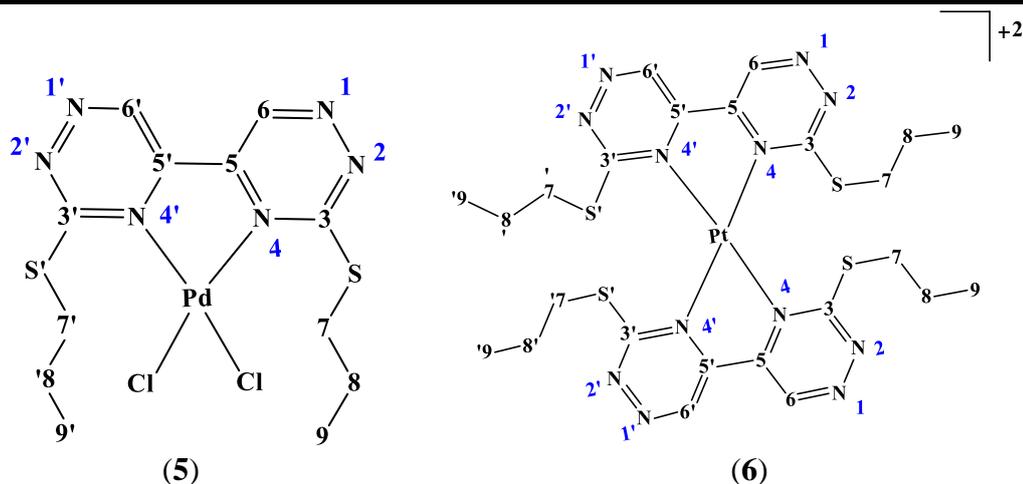
Os deslocamentos das bandas $\nu(\text{N}=\text{N})$, $\nu(\text{C}=\text{N})$ e $\nu(\text{C}=\text{S})$ sugerem a coordenação através do sistema quelante N-N, como mostrado nas Figuras 5.4 e 5.5. A presença da água de cristalização no complexo de paládio(II) pode ser evidenciada pelo aparecimento de uma larga absorção em torno de 3500 cm^{-1} no espectro do complexo, que não estava presente no espectro de **L7**.

5.2.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de todos os compostos foram feitos em DMSO- d_6 . A numeração adotada para a atribuição dos átomos constituintes encontra-se nas tabelas 5.7 e 5.8. Os espectros de ^1H RMN e ^{13}C RMN do complexo (6) encontram-se nas figuras 5.6 e 5.7, e os sinais de hidrogênio e carbonos para os compostos encontram-se nas tabelas 5.7 e 5.8.

Tabela 5.7 – Atribuição de número de hidrogênios (N°), deslocamento químico δ (ppm), multiplicidade (M)* dos principais sinais de RMN de ^1H (400 MHz) da 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina e seus complexos de paládio(II) (5) e platina(II) (6) em DMSO- d_6 .

Atribuição	N° de H	L7	(5)	(6)
H6	2	9,90	9,90	9,90
H7	4	3,36 – 3,29 (m)	3,39 – 3,30 (m)	3,36 – 3,30 (m)
H8	4	1,91 – 1,67 (m)	1,91 – 1,67 (m)	1,92 – 1,67 (m)
H9	6	1,05 (t) ($J = 7,3$ Hz)	1,05 (t) ($J = 7,2$ Hz)	1,05 (t) ($J = 7,3$ Hz)



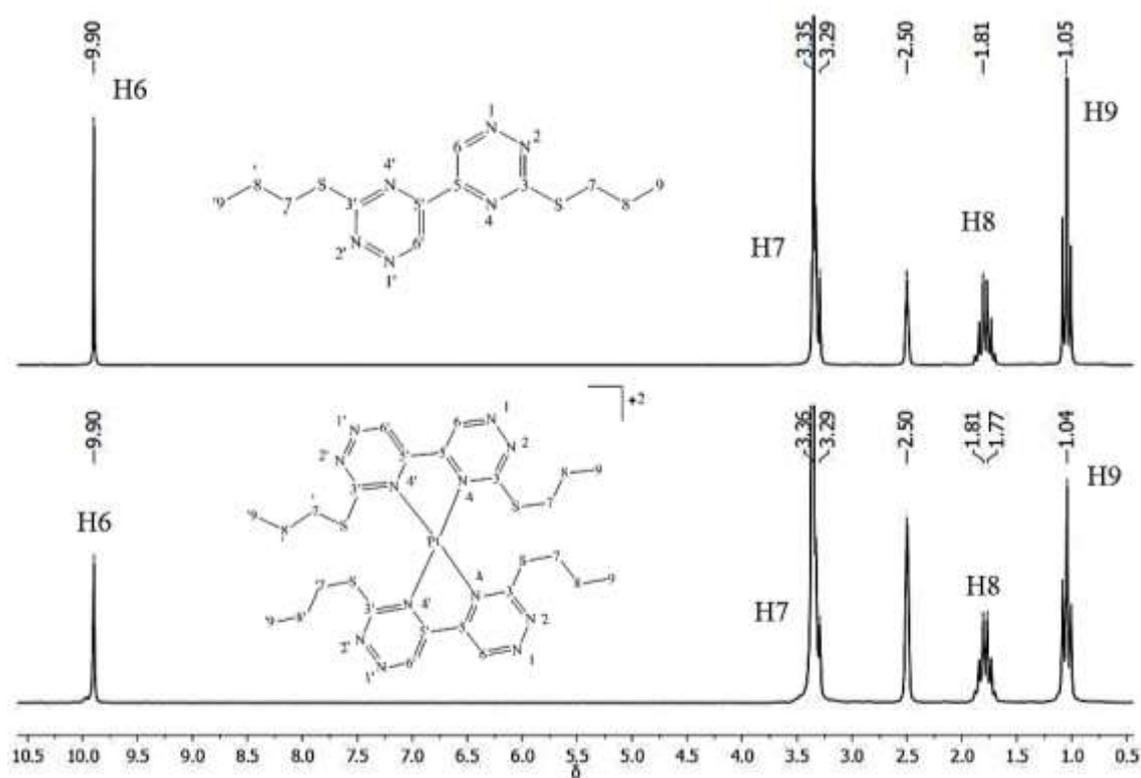


Figura 5.6 – Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) de **L7** e seu complexo $[\text{Pt}(\text{L7})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{KCl}$ (**6**) em $\text{DMSO-}d_6$.

Tabela 5.8 – Atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C (400 MHz) da 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**) e seu complexo de platina(II) (**6**) em $\text{DMSO-}d_6$.

Atribuição	L7	(6)
C3	172,98	172,99
C6	142,81	142,83
C5	150,72	150,75
C7	31,97	31,98
C8	21,91	21,92
C9	13,20	13,31

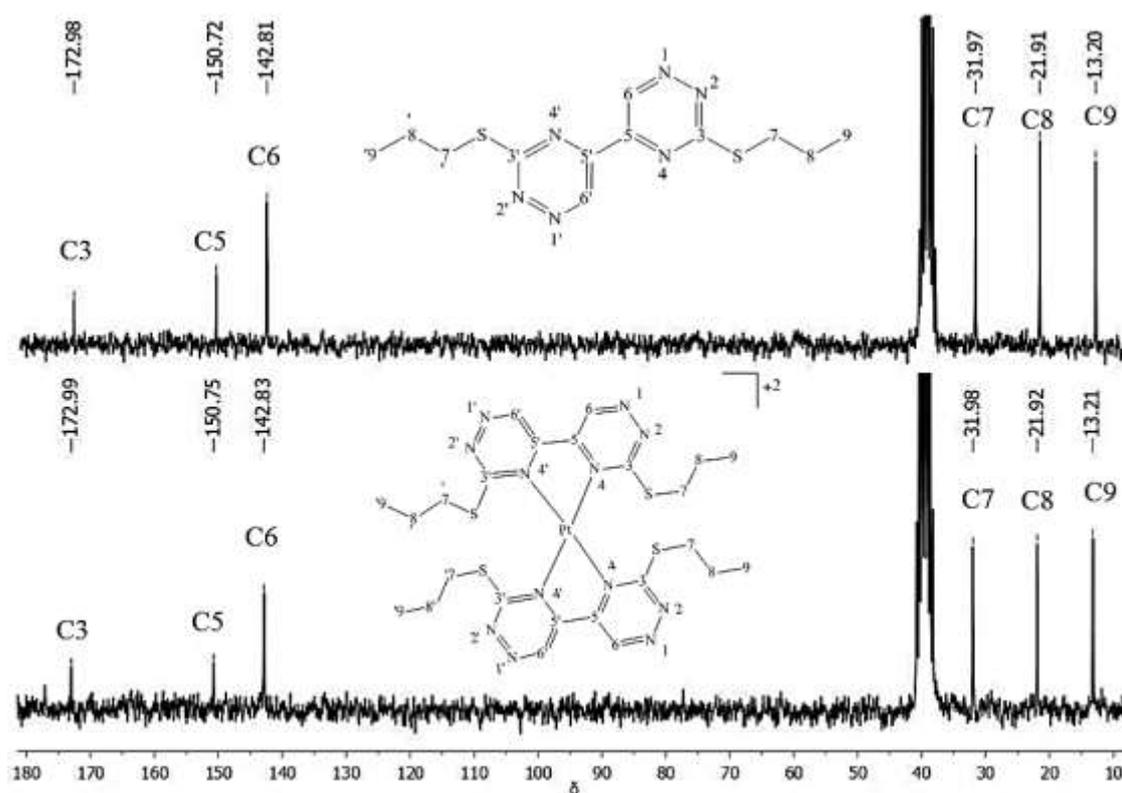


Figura 5.7 – Espectros de RMN de C^{13} (400 MHz) de **L7** e seu complexo $[Pt(L7)_2]Cl_2 \cdot 2KCl$ (**6**) em $DMSO-d_6$.

Os espectros de RMN dos complexos de paládio(II) e platina(II) não diferem daqueles do ligante **L7**, provavelmente porque o ambiente dos hidrogênios e carbonos não é afetado pela ligação fraca com o metal. Os espectros eletrônicos em DMSO em função do tempo permitiram obter novas informações sobre os comportamentos dos complexos em solução (item 5.2.6).

As Figura 5.8–a mostra os espectros de ^{195}Pt RMN do precursor tetracloroplatinato de potássio (a) e do complexo (**6**) (b) com o passar do tempo. O espectro de ^{195}Pt RMN do sal tetracloroplatinato de potássio apresenta um sinal em 2953 ppm logo após a dissolução. Depois de 15 minutos o espectro mostra o mesmo sinal e um segundo sinal em 3443 ppm, resultante da substituição de um ou mais cloretos por DMSO na esfera de coordenação da platina.

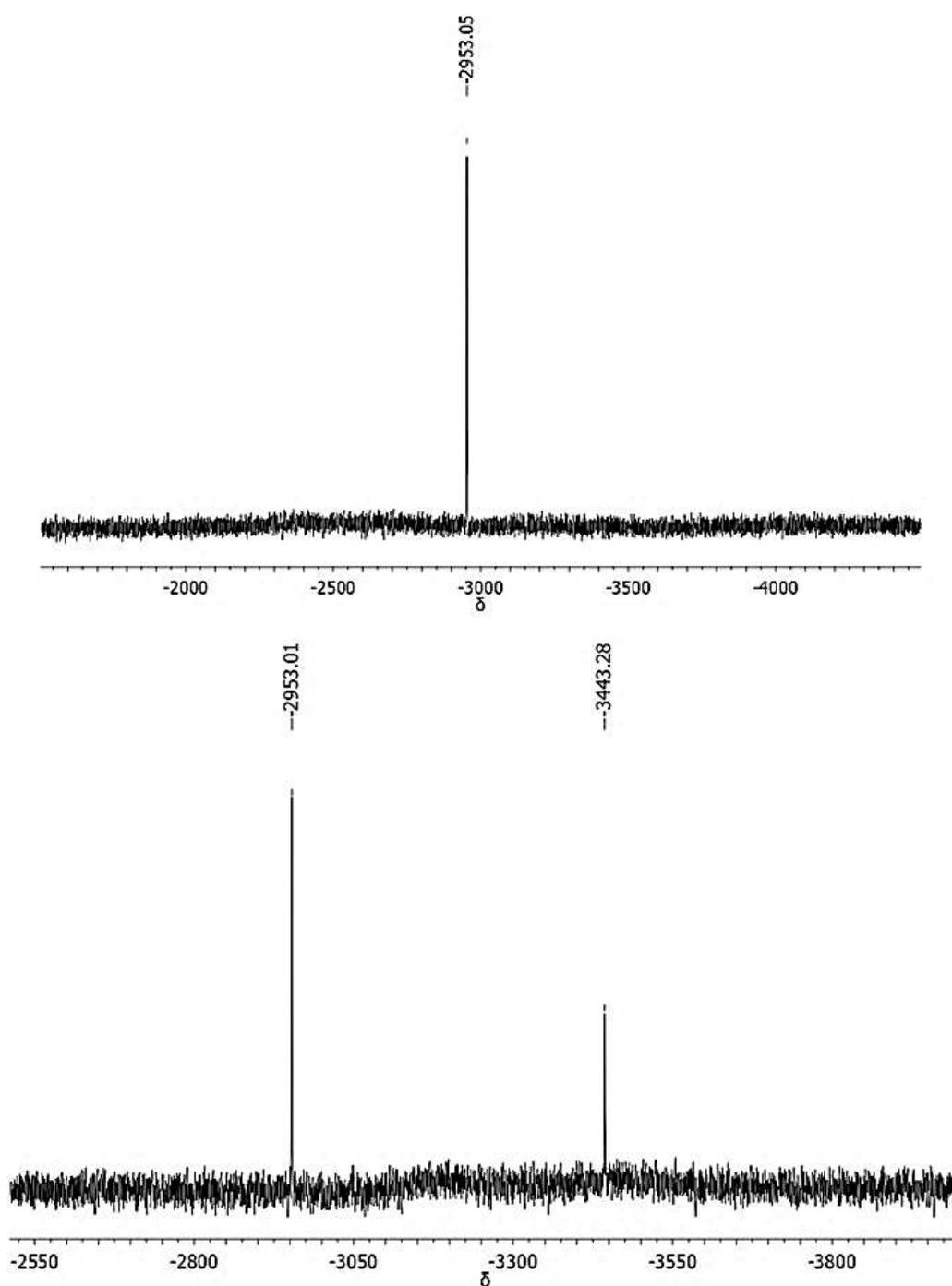


Figura 5.8 – (a) Espectros de ^{195}Pt RMN em $\text{DMSO-}d_6$ do tetracloroplatinato de potássio (600 MHz) imediatamente após a dissolução (acima) e 15 minutos após a dissolução (abaixo).

O espectro de ^{195}Pt RMN do complexo após cerca de 30 minutos de dissolução apresenta dois sinais em 2804 e em 3443, os quais foram atribuídos ao complexo (6) com a triazina e ao complexo formado pela platina com cloretos/DMSO ou somente com DMSO. O espectro

registrado 4 horas após a dissolução mostra apenas um sinal em 3443, sugerindo a completa desmetalção do complexo no solvente (Figura 5.8–b).

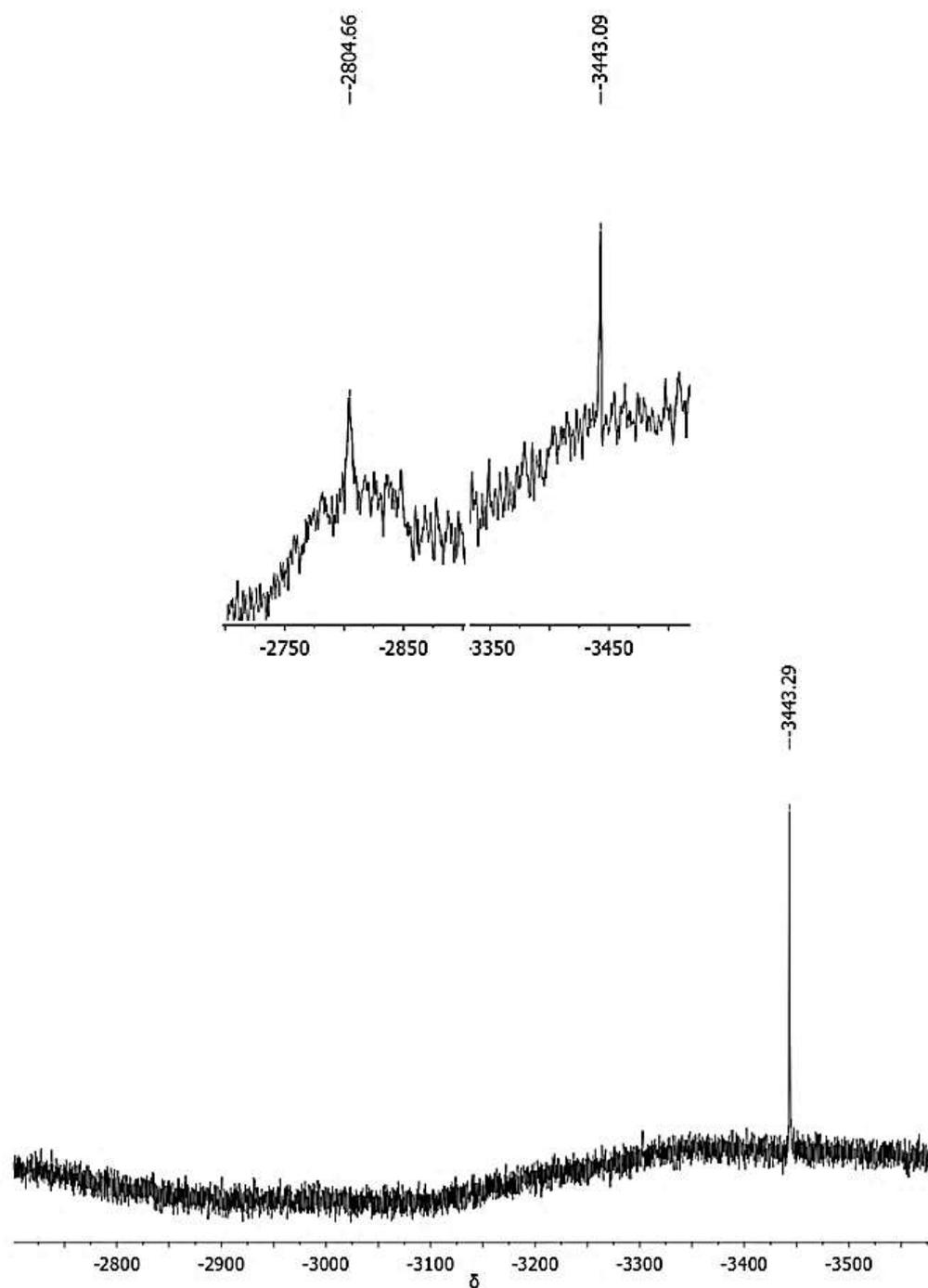


Figura 5.8 – (b) Espectros de ^{195}Pt RMN em $\text{DMSO-}d_6$ do complexo (6) (600 MHz) 30 min após a dissolução (acima) e após 4 h de dissolução (abaixo).

5.2.6. Estudo preliminar de estabilidade dos compostos por meio de espectros eletrônicos de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

A Figura 5.9 mostra os espectros eletrônicos do complexo de paládio(II) em DMSO em função do tempo. O composto é muito pouco solúvel, mas ainda assim pode-se observar uma nova absorção em torno de 460 nm. O complexo parece reagir inicialmente com o DMSO, sendo possível que ocorra a substituição de um ou dois cloretos por moléculas do solvente, formando novas espécies. Como o passar do tempo ocorre a descomplexação.

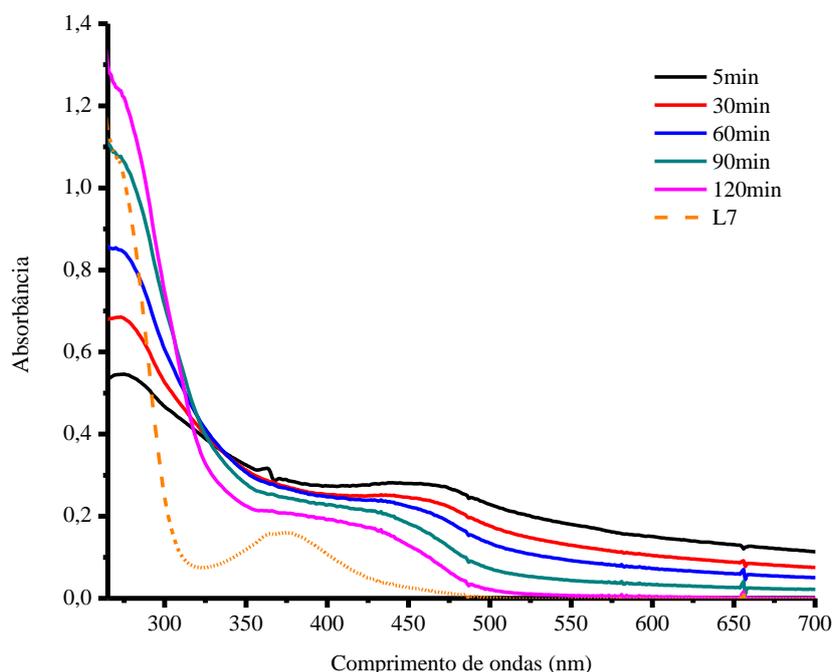


Figura 5.9 – Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo de paládio(II) (**5**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO.

A Figura 5.10 mostra os espectros eletrônicos do complexo de platina(II) em DMSO em função do tempo entre $t = 1 \text{ min}$ e $t = 20 \text{ min}$. Este complexo é mais solúvel, mas parece reagir inicialmente com o DMSO. Os espectros mostram a formação de uma nova espécie, com uma absorção em 600 nm, que se origina provavelmente da labilização de um dos ligantes com a coordenação de moléculas de DMSO.

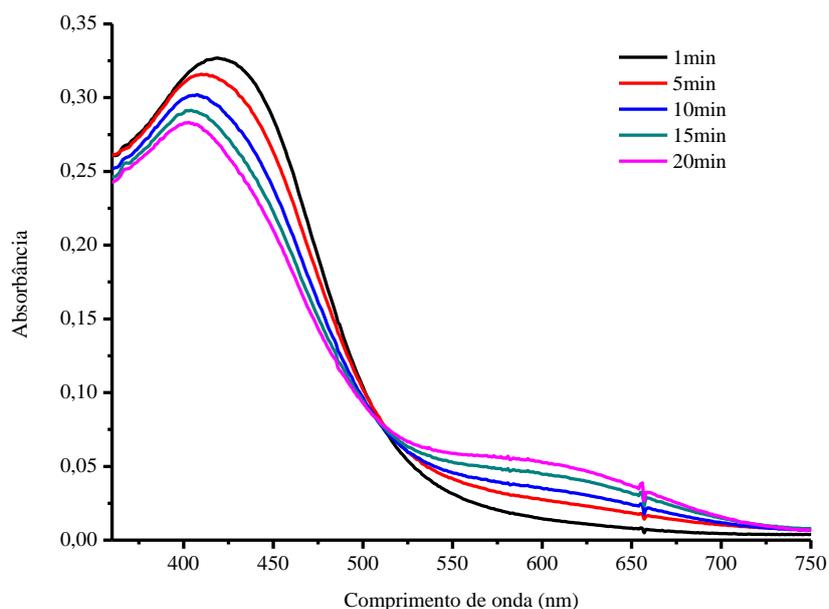


Figura 5.10 –Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo de platina(II) (6) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO (no intervalo 5-20 minutos)

Com o passar do tempo observam-se mudanças que sugerem a descomplexação total, restando apenas o ligante, com a possível formação de espécies contendo platina, DMSO e cloretos (ver Figura 5.11).

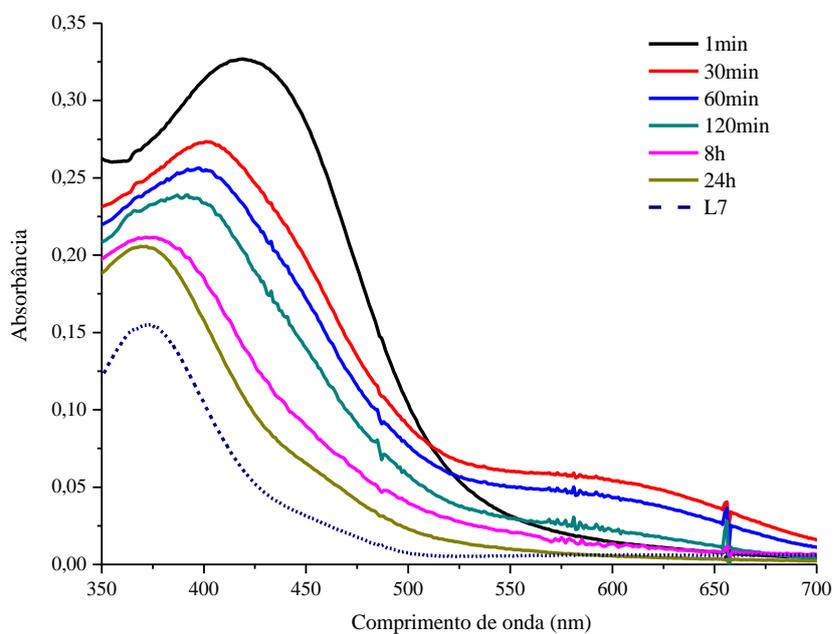


Figura 5.11 –Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo de platina(II) (6) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO.

Para o complexo de platina(II), que é o mais solúvel, foram registrados os espectros em DMF (Figura 5.12). Neste caso, não há variação com o tempo, mas quando se faz o experimento em DMF/tampão, o composto precipita (Figura 5.13).

Desse modo, não foi possível realizar testes biológicos com os complexos de paládio(II) e platina(II).

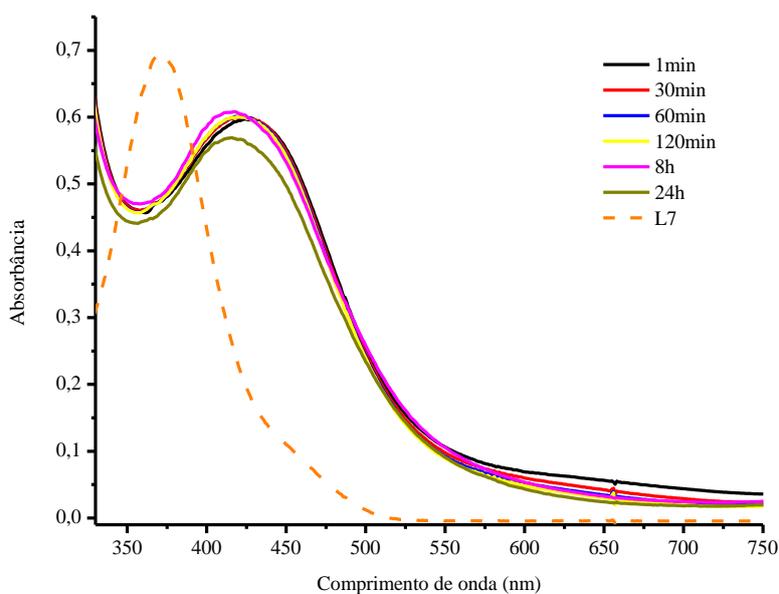


Figura 5.12 –Espectros eletrônicos, com o tempo do complexo de platina(II) (6) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMF.

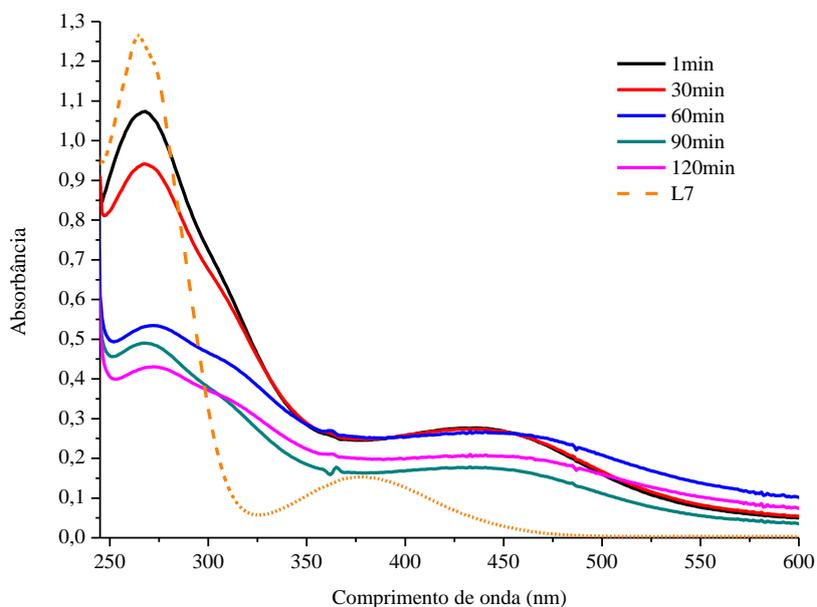


Figura 5.13 –Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo de platina(II) (6) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMF em tampão Tris-HCl pH 7,2.

Capítulo 6

Discussão dos resultados e conclusões

No presente trabalho foram obtidos os complexos $[(bis(meta-nitrobenzaldeídotiossemicarbazonato)(cloro)bismuto(III)) [Bi(L1)_2Cl]$ (**1**), $[(bis(para-nitrobenzaldeídotiossemicarbazona(tricloro)bismuto(III)) [Bi(HL2)_2Cl_3]$ (**2**), $[bis(meta-nitroacetofenonatossemicarbazona)(tricloro)bismuto(III)] [Bi(HL3)_2Cl_3]$ (**3**) e $[bis(para-nitroacetofenonatossemicarbazonato)(cloro)bismuto(III)] [Bi(L4)_2Cl]$ (**4**) com *meta*-nitrobenzaldeídotiossemicarbazona (**HL1**), *para*-nitrobenzaldeídotiossemicarbazona (**HL2**), *meta*-nitroacetofenonatossemicarbazona (**HL3**) e *para*-nitroacetofenona-tiossemicarbazona (**HL4**).

Os complexos foram caracterizados por análise elementar, medidas de condutimetria e por meio de seus espectros de infravermelho e RMN de 1H e ^{13}C . Apesar de haver poucas diferenças entre os espectros de RMN de ligantes e complexos foi possível observar um padrão nos complexos que nos permite afirmar que não ocorre descomplexação em solução. Este padrão depende da localização do grupo nitro no anel aromático (*para*- ou *meta*-).

Nos complexos (**2**) e (**4**), onde o grupo nitro está em posição *para*- não há diferença no deslocamento químico de 1H nem ^{13}C em relação ao ligante em razão da estabilidade do ligante quando forma um sistema conjugado desde o grupo $-NO_2$ até $-N4-H_{a,b}$, o qual não é perturbado ao formar os complexos, mas a maior rigidez da molécula do complexo define melhor os sinais nos espectros de RMN de 1H .

Para os complexos (**1**) e (**3**), onde o grupo nitro está em posição *meta*- foi possível observar diferenças especialmente no deslocamento do sinal $-N4-H_{a,b}$. Nos complexos a rotação da ligação $C-NH_{a,b}$ fica restrita: primeiro pela rigidez do ligação na coordenação com o bismuto, e segundo pela participação do par de elétrons livres da amina na estrutura de ressonância da tiossemicarbazona. Além disso, nos espectros de RMN de 1H dos complexos é possível observar um singleto que foi atribuído ao $N3-H$, mostrando que não ocorre a desprotonação da ligação $N-H$ após a coordenação no caso dos complexos (**2**) e (**3**), mas também nos espectros dos complexos (**1**) e (**4**), sugerindo, neste último caso, a possível reprotonação de $N3$ por efeito do solvente hidratado.

Os espectros eletrônicos registrados com o tempo em solução de DMSO ou DMSO-tampão pH 7,2 não variam, sugerindo a estabilidade dos complexos em solução.

Testes de atividade citotóxica contra células de carcinoma colorretal humano (HT-29) e células sadias (HEK-293) revelaram que todos compostos foram inativos tanto em condições de normóxia quanto de hipóxia. O

Os ligantes **HL1-HL4** e seus complexos de bismuto(III), que foram inativos contra bactérias *Gram* positivas e *Gram* negativas deveriam ser testados em cepas anaeróbicas, uma vez que têm potencial de redução do grupo nitro similar ao de fármacos biorredutíveis como o benznidazol. Esses compostos deveriam igualmente ser testados quanto à suas atividades antiparasitárias, uma vez que tiossemicarbazonas análogas derivadas de nitrobenzaldeído e nitroacetofenona e seu complexos metálicos demonstraram atividade antichagásica.

Foram também sintetizados os ligantes derivados do fármaco anti-Alzheimer memantina ((3,5-dimetil-1-iminoadamantin)metil)fenol (**HL5**) e N-(2-piridinilmetileno)-3,5-dimetil-1-amino-adamantina (**L6**), com o objetivo de funcionalizar a memantina com um sistema quelante.

Esses ligantes foram caracterizados por meio de análise elementar, seus espectros de infravermelho e de RMN de ^1H e ^{13}C . A capacidade de resistir em um meio biológico foi estudada com espectros eletrônicos registrados com o tempo em solução de DMSO e DMSO-tampão pH 7,2 e 1,2. O composto **HL5** mostrou ser estável em DMSO, mas sofre hidrólise nas soluções tampão. Por essa razão **HL5** foi descartado como um possível agente quelante. **L6** mostrou estabilidade em DMSO e nas soluções tampão, sugerindo que seria um possível agente quelante derivado do fármaco anti-Alzheimer memantina, para complexar metais envolvidos em doenças degenerativas do cérebro.

O ligante 3,3'-bis(propilsulfanil)-5,5'-bi-1,2,4-triazina (**L7**), contendo o sistema quelante N-N foi sintetizado e utilizado para complexar paládio(II) e platina(II), na tentativa de se obter novos candidatos a fármacos antineoplásicos. Formaram-se os complexos $[\text{Pd}(\text{L7})\text{Cl}_2]$ (**5**) e $[\text{Pt}(\text{L7})_2]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{KCl}$ (**6**), que foram caracterizados por meio de microanálises, medidas de condutimetria e por meio de seus espectros de infravermelho e RMN.

Os complexos (**5**) e (**6**) reagem com DMSO, com substituição de ligantes pelo solvente com o decorrer do tempo e desmetalção. Os espectros de RMN do complexo (**6**) em DMF não variam com o tempo, mas quando se faz o experimento em DMF/tampão, o composto precipita, não sendo possível estudar suas bioatividades.

O presente trabalho representa uma importante contribuição ao desenvolvimento de ligantes para complexar metais de relevância farmacológica.

APÊNDICE

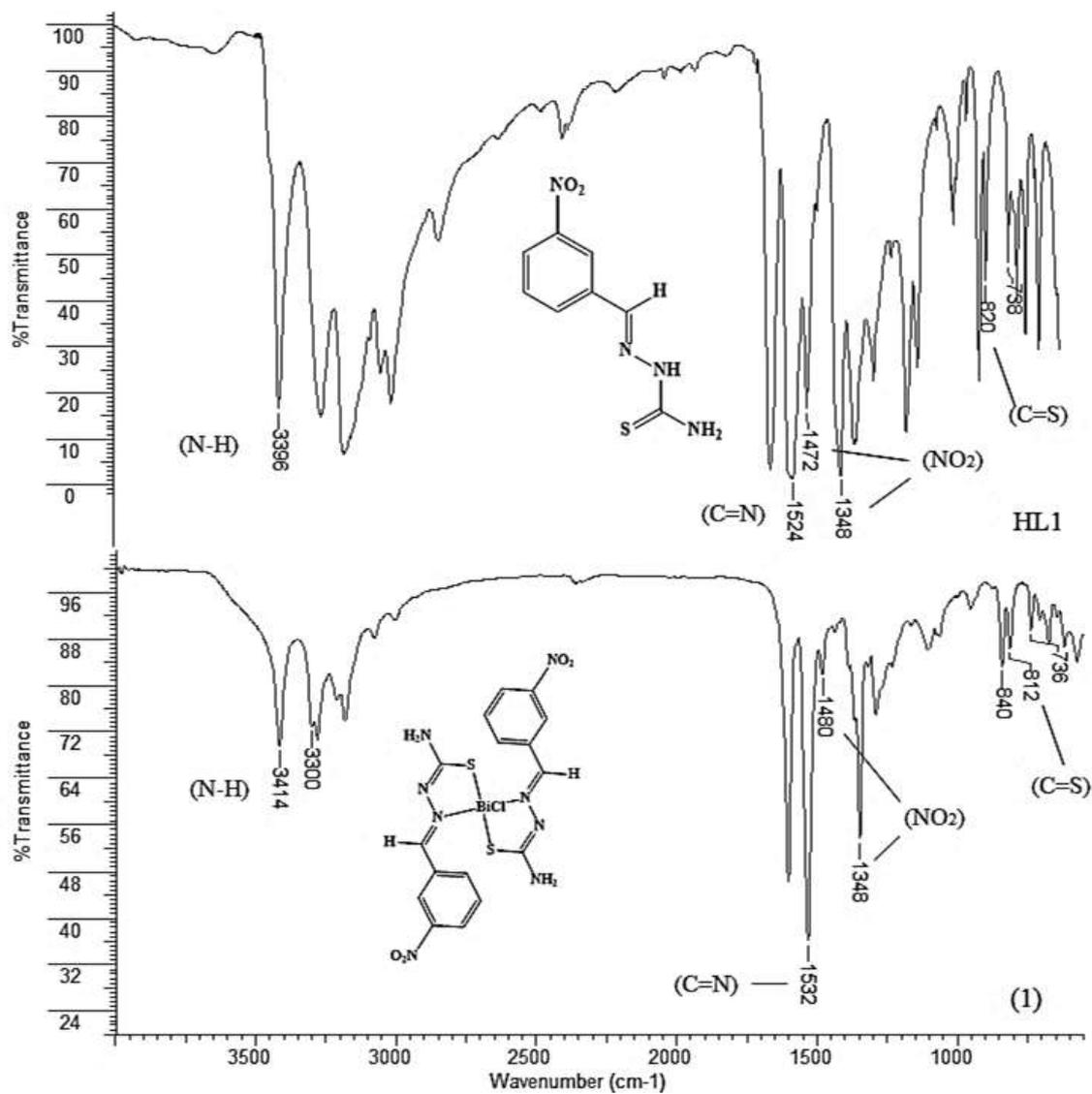


Figura 7.1 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante **HL1** e do complexo [Bi(L1)₂Cl] (**1**).

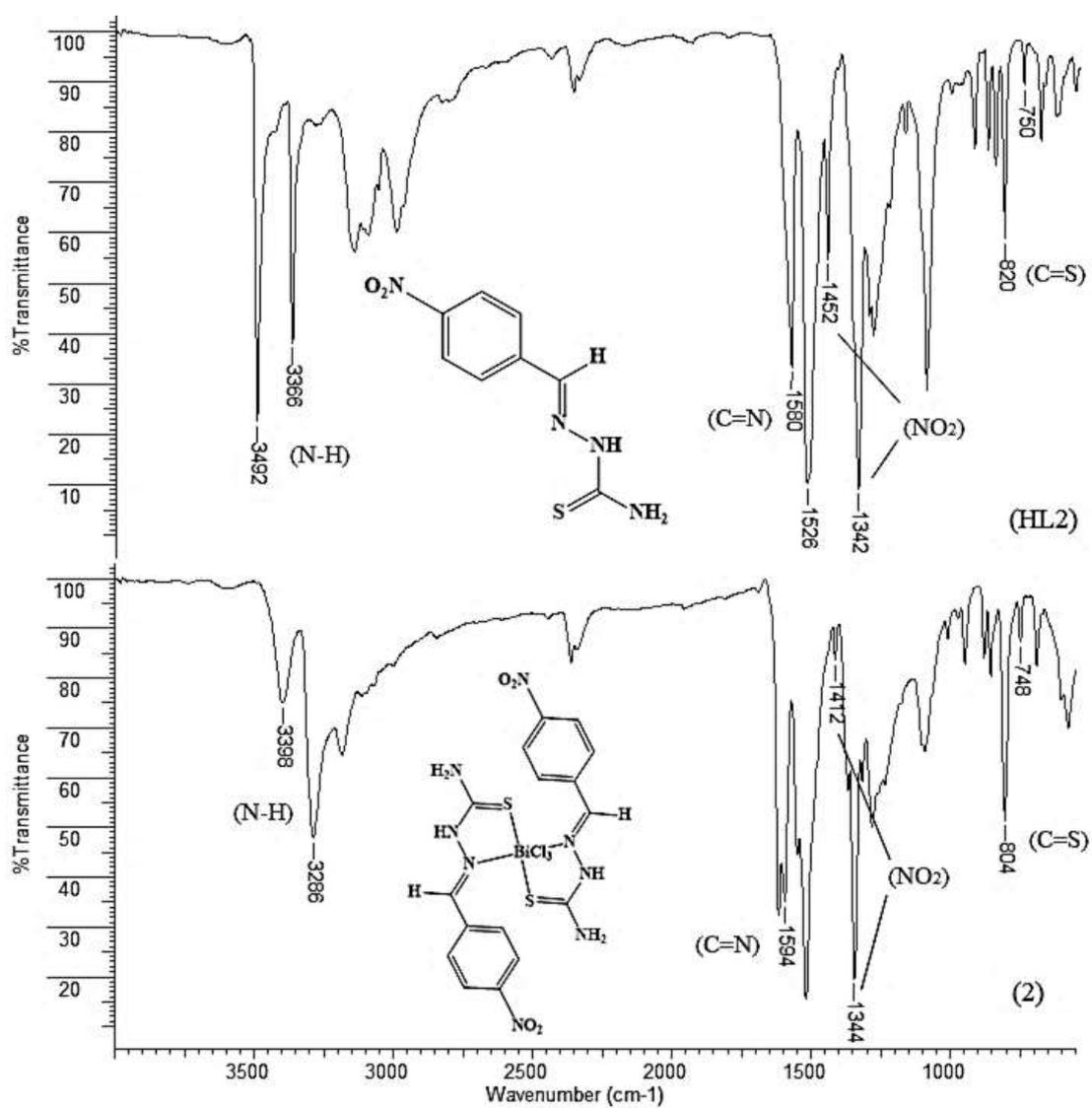


Figura 7.2 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante **HL2** e do complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (**2**).

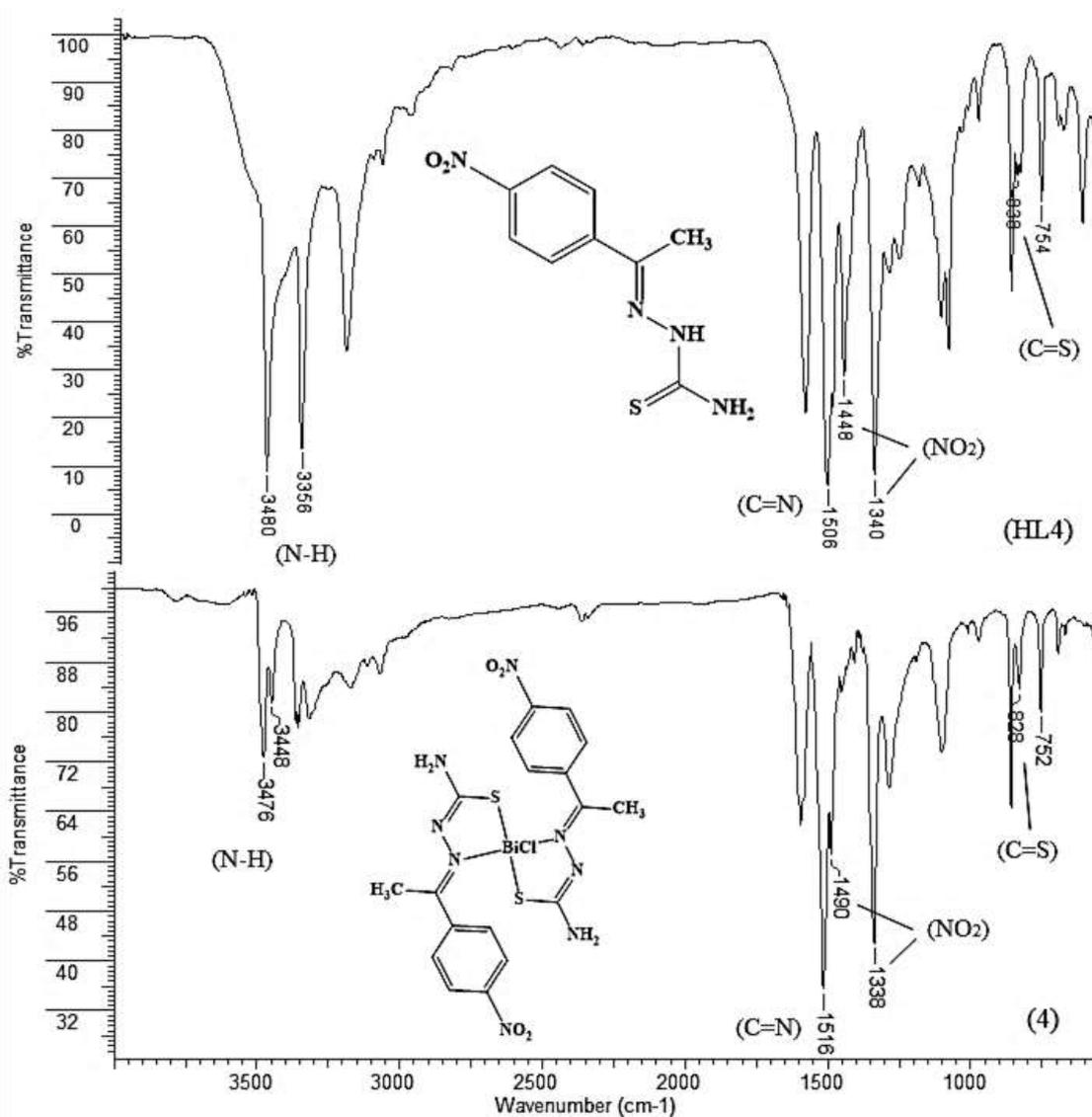


Figura 7.3 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante **HL4** e do complexo **[Bi(L4)₂Cl] (4)**.

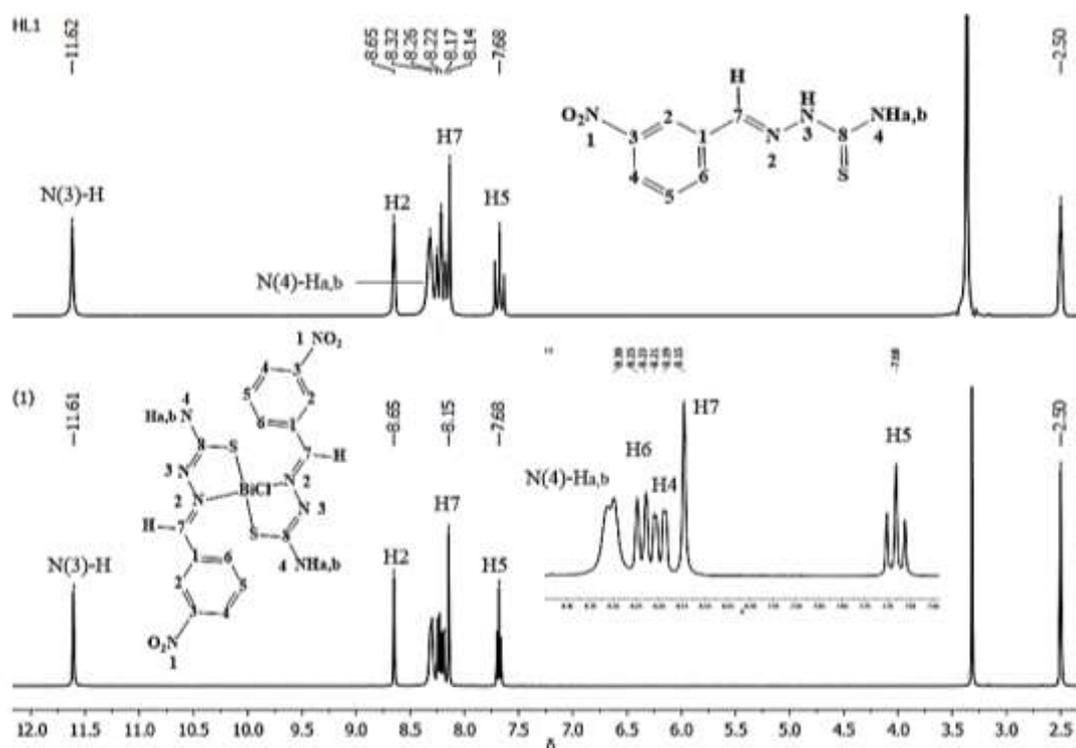


Figura 7.4 – Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL1** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (**1**), em $\text{DMSO-}d_6$.

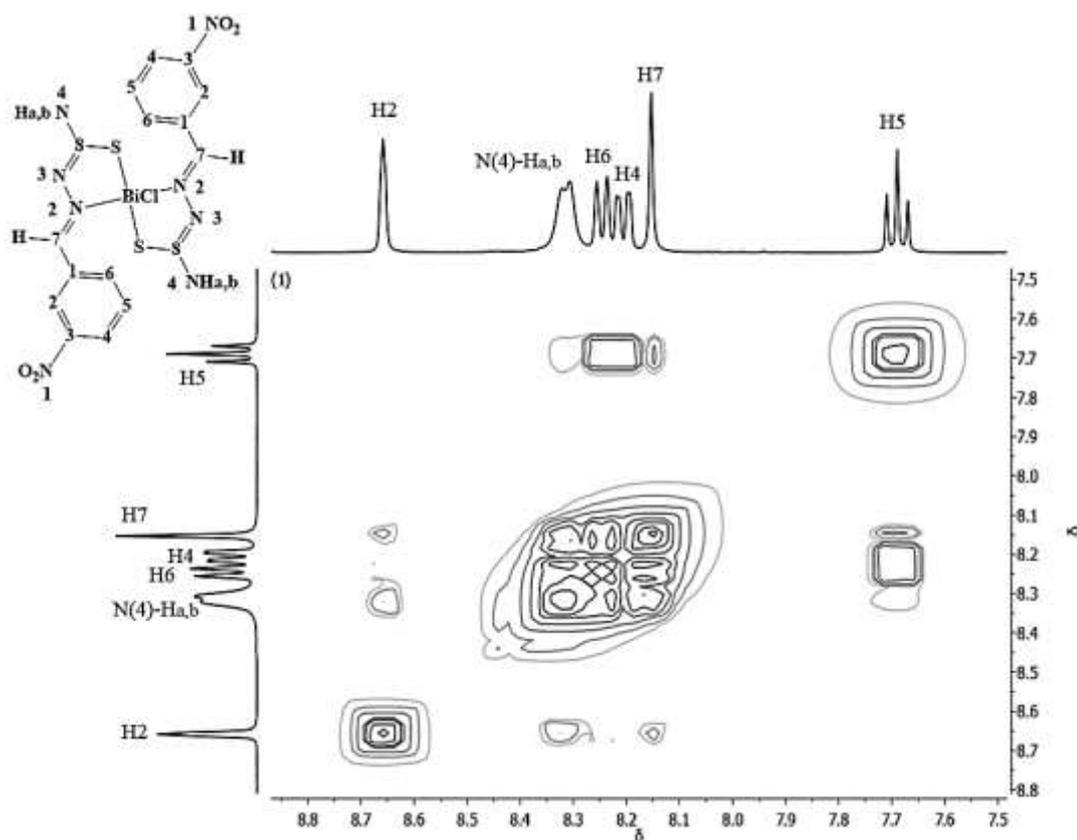


Figura 7.5 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (**1**) (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$.

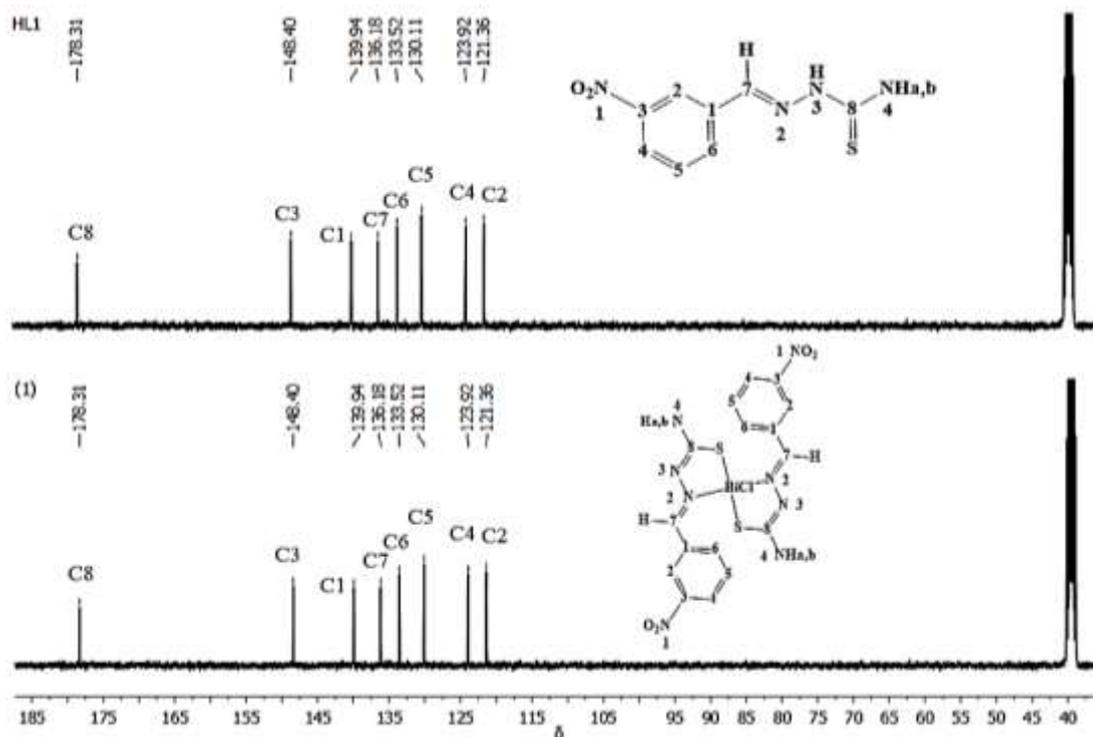


Figura 7.6 – Espectros de RMN de ^{13}C de **HL1** e de seu complexo [Bi(L1)₂Cl] (**1**) (400 MHz), em DMSO-*d*₆.

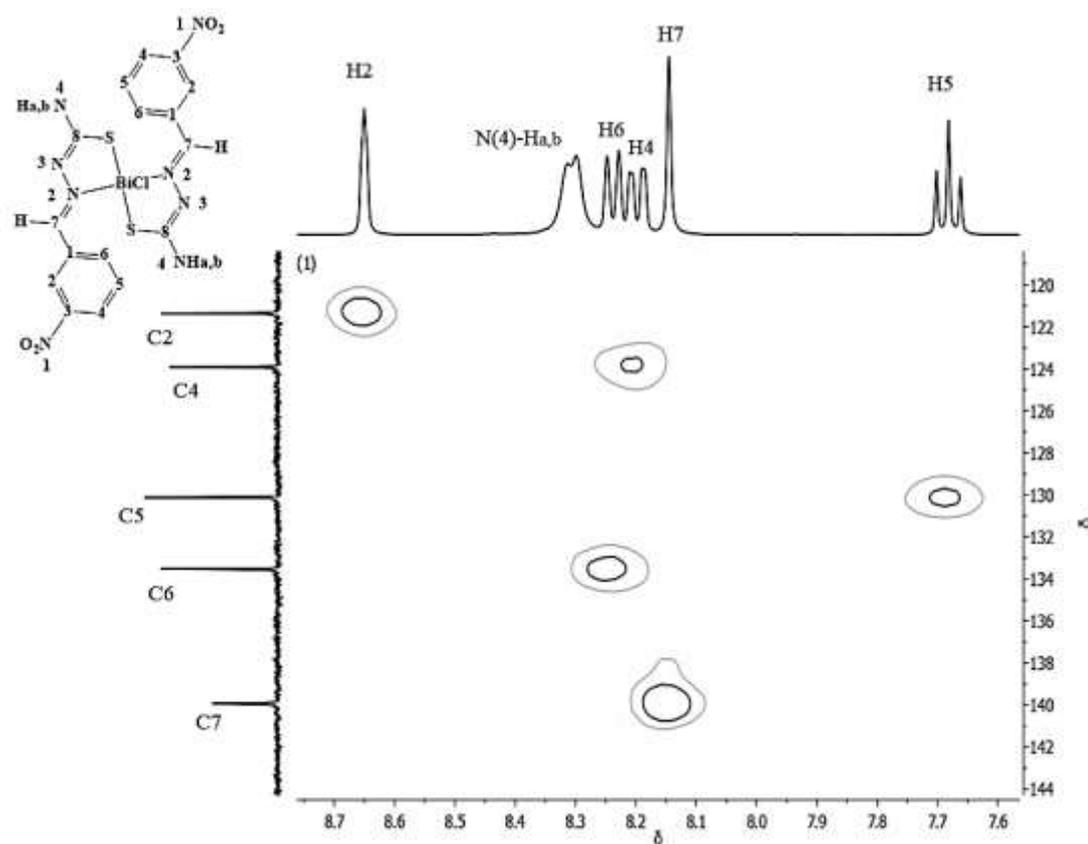


Figura 7.7 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo [Bi(L1)₂Cl] (**1**) (400Hz), em DMSO-*d*₆.

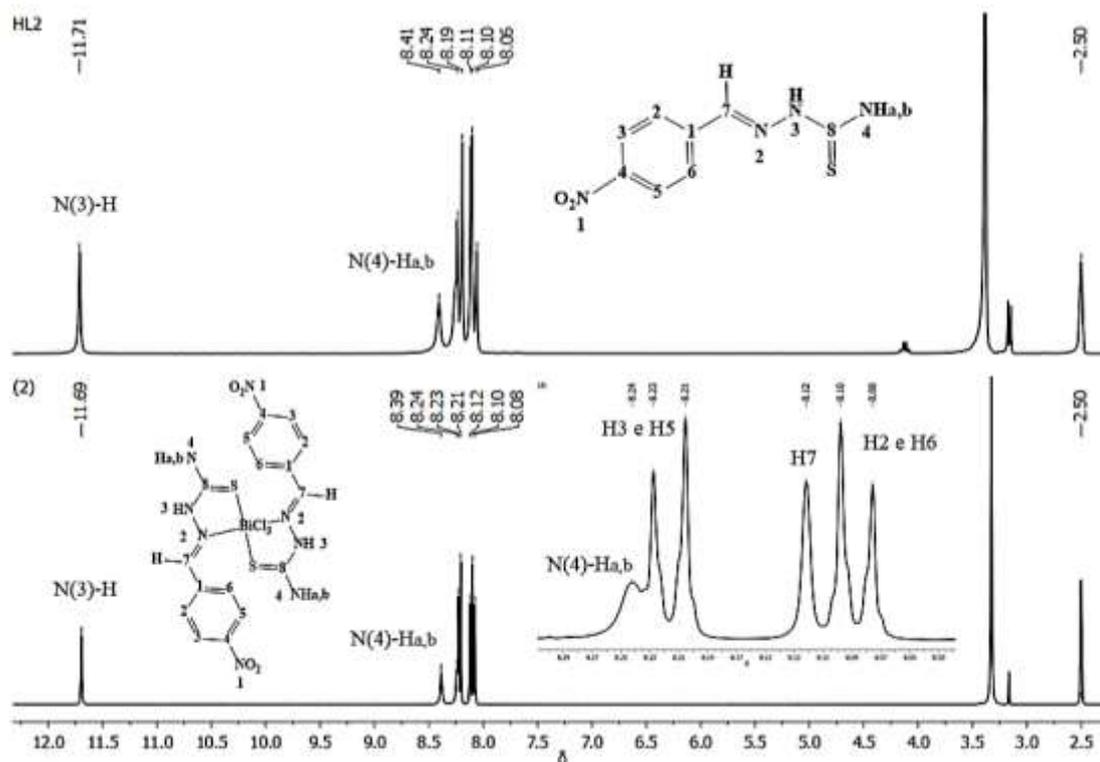


Figura 7.8 – Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL2** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (**2**), em $\text{DMSO-}d_6$.

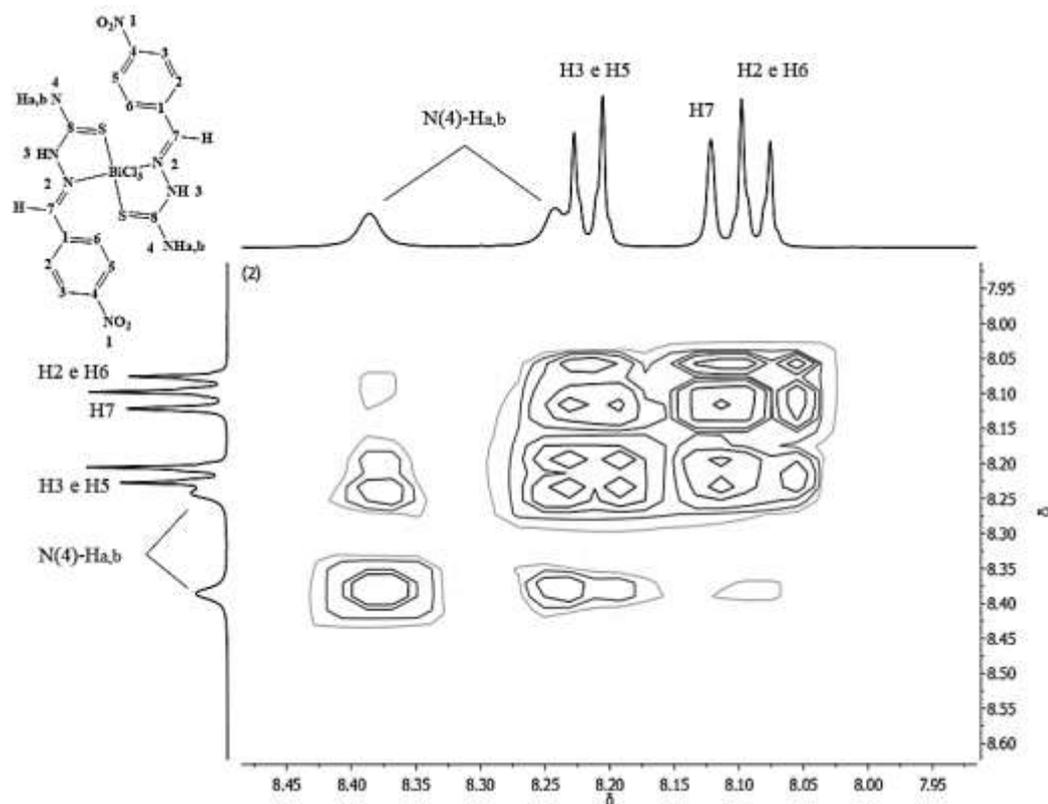


Figura 7.9 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (**2**) (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$.

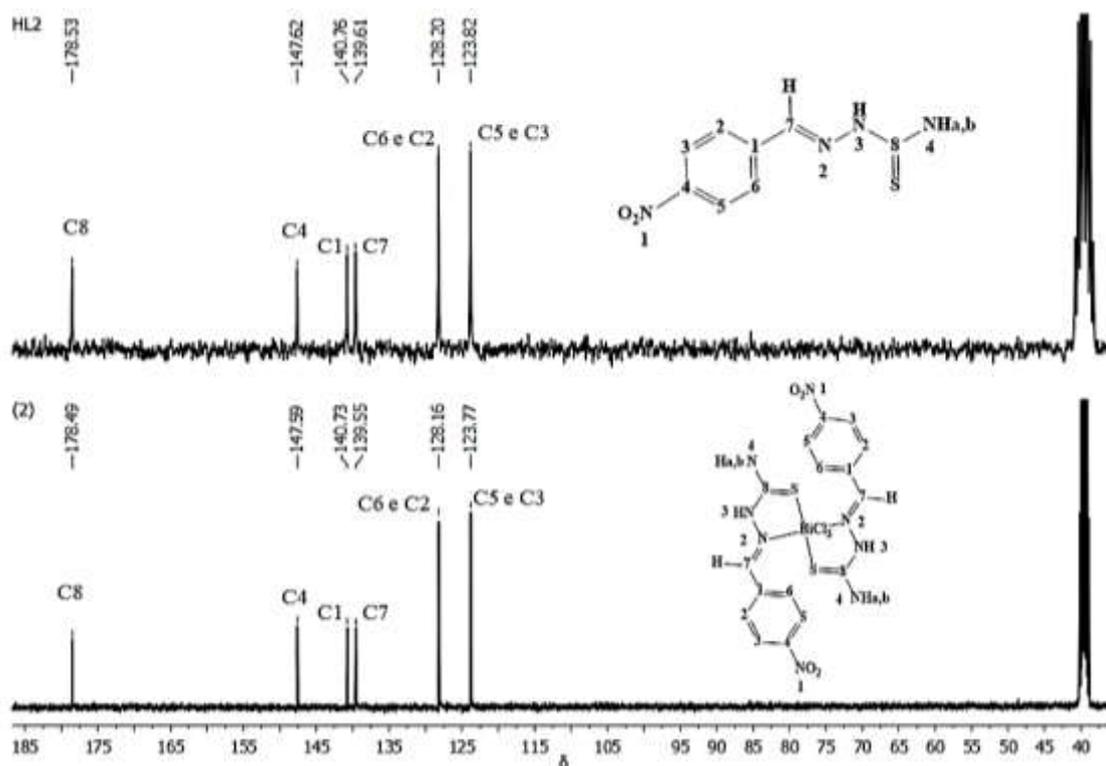


Figura 7.10 – Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) de **HL2** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (2), em $\text{DMSO-}d_6$.

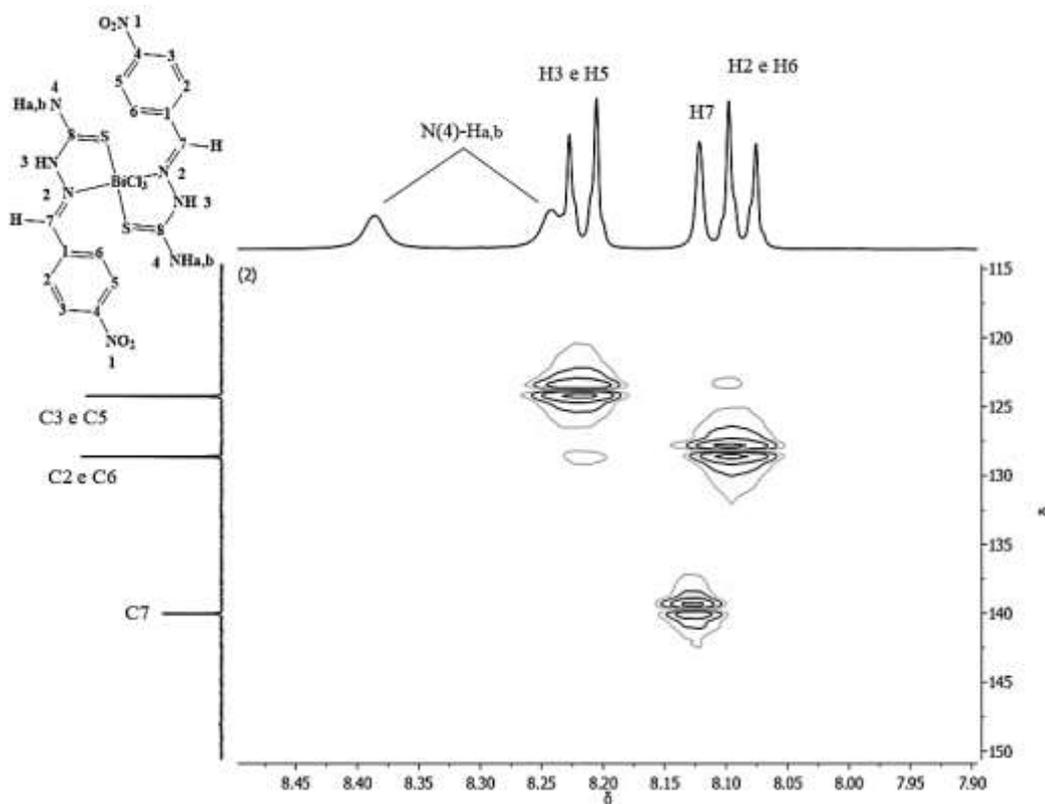


Figura 7.11 – Expansão do mapa de contornos HMBC do complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (2) (400Hz), em $\text{DMSO-}d_6$.

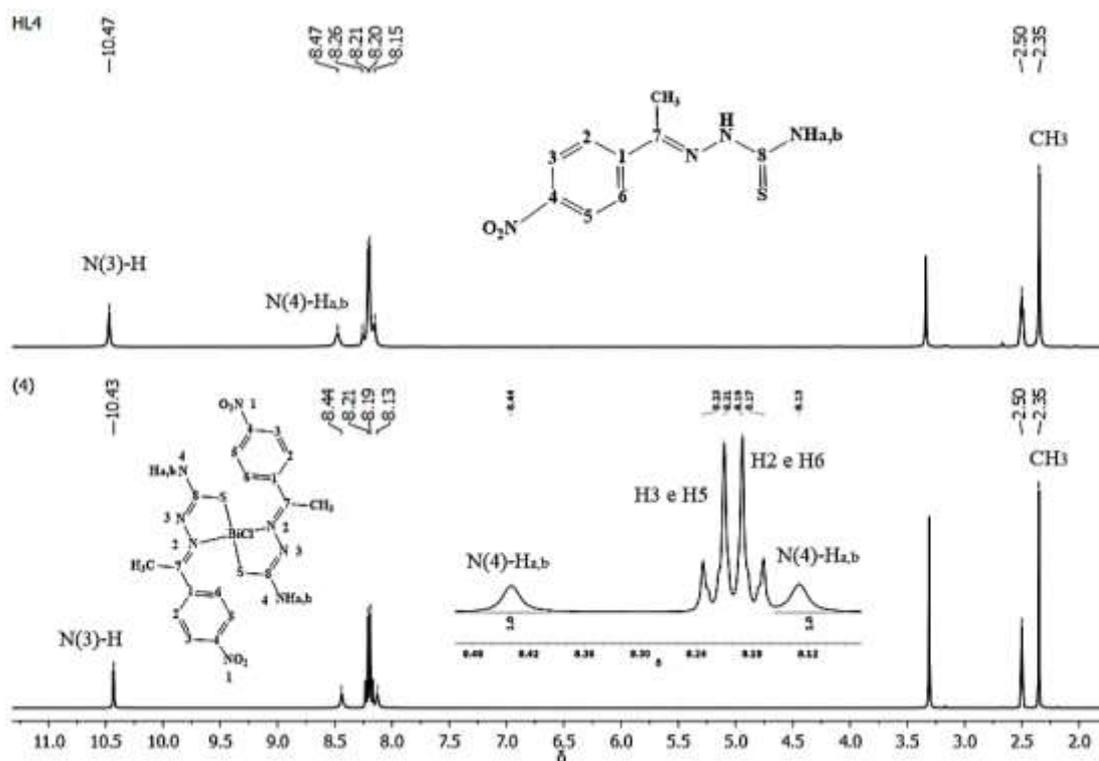


Figura 7.12 – Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL4** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**), em $\text{DMSO-}d_6$.

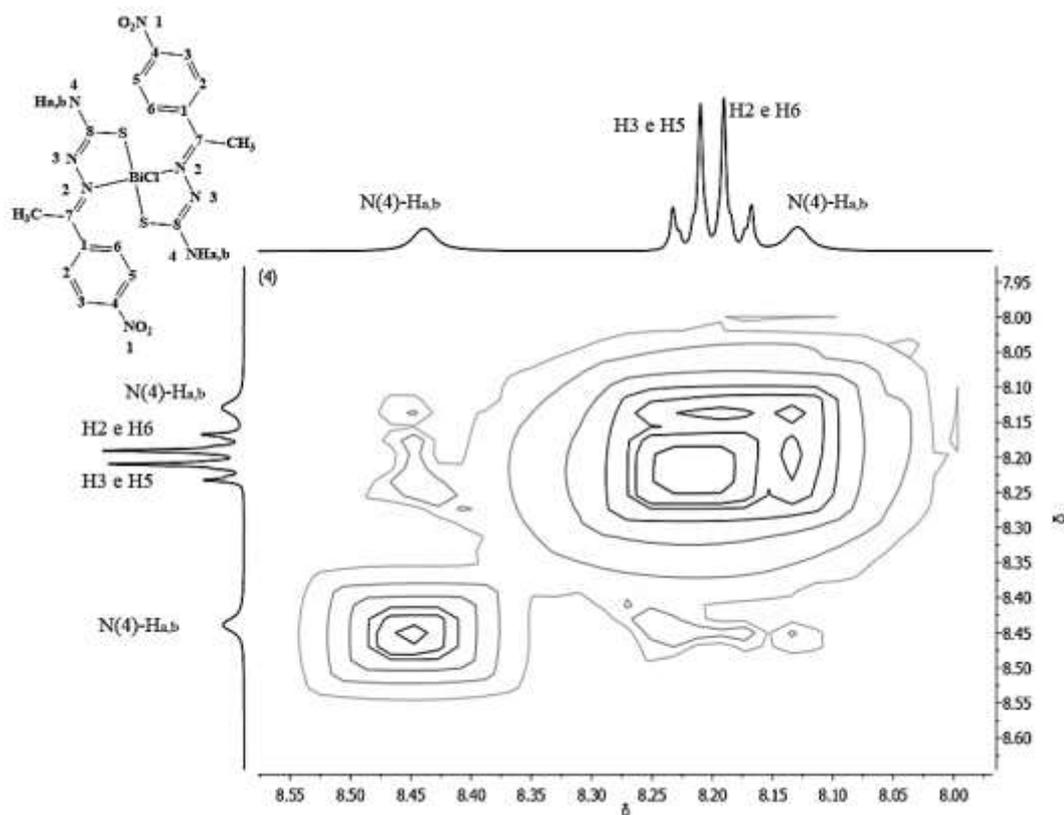


Figura 7.13 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**) (400 MHz), em $\text{DMSO-}d_6$.

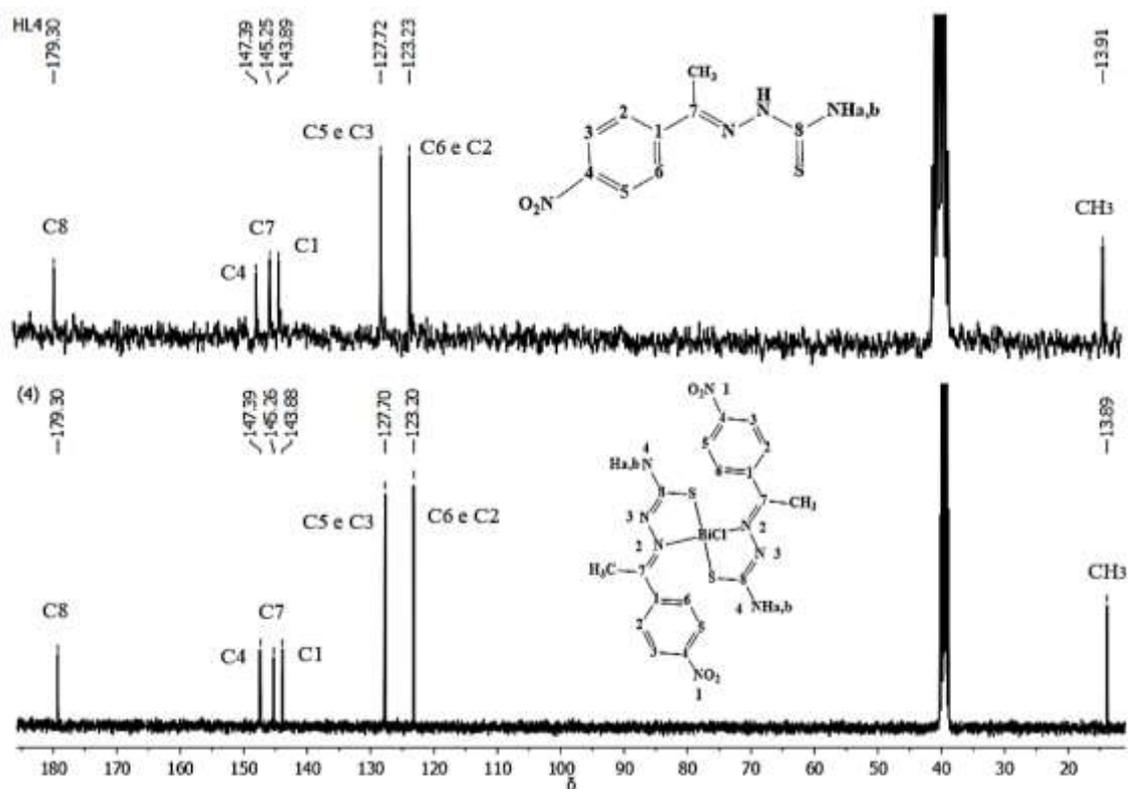


Figura 7.14 – Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) de **HL4** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**), em $\text{DMSO-}d_6$.

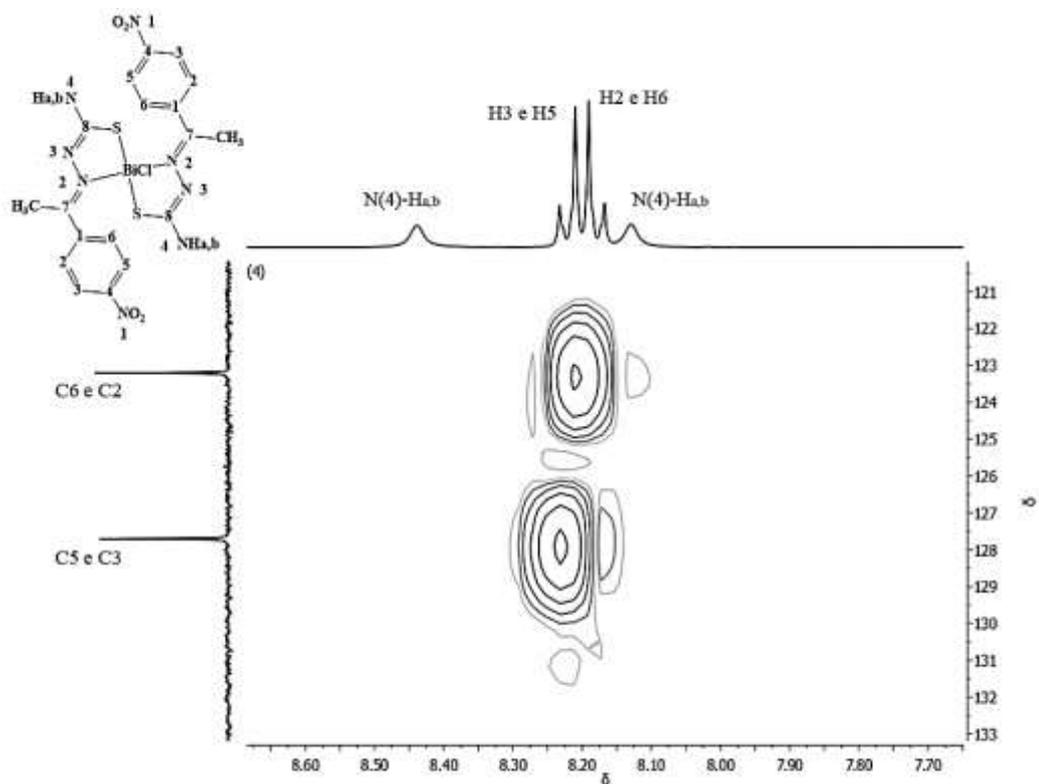


Figura 7.15 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**) (400Hz), em $\text{DMSO-}d_6$.

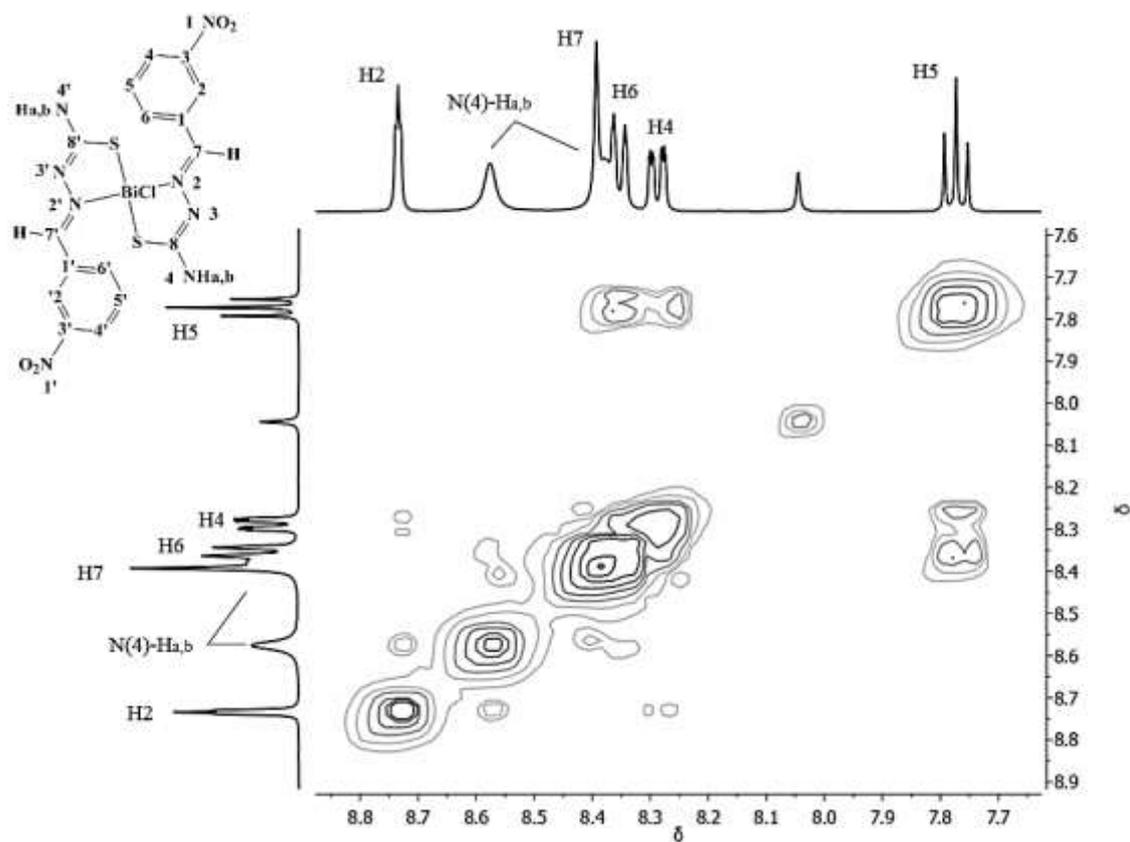


Figura 7.16 – Expansão do mapa de contornos COSY do complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (1) (400 MHz), em $\text{DMF-}d_7$.

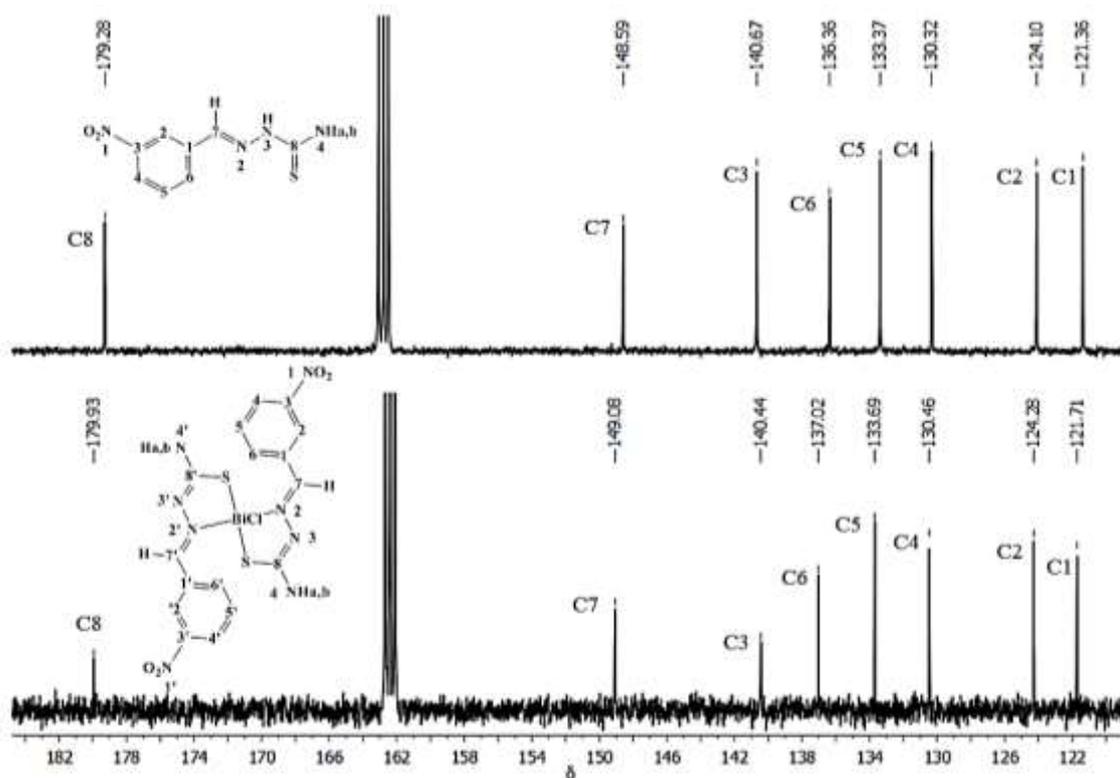


Figura 7.17 – Espectros de RMN de ^{13}C (400 MHz) de **HL1** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (**1**), em $\text{DMF-}d_7$.

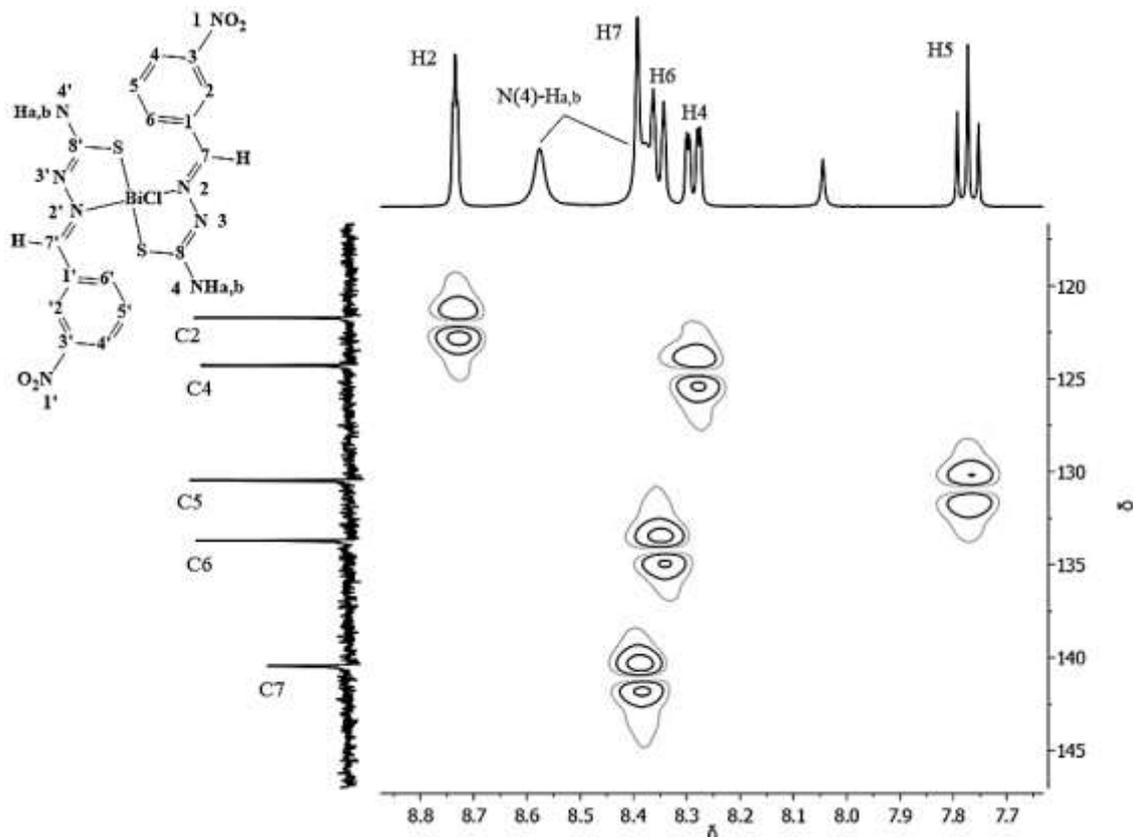


Figura 7.18 – Expansão do mapa de contornos HMQC do complexo $[\text{Bi}(\text{L1})_2\text{Cl}]$ (**1**) (400Hz), em $\text{DMF-}d_7$.

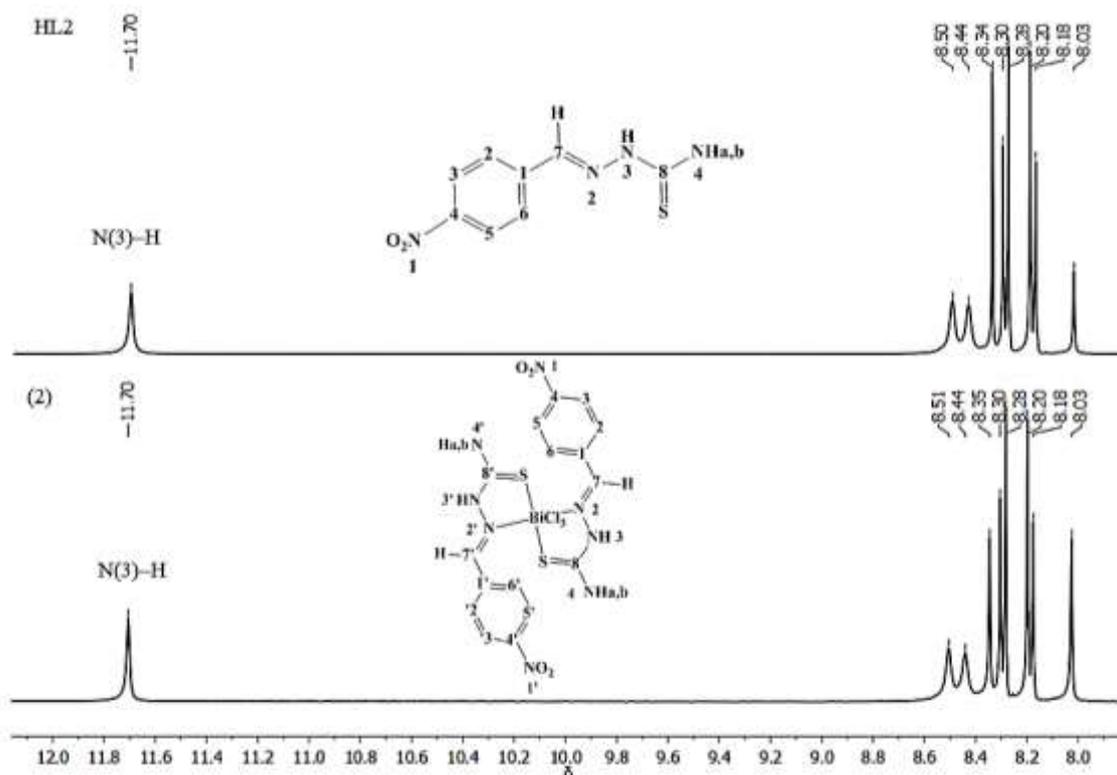


Figura 7.19 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL2** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (**2**), em $\text{DMF-}d_7$.

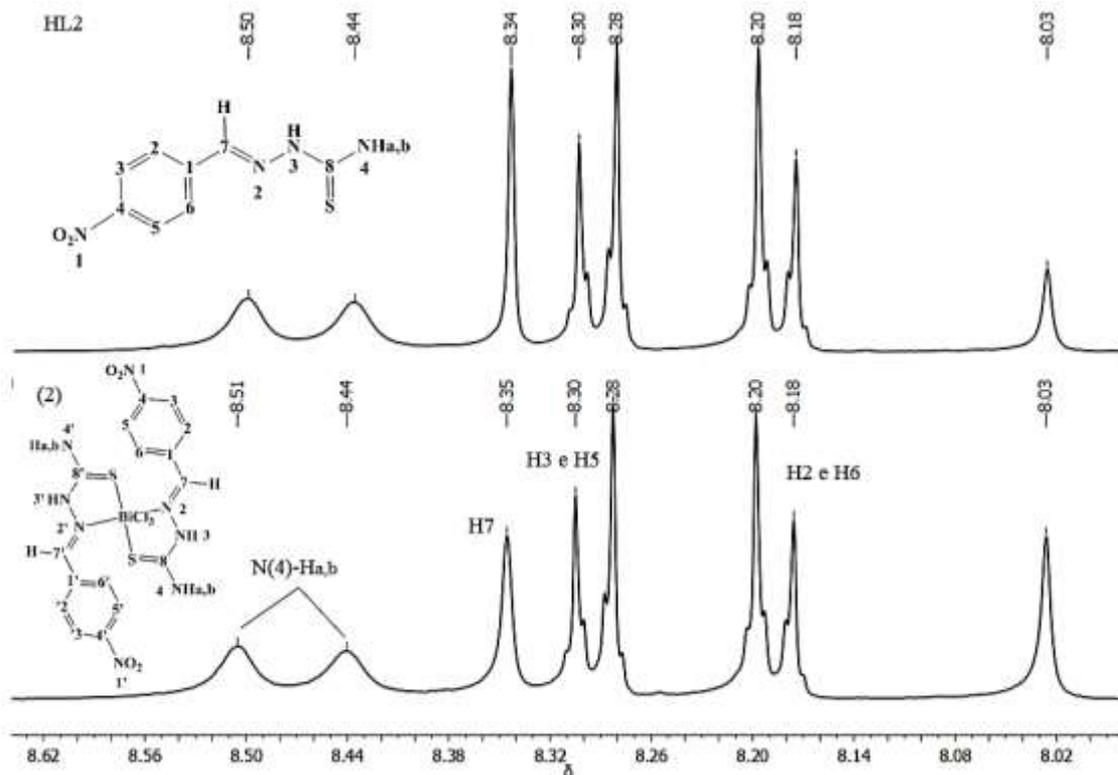


Figura 7.20 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL2** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL2})_2\text{Cl}_3]$ (**2**), em $\text{DMF-}d_7$.

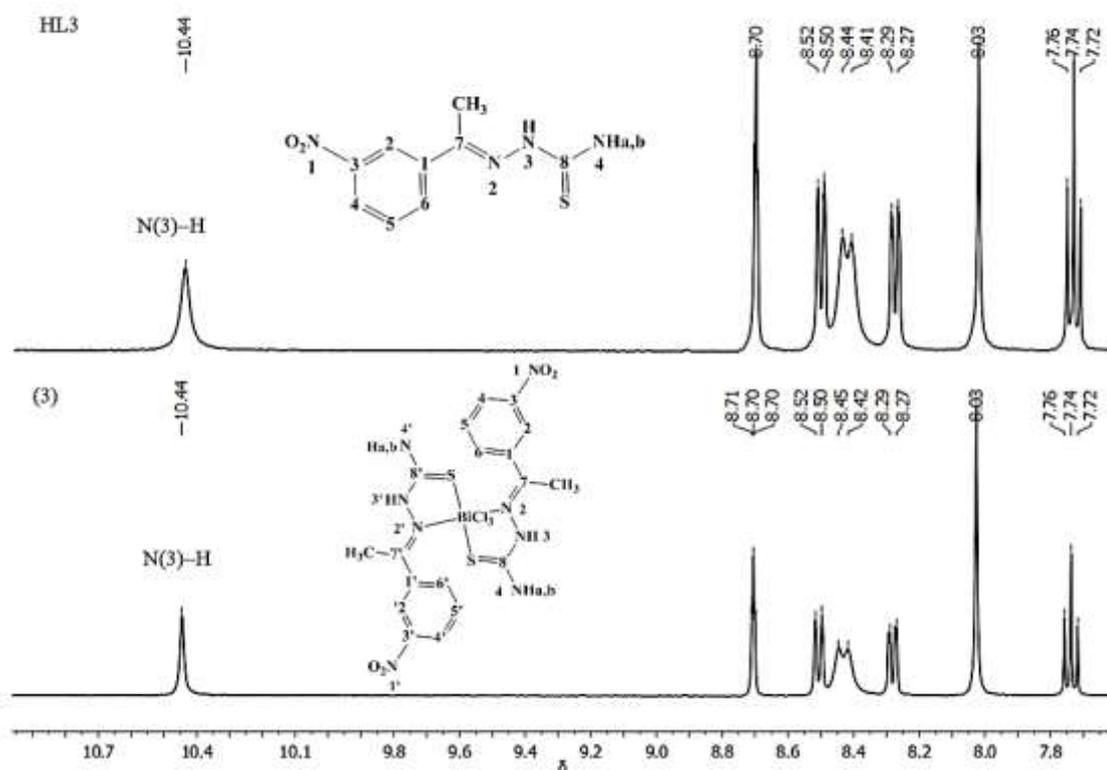


Figura 7.21 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL3** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**), em $\text{DMF-}d_7$.

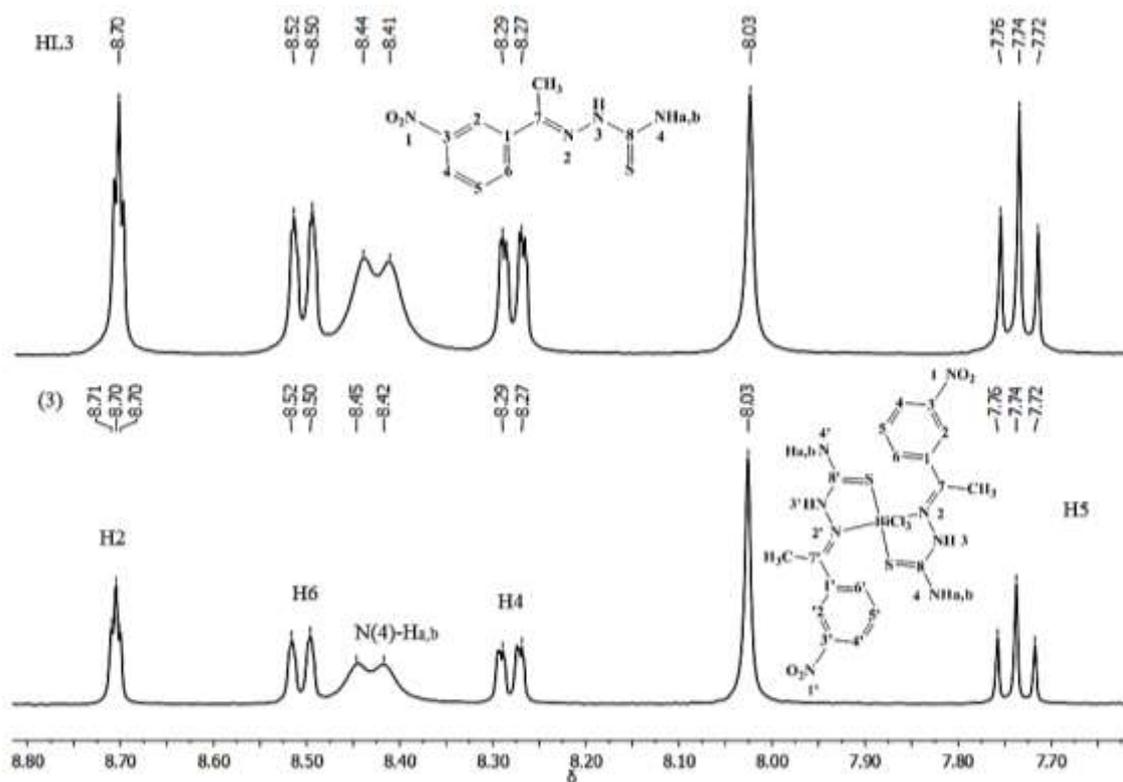


Figura 7.22 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL3** e de seu complexo $[\text{Bi}(\text{HL3})_2\text{Cl}_3]$ (**3**), em $\text{DMF-}d_7$.

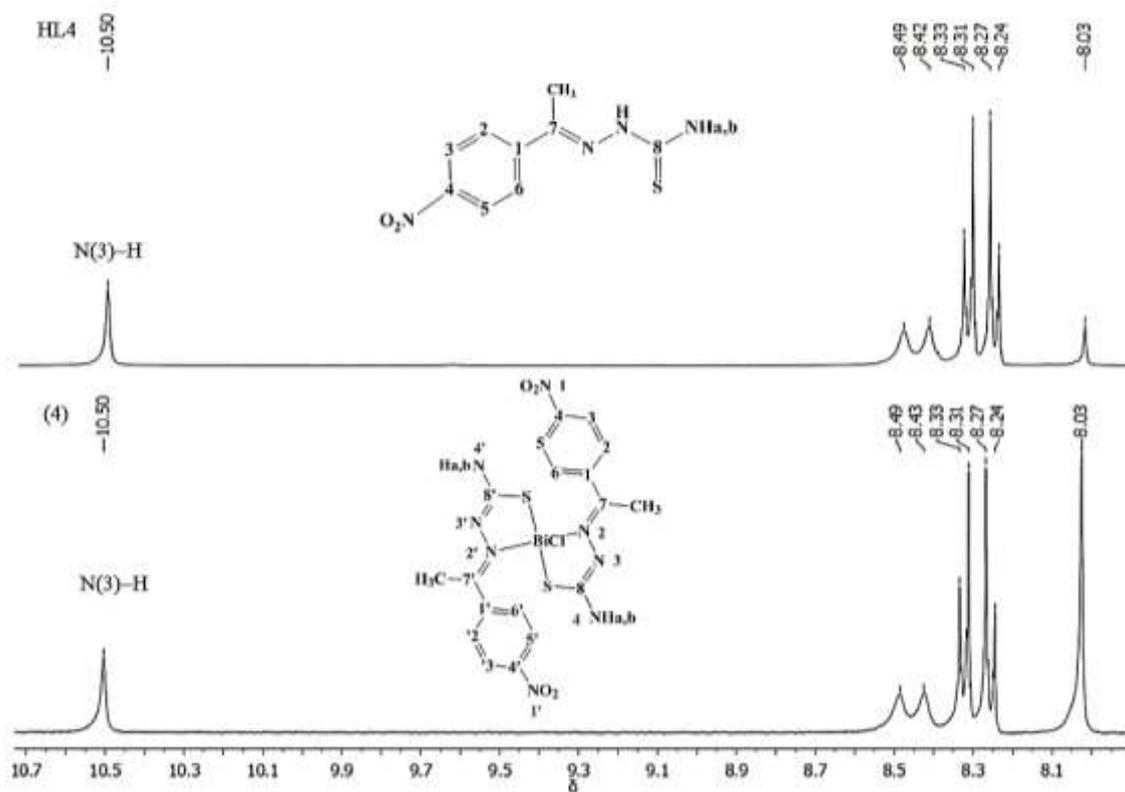


Figura 7.23 – (a) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL4** e de seu complexo $[\text{Bi(L4)}_2\text{Cl}]$ (**4**), em $\text{DMF-}d_7$.

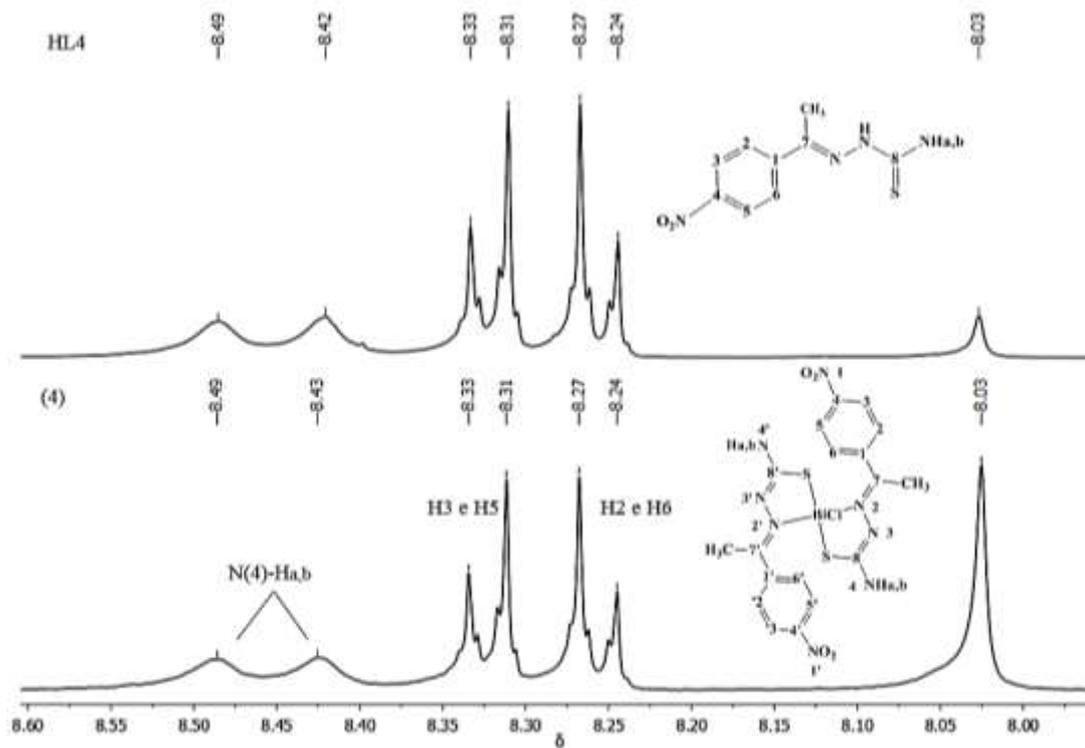


Figura 7.24 – (b) Espectros de RMN de ^1H (400 MHz) do ligante **HL4** e de seu complexo $[\text{Bi(L4)}_2\text{Cl}]$ (**4**), em $\text{DMF-}d_7$.

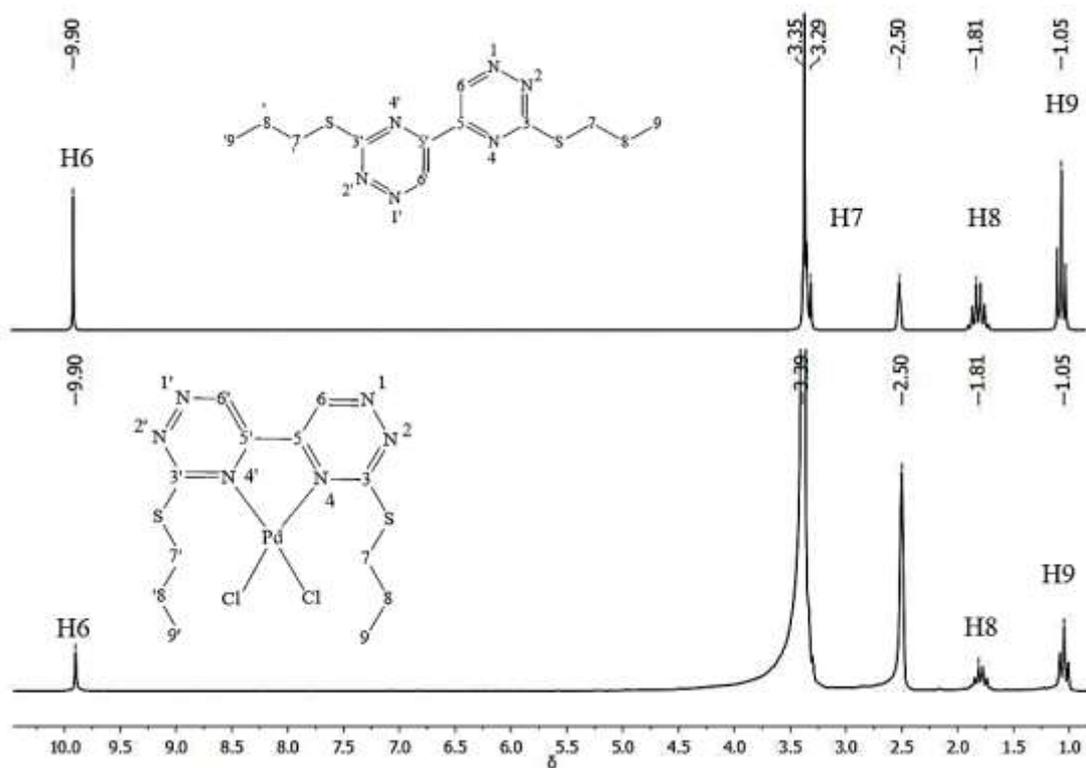


Figura 7.25 – Espectros de RMN de H^1 (400 MHz) de **L7** e seu complexo $[\text{Pd}(\text{L7})\text{Cl}_2] \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$ (**5**) em $\text{DMSO-}d_6$.

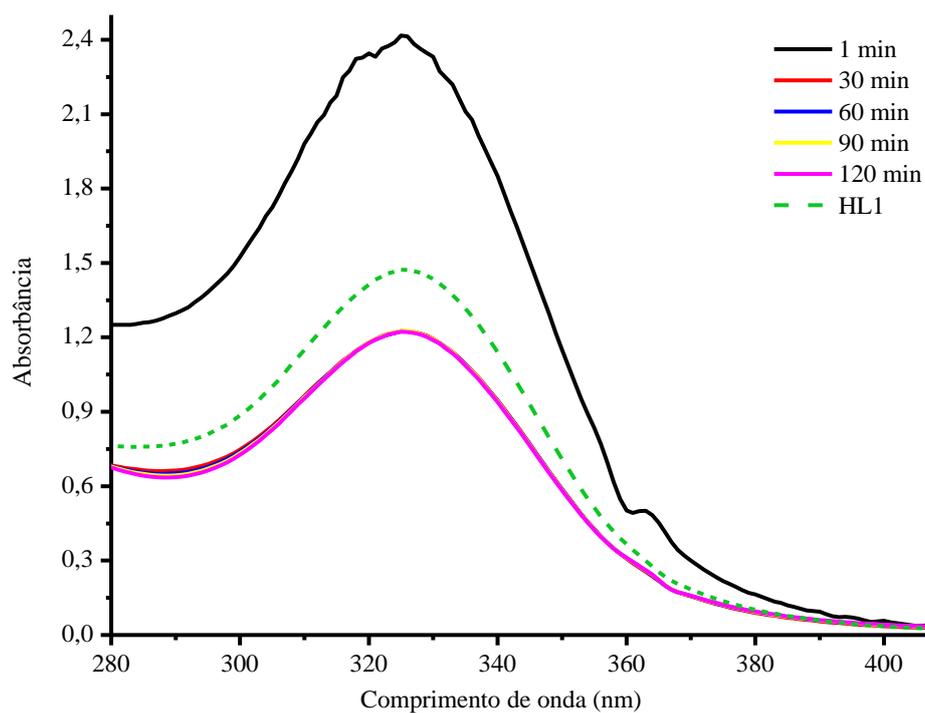


Figura 7.26 – Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (**1**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO.

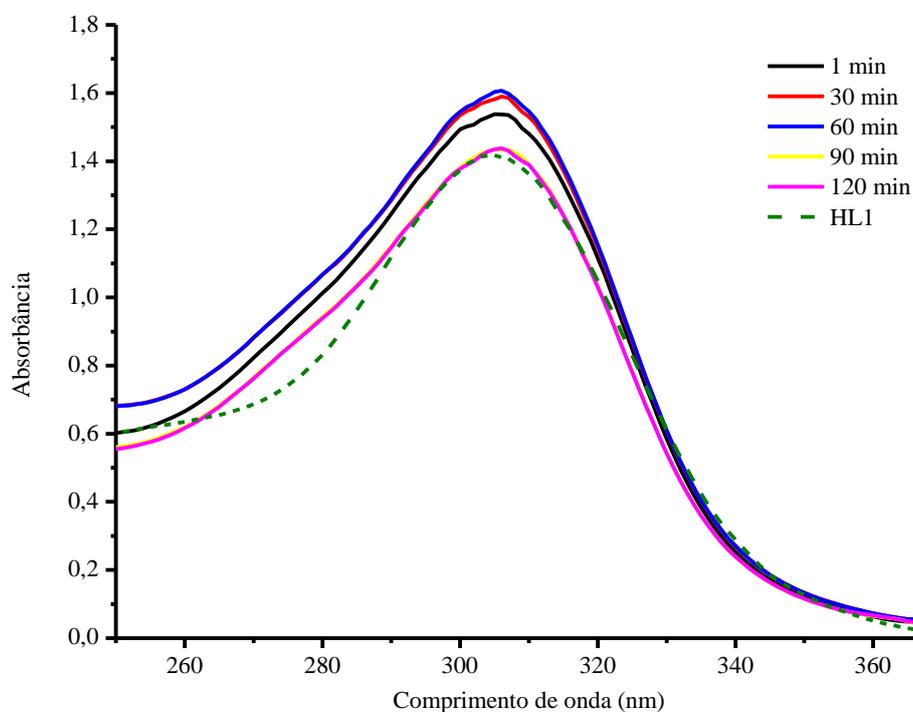


Figura 7.27 – Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (**1**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.

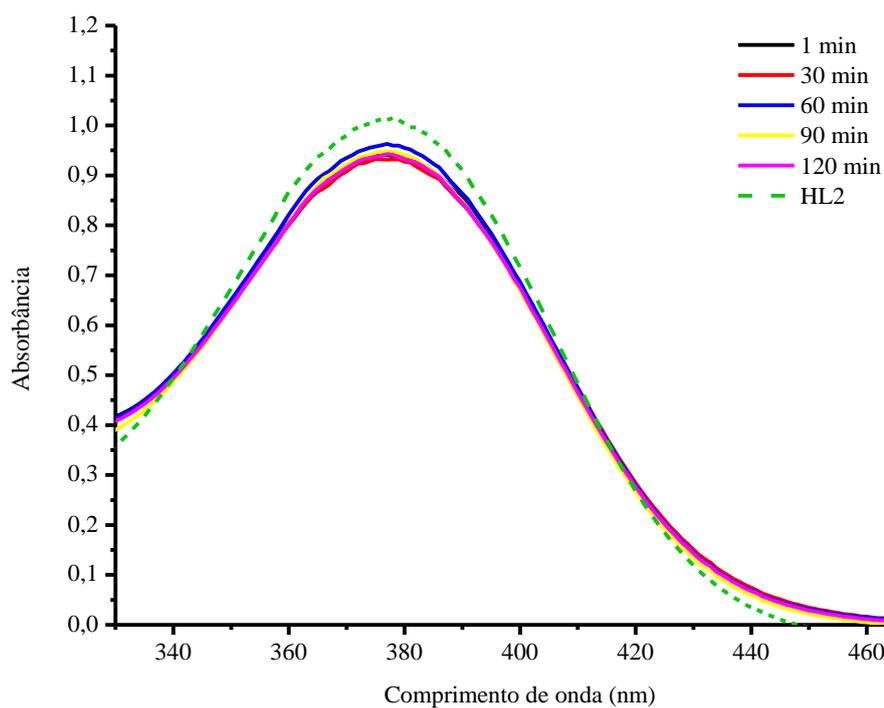


Figura 7.28 – Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (**2**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO.

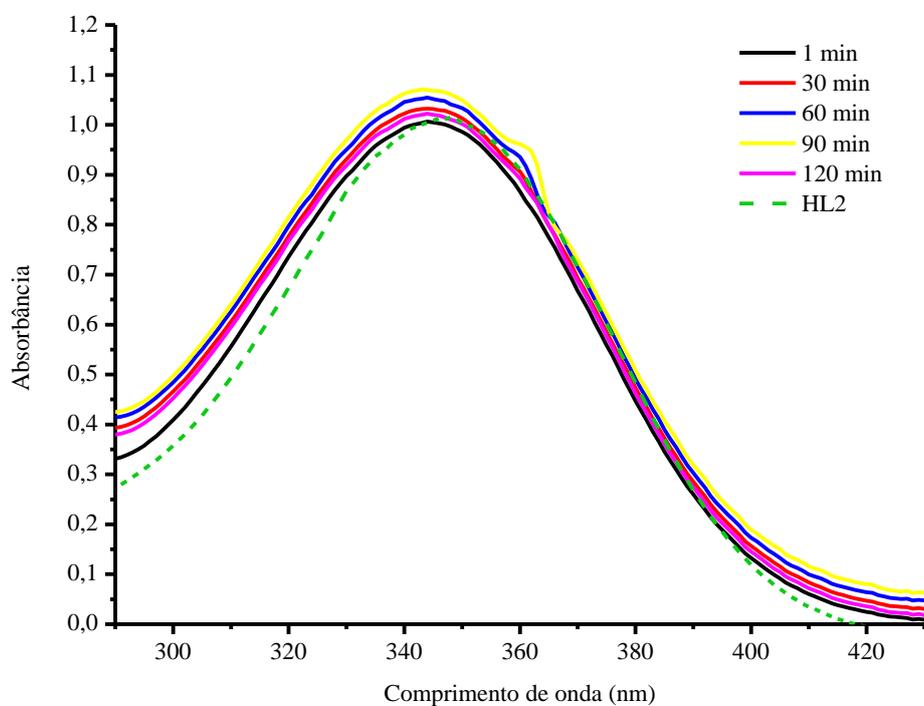


Figura 7.29 – Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (**2**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.

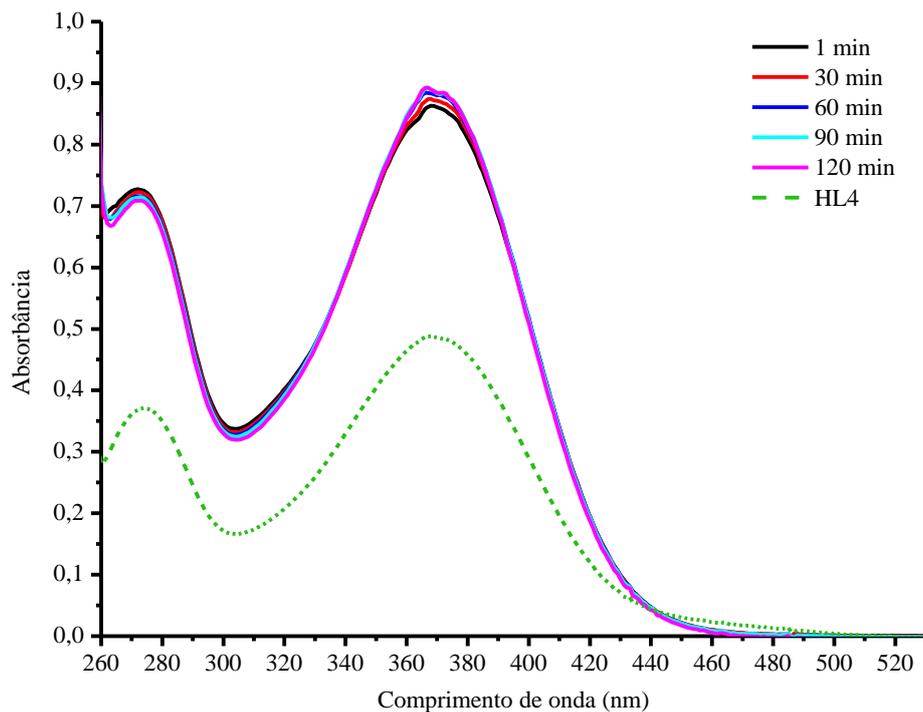


Figura 7.30 – Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, DMSO.

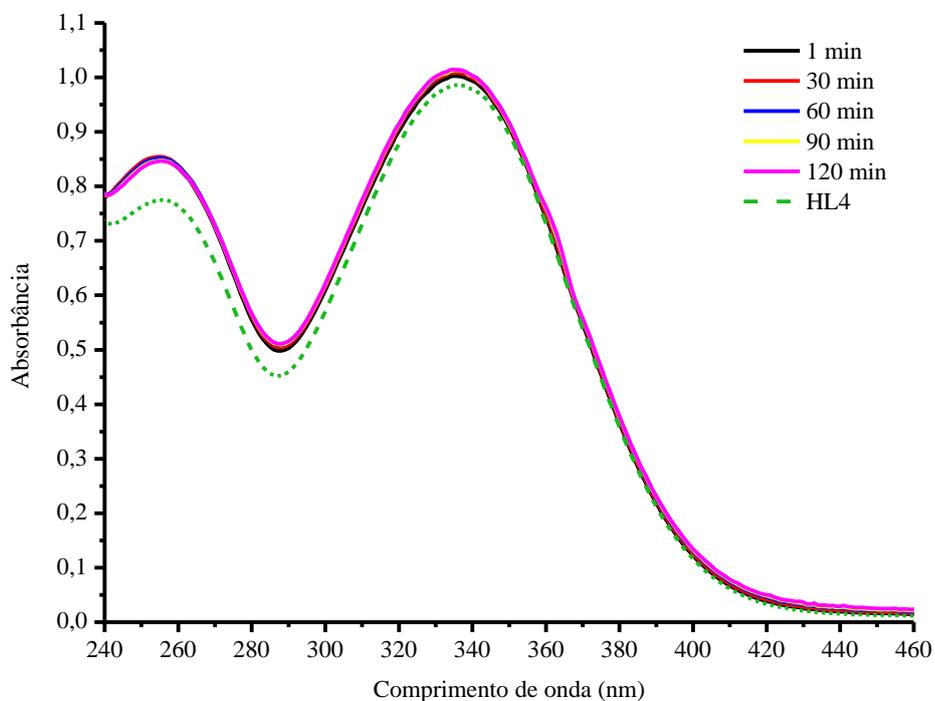


Figura 7.31 – Espectros eletrônicos com o tempo, do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**) em solução $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ 5% DMSO em tampão Tris-HCl pH 7,2.

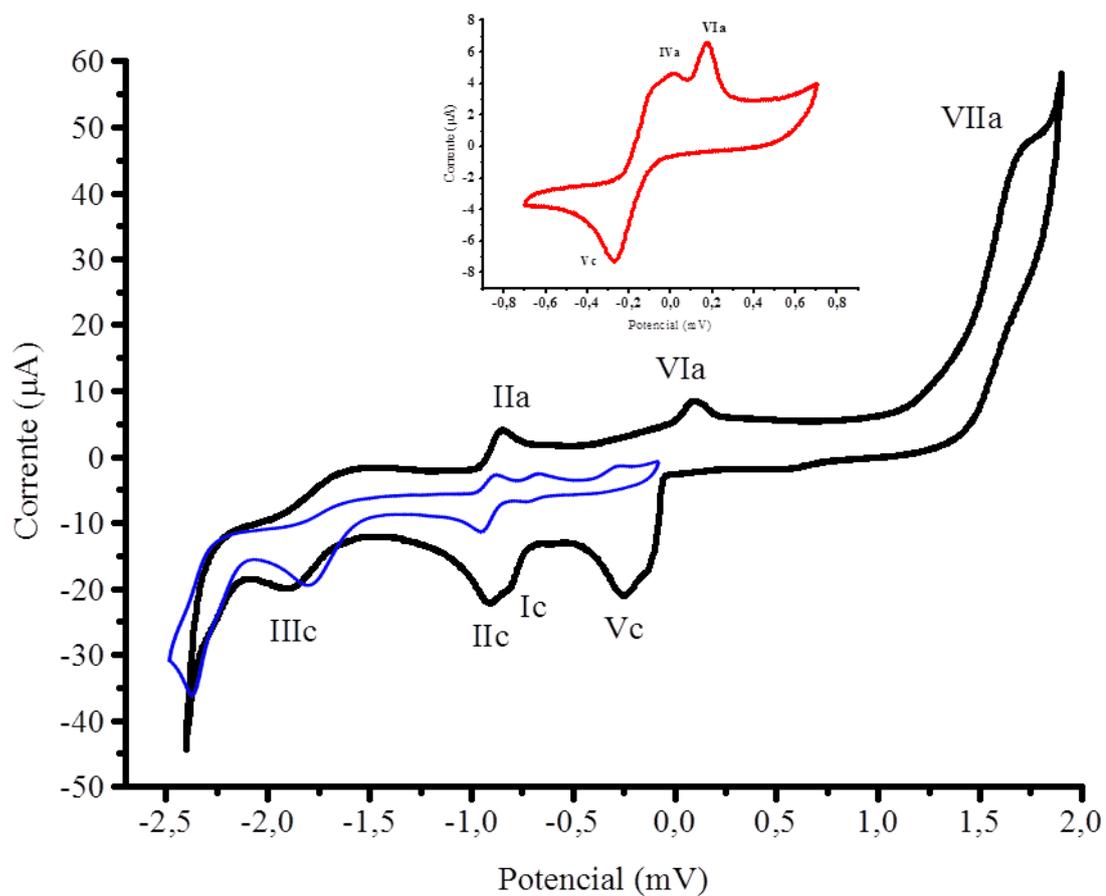


Figura 7.32 – Voltamograma do complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (**1**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} . As regiões reduzidas mostram uma varredura do ligante **HL1** (em azul) e do sal de partida BiCl_3 (em vermelho).

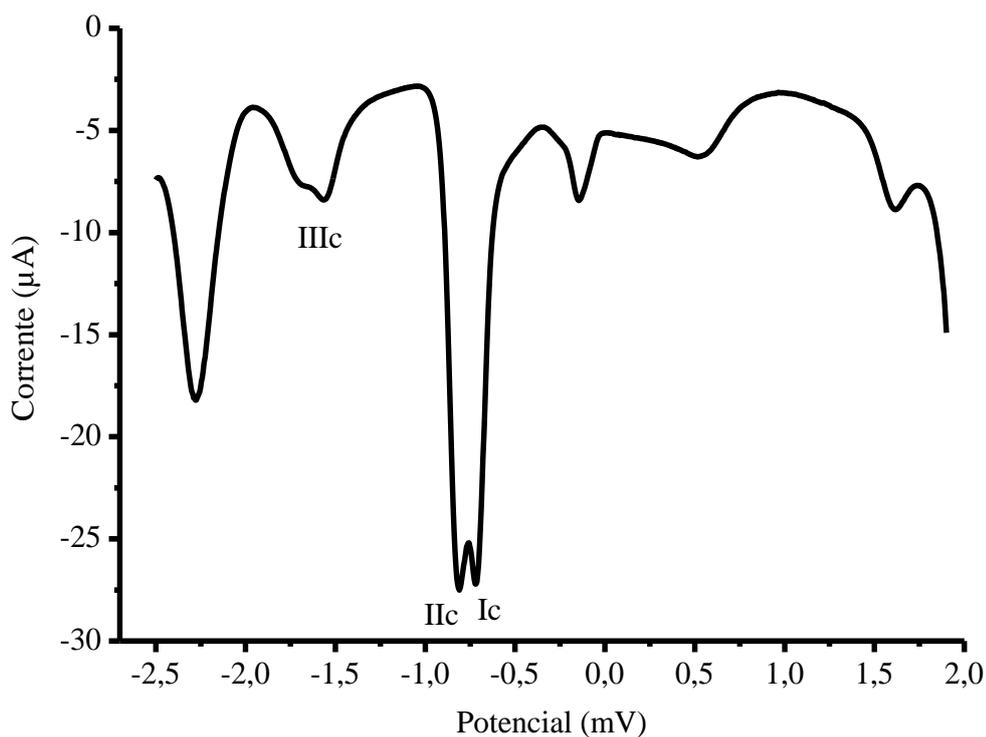


Figura 7.33– Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (**1**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e 1,9 a -2,5 V.

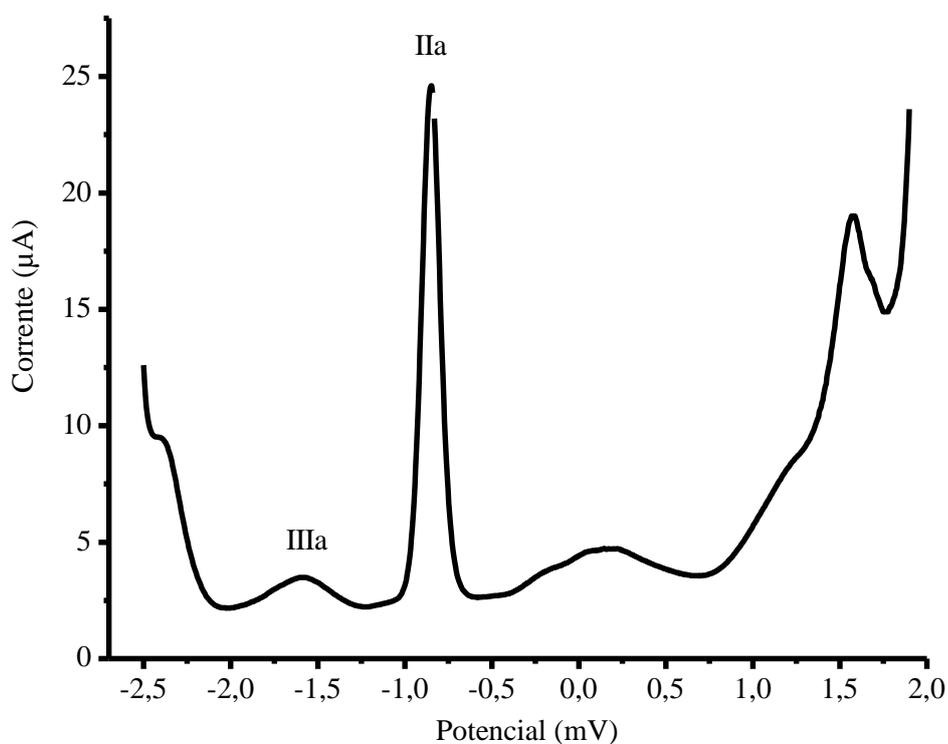


Figura 7.34 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{L}1)_2\text{Cl}]$ (**1**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e -2,5 a 1,9 V.

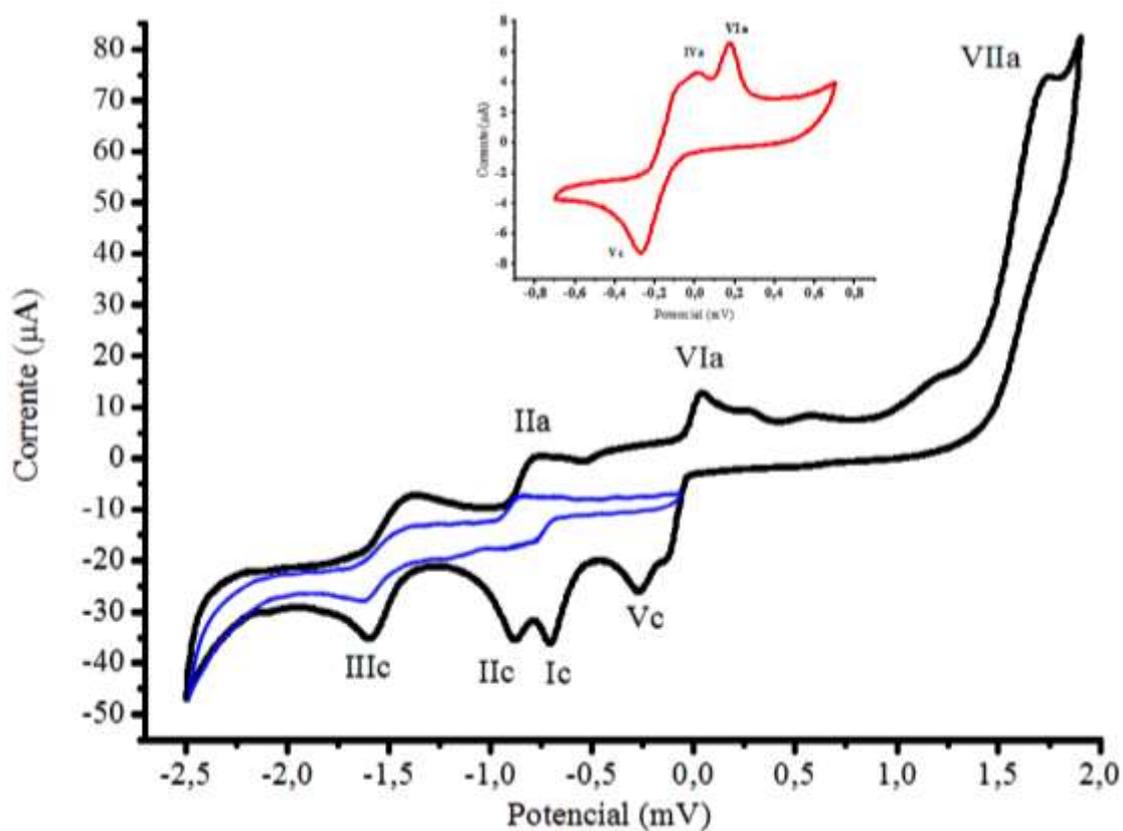


Figura 7.35 – Voltamograma do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (**2**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} . As regiões reduzidas mostram uma varredura do ligante **HL2** (em azul) e do sal de partida BiCl_3 (em vermelho).

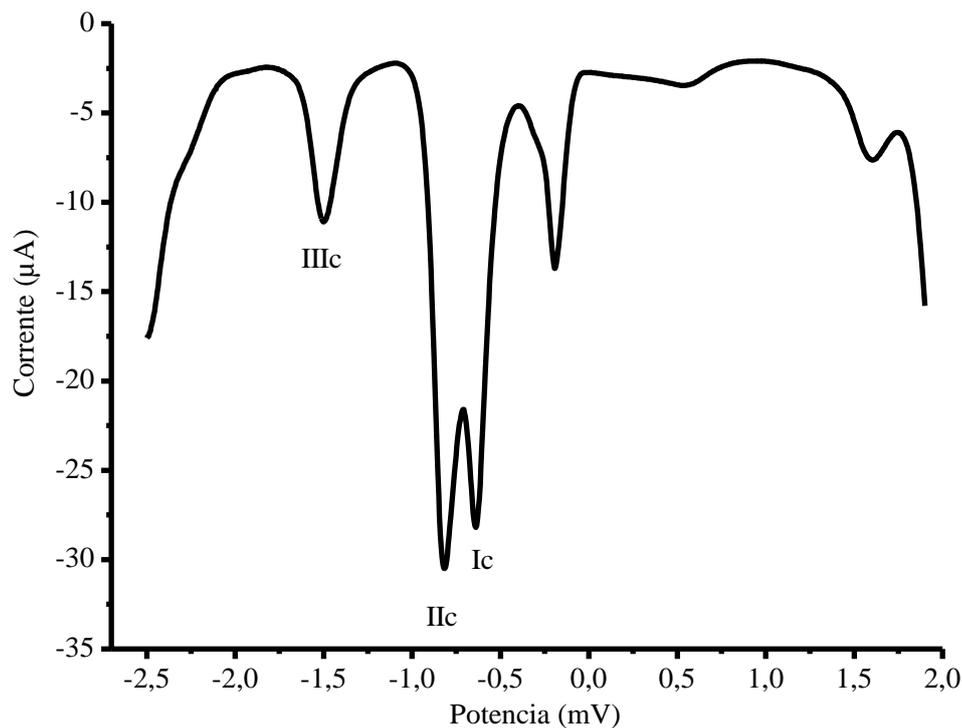


Figura 7.36 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (2) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl , Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e $1,9$ a $-2,5 \text{ V}$.

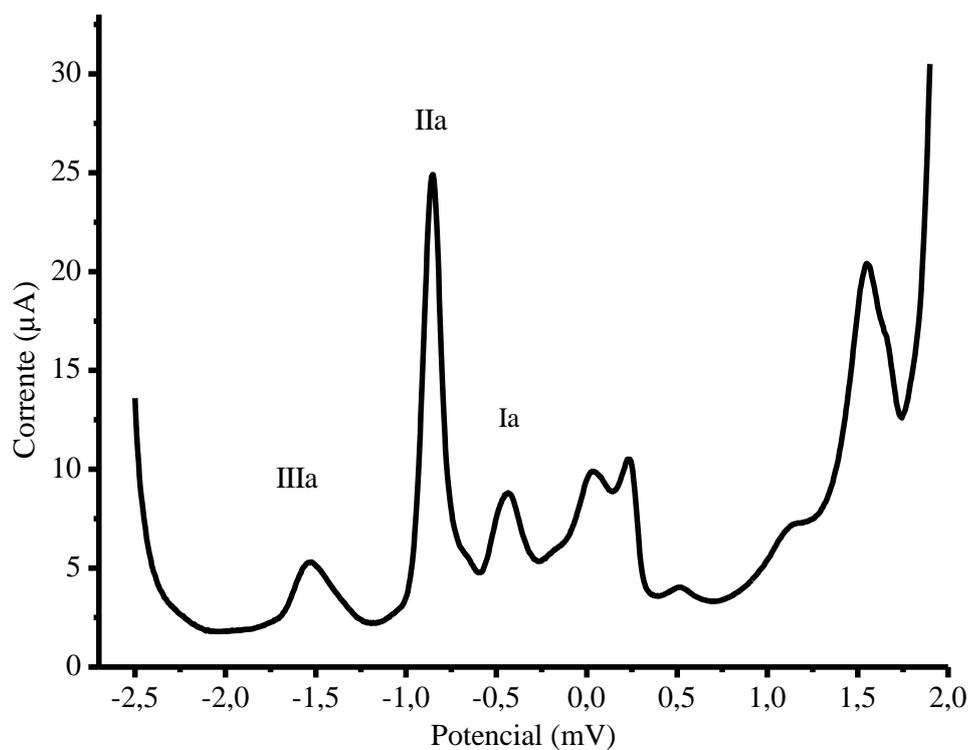
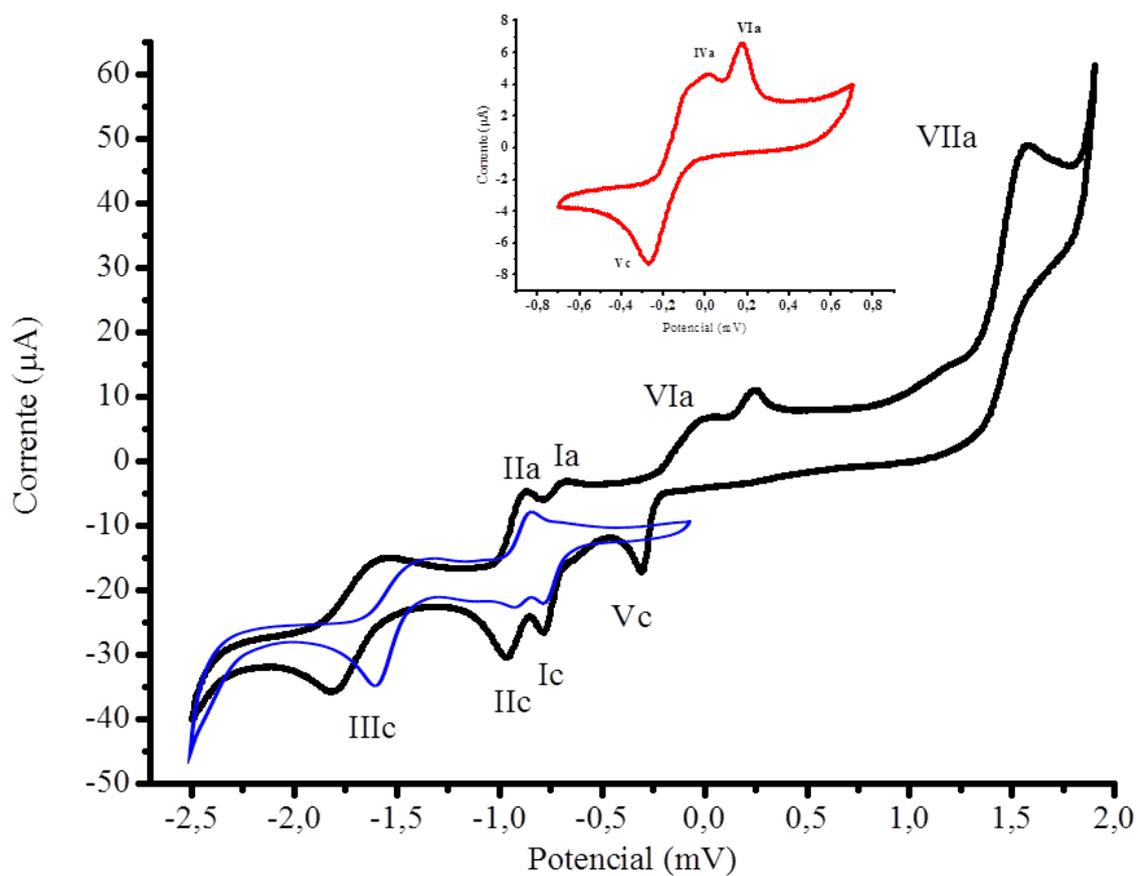


Figura 7.37 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{HL}2)_2\text{Cl}_3]$ (2) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl , Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e $-2,5$ a $1,9 \text{ V}$.



F/figura 7.38 – Voltamograma do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} . As regiões reduzidas mostram uma varredura do ligante **HL4** (em azul) e do sal de partida BiCl_3 (em vermelho).

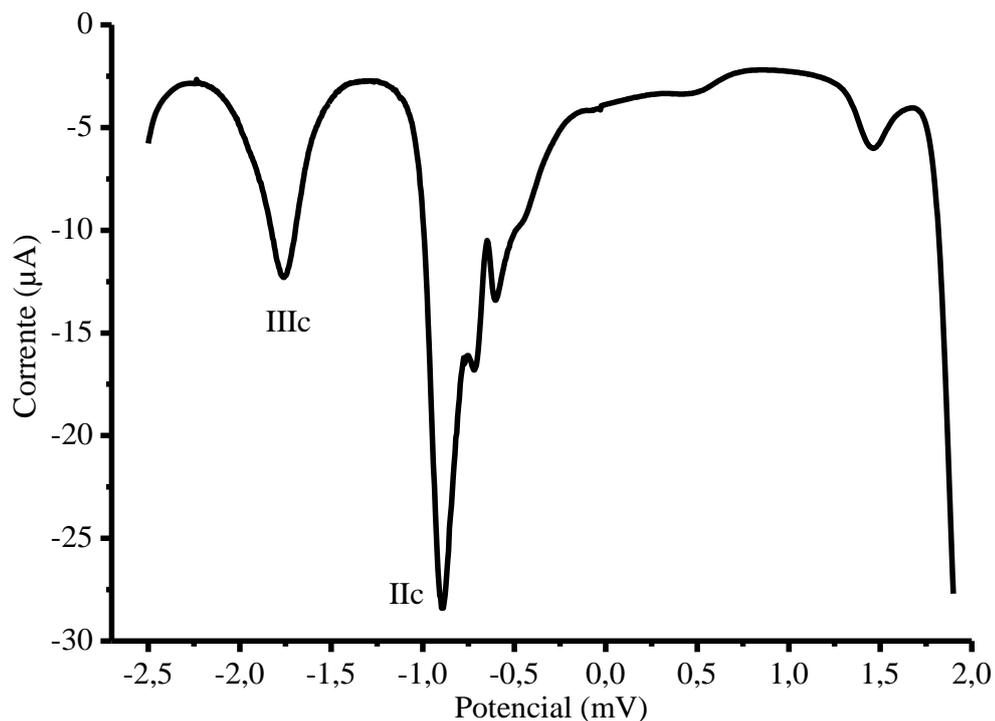


Figura 7.39 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e 1,9 a -2,5 V.

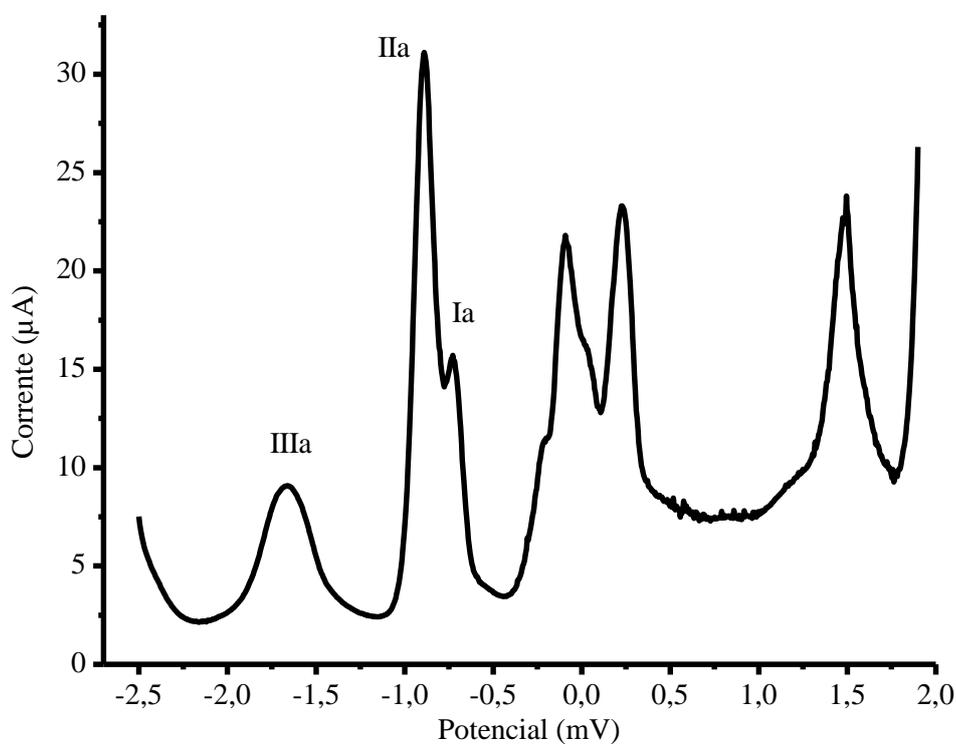


Figura 7.40 – Voltamograma de pulso do complexo $[\text{Bi}(\text{L4})_2\text{Cl}]$ (**4**) $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em meio aprótico (TBAP $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ em DMF) vs. Ag/AgCl, Cl^- ($3,0 \text{ mol.L}^{-1}$); taxa de varredura de 250 mV.s^{-1} e -2,5 a 1,9 V.