

**Universidade Federal de Minas Gerais**  
**Instituto de Ciências Exatas**  
**Departamento de Química**

**Simone Rodrigues Silva**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS ANFIFÍLICOS DE  
GADOLÍNIO E TÉRBIO PARA EMPREGO COMO AGENTES DE  
CONTRASTE E ANTITUMORAIS**

**Belo Horizonte**  
**2015**

UFMG/ ICEx/ DQ. 1115

T. 502<sup>a</sup>

**Simone Rodrigues Silva**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS ANFIFÍLICOS DE  
GADOLÍNIO E TÉRBIUM PARA EMPREGO COMO AGENTES DE  
CONTRASTE E ANTITUMORAIS**

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências - Química.

**Belo Horizonte**

**2015**

S586s Silva, Simone Rodrigues  
2015 Síntese e caracterização dos complexos anfifílicos  
T de gadolínio e térbio para emprego como agentes de  
contrate e antitumorais [manuscrito /Simone Rodrigues  
Silva. 2015.  
[xvi], 157 f.: il.

Orientadora: Cynthia Peres Demicheli

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas  
Gerais - Departamento de Química.

1. Química inorgânica - Teses 2. Agentes  
antineoplásicos - Teses 3. Complexos metálicos- Teses  
4. Ressonância Magnética Nuclear - Teses  
I. Demicheli, Cynthia Peres Orientador II. Título.

CDU 043

**"Síntese e caracterização dos complexos anfífilos de gadolínio e térbio para  
emprego como agentes de contraste e antitumorais"**

**Simone Rodrigues Silva**

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:



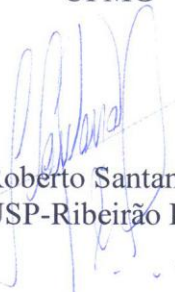
Profa. Cynthia Peres Demicheli - Orientadora  
UFMG



Profa. Rosana Zacarias Domingues  
UFMG



Prof. Rubén Darío Sinisterra Millán  
UFMG



Prof. Roberto Santana da Silva  
USP-Ribeirão Preto



Profa. Susana Maria de Ornelas Quintal  
UFF

**Este trabalho foi desenvolvido  
sob a orientação da Prof<sup>a</sup>.  
Cynthia Peres Demicheli.**

# Dedicatória

Aos meus filhos, minha fortaleza.

## Agradecimentos

A Deus, por ter me proporcionado saúde, perseverança e serenidade nos momentos de dificuldade.

À professora Cynthia Demicheli, pela orientação, amizade, paciência e dedicação.

A Professora Rita de Cássia pelo apoio e colaboração.

Aos Professores Luiz Colnago (Embrapa-São Carlos) e Fernando Paiva (USP-São Carlos) pela oportunidade de realizar as medidas relaxométricas, que foram de fundamental importância para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Frédéric Jean G. Frézard pela colaboração e orientação.

Ao Prof. Klaus Krambrok do Departamento de Física da UFMG por ter colaborado realizando medidas de RPE a temperatura ambiente e a baixas temperaturas para os complexos de térbio e gadolínio.

Ao Prof. José Dias, pela importante colaboração durante os estudos de microscopia.

Ao Prof. Rodinei Augusti pelas análises de espectrometria de massas.

A Prof<sup>a</sup>. Maria Irene Yoshida pelas análises térmicas.

As Professoras Elene Pereira Maia e a Professora Miriam Tereza Lopez pelos testes citotóxicos.

À aluna de iniciação científica Érica Duarte que muito colaborou para realização deste trabalho.

Ao aluno do Laboratório de Nanotecnologia/ICB Guilherme Santos por ter nos auxiliado quando preciso na obtenção de lipossomas e nas medidas de concentração micelar crítica (CMC).

Ao Aluno de Pós-doutorado Arshad Islam pela colaboração no estudo da atividade antitumoral dos complexos obtidos neste trabalho.

A Aluna de Pós-doutorado Ivana e a Profa. Elene Pereira Maia pela colaboração no estudo da atividade antitumoral dos complexos obtidos neste trabalho.

As alunas Fernanda, Flávio e Márcia (USP-São Carlos) pela colaboração no estudo relaxométrico dos complexos de gadolínio obtidos neste trabalho.

A aluna Camila pela colaboração na espectrometria de massas.

Aos amigos e colegas de laboratório: Elizângela, Ivana, Letícia, Priscila, Edgar (e Luz Helena), Flávia, Bruno, Júlio, Meiriane, Débora, Ívina, Weverson, Bernardo, Kelly pela amizade e incentivo.

À Universidade Federal de Minas Gerais, ao Departamento de Química, ao PPGQ (Programa de Pós Graduação em Química), seu corpo docente, secretaria e funcionários, pela contribuição no meu doutorado.

À Universidade Federal de Roraima pelos afastamentos concedidos para a conclusão do meu doutorado.

Aos colegas do Departamento de Química da UFRR pelo apoio e incentivo.

A todos os meus familiares que mesmo a distância sempre me apoiaram.

A todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.



“Um dia você aprende que, realmente tudo pode suportar que realmente é forte e que pode ir muito mais longe, mesmo após ter pensado não ser capaz”.

William Shakespeare

## SUMÁRIO

---

SUMÁRIO.....	i
<b>LISTAS DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	<b>v</b>
Figuras .....	v
Tabelas .....	x
<b>RESUMO</b> .....	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiv</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	<b>xvi</b>
<b>1 CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 Ressonância Magnética para obtenção de Imagens .....	1
1.2 Complexos metálicos para obtenção de imagens em RM.....	4
1.2.1 Complexos paramagnéticos e superparamagnéticos para obtenção de imagens em RM.....	4
1.2.2 Complexos metálicos a base de Gd(III) para obtenção de imagens em RM	6
1.2.3 Complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas.....	11
1.3 Complexos de lantanóides para o tratamento do câncer.....	12
1.4 Compostos Teranósticos .....	15
1.5 Objetivos.....	19
1.5.1 Objetivo .....	19
1.5.2 Objetivos específicos .....	19
<b>2 CAPÍTULO II: PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>20</b>
2.1 Equipamentos.....	20
2.1.1 Temperatura de fusão e/ou decomposição .....	20
2.1.2 Medidas de condutância eletrolítica .....	20
2.1.3 Análise térmica.....	20
2.1.4 Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio .....	21

2.1.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho.....	21
2.1.6 Espectroscopia por Ressonância Paramagnética de Elétrons (RPE) ....	21
2.1.7 Espectrometria de massas com fonte de ionização eletrospray (ESI-MS)	21
2.1.8 Determinação do tamanho dos nanoagregados em solução aquosa...	22
2.1.9 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) .....	22
2.1.10 Estudo de fluorescência para o complexo de Tb(III) .....	22
2.1.11 Relaxatividade longitudinal e transversal dos complexos Gd(III) e do Gd-DTPA .....	22
2.1.12 Imagens ponderadas em $T_1$ e $T_2$ para os complexos de Gd(III) .....	23
2.1.13 Concentração Micelar Crítica (CMC).....	23
2.1.14 Estudo da dependência da relaxatividade com a concentração micelar crítica (CMC) .....	24
2.1.15 Determinação do tamanho dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas.....	24
2.1.16 Estudo da relaxatividade dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas.....	24
2.1.17 Imagens ponderadas em $T_1$ e $T_2$ para os complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas .....	25
2.2 Reagentes e solventes .....	25
2.3 Síntese dos complexos de alquilmetilglucamidas com térbio e gadolínio.....	25
2.4 Incorporação dos complexos de gadolínio(III) em lipossomas .....	27
<b>3 CÁPITULO III: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS COMPLEXOS DE GADOLÍNIO(III) E TÉRBIO(III) .....</b>	<b>29</b>
3.1 Introdução.....	29
3.2 Caracterização dos complexos de Gd(III) e Tb(III) .....	30
3.2.1 Temperatura de fusão e/ou decomposição .....	30
3.2.2 Medidas de condutância eletrolítica .....	30
3.2.3 Análise Térmica.....	32
3.2.4 Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio .....	41
3.2.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho.....	41

3.2.6 Espectrometria de massas com fonte de ionização eletrospray dos complexos de Gd(III) e Tb(III) .....	48
3.2.7 Determinação do tamanho dos nanoagregados em solução aquosa.....	66
3.2.8 Microscopia Eletrônica de Transmissão .....	68
3.2.9 Estudo de Fluorescência para os complexos de Tb(III) .....	69
<b>4 ESTUDOS DE RELAXATIVIDADE DOS COMPLEXOS DE GADOLÍNIO(III) E DE SEUS NANOAGREGADOS .....</b>	<b>76</b>
4.1 Introdução.....	76
4.1.1 Relaxatividade longitudinal e transversal dos complexos Gd(III) e do Gd-DTPA 77	
4.1.2 Imagens ponderadas em $T_1$ e $T_2$ para complexos de Gd(III) .....	80
4.1.3 Concentração Micelar Crítica (CMC).....	81
4.1.4 Estudo da dependência da relaxatividade com a CMC.....	83
<b>5 ESTUDOS DE RELAXATIVIDADE DOS COMPLEXOS DE GADOLÍNIO(III) EM LIPOSSOMAS.....</b>	<b>86</b>
5.1 Introdução.....	86
5.2 Caracterização dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas .....	87
5.2.1 Medidas de tamanho de Partícula e potencial zeta.....	87
5.2.2 Efeito da incorporação dos complexos de Gd(III) em lipossomas na relaxatividade.....	88
5.2.3 Imagens ponderadas em $T_1$ e $T_2$ para complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas.....	92
<b>6 Capítulo V: ESTUDO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DOS COMPLEXOS DE GADOLÍNIO(III) E TÉRBIO(III) .....</b>	<b>94</b>
6.1 Introdução.....	94
6.1.1 Avaliação da citotoxicidade e atividade antitumoral pelo ensaio de MTT ((brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) dos complexos de Gd(III) e Tb(III) .....	95

6.1.2	Concentração citotóxica ( $CC_{50}$ ).....	96
6.1.3	Concentração inibitória <i>in vitro</i> ( $IC_{50}$ ).....	96
6.1.4	Índice de Seletividade <i>in vitro</i> (IS).....	96
6.2	Concentração citotóxica dos complexos de Gd(III) e Tb(III) frente à linhagem celular Fibroblastos L929 .....	97
6.3	Atividade antitumoral <i>in vitro</i> e índice de seletividade em linhagem de célula tumoral B16F10.....	100
6.4	Atividade antitumoral <i>in vitro</i> e índice de seletividade em linhagem de célula tumoral K562.....	105
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES.....	107
7.1	Perspectivas futuras .....	109
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
	ANEXOS .....	128

## LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

---

### Figuras

Figura 1– Os principais agentes de contraste a base de gadolínio aprovados para aplicações clínicas em IRM. Adaptado de Hermann et al., 2008. ....	7
Figura 2 - Relaxatividade dos prótons da água. Adaptado de Raymond & Pierre, 2005. ....	8
Figura 3 – Representação esquemática dos processos de mobilidade local e global dos complexos de Gd(III) lipossomas com $\tau_{RG}$ e $\tau_{RL}$ como tempo de rotação global e tempo de correlação rotacional local, respectivamente. $\tau_M$ indica a taxa de troca de água. Adaptado de Davies, Kramberger, Davis, 2013. ....	10
Figura 4 – Esquema estrutural dos lipossomas.....	11
Figura 5 – Esquema ilustrativo de quelatos de gadolínio encapsulados (A) e encorporados(B) em lipossomas. Adaptado de Zhou, 2013. ....	12
Figura 6 – Estrutura química dos agentes clínicos cisplatina, carboplatina e oxaliplatina (WHEATE et al, 2007). ....	14
Figura 7 – Estrutura dos ligantes da serie N-alkuil-N-metilglucamida utilizados na obtenção de novos complexos de Gd(III) e Tb(III). ....	16
Figura 8 – Estrutura dos alquilmetilglucamidas. ....	18
Figura 9 - Curva TG/DTG para o Composto de $[Tb(OCT)_2]Cl$ . ....	34
Figura 10 - Curva TG/DTG para o complexo de $[Gd(OCT)_2]Cl$ . ....	35
Figura 11 - Curva TG/DTG para o Composto de $[Gd(DEC)_2]Cl.5H_2O$ . ....	36
Figura 12 - Curva TG/DTG para o Composto de $Tb(DEC)_2]Cl.7H_2O$ . ....	37
Figura 13 - Curva TG/DTG para o Composto de $[Gd(DOD)_2]Cl.5H_2O$ . ....	38
Figura 14 - Curva TG/DTG para o Composto de $[Tb(DOD)_2]Cl.5H_2O$ . ....	39

Figura 15 – Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante HOCT em pastilha de KBr. ....	42
Figura 16 – Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo de $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em pastilha de KBr.....	42
Figura 17 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $\text{Tb}[(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em pastilha de KBr. ....	43
Figura 18 – Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante DEC em pastilha de KBr. ....	43
Figura 19 – Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo de $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em pastilha de KBr.....	44
Figura 20 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em pastilha de KBr.....	44
Figura 21 – Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante DOD em pastilha de KBr. ....	45
Figura 22 – Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em pastilha de KBr. ....	45
Figura 23 - Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho do $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em pastilha de KBr. ....	46
Figura 24 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em metanol. ....	49
Figura 25 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico 798,08, atribuído à espécie $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]^+$ em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada (b). ....	50
Figura 26 – Estrutura proposta para a espécie $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]^+$ identificada por ESI-MS para o complexo $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ . ....	51
Figura 27 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em metanol.....	52

Figura 28 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico em 799,29, atribuído à espécie $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]^+$ em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada.....	53
Figura 29 – Estrutura proposta para a espécie $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]^+$ identificada por ESI-MS para o complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ . .....	54
Figura 30 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em metanol. ....	55
Figura 31 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico em 854,23, atribuído à espécie $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]^+$ em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada (b). ....	56
Figura 32 – Estrutura proposta para a espécie $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]^+$ identificada por ESI-MS para o complexo $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	57
Figura 33 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em metanol. ....	58
Figura 34 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico em 855,16, atribuído à espécie $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]^+$ em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada (b). ....	59
Figura 35 – Estrutura proposta para a espécie $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]^+$ identificada por ESI-MS para o complexo $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .....	60
Figura 36 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em metanol. ....	61
Figura 37 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico em 910,30, atribuído à espécie $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+$ em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada (b). ....	63
Figura 38 – Estrutura proposta para a espécie $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+$ identificada por ESI-MS para o complexo $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	63
Figura 39 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em metanol.	64



Figura 40 – Região expandida do espectro ESI(+)-MS em metanol, evidenciando o pico em 911, atribuído à espécie $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]^+$ , formada pela perda de moléculas de água e do contra-íon do complexo $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em solução .....	65
Figura 41 – Estrutura da espécie $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]^+$ identificada por ESI-MS para o complexo $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	66
Figura 42 – Curvas de distribuição de tamanho das micelas formadas dos complexos de Gd(III) e Tb(III) a 30 mM em solução aquosa por DLS.....	67
Figura 43 – Imagem da MET mostrando a formação de agregados dos complexos de Gd(III) em cores mais escuras. ....	69
Figura 44 - Espectro de emissão do complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ no estado sólido, $\lambda_{\text{exc}}$ 300 nm a 77 K.....	70
Figura 45 - Espectro de emissão do complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em solução etanólica, $\lambda_{\text{exc}}$ 300 nm a 77 K. ....	71
Figura 46 - Espectro de emissão do complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em solução etanólica, $\lambda_{\text{exc}}$ 370 nm a 77 K. ....	71
Figura 47 - Espectro de emissão do complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em solução aquosa, $\lambda_{\text{exc}}$ 300 nm a 77 K. ....	72
Figura 48 - Espectro de emissão do complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em solução aquosa, $\lambda_{\text{exc}}$ 370 nm a 77 K. ....	73
Figura 49 - Espectro de emissão do complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ em solução clorofórmica, $\lambda_{\text{exc}}$ 370 nm a 77 K.....	73
Figura 50 – Gráfico da taxa de relaxação longitudinal $R_1$ (a) e taxa de relaxação transversal $R_2$ (b) em função da concentração da amostra, obtidos com pulsos de radiofrequências de inversão-recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), utilizando $\pi/2 = 3,1 \mu\text{s}$ e $\pi = 6,2 \mu\text{s}$ ; Tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms; Para as medidas de $T_2$ foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s. ....	78

Figura 51 – Imagens ponderadas em $T_1$ (a) e $T_2$ (b) do agente de contraste Gd-DTPA (A); dos complexos $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ (B), $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (C) e $\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (D). .....	81
Figura 52 – Esquema ilustrativo da sonda DPH no interior das micelas. ....	82
Figura 53 – Gráfico da taxa de relaxação longitudinal $R_1$ (a) e taxa de relaxação transversal $R_2$ (b) em função da concentração, para os complexos em solução aquosas, obtidos com pulsos de radiofrequências de inversão-recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), utilizando $\pi/2 = 3,1 \mu\text{s}$ e $\pi = 6,2 \mu\text{s}$ ; Tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms; Para as medidas de $T_2$ foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s. ....	84
Figura 54 – Gráfico da taxa de relaxação longitudinal $R_1$ (a) e taxa de relaxação transversal $R_2$ (b) em função da concentração da amostra incorporada em lipossomas, obtidos com pulsos de radiofrequências de inversão-recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), utilizando $\pi/2 = 3,1 \mu\text{s}$ e $\pi = 6,2 \mu\text{s}$ ; Tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms; Para as medidas de $T_2$ foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s. ....	90
Figura 55 – Imagens ponderadas em $T_1$ (a) e $T_2$ (b) do agente de contraste Gd-DTPA (A); dos complexos Lipo- $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ (B) e Lipo- $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (C). ....	93
Figura 56 – Ensaio de MTT para os ligantes e os sais dos metais: (a) HOCT, (b) HDEC, (c) HDOD (d) $\text{GdCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e (e) $\text{TbCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em linhagem de célula sadia L929, com tempo de incubação 72 h. ....	98
Figura 57 - Ensaio de MTT para os complexos (a) $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , (b) $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (c) $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (d) $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , (e) $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e (f) $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em linhagem de célula sadia L929, com tempo de incubação 72 h. ....	99
Figura 58 - Ensaio de MTT para os ligantes e os sais dos metais: (a) HOCT, (b) HDEC, (c) HDOD (d) $\text{GdCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e (e) $\text{TbCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em linhagem de célula tumoral B16F10, com tempo de incubação 72 h. ....	101

Figura 59 - Ensaio de MTT para os complexos (a)  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , (b)  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (c)  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (d)  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , (e)  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e (f)  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em linhagem de célula tumoral B16F10, com tempo de incubação 72 h. .... 103

Figura 60 – Histograma  $\text{IC}_{50}$  dos metais, cisplatina e os complexos sintetizados de Gd(III) e Tb(III) em células tumorais B16F10, tempo de incubação 72 h. .... 104

Figura 61 - Histograma  $\text{IC}_{50}$  dos metais, cisplatina e dos complexos sintetizados de Tb(III) em células tumorais K562, tempo de incubação 72 h. .... 106

## Tabelas

Tabela 1 – Valores de relaxatividade para os agentes de contraste comerciais utilizados para obtenção de imagens por RM. .... 9

Tabela 2 - Intervalo de fusão e/ou temperatura de decomposição dos complexos de Gd(III) e Tb(III). .... 30

Tabela 3 – Dados de condutância molar de diversos tipos de eletrólitos para concentração da Ordem de  $1\cdot 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em DMF. .... 31

Tabela 4 – Condutância Eletrolítica Molar em solução de DMF para os Complexos de Gd(III) e Tb(III). .... 31

Tabela 5 - Dados das perdas de massa em função do aumento da temperatura obtida a partir das curvas termogravimétricas para os complexos de Gd(III) e Tb(III). .... 33

Tabela 6 – Dados analíticos para os complexos de Gd(III) e Tb(III). .... 41

Tabela 7 – Algumas Frequências de vibrações ( $\text{cm}^{-1}$ ) observadas nos espectros dos complexos de Gd(III) e Tb(III) e dos ligantes na região do infravermelho. .... 46

Tabela 8 – Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em metanol. .... 48

Tabela 9 - Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em metanol. .... 51

Tabela 10 - Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo [Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl. 5H <sub>2</sub> O em metanol.....	54
Tabela 11 – Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo [Tb(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.7H <sub>2</sub> O em metanol. ....	57
Tabela 12 - Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo [Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O em metanol. ....	60
Tabela 13 - Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo [Tb(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O em metanol.....	64
Tabela 14 – Dados da fluorescência para os complexos de Tb(III) no estado sólido e em solução etanólica, $\lambda_{exc}=300nm$ . ....	74
Tabela 15 – Medidas das relaxatividade $r_1$ e $r_2$ dos complexos Gd(III) em 20 MHz (25 °C).....	78
Tabela 16 – CMC dos ligantes (HOCT e HDEC) e dos complexos [Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl e [Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O. ....	82
Tabela 17 – Medidas das relaxatividade $r_1$ e $r_2$ dos complexos Gd(III) nas concentrações 5, 10, 20 e 30 mM em 20 MHz(25 °C). ....	85
Tabela 18 – Diâmetro médio, índice de polidispersão (PDI), e potencial zeta dos lipossomas contendo ou não os complexos Gd(III).....	87
Tabela 19 – Valores da relaxatividade dos complexos Lipo-[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl, Lipo-[Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O e Lipo-[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O incorporados em lipossomas. ....	90
Tabela 20 – Valores de CC <sub>50</sub> dos ensaios de MTT para os ligantes, sais dos metais e os complexos em linhagem de célula sadia L929, tempo de incubação 72 h. ....	99
Tabela 21 - Valores de IC <sub>50</sub> dos ensaios de MTT para os ligantes, sais dos metais e os complexos em linhagem de célula tumoral B16F10, tempo de incubação 72 h. ....	103
Tabela 22 – Valores de IC <sub>50</sub> , ensaios colorimétricos, para os ligantes, sais dos metais e os complexos em linhagem de célula tumoral K562, tempo de incubação 72 h. ....	105

## RESUMO

---

Complexos de gadolínio(III) e térbio(III) com ligantes anfífilos derivados do N-alquil-N-Metil-glucamidas foram sintetizados e caracterizados por análise elementar (C, H, N), condutividade eletrolítica molar, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, ressonância paramagnética de elétrons, análise termogravimétrica (TG e DTG), temperatura de fusão e espectrometria de massas. Os complexos possuem estequiometria metal-ligante 1:2 são catiônicos, eletrólitos 1:1, com um cloreto como contra íon.

Os complexos anfífilos de gadolínio(III) foram estudados quanto a sua atividade como agentes de contraste para obtenção de imagens por ressonância magnética. Estes complexos mostraram elevada relaxatividade em comparação com os agentes de contraste comerciais, tanto em concentrações abaixo da concentração micelar crítica (com valores variando de 11,90 a 12,30 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> para r<sub>1</sub> e de 13,00 a 13,60 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> para r<sub>2</sub>) como acima da concentração micelar crítica (com valores variando de 8,34 a 12,22 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> para r<sub>1</sub> e de 8,94 a 13,61 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> para r<sub>2</sub>). As imagens ponderadas em T<sub>1</sub> mostram elevado brilho para os complexos em solução aquosa em comparação com o agente de contraste comercial Gd-DTPA analisado nas mesmas condições (1mM a 20 MHz). Estudou-se também a relaxatividade dos complexos de gadolínio(III) incorporados em lipossomas apresentando valores variando de 11,92 a 15,53 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> para r<sub>1</sub> e de 13,41 a 16,95 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> para r<sub>2</sub>). Observou-se aumento da relaxatividade dos complexos de gadolínio(III) incorporados em lipossomas. A elevada relaxatividade observada para os complexos sintetizados deve ser atribuída à rotação molecular que ocorre mais lentamente devido a elevada massa molecular dos complexos e a incorporação em lipossomas. Os resultados da relaxatividade mostram que estes complexos paramagnéticos são agentes de contraste altamente potentes, o que os torna excelentes candidatos para imagiologia em RM.

A luminescência do complexo de térbio(III) foi investigada no estado sólido e em soluções aquosa, etanólica e clorofórmica. Os espectros de emissão do complexo [Tb(OCT)<sub>2</sub>]Cl registrados em excitação de 300 nm e 370 nm apresentam linhas de emissão características do íon térbio (III) mostrando as transições de <sup>5</sup>D<sub>4</sub> → <sup>7</sup>F<sub>6</sub> (em torno de 490 nm), <sup>5</sup>D<sub>4</sub> → <sup>7</sup>F<sub>5</sub> (em torno de 545 nm), <sup>5</sup>D<sub>4</sub> → <sup>7</sup>F<sub>4</sub> (em torno de 590

nm) e  ${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$  (em torno de 620 nm). A transição máxima observada nos espectros de emissão foi a  ${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$  de 545 nm, que se devem as transições *f-f*, o que vem a contribuir para uma luminescência verde.

A citotoxicidade dos todos complexos sintetizados, os ligandos livres e respectivos precursores metálicos foi estudada em células fibroblastos L292 do rato. A concentração citotóxica dos complexos de gadolínio(III) e térbio(III) estão entre a faixa de 30 a 120  $\mu\text{M}$ , concentrações maiores do que o fármaco padrão utilizado no tratamento do câncer, a cisplatina (29  $\mu\text{M}$ ), o que indica que os complexos sintetizados mostram menos citotóxicos para as células normais do que o fármaco padrão (Cisplatina).

Os complexos ao longo dos respectivos ligandos livres e os precursores metálicos, também foram avaliadas quanto ao seu potencial terapêutico em linhas celulares tumorais (linhas de células tumorais K562 e B16F10). A concentração à qual o fármaco inibir o crescimento das células tumorais ( $\text{IC}_{50}$ ) foi obtido. As actividades citotóxicas *in vitro* dos complexos em fibroblastos e linhas celulares tumorais mostrou que os complexos de térbio (III) foram mais activas para as células tumorais do que o fármaco padrão, cisplatina.

**Palavras chaves:** Alquilmetilglucamidas, Complexos lantanóides, ressonância magnética, agentes de contraste, agentes antineoplásicos.

## ABSTRACT

---

Gadolinium(III) and terbium(III) complexes(III) with amphiphilic ligands, derivatives of N-alkyl-N-methyl-glucamides, were synthesized and characterized by elemental analysis (C, H and N), molar electric conductivity, infrared absorption spectroscopy, electron paramagnetic resonance, thermogravimetric analysis (TG and DTG), melting temperature and mass spectrometry. The complexes possess a metal-ligand stoichiometry of 1:2, are cationic, electrolytes 1:1, with a chloride as a counter ion.

The amphiphilic complexes of gadolinium (III) were studied for their activity as contrast agents for imaging by MRI. These complexes showed high relaxivity compared to commercial contrast agents, both in concentrations below the critical micelle concentration (with values ranging from 11.90 to 12.30 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> for r<sub>1</sub> and from 13.00 to 13.60 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> for r<sub>2</sub>) and above the critical micelle concentration (with values ranging from 8.34 to 12.22 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> for r<sub>1</sub> and from 8.94 to 13.61 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> for r<sub>2</sub>). T<sub>1</sub> weighted images showed a high brightness for the amphiphilic complexes in aqueous solution in comparison to the commercial contrast agent Gd-DTPA analyzed under the same conditions (1 mM to 20 MHz). The relaxivity of gadolinium(III) complexes incorporated into liposomes was also studied, showing values ranging from 11.92 to 15.53 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> for r<sub>1</sub> and from 13.41 to 16.95 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> for r<sub>2</sub>). High relaxivity was observed for complexes gadolinium(III) incorporated into liposomes. The high relaxativity observed for the synthesized complexes can be attributed to molecular rotation that occurs more slowly due to high molecular weight of the complexes and their incorporation into liposomes. The results obtained for relaxivity show that these paramagnetic complexes are highly potent contrast agents, which makes them excellent candidates for MRI imaging.

The luminescence of terbium(III) complex was investigated in the solid state and in aqueous, ethanol and chloroform solutions. The emission spectra of the complex [Tb(OCT)<sub>2</sub>]Cl recorded in excitation 300 nm and 370 nm emission lines show characteristics of terbium(III) ion showing the transitions of <sup>5</sup>D<sub>4</sub> → <sup>7</sup>F<sub>6</sub> (around 490 nm), <sup>5</sup>D<sub>4</sub> → <sup>7</sup>F<sub>5</sub> (around 545 nm), <sup>5</sup>D<sub>4</sub> → <sup>7</sup>F<sub>4</sub> (around 590 nm) and <sup>5</sup>D<sub>4</sub> → <sup>7</sup>F<sub>3</sub> (around 620 nm). The maximum transition observed in the emission spectra was the <sup>5</sup>D<sub>4</sub> → <sup>7</sup>F<sub>5</sub> of 545 nm, which may be the *f-f* transitions, which is to contribute to an

intense green luminescence, qualifying him to act as effective luminescence sensitizers both in solid form and in solution.

The cytotoxicity of the all the complexes, free ligands and respective metal precursors was studied in mouse fibroblasts L292 cells. The cytotoxic concentration of gadolinium(III) and terbium(III) complexes were from 30 to 120  $\mu\text{M}$ , showing higher concentrations than the standard drug used in cancer treatment, cisplatin (29  $\mu\text{M}$ ), which indicates that the synthesized complexes show less cytotoxicity to normal cells than the standard drug (Cisplatin).

The complexes along the respective free ligands and metal precursors were also evaluated for their therapeutic potential in tumor cell lines (K562 and B16F10 tumor cell lines). The concentration at which the drug inhibit the growth of the tumor cells ( $\text{IC}_{50}$ ) was obtained. The *in vitro* cytotoxic activities of the complexes in fibroblasts and tumor cell lines showed that terbium(III) complexes were more active to tumor cells than the standard drug, cisplatin.

**Keywords:** Alkylmethylglucamides, complexes lanthanide, resonance magnetic, contrast agents, antineoplastic agents.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

---

$\tau_M$	Velocidade de permuta entre moléculas de água
$\tau_R$	Tempo de rotação molecular do agente de contraste
CC <sub>50</sub>	Concentração citotóxica
CMC	Concentração micelar crítica
DLS	Espalhamento de luz dinâmica
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPH	1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno
ESI	Ionização por elétron spray
Gd-DTPA	Magnevist®
IC <sub>50</sub>	Concentração inibitória
IRM	Imagens por Ressonância Magnética
IS	Índice de seletividade
Ln	Lantanóides
M	Molaridade (mol L <sup>-1</sup> )
m/z	Razão da carga para massa
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MS	Espectrometria de massas
MTT	brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio
nm	Nanômetro
$q$	Nº de moléculas de água na esfera de coordenação interna
$r_1$	Relaxatividade longitudinal
$r_2$	Relaxatividade transversal
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPE	Ressonância paramagnética de elétrons
$T_1$	Constante de tempo de relaxação longitudinal
$T_2$	Constante de tempo de relaxação transversal

# 1 CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO

## 1.1 Ressonância Magnética para obtenção de Imagens

Em 1946, Purcell e Bloch realizaram independentemente os primeiros estudos em ressonância magnética nuclear (RMN). Eles observaram que alguns núcleos ao serem colocados em campos magnéticos absorviam energia dentro de uma faixa de radiofrequência no espectro eletromagnético e eram capazes de reemitir esta energia quando retornavam o seu estado original. No ano de 1952, Purcell e Bloch foram agraciados com Prêmio Nobel (GEVA, 2006).

Até a década de 1970, a técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) era usada somente para análises químicas e físicas. Mas, em 1971, Raymond Damadian mostrou através de experimentos *in vitro* que os tempos de relaxação dos tecidos saudáveis e os patogênicos eram diferentes (DAMADIAN, 1971). Em 1974, Damadian patenteia a ideia de utilizar a RM para detecção de tecidos malignos (KAUFFMAN, 2014)

No ano de 1973, Paul Christian Lauterbur propôs a ideia de utilizar a RMN na formação de imagens através da aplicação de gradientes de campo magnéticos lineares (LAUTERBUR, 1973) e no ano de 1977, Peter Mansfield mostrou como os sinais de rádio de RM poderiam ser matematicamente transformados em imagem. Em 2003, Paul Lauterbur e Peter Mansfield foram agraciados com o Prêmio Nobel por suas contribuições a IRM (imagem por ressonância magnética) (HEYMSFIELD, 2008).

A Ressonância magnética (RM) é uma técnica não invasiva de ótima qualidade, sendo uma das mais poderosas utilizadas no diagnóstico médico de doenças e no processamento de imagens (COURANT et al., 2013). Esta técnica apresenta muitas vantagens sobre outras técnicas diagnósticas, tais como raios-X e tomografia computadorizada, pois não envolve qualquer exposição a radiação ionizante e fornece elevado contraste em tecidos moles. Ao contrário das técnicas para obtenção de imagens nuclear como a tomografia por emissão de pósitrons, a RM permite imagens tridimensionais com alta resolução e pode ser usada para medir o fluxo sanguíneo, a difusão de água, e muitos outros parâmetros funcionais (BENNETT et al., 2014).

O corpo humano é constituído por 65% de água em relação ao seu peso corporal. O núcleo do átomo de hidrogênio contém um único próton, possuindo spin

e momento magnético. A sua utilização para obtenção de imagens por RM se deve a sua abundância no corpo humano e por possuir um grande momento magnético.

Os prótons de hidrogênio em um aparelho de RM atuam como as agulhas de uma bússola que se orientam no campo magnético. Na ausência de um campo magnético externo os prótons presentes no corpo humano encontram-se orientados aleatoriamente, porém quando submetidos a um campo magnético externo, os núcleos dos átomos de hidrogênio tendem a alinhar-se a este campo, paralelamente ou antiparalelo. Na situação de equilíbrio térmico, a proporção entre paralelos e antiparalelos ao campo magnético é governada pela distribuição de Boltzmann, onde a maioria dos prótons tende a se alinhar paralelamente ao campo magnético externo, uma vez que esse estado é o de menor energia, enquanto uma minoria se alinha na forma antiparalela. Essa diferença gera, portanto, uma magnetização resultante ( $M_0$ ). (TU, OSBORNE, LOUIE, 2011).

Nos experimentos para obtenção de imagens, pulsos de radiofrequências são aplicados transversalmente ao campo externo (orientado, por convenção, no eixo z), perturbando a magnetização. Após a aplicação dos pulsos de radiofrequência, movimentos de precessão são observados apresentando duas constantes de tempos de relaxação chamado de  $T_1$  e  $T_2$  (MATSUMOTO & JASANOFF, 2013).

Quando o vetor de magnetização é girado por ação de um pulso de  $90^\circ$  existe a tendência do retorno à configuração inicial. Esse retorno segue a forma de uma função exponencial até atingir seu estado de equilíbrio (Equação 1).

$$\text{Equação 1- } M_z(t) = M_0(1-\exp(-t/T_1))$$

Onde  $M_z$  é a componente de magnetização na projeção do eixo z,  $M_0$  é o módulo da magnetização inicial,  $T_1$  é uma constante e t é o tempo. Quando  $t=T_1$  a magnetização atingiu apenas 63% de seu valor de equilíbrio.

O tempo de relaxação  $T_1$ , chamado de tempo de relaxação longitudinal, também conhecido como “Tempo de relaxação Spin-rede” é o tempo necessário para a recuperação de 63% da magnetização ao longo da direção longitudinal, depois de um pulso de  $90^\circ$  (HAGE & IWASAKI, 2009).

O tempo de relaxação  $T_2$  é definido como sendo o coeficiente de decaimento exponencial da função que rege o sinal de magnetização (Equação 2).

$$\text{Equação 2- } M_{xy}(t) = M_0(1-\exp(-t/T_2))$$

Onde  $M_{xy}$  é o vetor de magnetização no plano xy,  $M_0$  é o módulo da magnetização inicial,  $T_2$  é uma constante e  $t$  é o tempo. Quando  $t=T_2$ ,  $M_{xy}= 0,37M_0$ . Desta maneira,  $T_2$  ou “tempo de relaxação Spin-spin” ou tempo de relaxação transversal, está relacionado com a taxa de decaimento da magnetização transversal, ou seja, é o tempo necessário para que a componente de magnetização no plano xy seja igual a 37% da magnetização original, após o pulso de  $90^\circ$  (VILLARAZZA; BUMB; BRECHBIEL, 2010).

Pulsos de radiofrequência influenciam o contraste das imagens, para isso mudanças de sequências de pulsos podem ser aplicadas a fim de determinar as constantes de tempo  $T_1$  e  $T_2$ . Neste trabalho abordaremos somente as sequências IR (inversão e recuperação) para as determinações em  $T_1$  e a CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) para determinações em  $T_2$ . A construção das imagens baseia-se no tempo de Eco (TE, tempo de aquisição do sinal) e o tempo de repetição (TR, intervalo de tempo entre cada sequência de pulso de  $90^\circ$ ).

As sequências de pulsos CPMG são variações das sequências padrões do tipo eco de spin. É um método padrão para medir  $T_2$ , que consiste em introduzir um pulso de excitação  $90^\circ$ , seguido por um pulso de reorientação de  $180^\circ$ , separados por um tempo  $\tau$  (ANDRADE, NETTO, COLNAGO, 2012).

Ao contrário da sequencia spin eco, as sequências de IR consistem em dar um pulso de  $180^\circ$  virando a magnetização do eixo longitudinal na direção oposta e em seguida um pulso de  $90^\circ$  é aplicado na direção do eixo transversal. O sinal depende do tempo entre o pulso de  $180$  e  $90^\circ$  (tempo de inversão). Para se obter um sinal ruído bom, repete-se a sequência n-vezes (MORAES & COLNAGO, 2014).

## 1.2 Complexos metálicos para obtenção de imagens em RM

### 1.2.1 Complexos paramagnéticos e superparamagnéticos para obtenção de imagens em RM

As imagens obtidas por RM baseiam-se no contraste apresentado nos tecidos através das constantes de tempo  $T_1$  e  $T_2$ . Porém, quando o contraste é baixo, agentes de contraste são utilizados para melhorar as imagens.

Atualmente mais de 35% dos exames adquiridos por RM são acompanhados pela administração de agentes ou complexos metálicos que encurtam o tempo de relaxação dos prótons dos tecidos e, assim proporcionam um melhor contraste para as regiões anatômicas (AIME et al., 2006; ZHANG et al., 2014).

Apesar de quase todos os agentes de contraste para IRM afetar tanto as constantes de tempo  $T_1$  e  $T_2$ , os efeitos dos agentes de contraste são geralmente mais pronunciados ou para  $T_1$  ou para  $T_2$ , levando a sua classificação como agentes de contraste- $T_1$  ou agentes de contraste- $T_2$  (GERALDES & LAURENT, 2009).

O aumento do contraste observado nas imagens é medido pela taxa de relaxação  $R_i = 1/T_i$  ( $s^{-1}$ ), onde  $i = 1$  ou  $2$ . O parâmetro mais importante para a definição da eficácia de um agente de contraste é a sua relaxatividade  $r_i$  ( $r_i = R_i / c_{AC}$  ( $mM^{-1} s^{-1}$ )), em que  $c_{AC}$  é a concentração do íon metálico (GUPTA et al., 2014). A razão  $R_2/R_1$  é usada para indicar a eficiência do contraste, quanto maior for a relação, maior será a eficiência de agentes de contraste- $T_2$  e vice-versa para o agente de contraste- $T_1$  (MULDER et al., 2006).

Existem duas classes de agentes de contraste de IRM disponíveis para uso clínico, os agentes de contraste com imagens ponderadas em  $T_1$  (por exemplo, os quelatos de gadolínio(III) e manganês(II)), são de natureza paramagnética que aumentam o tempo de relaxação  $T_1$ , resultando em um brilhante contraste nas imagens ponderadas em  $T_1$ ; e os agentes de contraste ponderadas em  $T_2$  são materiais superparamagnéticos (por exemplo, a magnetita ( $Fe_3O_4$ )) que reduzem o tempo de relaxação  $T_2$ , dando origem ao contraste escuro nas imagens ponderadas em  $T_2$  (ZHU, LIU, WANG, 2013).

As imagens ponderadas em  $T_1$  apresentam boa anatomia da região a ser visualizada e são preferidas quando se almeja obter uma imagem clara das estruturas. Já as imagens ponderadas em  $T_2$  apresentam boas informações dos

tecidos patológicos onde o fluido anormal aparece mais brilhante do que tecido normal (STEPHEN, KIEVIT, ZHANG, 2011; SZPAK et al., 2014).

Agentes de contraste aprovados a base de Gd(III) são nove: Magnevist® (Gadopentato dimeglumina), Dotarem® (ácido gadotérico), ProHance® (Gadoteridol), Omniscan® (Gadodiamida), MultiHance® (gadobenato de dimeglumina), Gadovist® (Gadobutrol), Optimark® (Gadoversetamida), Vasovist® (gadofosveset trissódico) e Eovist® (gadoxetato dissódico) (LAURENT, et al., 2012). Atualmente, os agentes de contraste a base de gadolínio são os mais utilizados no meio clínico por apresentar maior estabilidade nos sistemas fisiológicos (WERNER et al., 2008; ZIMNY et al., 2013). Uso de agentes de contraste comerciais a base de gadolínio, para obtenção de imagens ponderadas em  $T_1$ , aumenta a capacidade de produzir imagens mais brilhantes nas imagens, facilitando rastrear as células patológicas em tecidos de sinal baixo (PAN et al., 2014; CARAVAN & ZHANG, 2012).

O íon  $Mn^{2+}$  apresenta na sua configuração cinco elétrons desemparelhados e é um dos cátions utilizado como agentes de contraste. A FDA (*US Food and Drug Administration*) aprovou em maio de 1997, um agente de contraste à base de Mn, o mangafodipir trissódico injetável (Teslascan®) para obtenção de imagens do fígado. No entanto, em 2012, a *Agency European Medicines* (EMA) foi notificada pelo responsável da autorização da comercialização do Teslascan a decisão da retirada voluntariamente da autorização de comercialização na União Europeia (EMA, 2012), devido a baixa estabilidade do composto em solução.

Agentes de contraste- $T_2$  (chamados de agentes de contraste negativos) atuam na diminuição da intensidade do sinal no aparelho de RM, logo as regiões afetadas aparecem mais escuras. As nanopartículas de óxido de ferro têm sido usadas como agentes de contraste para melhorar as imagens ponderadas em  $T_2$  por mais de 25 anos. Atualmente, dois óxidos de ferro são geralmente utilizados para aplicações biomédicas: magnetita ( $Fe_3O_4$ ) e a sua forma oxidada a maghemita ( $\gamma-Fe_2O_3$ ) (ESTELRICH, SANCHEZ-MARTÍN, BUSQUETS, 2015).

Para obter alterações significativas no relaxamento de prótons e, portanto, um bom contraste, o íon paramagnético tem de estar em estreito contato com os prótons das moléculas de água dos tecidos (HENOUMONT et al., 2008).

## 1.2.2 Complexos metálicos a base de Gd(III) para obtenção de imagens em RM

A utilização de agentes de contraste a base de lantanóides iniciou-se em 1983 com os protótipos de complexos de Gd(III) com os ligantes dietileno triaminopentacetato (DTPA), 1,4,7,10-tetraquis(carboximetil) 1,4,7,10-tetraaza ciclododecano (DOTA) e [(1,4,7-tris(carboximetil)- 1,4,7,10-tetraaza ciclododecano)] (DO3A) (ANTUNES, WARDELL, PIMENTEL, 2008).

O Gd(III) é um íon paramagnético que possui sete elétrons desemparelhados que contribuem para o grande momento magnético (7,9  $\mu\text{B}$ ) e é considerado um candidato ideal para aumentar o tempo de relaxação longitudinal dos prótons da água (ZHOU et al., 2014). As contribuições magnéticas dos complexos de Gd(III) resultam em um tempo de relaxamento eletrônico excepcionalmente longo em torno de  $10^{-8}$ - $10^{-9}$  s, logo um núcleo que se situe nas vizinhanças deste íon paramagnético sentirá um intenso campo magnético local por maior tempo (MANUS et al., 2010).

Os agentes de contraste utilizados comercialmente a base de lantanóide são complexos formados com ligantes poli(aminocarboxilatos) (Figura 1) com uma molécula de água na coordenação interna do Gd(III) (LAURENT et al., 2012), sendo esta importante no processo de alteração da relaxação dos prótons.

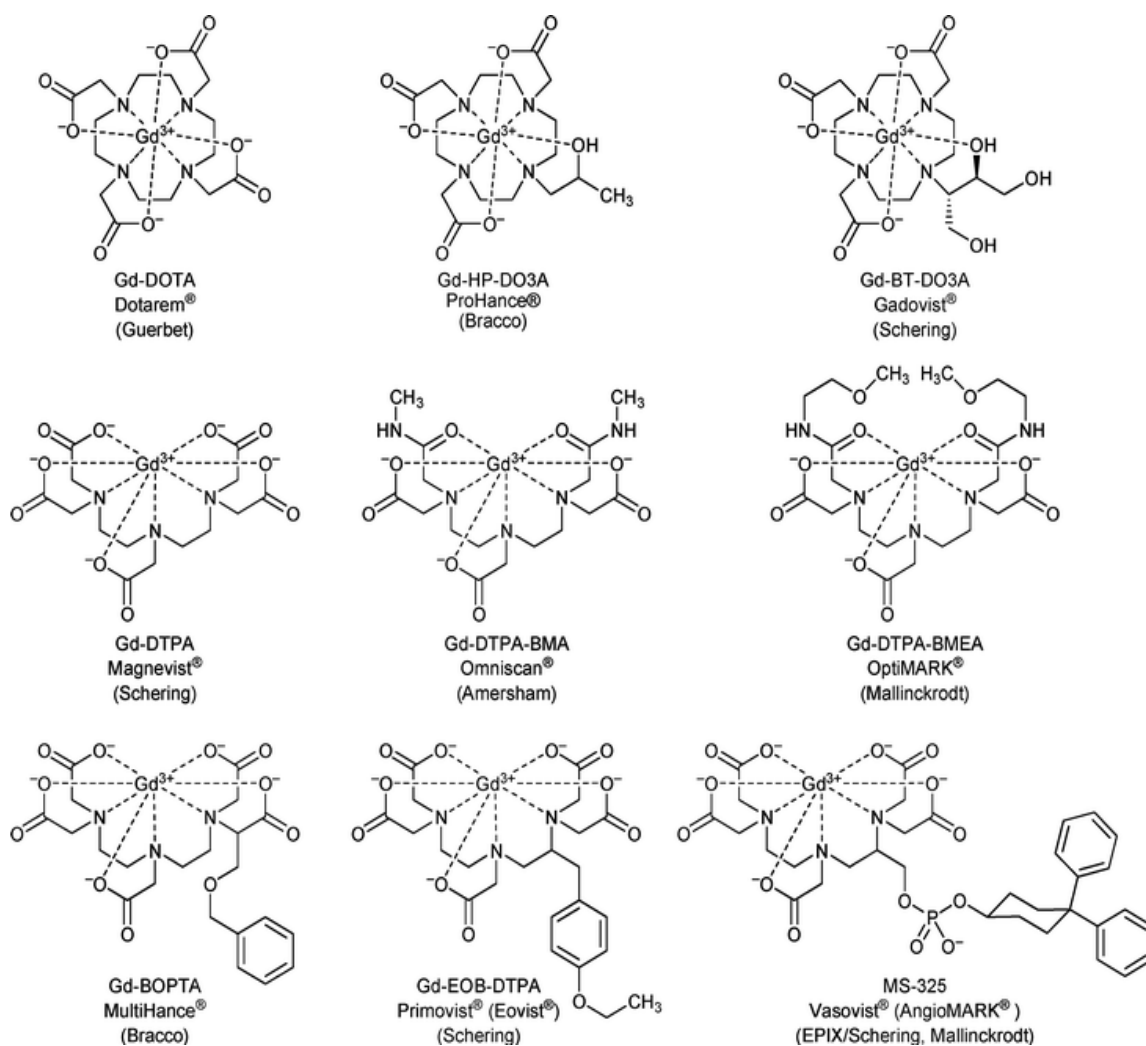


Figura 1– Os principais agentes de contraste a base de gadolínio aprovados para aplicações clínicas em IRM. Adaptado de Hermann et al., 2008.

Grande parte desses agentes de contraste não são específicos como Magnevist®, Omniscan®, ProHance®, Gadovist®, Optimark® e Dotarem®, enquanto que os agentes MultiHance®, Vasovist® e Eovist® atuam de forma específica com objetivo de melhorar a detecção de lesões hepáticas (YAN et al., 2007). As desvantagens destes agentes de contraste estão associadas a sua difusão para a área extravascular após a injeção intravenosa por causa dos seus baixos pesos moleculares e por eles não serem específicos, além de rápida excreção renal (MARTINEZ, et al., 2015; LI et al., 2012; STEFANAKIS, 2014).

O agente de contraste ideal seria o composto que apresenta alta solubilidade, estabilidade cinética, alta relaxatividade, que possa ser administrado em baixas concentrações de Gd(III) e que este seja completamente eliminado (HATZIPANAYIOTI & VENERIS, 2009).



Os agentes de contraste comerciais a base de íons Gd(III) apresentam número de coordenação 8 e 9 (ARMELAO et al., 2010), em que uma das ligações destina-se a molécula de água que se coordena diretamente ao íon metálico e contribui para elevado contraste nas imagens, Figura 2 (EBADIAM-BAGHER et al., 2011).

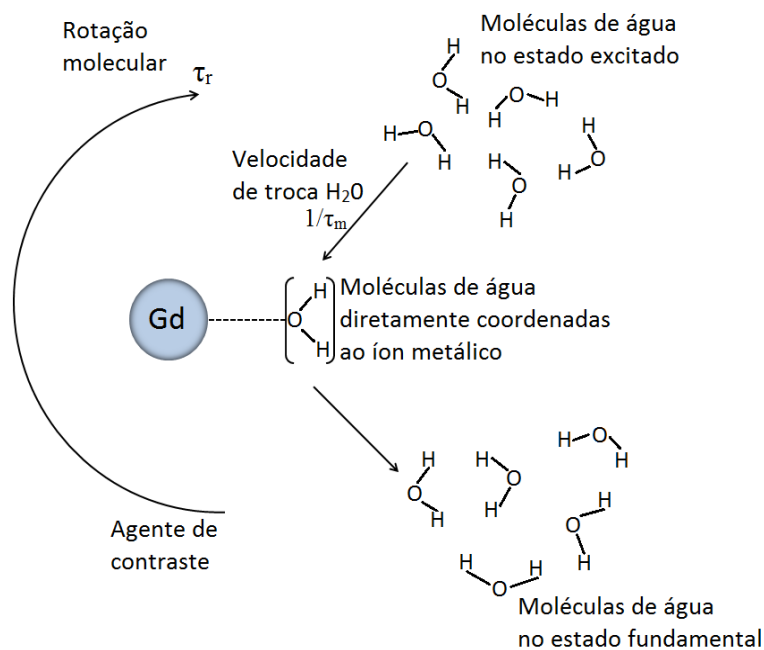


Figura 2 - Relaxatividade dos prótons da água. Adaptado de Raymond & Pierre, 2005.

A relaxatividade dos compostos é influenciada por uma variedade de fatores, tais como o número de moléculas de água ( $q$ ), o tempo de correlação rotacional ( $\tau_r$ ), e o tempo de vida médio de residência da molécula de água, coordenado e/ou ligado ( $\tau_m$ ) (KASALA et al., 2011).

Raymond & Pierre (2005) sintetizaram ligantes hidroxipiridinona (HOPO) que ao complexar com os íons Gd(III) apresentaram relaxatividade maiores que os agentes de contraste comercial DTPA e DOTA, devido sua capacidade de coordenar a duas moléculas de água ( $q$ ).

Com o mesmo intuito Aime et. al.(2006) desenvolveram complexos de Gd(III) com poliaminocarboxilato [Gd(AAZTA)] com duas moléculas de água coordenadas ao íon central resultando em um valor de relaxatividade longitudinal de  $7,1 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ .

Outro parâmetro, já citado anteriormente, importante para o aumento da relaxatividade é o tempo de correlação rotacional ( $\tau_r$ ), que está relacionado com o tempo que uma espécie leva para se deslocar por um radiano (MANUS et al., 2010).

Segundo a teoria de Solomon-Bloemberg-Morgan (SBM), quanto maior for o número de moléculas de água ( $q$ ), menor será o tempo para taxa de troca de moléculas de água ( $\tau_M$ ) e maior tempo de correlação rotacional ( $\tau_R$ ), conseqüentemente, melhor será o contraste observado na imagem obtida por RM, uma vez que, esses fatores contribuem para elevada relaxatividade (DEBROYE & PARAC-VOGT, 2014).

Os agentes de contrastes comerciais apresentam baixa relaxatividade (Tabela 1), não são específicos, apresentam efeitos colaterais comuns como náuseas, vômitos, urticária e cefaleia, irritação, ardor e sensação de frio, além disso apresenta rápida excreção renal (podendo causar efeitos colaterais graves nos rins) (JUNIOR et al., 2008; ABU-ALFA, 2011).

Tabela 1 – Valores de relaxatividade para os agentes de contraste comerciais utilizados para obtenção de imagens por RM.

Nome Comercial	Relaxatividade no Plasma 1,5 T, 37 °C (mM <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	
	r <sub>1</sub>	r <sub>2</sub>
Magnevist	4,1	4,6
Omniscan	4,3	5,2
Optimark	4,7	5,2
Dotarem	3,6	4,3
ProHance	4,1	5,0
Gadovist	5,2	6,1
MultiHance	6,3	8,7
Eovist	6,9	8,7

Fonte: Rohrer et al., 2005.

Várias estratégias foram concebidas para aumentar a relaxatividade dos complexos metálicos paramagnéticos (GIOVENZANA et al., 2012):

1. O aumento do número de moléculas de água coordenadas.
2. O aumento da massa molecular do complexo paramagnético visando abrandar o seu movimento de rotação.
3. A encapsulação ou incorporação em nanopartículas.

Dentre as abordagens apresentadas para aumentar a relaxatividade a encapsulação ou incorporação em nanopartícula tem se tornado o método preferido, pois além de elevar a relaxatividade, pode melhorar a especificidade, a biocompatibilidade e a biodistribuição dos agentes de contraste (DAVIES, KRAMBERGER, DAVIS, 2013).

Dentre as nanopartículas utilizadas na literatura, neste trabalho, iremos abordar a utilização dos lipossomas para encapsulação ou incorporar complexos paramagnéticos de Gd(III). Nestes sistemas a relaxatividade pode ser influenciada pelos tempos de rotação local em torno do íon metálico ( $\tau_{RL}$ ), o movimento de rotação global da nanopartícula ( $\tau_{RG}$ ) e pela taxa de troca da molécula de água ( $\tau_M$ ) (Figura 3).

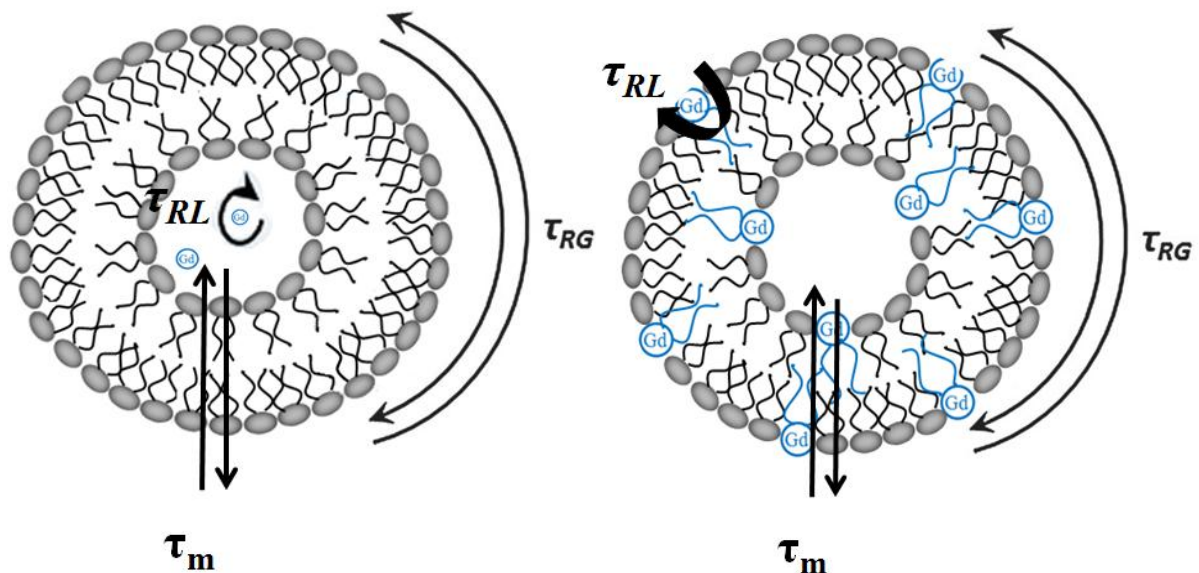


Figura 3 – Representação esquemática dos processos de mobilidade local e global dos complexos de Gd(III) lipossomas com  $\tau_{RG}$  e  $\tau_{RL}$  como tempo de rotação global e tempo de correlação rotacional local, respectivamente.  $\tau_M$  indica a taxa de troca de água. Adaptado de Davies, Kramberger, Davis, 2013.

A elevada relaxatividade em nanopartículas contendo agentes de contraste está diretamente relacionada com a estrutura e a flexibilidade da ligação em torno do íon paramagnético. A rotação rápida em torno do íon Gd(III) ( $\tau_{RL}$ ) em comparação com o movimento da nanopartícula ( $\tau_{RG}$ ) pode ser um fator limitante na melhoria relaxatividade, pois, o seu movimento de rotação local ( $\tau_{RL}$ ) em torno do eixo do ligante em solução é muito mais rápido do que a rotação global de nanopartículas ( $\tau_{RG}$ ) o que diminui o tempo de troca da molécula de água ( $\tau_M$ ) (DAVIES, KRAMBERGER, DAVIS, 2013).

### 1.2.3 Complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas

Os lipossomas são vesículas esféricas microscópicas compostas de uma ou mais bicamadas lipídicas concêntricas, separadas por um meio aquoso (Figura 4). Os lipossomas podem encapsular substâncias hidrofílicas e/ou lipofílicas, sendo que as primeiras ficam no compartimento aquoso e as lipofílicas inseridas ou adsorvidas na membrana. Tem sido tradicionalmente usados como carreadores de fármacos, biomoléculas ou agentes de diagnóstico (BATISTA, CARVALHO, MAGALHÃES, 2007).

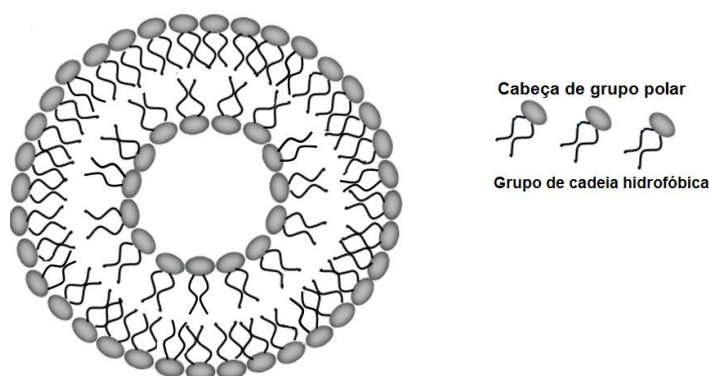


Figura 4 – Esquema estrutural dos lipossomas.

Os lipossomas, visando o aumento da relaxatividade do agente de contraste, vem sendo usados ou para encapsular os compostos de gadolínio no interior dos lipossomas ou para a imobilização dos compostos de gadolínio na superfície da membrana, sendo esta última a forma preferida, uma vez que os íons Gd(III) ficam expostos na superfície lipossomas (HUANG & TSOURKAS, 2013).

Os primeiros estudos sobre a utilização de lipossomas como transportadores de agentes de contraste para IRM surgiram na literatura em torno de 1988. Compostos de gadolínio lipofílicos foram imobilizados na membrana dos lipossomas aumentando a acessibilidade das moléculas de água ao íon gadolínio, contribuindo para um aumento na  $r_1$  (KABALKA et al., 1988).

Tilcock et al.(1989) ao encapsular Gd-DTPA em lipossomas (Figura 5-A) observaram que baixa relaxatividade obtida, foi devida ao fluxo lento das moléculas de água através da bicamada da membrana, o que prejudicou a taxa de troca de água. Isto pode ser parcialmente ultrapassada pelo aumento da proporção superfície-volume (isto é, diminuindo o tamanho da vesícula).

A abordagem em que um agente hidrofílico está ligado de forma covalente a uma cadeia hidrofóbica, pode ser mais eficaz, onde a porção hidrofóbica está ancorada na bicamada do lipossoma, enquanto a porção hidrofílica está localizada na superfície do lipossoma (Figura 5-B) (ACCARDO et al., 2009).

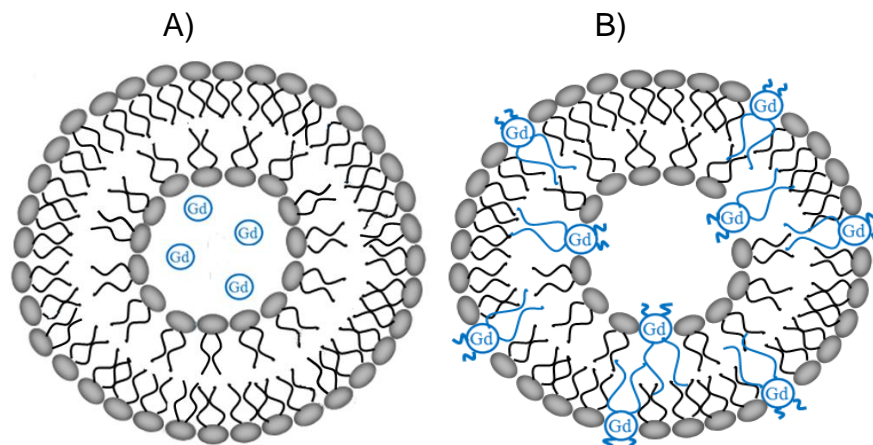


Figura 5 – Esquema ilustrativo de quelatos de gadolínio encapsulados (A) e incorporados(B) em lipossomas. Adaptado de Zhou, 2013.

Recentemente, complexos de Gd(III) foram incorporados em lipossomas e apresentaram relaxatividade de quatro a dez vezes maior do que os agentes de contraste comerciais (CITTADINO et al., 2013).

Outro estudo realizado por Bertini et al.(2004) mostra que lipossomas paramagnéticas constituído de Gd-DMPEDTPA (dimiristoil-sn-glicero-3-phosphoethanolamine-DTPA) com um revestimento de PEG contribuíram para um aumento na relaxatividade e têm sido utilizados para a detecção de tumores.

Importantes complexos anfífilicos Gd-DTPA-bis (amida)s foram incorporados em lipossomas e mostram alta relaxatividade, quando comparados com os agentes de contraste comerciais (PARAC-VOGT et al., 2006).

Agentes de contraste em lipossomas são adequados para a imagiologia do fígado, o baço, da medula óssea e outros órgãos que são ricos em macrófagos (KAMALY & MILLER, 2010).

### 1.3 Complexos de lantanóides para o tratamento do câncer

O câncer é uma classe de doenças caracterizada pelo crescimento descontrolado de células anormais e pela capacidade destas em espalhar-se para outras partes do corpo (SHARMA et al., 2014). A ocorrência de câncer tem aumentado nos

últimos anos e é a segunda líder na causa de morte nos países desenvolvidos, apesar de muitos esforços no desenvolvimento de novos fármacos antitumorais. Em 2007, 7,1 milhões de pessoas morreram de câncer em todo o mundo e espera-se que aproximadamente 12 milhões de doentes com câncer morrerão até 2015 (HUSSEIN et al., 2012).

Um dos principais tratamentos para combater o câncer é através da quimioterapia. Apesar, dessa ser a forma mais usual, muitas dificuldades vêm sendo encontradas durante o tratamento, a capacidade de alguns tumores de realizar metástase é grande, logo, ao curar o primeiro tumor outros tumores secundários podem surgir, o que dificulta e estende ainda mais o tratamento.

Em 1960, Barnett Rosenberg estuda o efeito da corrente elétrica sobre o crescimento celular bacteriano. Neste estudo foi observado que a divisão celular era interrompida quando a corrente alternada era fornecida através de eletrodos de platina. Encontrou-se, acidentalmente, que os íons platina eram liberados dos eletrodos durante a eletrólise, na presença de sais de amônio e luz, a cisplatina (cis-diaminodichloroplatina(II)  $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ ) era gerada e tornou-se um dos medicamento antitumoral na prática clínica, apesar de seus efeitos colaterais, principalmente por falta de tratamentos alternativos (DASARI & TCHOUNWOU, 2014).

Atualmente a cisplatina é um dos agentes antitumorais mais potentes que exibem elevada eficiência no tratamento de câncer do ovário e de testículo. Apesar de ser um dos fármacos mais utilizados na quimioterapia antitumoral, a cisplatina apresenta algumas limitações contra vários tipos de tumores. Muitos tumores são intrinsecamente resistentes à cisplatina, ou como na maioria dos casos, a resistência pode ser adquirida no decorrer do tratamento (LIANG et al., 2010).

Além disso, a cisplatina pode também causar efeitos secundários indesejáveis, incluindo a nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, neurotoxicidade, ototoxicidade, gastrotoxicidade, perda de cabelo, reações alérgicas, náuseas e vômitos, que limitam a dose que pode ser administrada a pacientes (YOUSEF & HUSSEIN, 2015; GUO et al., 2014). Uma desvantagem adicional da cisplatina é a limitada solubilidade em solução aquosa, solubilidade esta, que é crucial para a administração intravenosa (AMIN & BURATOVICH, 2009). Desta maneira, a busca de compostos mais eficazes se torna cada vez mais interessante e imprescindível.

Após a cisplatina, outros antitumorais, complexos análogos a cisplatina foram sintetizados e posteriormente avaliados. Atualmente, temos três complexos de platina comercialmente aprovados que resumem o progresso que a quimioterapia à base de metais nas últimas quatro décadas: a cisplatina, carboplatina e oxaliplatina (Figura 6) (WHEATE et al., 2007) (BIERSACK et al., 2011). A carboplatina é utilizada no tratamento de cancro avançado do ovário e cancro do pulmão, enquanto que a oxaliplatina está licenciado para o tratamento de cancro colo-retal em combinação com fluorouracilo e ácido folínico (NUSSBAUMER et al., 2011).

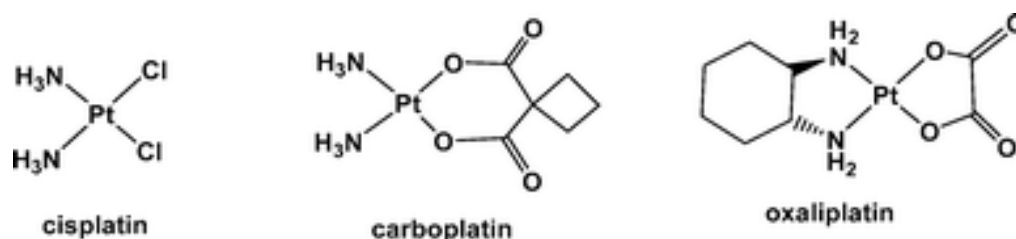


Figura 6 – Estrutura química dos agentes clínicos cisplatina, carboplatina e oxaliplatina (WHEATE et al, 2007).

O sucesso da cisplatina e dos complexos de platina relacionados como agentes antitumorais contribui para o grande aumento no desenvolvimento de outros complexos de metais de transição com melhor eficiência e tem atraído o interesse de muitos químicos bioinorgânicos tendo sido tema central de pesquisa na química bioinorgânica.

Os complexos de lantanóides também têm atraído atenção dos químicos bioinorgânicos devido a sua atividade antitumoral, atividade antimicrobiana (ALGHOO, ZOROMBA, EI-HALIM, 2013; VALCHEVA-TRAYKOVA, SASO, KOSTOVA, 2014; KOSTOVA et al., 2005) e por exibir propriedades antifúngicas (GUDASI et al., 2007; SHIJU, ARISH, KUMARESAN, 2013).

Embora o interesse dos pesquisadores por fármacos anticancerígenos à base de lantanóides tenha sido pequeno durante décadas, um número relevante de complexos de lantanóides foram sintetizados recentemente e a suas citotoxicidades avaliadas (KOSTOVA, TRENDAAFILOVA, MOMEKOV, 2008; WANG, HUANG, ZHANG, YANG, 2014). Os exemplos incluem complexos de lantânio (III) com a fenantrolina que mostrou ser um candidato promissor à fármaco anticancerígeno, capaz de superar a resistência dos tumores (BIBA et al., 2009).

Outros exemplos incluem complexos de lantânio (III) e Disprósio (III) com cumarinas (KOSTOVA & STEFONOVA, 2010), de samário (III) e lantânio (III) com 6-

hydroxy chromone-3-carbaldehyde benzoyl hydrazone (WANG et al., 2007) e muitos outros complexos lantanóides (LIU et al., 2013; ZENG et al., 2003; ZHAO, FHLLI, LINA, 2007; KOSTOVA & MOMEKOV, 2008). Recentemente, complexos de térbio foram sintetizados e avaliados quanto a sua atividade antitumoral e se mostraram promissores para atuar como drogas anticâncer (CHEN et al., 2013; REJI, PEARL, ROSY, 2013).

O desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para o tratamento do câncer tem vital importância, logo, complexos de gadolínio e térbio podem contribuir com mais informações sobre atividades antitumorais.

## 1.4 Compostos Teranósticos

Ao longo das últimas décadas, esforços têm sido realizados para o desenvolvimento de agentes terapêuticos potentes para o combate ao câncer, tendo em vista a limitada segurança e eficiência dos antitumorais existentes. A maioria dos agentes antineoplásicos não são completamente específicos e provocam citotoxicidade para as células normais e cancerígenas, o que causa efeitos secundários graves (PEREZ-HERRERO & FERNANDEZ-MEDARDE, 2015).

Numa tentativa para superar estes obstáculos, várias nanopartículas têm sido extensivamente desenvolvidas para atuarem no diagnóstico e no tratamento do câncer. Uma das estratégias é o desenvolvimento de nanopartículas para a obtenção de imagens de alta qualidade do local do tumor com potencial terapêutico, o que pode levar avanços na eficácia da terapia e diminuir a citotoxicidade para as células normais (RYU et al., 2012).

Teranóstico é o termo utilizado para definir uma abordagem que combina diagnóstico e tratamento terapêutico. Pesquisadores esperam que nanopartículas teragnósticas possam oferecer aos pacientes prognósticos melhorados. Além disso, nanopartículas teragnósticas podem ser utilizadas para monitorar a eficácia do tratamento terapêutico (KEYOUNG et a., 2012; FANG & ZHANG, 2010).

Neste sentido os complexos de Gd(III) e Tb(III) tem também o pontencial para atuarem como agentes teranósticos, ou seja, sistemas que integram imagiologia de tumores e terapia em um único sistema.

Visando obter formulações que possam ser empregadas como agentes de contraste e drogas terapêuticas, procedeu-se à síntese e caracterização de seis



complexos metálicos com ligantes anfífilos derivados do N-alkil-N-metilglucamidas que possuem hidrofobicidade crescente devido ao aumento das suas cadeias hidrocarbonadas saturadas.

As suas estruturas estão representadas na Figura 7.

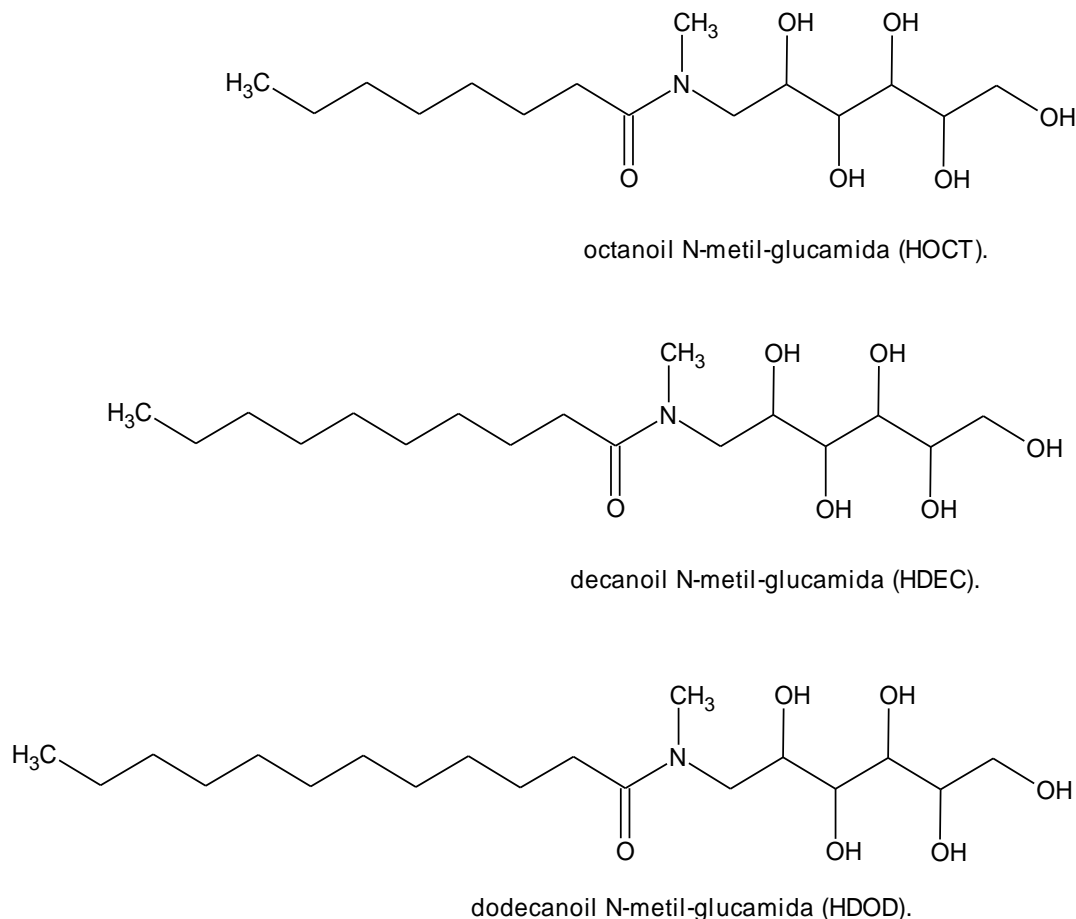


Figura 7 – Estrutura dos ligantes da serie N-alkil-N-metilglucamida utilizados na obtenção de novos complexos de Gd(III) e Tb(III).

As cadeias hidrofóbicas na estrutura dos ligantes anfífilos podem conduzir a fortes interações dos complexos lantanóides com as proteínas plasmáticas, como a albumina, ou com lípidos (GERALDES et al., 1995). O aumento das cadeias hidrofóbicas pode contribuir para uma melhora da sua biodistribuição e no caso dos agentes de contraste para IRM este aumento das cadeias ao longo da série traduz-se no aumento do peso molecular do complexo, aumentando o tempo de correlação rotacional e, portanto, a relaxividade (DAVIES, KRAMBERGER, DAVIS, 2013).

Além das implicações inerentes ao aumento da hidrofobicidade dos complexos, os alquilmetilglucamidas possuem características anfífilas, ou seja, apresentam uma extremidade hidrofílica (porção polar) e uma extremidade hidrofóbica (por-

ção apolar) (Figura 8) e vêm sendo amplamente estudados nas últimas décadas, pois tem a capacidade de formar nanossistemas micelares e constituem em suas estruturas funções amídicas que proporcionam a formação de complexos lantanóides estáveis, pois apresentam na porção polar átomos de oxigênio e nitrogênio (OLIVEIRA et al., 2011; ARMELAO et al., 2010). Outra vantagem destes ligantes é a capacidade dos complexos lantanóides para estabelecer ligações de hidrogênio o que proporcionará um aumento do número total de moléculas de água afetadas pelo íon Gd(III), aumentando assim a relaxividade e, conseqüentemente, a eficácia do potencial agente de contraste. Há relatos na literatura que compostos com elevado grau de hidrofobicidade incorporados em nanopartículas será também potencialmente mais eficazes.

Dessa forma a formação de complexos de Gd(III) e Tb(III) com ligantes alquilmetilglucamidas octanoil N-metil-glucamida (HOCT), decanoil- N-metil-glucamida (HDEC) e dodecanoil N-metil-glucamida (HDOD) podem contribuir para a obtenção de novos agentes de contraste, sondas fluorescentes e drogas terapêuticas (Figura 8).

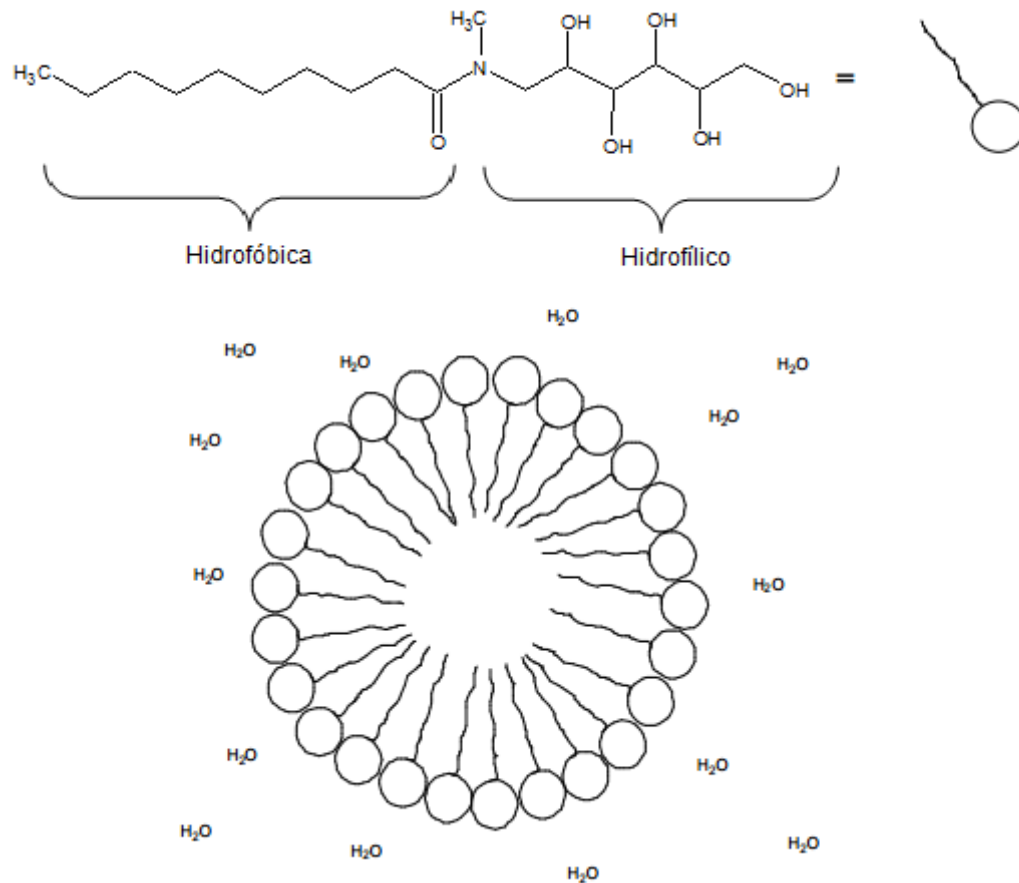


Figura 8 – Estrutura dos alquilmetilglucamidas.

Recentemente, Fernandes et al. (2013) relataram o estudo da utilização de complexos de antimônio com o grupo de ligantes anfifílicos (Octanoil N-metilglucamida (HOCT) e o Decanoil N-metilglucamida (HDEC) para o tratamento das leishmanioses. Estes complexos apresentaram elevada absorção oral e foram ativos em modelos de leishmaniose visceral e cutânea.

## 1.5 Objetivos

### 1.5.1 Objetivo

Sintetizar e caracterizar complexos anfifílicos de gadolínio(III) e térbio(III) e avaliar seus potenciais como agentes de contraste e antitumorais.

### 1.5.2 Objetivos específicos

- a) Preparar complexos de Gd(III) e Tb(III) utilizando os ligantes N-Octanoil-N-metilglucamida (HOCT), N-decanoil-N-metilglucamida (HDEC) e N-dodecanoil-N-metilglucamida (HDOD).
- b) Caracterizar os complexos formados pelas técnicas Físico-químicas de análise.
- c) Realizar estudos de luminescência para o complexo de Tb(III).
- d) Realizar estudo físico-químico da autoagregação dos complexos de Gd(III) e Tb(III).
- e) Realizar estudos de relaxação dos complexos de Gd(III) por RMN.
- f) Realizar estudo da CMC dos complexos anfifílicos de Gd(III) por fluorescência.
- g) Realizar a incorporação e caracterização da preparação dos complexos de Gd(III) em lipossomas
- h) Realizar estudo de relaxação dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas.
- i) Avaliar a citotoxicidade dos complexos de Tb(III) e Gd(III) frente as células normais de fibroblastos L929 e cancerígenas K562 (Leucemia) e B16F10 (melanoma).

## 2 CAPÍTULO II: PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1 Equipamentos

#### 2.1.1 Temperatura de fusão e/ou decomposição

As análises de temperatura de fusão dos complexos sintetizados foram realizadas em um aparelho digital modelo Mettler FP 82 HT, Host Stage, acoplado ao processador Mettler FP 90 Central Processor no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais.

#### 2.1.2 Medidas de condutância eletrolítica

As medidas de condutividade foram realizadas em um aparelho Digimed DM 31, no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, através de soluções dos complexos de concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  em dimetilformamida (DMF), adquiridos da Vetec<sup>®</sup>.

O solvente puro DMF, apresentou uma constante de célula de  $1,02 \text{ cm}^{-1}$  e condutividade  $\Lambda_M = 4,08 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

Todas as medidas foram efetuadas à temperatura ambiente.

#### 2.1.3 Análise térmica

A análise térmica é uma técnica que possibilita determinar a perda de massa de uma substância que é submetida a um programa controlado de temperatura. O registro obtido é um gráfico que relaciona tempo e/ou temperatura com massa.

As análises térmicas (TG/DTG) foram conduzidas em um equipamento DTG Shimadzu 60 utilizando aproximadamente 10 mg de amostra aquecida em um cadinho de alumina. Os ensaios foram realizados com uma taxa de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , da temperatura ambiente até  $900 \text{ }^\circ\text{C}$ , sob atmosfera de ar sintético (fluxo  $50 \text{ mL min}^{-1}$ ). Os experimentos foram realizados no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais e na Central Analítica da USP.

#### 2.1.4 Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio

As porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinadas no equipamento Perkin-Elmer 2400. Os experimentos foram realizados no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais e na Central Analítica da USP. As fórmulas mínimas dos complexos foi proposta baseando-se nos resultados experimentais e teóricos.

#### 2.1.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um equipamento Perkin Elmer com transformada de Fourier no Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, por meio de pastilhas de KBr prensadas a vácuo, na região de  $4000-400\text{ cm}^{-1}$  e resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$ . Espectros de absorção dos ligantes e dos complexos de Gd(III) e Tb(III) foram registrados.

#### 2.1.6 Espectroscopia por Ressonância Paramagnética de Elétrons (RPE)

As medidas da banda X de RPE em amostras sólidas foram realizadas em um equipamento personalizado operando em aproximadamente 9,38 GHz produzido por Klystron (Varian) com potência de 500 mW e equipado com uma cavidade cilíndrica comercial da Bruker. As medidas foram realizadas em colaboração com o Prof. Dr. Klaus Wilhelm Heinrich Krambrock do Departamento de Física da Universidade Federal de Minas Gerais.

#### 2.1.7 Espectrometria de massas com fonte de ionização eletrospray (ESI-MS)

Os espectros de massas foram obtidos em um espectrômetro de massa LCQ Fleet da ThermoScientific equipado com fonte de ionização eletrospray (LC-ESI-MS) do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais. As amostras foram dissolvidas em metanol e injetadas no aparelho por infusão direta a um fluxo de  $10\text{ }\mu\text{L min}^{-1}$ . Para essa análise utilizou-se faixa de varredura: 200 – 1500 m/z; temperatura do capilar:  $275\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tensão do spray: 25 kV e tensão do capilar: 25 V.

### 2.1.8 Determinação do tamanho dos nanoagregados em solução aquosa

O diâmetro hidrodinâmico médio das partículas e o índice de polidispersão da suspensão foram determinadas através de espalhamento de luz dinâmico (DLS) utilizando analisador ZetaSizer Nano ZS90, Malver Instruments, Reino Unido (ICB, Universidade Federal de Minas Gerais). Foram preparadas soluções aquosas dos complexos de Gd(III) e Tb(III) com uma concentração de 30 mM e as medidas foram efetuadas a temperatura de 25°C e um ângulo fixo de 90°.

### 2.1.9 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Análise Microscopia Eletrônica de Transmissão de coloração negativa (MET) foi realizado no Centro de Microscopia da Universidade Federal de Minas Gerais usando um MET operando a uma voltagem de 120 KV, modelo Tecnai G2-Spirit-FEI-2006. As micrografias foram obtidas a partir das amostras diluídas em água em concentração de 1 mM, depositadas sobre películas de formvar e coradas com aceto de uranila 5%.

### 2.1.10 Estudo de fluorescência para o complexo de Tb(III)

O estudo de fluorescência foi realizado em colaboração do Prof. Dr. Osvaldo Antonio Serra da Universidade de São Paulo (USP). Os espectros de emissão foram obtidos à temperatura do nitrogênio líquido (77 K) em um espectrofluorímetro Horiba Jobin-Yvon SPEX TRIAX 550 Fluorolog 3 (controlado pelo programa computacional DM3000F). As fendas utilizadas com aberturas entre 0,1 e 2,0 mm.

### 2.1.11 Relaxatividade longitudinal e transversal dos complexos Gd(III) e do Gd-DTPA

A fim de avaliar e comparar o desempenho dos tempos relaxométricos, foram preparadas soluções aquosas dos complexos de Gd(III) em quatro concentrações: 0,1, 0,2, 0,5 e 1 mM. As medidas foram realizadas num 0.5 T Bruker minispec baixa resolução espectrómetro de RMN ( $^1\text{H}$  19,9 MHz) equipado com uma sonda de 10 mm de largura gama de temperatura comercial. As medições de  $T_1$  e  $T_2$  foram realizadas utilizando, sequências de pulsos, inversão-recuperação (IR) e Carr-

Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) respectivamente, utilizando  $\pi/2 = 3,1 \mu\text{s}$  e  $\pi = 6,2 \mu\text{s}$ . Para  $T_1$  foi utilizado tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms, e para as medidas de  $T_2$  foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s. Os estudos de relaxação foram realizados na Embrapa Instrumentação Agropecuária de São Carlos-SP em colaboração do Prof. Dr. Luiz Alberto Conalgo.

### 2.1.12 Imagens ponderadas em $T_1$ e $T_2$ para os complexos de Gd(III)

As imagens ponderadas em  $T_1$  e  $T_2$  para os complexos de Gd(III) na forma incorporados em lipossomas foram obtidas na concentração de 1,0 mM, em um aparelho de ressonância de 2 Tesla, 30 centímetros (Oxford Instruments 85310HR) interface com um console Bruker Avance AVIII (Bruker-Biospin, Inc., Billerica, MA, EUA) em execução Paravision 5,0. Para obtenção das imagens ponderadas em  $T_1$  utilizou-se sequência FLASH 3D (TR = 150,0 ms, TE = 3,0 ms, a 3 minutos). Para obtenção das imagens ponderadas em  $T_2$  utilizou-se sequência Rare (TR = 5000 ms, TE = 90 ms, a 4 minutos). As imagens ponderadas em  $T_1$  e  $T_2$  foram obtidas na Universidade de São Carlos-SP em colaboração do Prof. Dr. Fernando Paiva.

### 2.1.13 Concentração Micelar Crítica (CMC)

A concentração micelar crítica para os complexos de Gd(III) e para os ligantes foram investigados utilizando a sonda fluorescente 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno (DPH).

As medições de fluorescência foram realizadas utilizando um Cary Eclipse espectrômetro de fluorescência (Varian) a 25 °C no ICB da Universidade Federal de Roraima.

Para avaliar a dependência da fluorescência do DPH sobre a concentração dos ligantes, alíquotas da solução estoque de DPH em tetrahidrofurano ( $5 \times 10^{-7}$  M) foram adicionadas em soluções de concentrações variadas dos ligantes e dos complexos em solução aquosa e incubadas sob proteção de luz a 25 °C, por 24 horas.



Após 24 horas de incubação, a intensidade de fluorescência foi medida com excitação e comprimentos de onda de emissão de 360 e 428 nm, respectivamente.

#### 2.1.14 Estudo da dependência da relaxatividade com a concentração micelar crítica (CMC)

Para verificar a dependência da relaxatividade com a CMC, foi medida a relaxatividade dos complexos de Gd(III) nas concentrações: 5, 10, 20 e 30 mM. As medidas foram realizadas num 0.5 T Bruker minispec baixa resolução espectrómetro de RMN ( $^1\text{H}$  19,9 MHz) equipado com uma sonda de 10 mm de largura gama de temperatura comercial. As medições de  $T_1$  e  $T_2$  foram realizadas utilizando, sequências de pulsos, inversão-recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) respectivamente, utilizando  $\pi/2 = 3,1 \mu\text{s}$  e  $\pi = 6,2 \mu\text{s}$ . Para  $T_1$  foi utilizado tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms, e para as medidas de  $T_2$  foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s. Os estudos de relaxação foram realizados na Embrapa Instrumentação Agropecuária de São Carlos-SP em colaboração do Prof. Dr. Luiz Alberto Conalgo.

#### 2.1.15 Determinação do tamanho dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas

O diâmetro hidrodinâmico médio das partículas e o índice de polidispersão da suspensão foram determinadas através de espalhamento de luz dinâmico (DLS) utilizando analisador ZetaSizer Nano ZS90, Malver Instruments, Reino Unido (ICB, Universidade Federal de Minas Gerais). Foram preparadas suspensões de sacarose dos complexos de Gd(III) com uma concentração de 1,5 mM e as medidas foram efetuadas a temperatura de 25°C e um ângulo fixo de 90°.

#### 2.1.16 Estudo da relaxatividade dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas

Três concentrações dos complexos incorporadas em lipossomas foram utilizadas para as medidas (0,5, 1,0 e 1,5 mM) em um espectrómetro de RMN ( $^1\text{H}$  19,9 MHz) 0,5 T Bruker minispec de baixa resolução equipado com uma sonda de 10 mm

de largura gama de temperatura comercial. As medições de  $T_1$  e  $T_2$  foram realizadas utilizando, sequências de pulsos, inversão-recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) respectivamente, utilizando  $\pi/2 = 3,1 \mu\text{s}$  e  $\pi = 6,2 \mu\text{s}$ . Para  $T_1$  foi utilizado tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms, e para as medidas de  $T_2$  foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s. Os estudos de relaxação foram realizados na Embrapa Instrumentação Agropecuária de São Carlos-SP em colaboração do Prof. Dr. Luiz Alberto Conalgo.

### 2.1.17 Imagens ponderadas em $T_1$ e $T_2$ para os complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas

As imagens ponderadas em  $T_1$  e  $T_2$  para os complexos de Gd(III) na forma incorporados em lipossomas foram obtidas na concentração de 1,0 mM, em um aparelho de ressonância de 2 Tesla, 30 centímetros (Oxford Instruments 85310HR) interface com um console Bruker Avance AVIII (Bruker-Biospin, Inc., Billerica, MA, EUA) em execução Paravision 5.0. Para obtenção das imagens ponderadas em  $T_1$  utilizou-se sequência FLASH 3D (TR = 60,0 ms, TE = 3,0 ms, a 46 segundos). Para obtenção das imagens ponderadas em  $T_2$  utilizou-se sequência Rare (TR = 5000 ms, TE = 37,5 ms, a 4 minutos). As imagens ponderadas em  $T_1$  e  $T_2$  foram obtidas na Universidade de São Carlos-SP em colaboração do Prof. Dr. Fernando Paiva.

## 2.2 Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes comerciais empregados na realização desse trabalho de grau analítico e foram obtidos das empresas da Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, Merck<sup>®</sup>, ou Vetec<sup>®</sup>. Eles foram utilizados sem prévia purificação.

## 2.3 Síntese dos complexos de alquilmetilglucamidas com térbio e gadolínio

Os compostos inéditos foram sintetizados de acordo com o método proposto por Fernandes et al., (2013) com poucas modificações. Uma mesma rota de síntese foi usada para obtenção de todos os complexos. Exemplificando, uma amostra de

GdCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O (0,16 g, 0,25 mmol) foi dissolvido em 20,0 mL de H<sub>2</sub>O e, em seguida, foi adicionado o ligante apropriado (0,5 mmol) à solução. A solução resultante foi agitada a 60 °C até à evaporação completa do solvente, obtendo-se um filme translúcido. Adicionou-se acetona para lavar o precipitado, que foi filtrado, lavado novamente com acetona e seco a vácuo, produzindo um sólido branco para todos os complexos. A solubilidade dos complexos foi verificado de forma qualitativa em água, dimetilsulfóxido, etanol, metanol, tetracloreto de carbono, éter de petróleo e tolueno.

O sal TbCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O foi utilizado para obtenção dos complexos de térbio.

### **Complexo 1 - [Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl**

M.M: 833,51 g/mol

IV: KBr (cm<sup>-1</sup>): 3350, 2954, 2926, 2870, 2854, 1614, 1494, 1466, 1454, 1414, 1378, 1280, 1138, 1080, 862, 772, 724, 616, 588.

ESI-MS, M<sup>+</sup>: 798,08 m/z

Rendimento: 70 %. Análise elementar, para C<sub>30</sub>H<sub>60</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>GdCl: C, 43,06, H, 7,99 e N 3,57; calculado: C, 43,23, H, 7,26 e N, 3,36.

### **COMPLEXO 2 - [Tb(OCT)<sub>2</sub>]Cl**

M.M: 835,18 g/mol

IV: KBr (cm<sup>-1</sup>): 3350, 2954, 2928, 1614, 1494, 1468, 1454, 1414, 1380, 1280, 1138, 1080, 864, 772, 724, 614.

ESI-MS, M<sup>+</sup>: 799,29 m/z

Rendimento: 80 %. Análise elementar, encontrada para C<sub>30</sub>H<sub>60</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub>TbCl: C, 43,13, H, 7,32 e N, 3,56; calculado: C, 43,14, H, 7,24 e N, 3,35.

### **COMPLEXO 3 - [Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O**

M.M: 979.69 g/mol

IV: KBr (cm<sup>-1</sup>): 3350, 2954, 2924, 2854, 1602, 1498, 1466, 1416, 1282, 1078, 880, 722, 618, 494.

ESI-MS, M<sup>+</sup>: 854,23 m/z

Rendimento: 85 %. Análise elementar, para C<sub>34</sub>H<sub>78</sub>N<sub>2</sub>O<sub>17</sub>GdCl: C, 41,31, H, 8,32 e N, 2,58; calculado: C, 41,68, H, 8,02 e N, 2,86

**COMPLEXO 4 - [Tb(DEC)<sub>2</sub>]Cl.7H<sub>2</sub>O**

M.M: 1017,39 g/mol

IV: KBr (cm<sup>-1</sup>): 3350, 2956, 2924, 2854, 1602, 1498, 1458, 1416, 1284, 1078, 864, 722, 616.

ESI-MS, M<sup>+</sup>: 855,16 m/z

Rendimento: 86 %. Análise elementar, para C<sub>34</sub>H<sub>82</sub>N<sub>2</sub>O<sub>19</sub>TbCl: C, 38,47, H, 8,35 e N, 3,08; calculado: C, 40,14, H, 8,12 e N, 2,75.

**COMPLEXO 5 - [Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O**

M.M: 1035,79 g/mol

IV: KBr (cm<sup>-1</sup>): 3372, 2956, 2926, 2854, 1604, 1500, 1464, 1418, 1412, 1280, 1236, 1078, 866, 720, 668, 616,412.

ESI-MS, M<sup>+</sup>: 910,62 m/z

Rendimento: 88 %. Análise elementar, para C<sub>38</sub>H<sub>86</sub>N<sub>2</sub>O<sub>17</sub>GdCl: C, 44,12, H, 8,36 e N, 2,86; calculado: C, 44,06, H, 8,37 e N, 2,70.

**COMPLEXO 6 - [Tb(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O**

M.M: 1037,47 g/mol

IV: KBr (cm<sup>-1</sup>): 3378, 2956, 2926, 2854, 1606, 1498, 1464, 1418, 1282, 1236, 1078, 866, 720, 668, 616,416.

ESI-MS, M<sup>+</sup>: 911 m/z

Rendimento: 86 %. Análise elementar, para C<sub>38</sub>H<sub>86</sub>N<sub>2</sub>O<sub>17</sub>TbCl: C, 44,65, H, 8,12 e N, 2,69; calculado: C, 43,99; H, 8,36 e N, 2,70.

**2.4 Incorporação dos complexos de gadolínio(III) em lipossomas**

Os lipossomas foram preparados pelo método de desidratação-reidratação (MAYER et al., 1985). Para isso, uma solução de clorofórmio com o lipídio fosfatidilcolina de soja (SPC) e complexos de Gd(III) foi preparada em balão de fundo redondo contendo aproximadamente 10 esferas de vidro de 3mm, com razão molar de 1:10. A solução foi mantida sob vácuo e aquecimento a 60°C em rotavapor para completa evaporação do solvente orgânico e formação do filme lipídico. Após isso, houve hidratação com uma solução de sacarose na concentração final de lipídio de

1,5 mM. Visando reduzir o tamanho das vesículas, as suspensões foram filtradas através de membrana de policarbonato de poro de diâmetro 200 nm (Extruder 10-mL, NorthernLipidInc, Canadá; GE Whatman) por 5 vezes a 25°C (NAYAR et al, 1989). Os lipossomas, bem como seu controle (lipossomas vazios), tiveram sua distribuição de tamanho avaliada pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) usando o equipamento Zetasizer (DLST1 Malvern, Reino Unido) alocado no Laboratório de Sistemas Nano Estruturados, Departamento de Fisiologia e Biofísica, ICB - UFMG.

## 3 CAPÍTULO III: CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS COMPLEXOS DE GADOLÍNIO(III) E TÉRBIO(III)

### 3.1 Introdução

As sínteses dos complexos de Gd(III) e Tb(III) com as alquilmetilglucamidas, octanoil N-metil-glucamida (HOCT), decanoil N-metil-glucamida (HDEC) e dodecanoil N-metil-glucamida (HDOD) foram todas realizadas sob as mesmas condições experimentais. A rota sintética seguida para a complexação dos complexos apresenta vantagens por ser relativamente simples, rápida, realizada em solução aquosa e fornece altos rendimentos.

Os complexos se apresentaram na forma de pós-brancos, higroscópicos, solúveis em solventes polares como água, dimetilsulfóxido, etanol e metanol, bem como, insolúveis em solvente apolares como tetracloreto de carbono, éter e tolueno. Diferentemente dos ligantes que foram insolúveis em todos estes solventes, exceto para o dimetilsulfóxido.

Os complexos anfífilos ao serem avaliados por condutimetria revelaram a presença de um contra-íon na estrutura de todos os complexos. A ressonância paramagnética de elétrons mostrou que os íons lantanóides constituídos na estruturas dos complexos apresentam estados de oxidação trivalente. A análise elementar, análise térmica e espectrometria de massa com fonte de ionização eletrospray revelaram a formação de complexos metal:ligante 1:2.

Determinação do tamanho dos nanoagregados foi realizada para os complexos de Tb(III) e Gd(III) e mostrou que os complexos apresentam tamanhos em escala manométrica em solução aquosa. As medidas dos complexos de Tb(III) e Gd(III) por microscopia eletrônica de transmissão sugerem também a formação de nanoagregados.

Os resultados obtidos na caracterização serão discutidos nesta sessão de modo a elucidar as estruturas químicas propostas para os complexos de Tb(III) e Gd(III) sintetizados.

## 3.2 Caracterização dos complexos de Gd(III) e Tb(III)

### 3.2.1 Temperatura de fusão e/ou decomposição

A Tabela 2 mostra os valores de temperatura referente ao intervalo de fusão e/ou temperatura de decomposição dos ligantes e dos complexos sintetizados.

Tabela 2 - Intervalo de fusão e/ou temperatura de decomposição dos complexos de Gd(III) e Tb(III).

<b>Complexos metálicos</b>	<b>Temperatura de fusão e/ou ponto de decomposição (°C)</b>
HOCT	100
[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	210
[Tb(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	216
HDEC	100
[Tb(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.7H <sub>2</sub> O	230
[Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	227
HDOD	110
[Tb(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	220
[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	230

Analisando a Tabela 2 verifica-se um aumento do ponto de fusão dos complexos quando comparados aos ligantes livres, sugerindo a coordenação dos mesmos aos centros metálicos Gd(III) e Tb(III).

### 3.2.2 Medidas de condutância eletrolítica

Os resultados das medidas de condutância obtidos neste trabalho foram comparados com aqueles estabelecidos por Geary (1971) para vários tipos de eletrólitos nas concentrações de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  em DMF e estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Dados de condutância molar de diversos tipos de eletrólitos para concentração da Ordem de  $1.10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> em DMF.

<b>Tipos de eletrólitos</b>	<b>Condutimetria (ohm<sup>-1</sup> cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>)</b>
Não eletrólito	Abaixo de 65
1 : 1	65 – 90
1 : 2	130 – 170
1 : 3	200 – 240
1 : 4	300

As medidas de condutividade dos complexos foram feitas com objetivo de observar a presença de eletrólitos nos complexos sintetizados em solução. Todas as medidas foram efetuadas em soluções preparadas dos complexos em DMF com concentração de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> a 25 °C. Os resultados das medidas de condutância eletrolítica molar para os complexos Tb(III) e Gd(III) são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Condutância Eletrolítica Molar em solução de DMF para os Complexos de Gd(III) e Tb(III)

<b>Complexos metálicos</b>	<b>Condutimetria (ohm<sup>-1</sup> cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>)</b>
[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	66,05
[Tb(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	61,06
[Tb(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.7H <sub>2</sub> O	66,32
[Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	67,56
[Tb(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	75,60
[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	70,90

Comparando-se os dados apresentados nas Tabelas 3 e 4, pode-se concluir que os complexos de Gd(III) e Tb(III) comportam-se como eletrólitos 1:1 em solução de DMF. Esse resultado indica que os complexos de Gd(III) e Tb(III) possuem uma carga positiva e um contra-íon, Cl<sup>-</sup>, mostrando coerência com a formulação proposta para os compostos.



### 3.2.3 Análise Térmica

A análise termogravimétrica foi efetuada para os ligantes (em anexo) e para os complexos dentro da faixa de temperatura que vai desde a temperatura ambiente até 800 °C sob fluxo de ar atmosférico. A correlação entre as diferentes etapas de decomposição dos complexos com as perdas de peso correspondentes são discutidos em termos das fórmulas propostas para os complexos de Gd(III) e Tb(III).

A Tabela 5, apresenta os valores obtidos relativos às respectivas perdas de massa no processo de decomposição dos complexos com o aumento da temperatura.

Tabela 5 - Dados das perdas de massa em função do aumento da temperatura obtida a partir das curvas termogravimétricas para os complexos de Gd(III) e Tb(III).

Fórmula proposta	Faixa de Temperatura (°C)	Perda de massa (%)	
		Teórico	Experimental
[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	1 <sup>a</sup> . e 2 <sup>a</sup> . Etapa: 30-358	46,358	48,339
	3 <sup>a</sup> . Etapa: 358-747	30,521	31,564
	Resíduo	21,745	20,097
[Tb(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	1 <sup>a</sup> . Etapa: 30-371	46,265	50,916
	2 <sup>a</sup> . Etapa: 371-748	30,460	25,741
	Resíduo	21,902	23,343
[Tb(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.7H <sub>2</sub> O	1 <sup>a</sup> . Etapa: 33-145	12,395	12,100
	2 <sup>a</sup> . Etapa: 145-370	37,980	38,280
	3 <sup>a</sup> , 4 <sup>a</sup> e 5 <sup>a</sup> Etapa: 370-747	30,521	31,691
	Resíduo	17,979	17,929
Gd[(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	1 <sup>a</sup> . Etapa: 30-147	9,532	9,342
	2 <sup>a</sup> . Etapa: 147- 357	40,921	39,876
	3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> Etapa: 357-746	32,885	32,398
	Resíduo	18,501	18,384
[Tb(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	1 <sup>a</sup> . Etapa: 26-142	8,6827	9,725
	2 <sup>a</sup> . Etapa: 142-375	37,244	39,876
	3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> Etapa: 375-747	35,338	28,049
	Resíduo	17,632	22,350
[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	1 <sup>a</sup> . Etapa: 26 -142	8,6967	9,160
	2 <sup>a</sup> . Etapa: 142-375	37,305	46,674
	3 <sup>a</sup> e 4 <sup>a</sup> Etapa: 375-747	35,395	27,827
	Resíduo	17,499	16,339

Na Figura 9 está apresentada a Curva TG/DTG para o complexo [Tb(OCT)<sub>2</sub>]Cl.

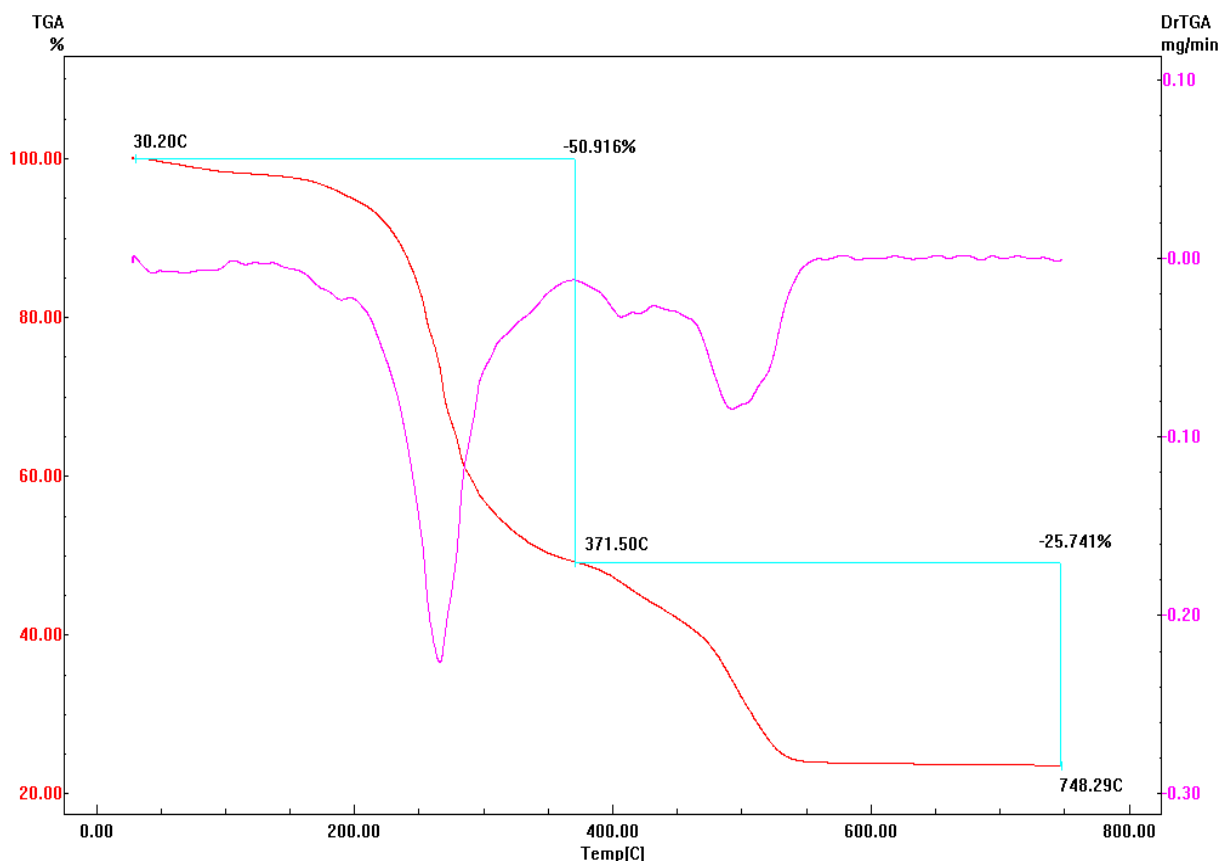
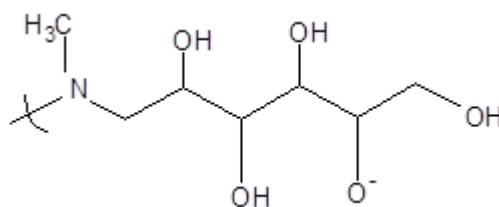


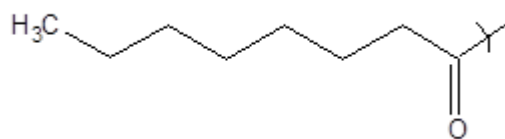
Figura 9 - Curva TG/DTG para o Composto de  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ .

Analisando a curva da Figura 9 e os dados apresentados na Tabela 5, verifica-se que:

- A decomposição térmica para o complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  ocorreu em duas etapas.
- A primeira etapa ocorreu na faixa de temperatura de 30 – 358°C, que corresponde à saída e a decomposição parcial do ligante HOCT,  $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{O}_5\text{N}$ .



- A segunda etapa ocorreu na faixa de temperatura de 358 – 747°C, que corresponde à decomposição térmica da parte restante da molécula do ligante,  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$ .



Na Figura 10 está apresentada a Curva TG/DTG para o complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ .

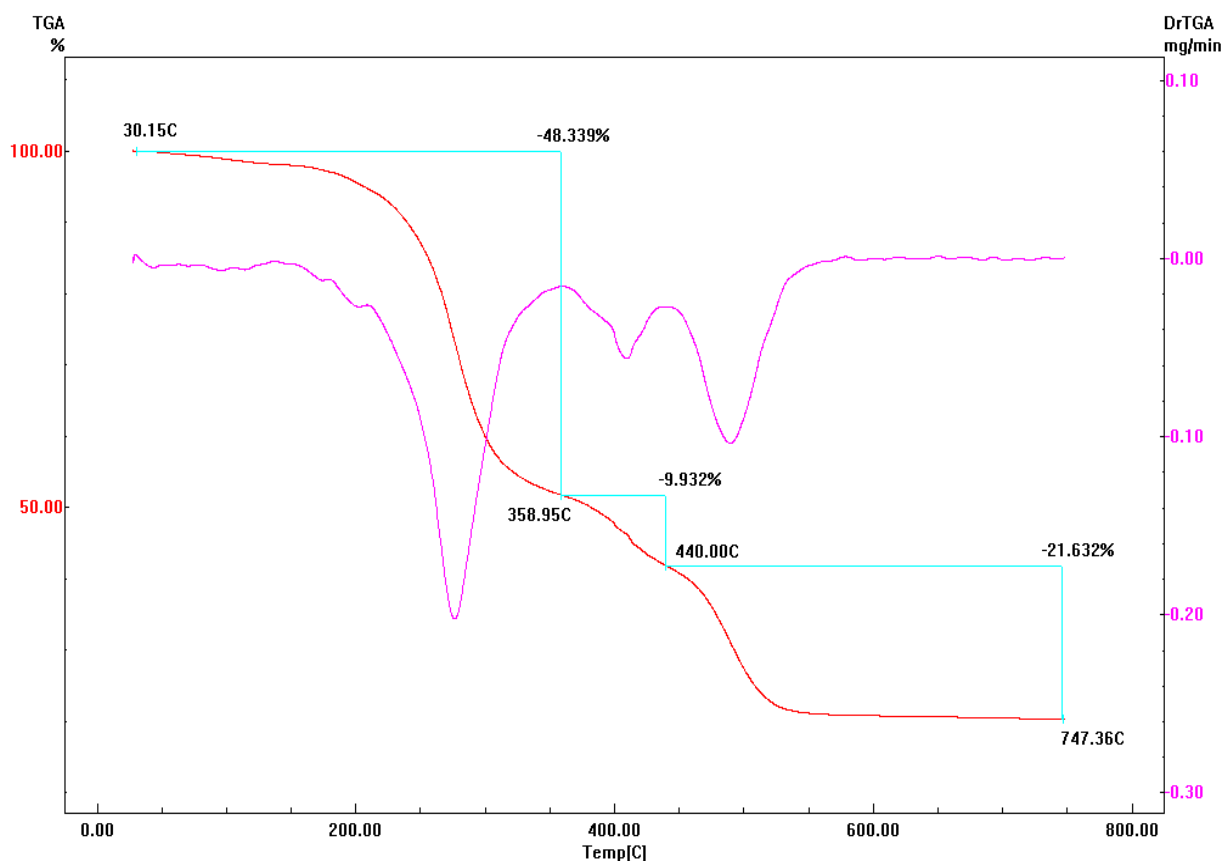


Figura 10 - Curva TG/DTG para o complexo de  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ .

Analisando a curva da Figura 10 e os dados apresentados na Tabela 5, verifica-se que:

- A decomposição térmica para o complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  ocorreu em três etapas.
- A primeira etapa ocorreu na faixa de temperatura de 30 – 371°C, que corresponde à saída e a decomposição parcial do ligante HOCT,  $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{O}_5\text{N}$ .
- A segunda e terceira etapa ocorreram na faixa de temperatura de 371 – 748°C, que corresponde à decomposição térmica da parte restante da molécula do ligante,  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}$ .

Na Figura 11 está apresentada a Curva TG/DTG para o complexo  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}$ .

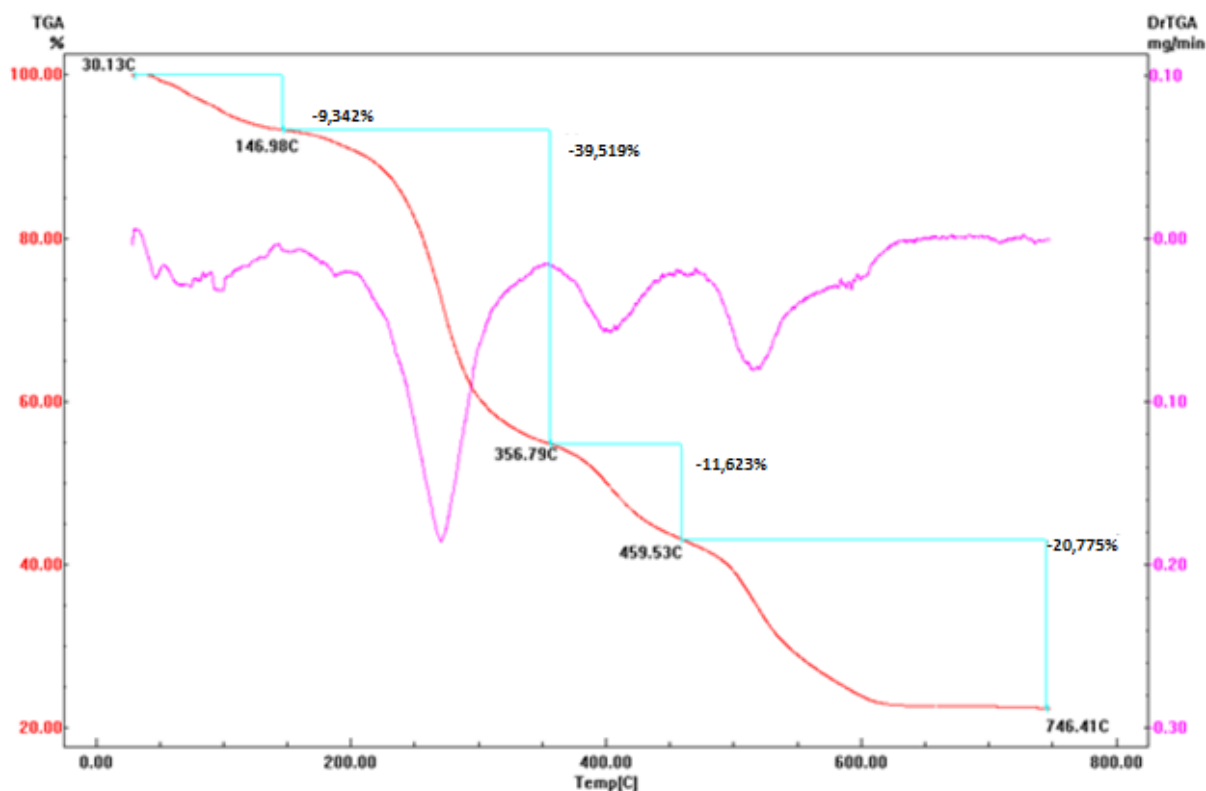
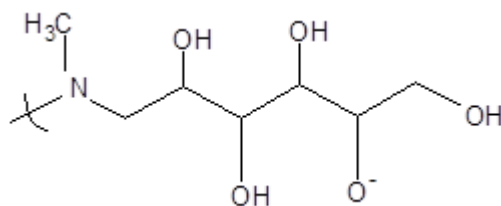


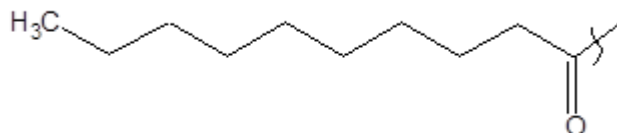
Figura 11 - Curva TG/DTG para o Composto de  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Analisando a curva da Figura 11 e os dados apresentados na Tabela 5, verifica-se que:

- A decomposição térmica para o complexo  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ocorreu em quatro etapas.
- A primeira etapa ocorreu na faixa de temperatura de 30 - 147°C, que corresponde à perda de cinco moléculas de água.
- A segunda etapa ocorreu na faixa de temperatura de 147 - 357°C, que corresponde à saída e a decomposição parcial do ligante HDEC,  $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{O}_5\text{N}$ .



- d) A terceira e quarta ocorreram na faixa de temperatura de 357 - 746°C, que corresponde à decomposição térmica da parte restante da molécula do ligante,  $C_{10}H_{20}O$ .



Na Figura 12 está apresentada a Curva TG/DTG para o complexo  $[Tb(DEC)_2]Cl \cdot 5H_2O$ .

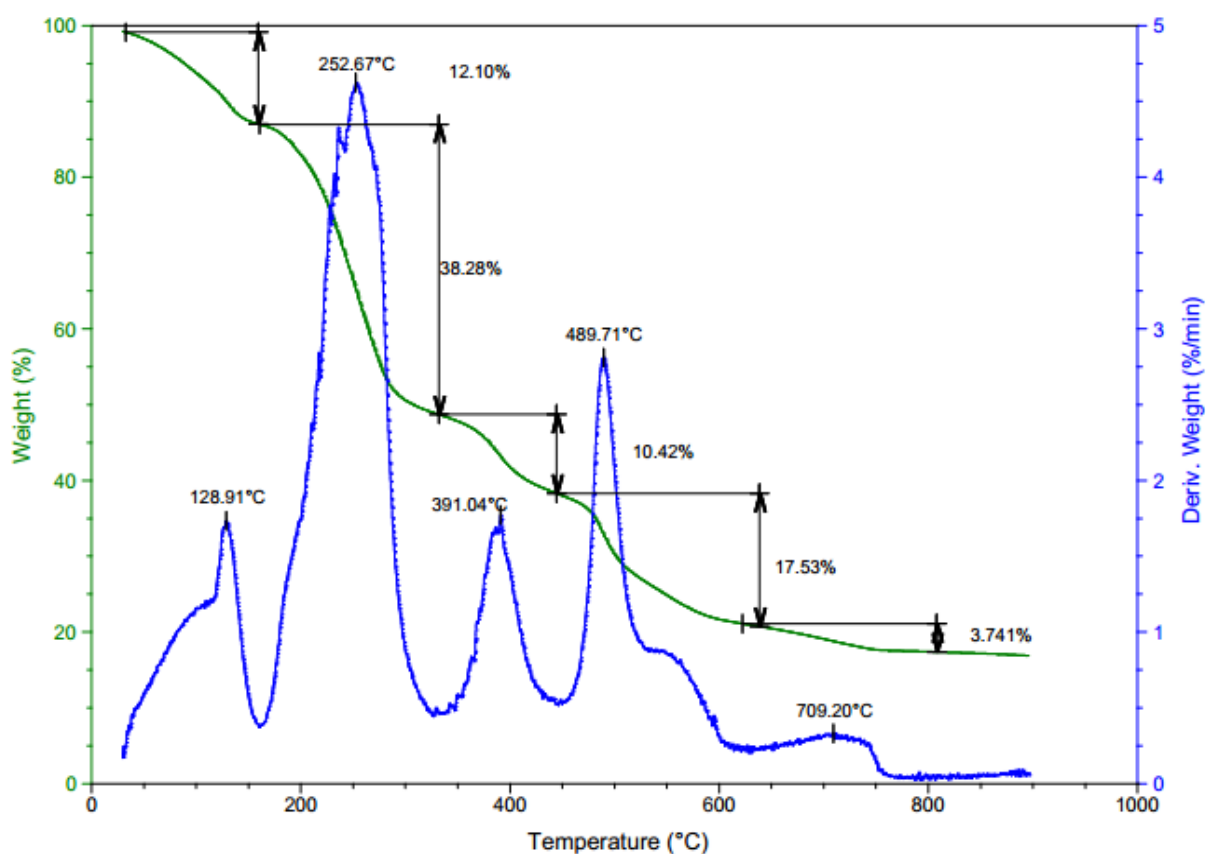


Figura 12 - Curva TG/DTG para o Composto de  $Tb(DEC)_2]Cl \cdot 7H_2O$ .

Analisando a curva da Figura 12 e os dados apresentados na Tabela 5, verifica-se que:

- A decomposição térmica para o complexo  $[Tb(DEC)_2]Cl \cdot 7H_2O$  a decomposição térmica ocorreu em cinco etapas.
- A primeira etapa ocorreu na faixa de temperatura de 33 - 168°C, que corresponde à perda de sete moléculas de água.

- c) A segunda etapa ocorreu na faixa de temperatura de 168 - 321°C, que corresponde à saída e a decomposição parcial do ligante HDEC,  $C_7H_{15}O_5N$ .
- d) A terceira, quarta e quinta etapa ocorreram na faixa de temperatura de 321 - 747°C, que corresponde à decomposição térmica da parte restante da molécula do ligante,  $C_{10}H_{20}O$ .

Na Figura 13 está apresentada a Curva TG/DTG para o complexo  $[Gd(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$ .

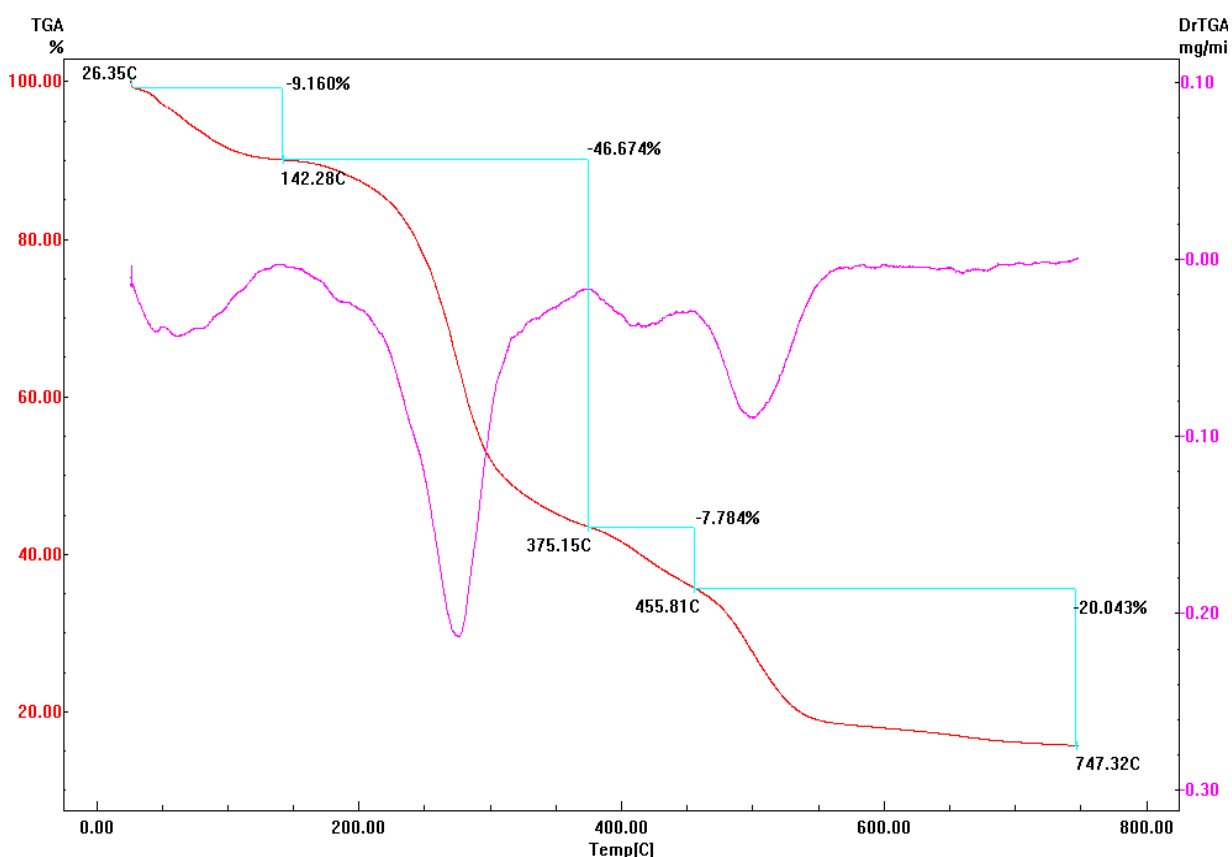
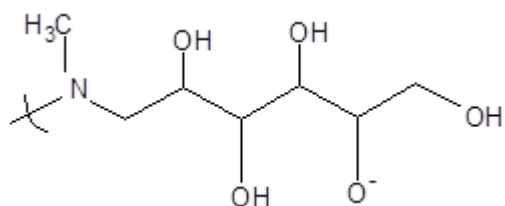


Figura 13 - Curva TG/DTG para o Composto de  $[Gd(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$ .

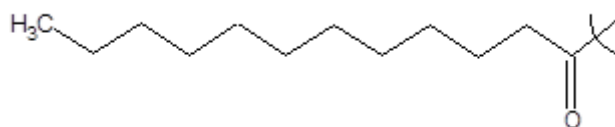
Analisando a curva da Figura 13 e os dados apresentados na Tabela 5, verifica-se que:

- a) A decomposição térmica para o complexo  $[Gd(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$  ocorreu em quatro etapas.
- b) A primeira etapa ocorreu na faixa de temperatura de 26 - 142°C, que corresponde à perda de cinco moléculas de água.

c) A segunda etapa ocorreu na faixa de temperatura de 142 - 375°C, que corresponde à saída e a decomposição parcial do ligante HDOD,  $C_7H_{15}O_5N$ .



d) A terceira e quarta etapa ocorreram na faixa de temperatura de 375 - 747°C, que corresponde à decomposição térmica da parte restante da molécula do ligante,  $C_{12}H_{24}O$ .



Na Figura 14 está apresentada a Curva TG/DTG para o complexo  $[Tb(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$ .

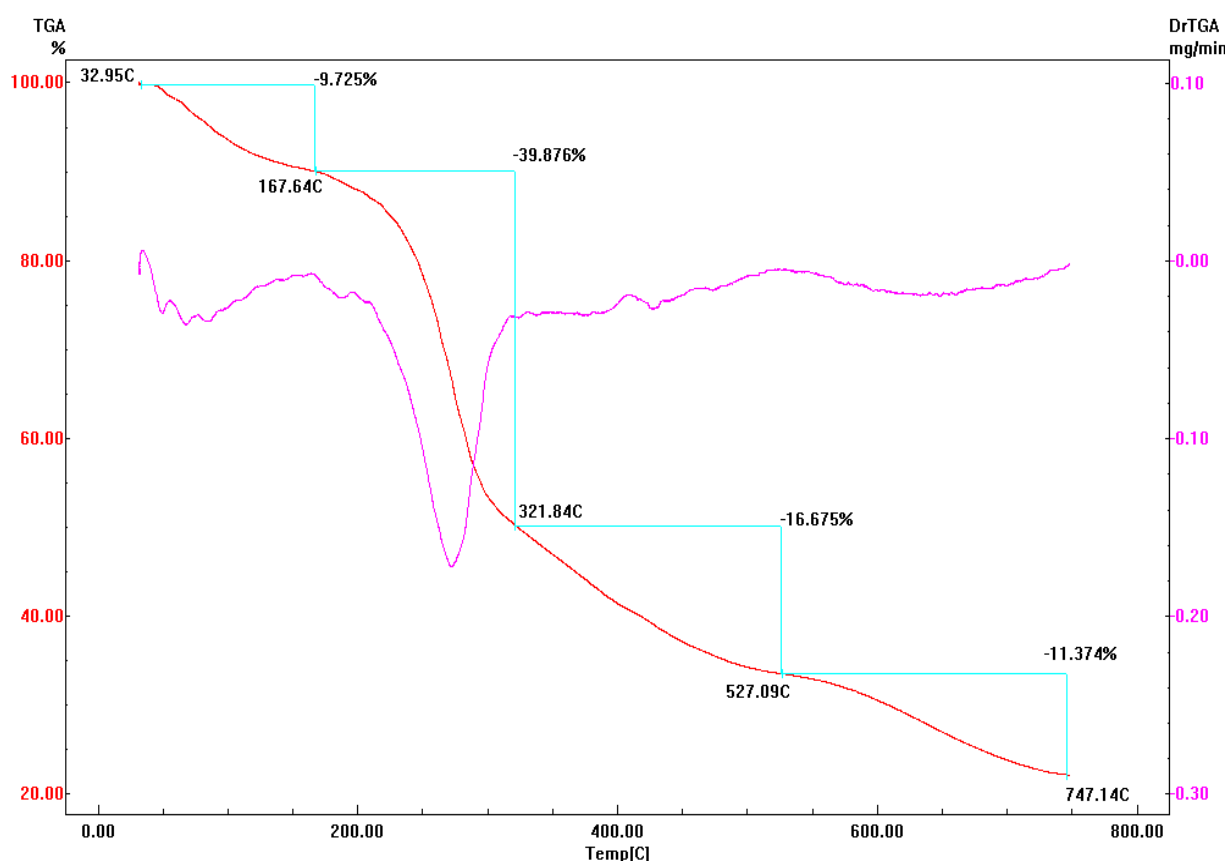
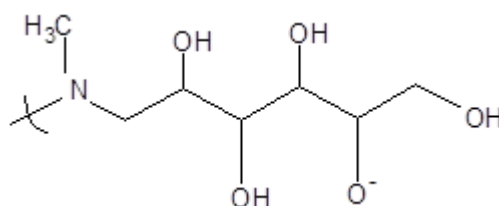


Figura 14 - Curva TG/DTG para o Composto de  $[Tb(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$ .

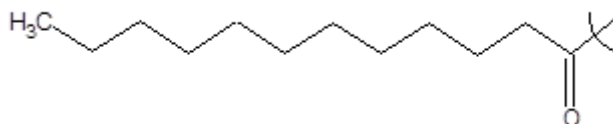


Analisando a curva da Figura 14 e os dados apresentados na Tabela 5, verifica-se que:

- A decomposição térmica para o complexo  $[Tb(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$  ocorreu em quatro etapas.
- A primeira etapa ocorreu na faixa de temperatura de 32 - 167°C, que corresponde à perda de cinco moléculas de água.
- A segunda etapa ocorreu na faixa de temperatura de 167 - 321°C, que corresponde à saída e a decomposição parcial do ligante HDOD,  $C_7H_{15}O_5N$ .



- A terceira e quarta etapa ocorreram na faixa de temperatura de 321 - 747°C, que corresponde à decomposição térmica da parte restante da molécula do ligante,  $C_{12}H_{24}O$ .



As curvas TG/DTG dos complexos de Gd(III) e Tb(III) apresentados nas Figuras 9 a 14, mostram que os complexos são termodinamicamente estáveis e que começam a decompor na faixa de 320-371°C, após perda de massa relativa as moléculas de água. Não foi possível observar uma tendência que indicasse um aumento de estabilidade dos complexos estudados com relação a variação da cadeia carbônica do ligante ou do íon metálico.

As curvas termogravimétricas obtidas para os complexos de Gd(III) e Tb(III), provavelmente, geraram seus respectivos resíduos óxidos,  $Gd_2O_3$  e  $Tb_2O_3$ , o mesmo constatado por Gigante et al.(2012) e Anoop et al.(2012) ao estudarem as propriedades térmicas de alguns lantanóides.

### 3.2.4 Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio

A análise elementar de CHN é útil na proposição da fórmula mínima do produto obtido através de uma reação química. A estequiometria da reação e fórmula mínima dos complexos foram sugeridas, tomando-se como base os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidos nessas análises.

Na Tabela 6, encontram-se os resultados da análise elementar (carbono, hidrogênio e nitrogênio) para os complexos de Gd(III) e Tb(III).

Tabela 6 – Dados analíticos para os complexos de Gd(III) e Tb(III).

Fórmula proposta	C (%)		H (%)		N (%)	
	Teor.	Exp.	Teor.	Exp.	Teor.	Exp.
[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	43,23	43,06	7,26	7,99	3,36	3,57
[Tb(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	43,14	43,13	7,24	7,32	3,35	3,56
[Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	41,68	41,31	8,02	8,32	2,86	2,58
[Tb(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.7H <sub>2</sub> O	40,14	38,47	8,12	8,35	2,75	3,08
[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	44,06	44,12	8,37	8,36	2,70	2,86
[Tb(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	43,99	44,65	8,36	8,12	2,70	2,69

A análise elementar está de acordo com as fórmulas propostas, em que tanto o Gd(III) como o Tb(III) estão ligados a 2 ligantes anfifílicos e 1 íon cloreto e sugere a pureza dos complexos obtidos. Os resultados estão de acordo com os resultados obtidos nas análises térmicas.

### 3.2.5 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Através dos espectros na região do infravermelho é possível obter informações valiosas acerca da coordenação metal-ligantes, através das alterações nas frequências de absorção das bandas, tais como deslocamentos, alargamentos, desdobramentos, ou ainda o surgimento de novas bandas.

Espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes foram utilizados para comparações com os espectros dos complexos de Gd(III) e Tb(III) como mostram as Figuras 15 a 23.

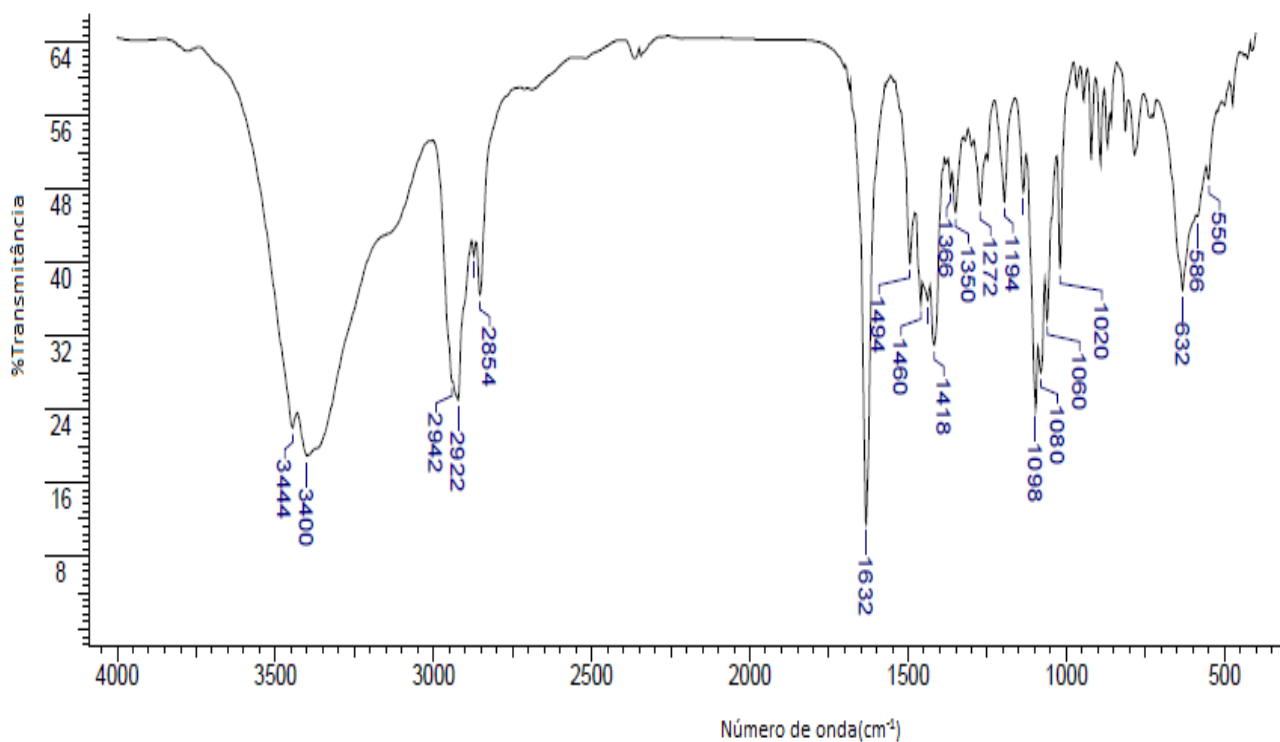


Figura 15 – Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante HOCT em pastilha de KBr.

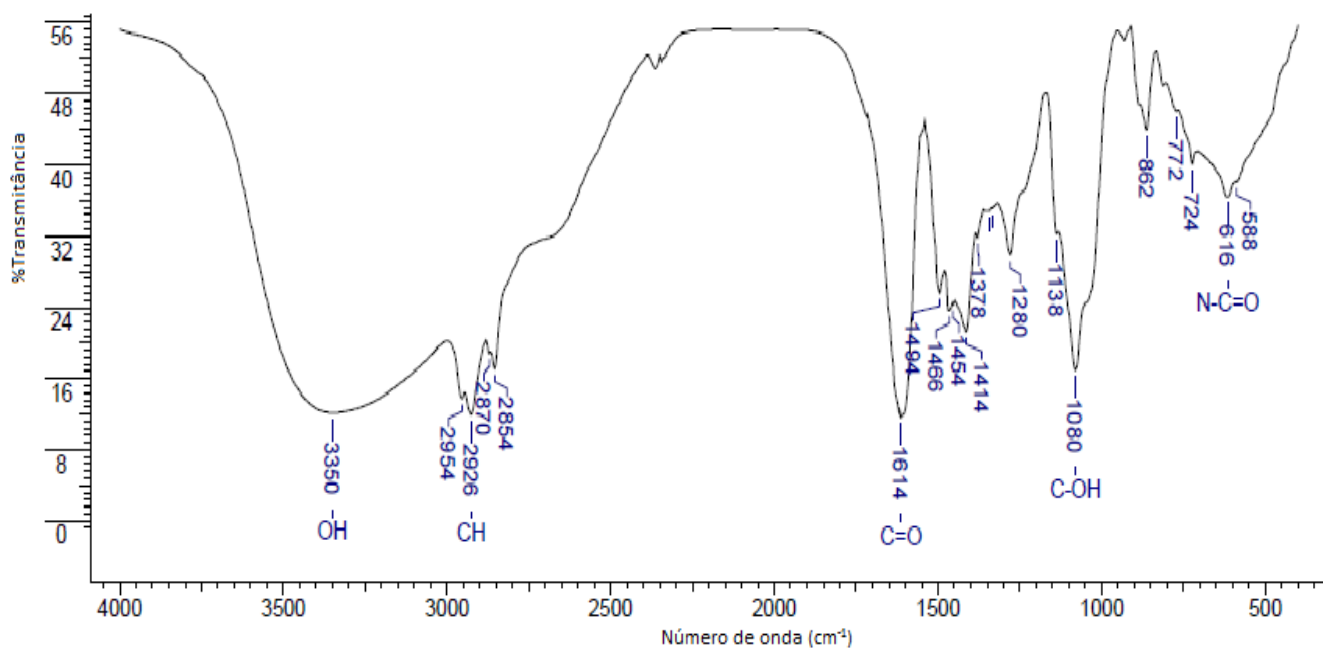


Figura 16 – Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo de [Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl em pastilha de KBr.

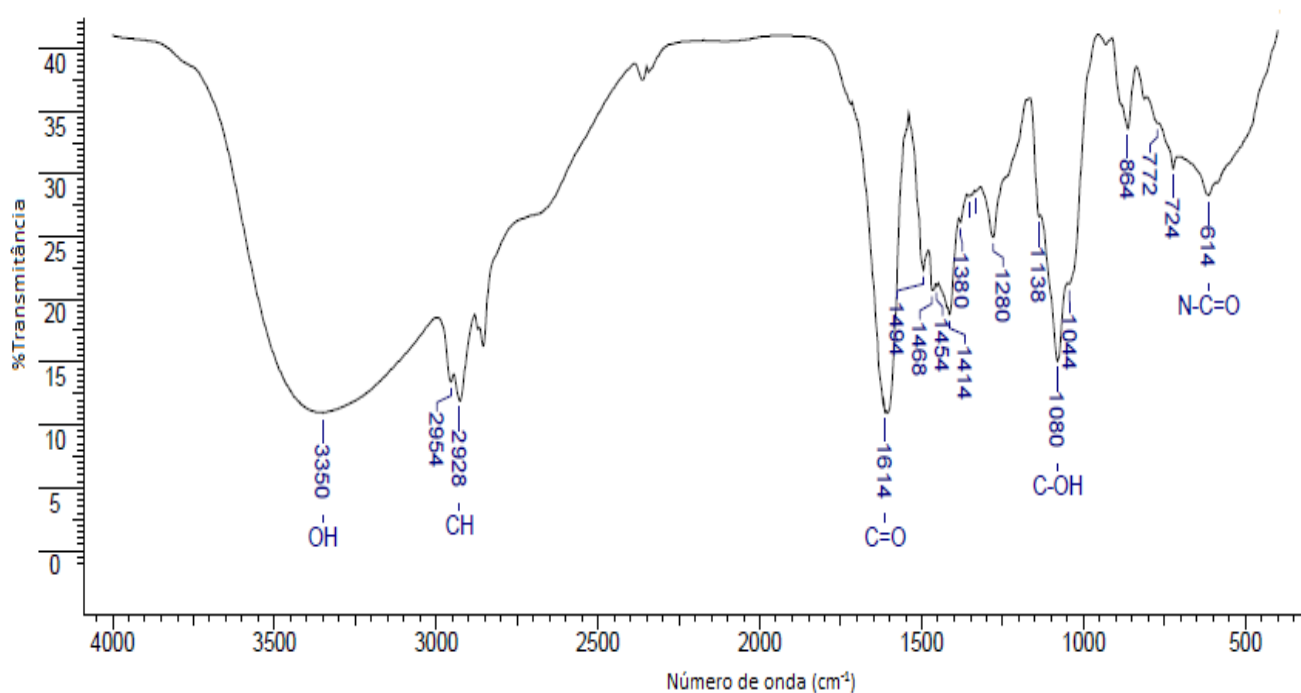


Figura 17 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo Tb[(OCT)<sub>2</sub>]Cl em pastilha de KBr.

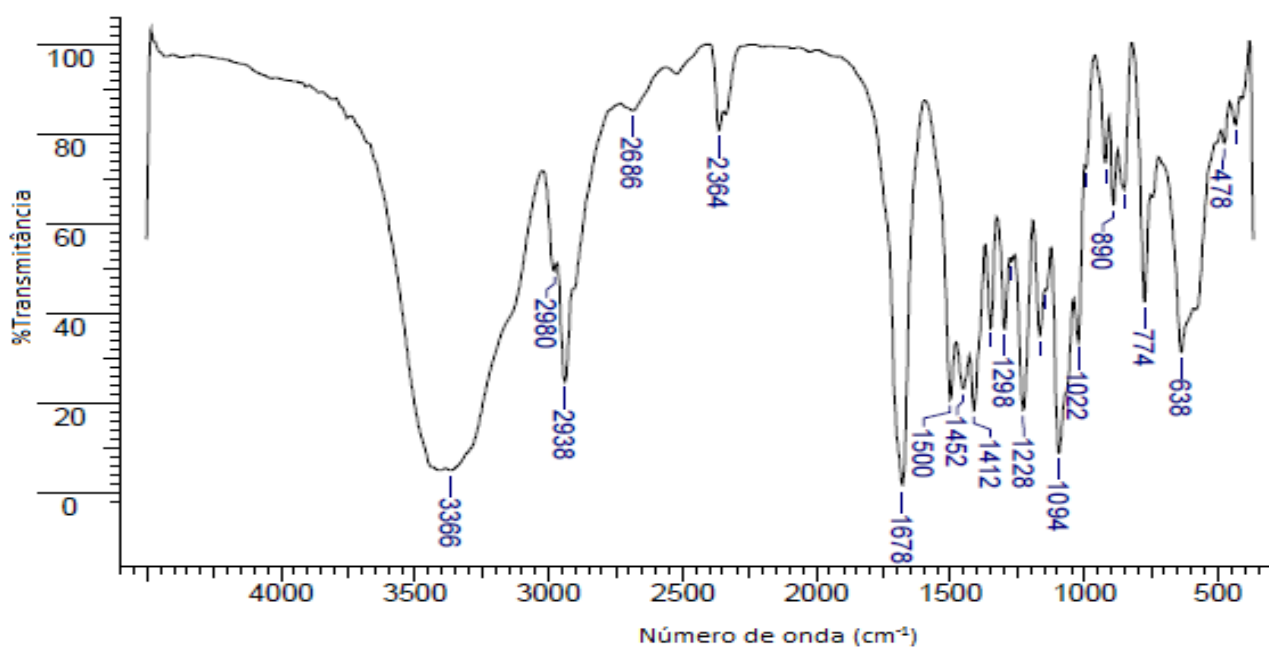


Figura 18 – Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante DEC em pastilha de KBr.

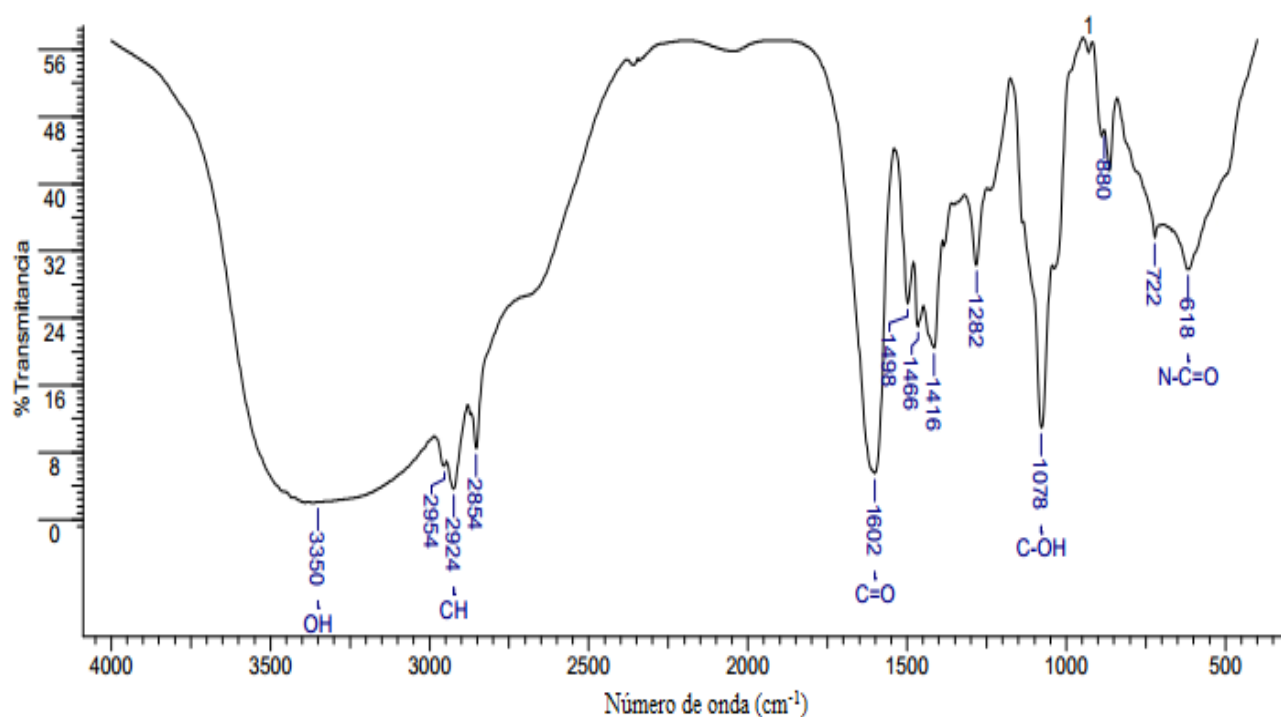


Figura 19 – Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo de [Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl·5H<sub>2</sub>O em pastilha de KBr.

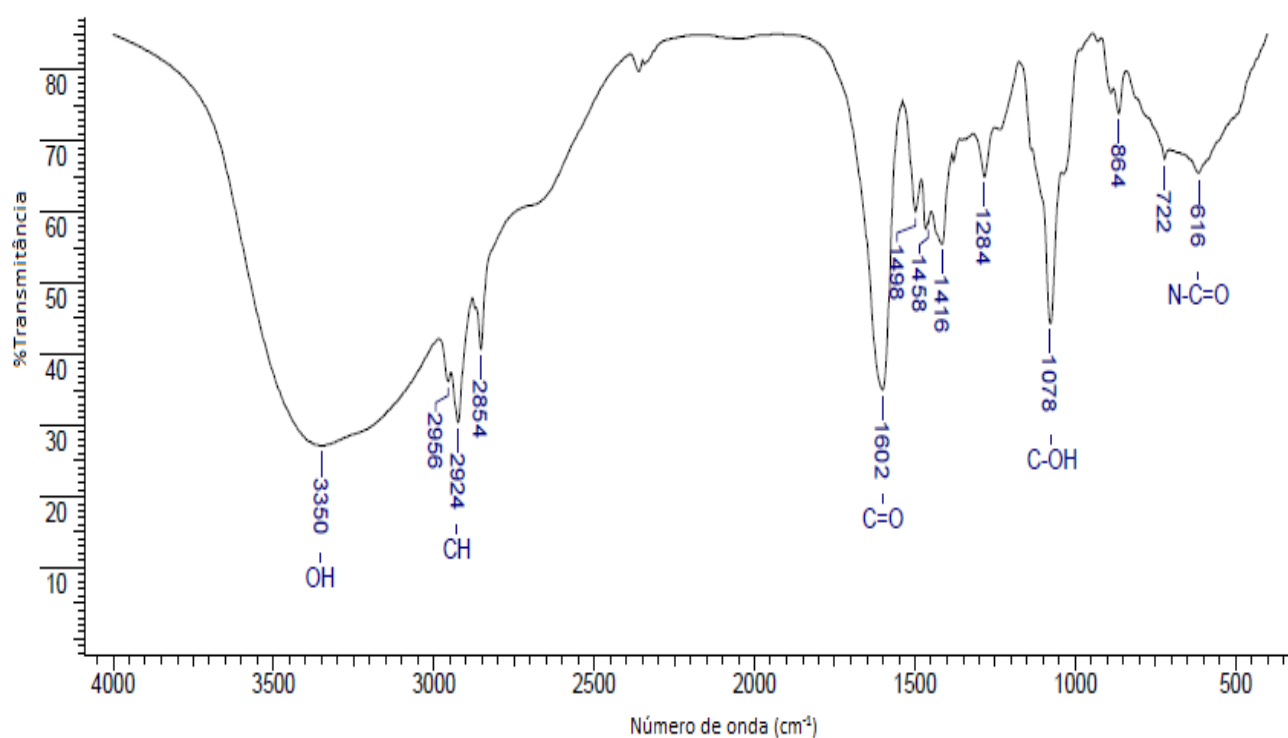


Figura 20 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo [Tb(DEC)<sub>2</sub>]Cl·7H<sub>2</sub>O em pastilha de KBr.

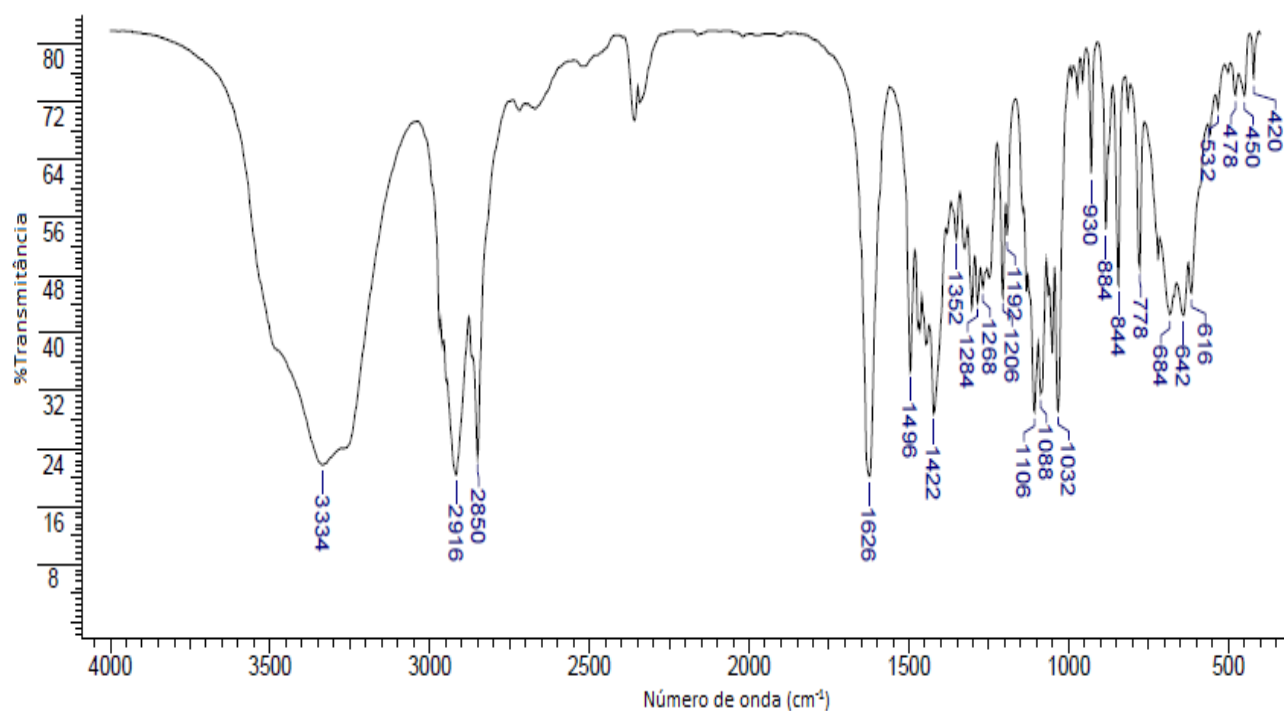


Figura 21 – Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante DOD em pastilha de KBr.

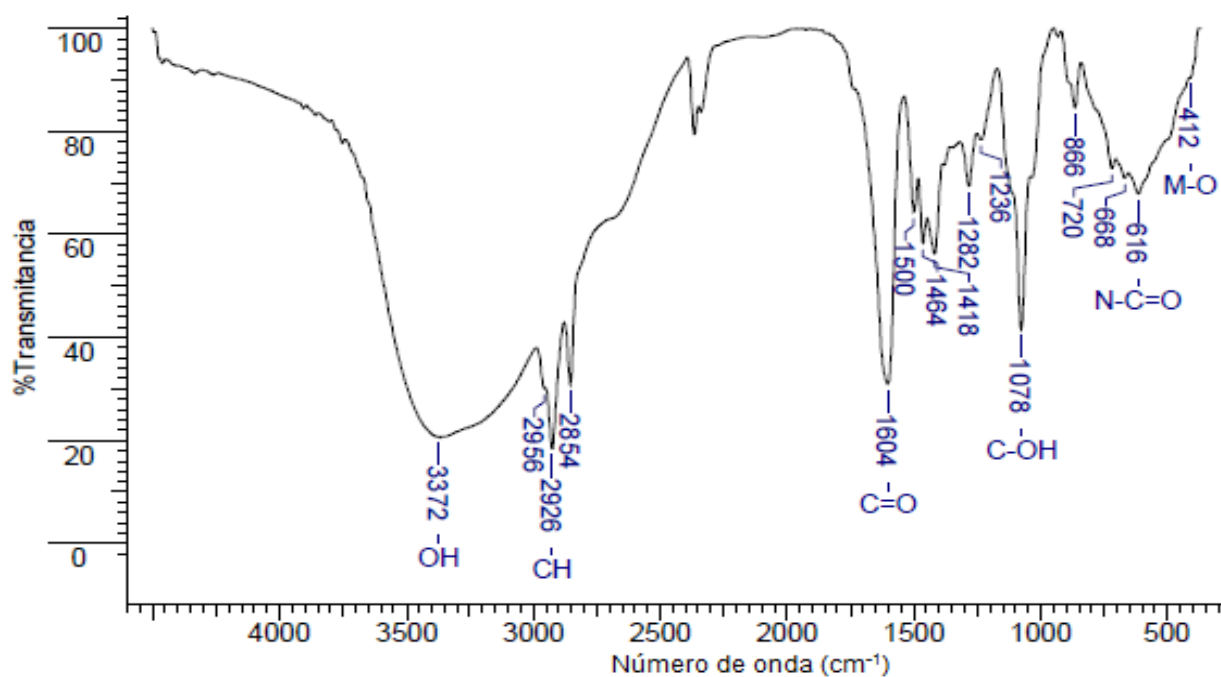


Figura 22 – Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho do complexo [Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl·5H<sub>2</sub>O em pastilha de KBr.

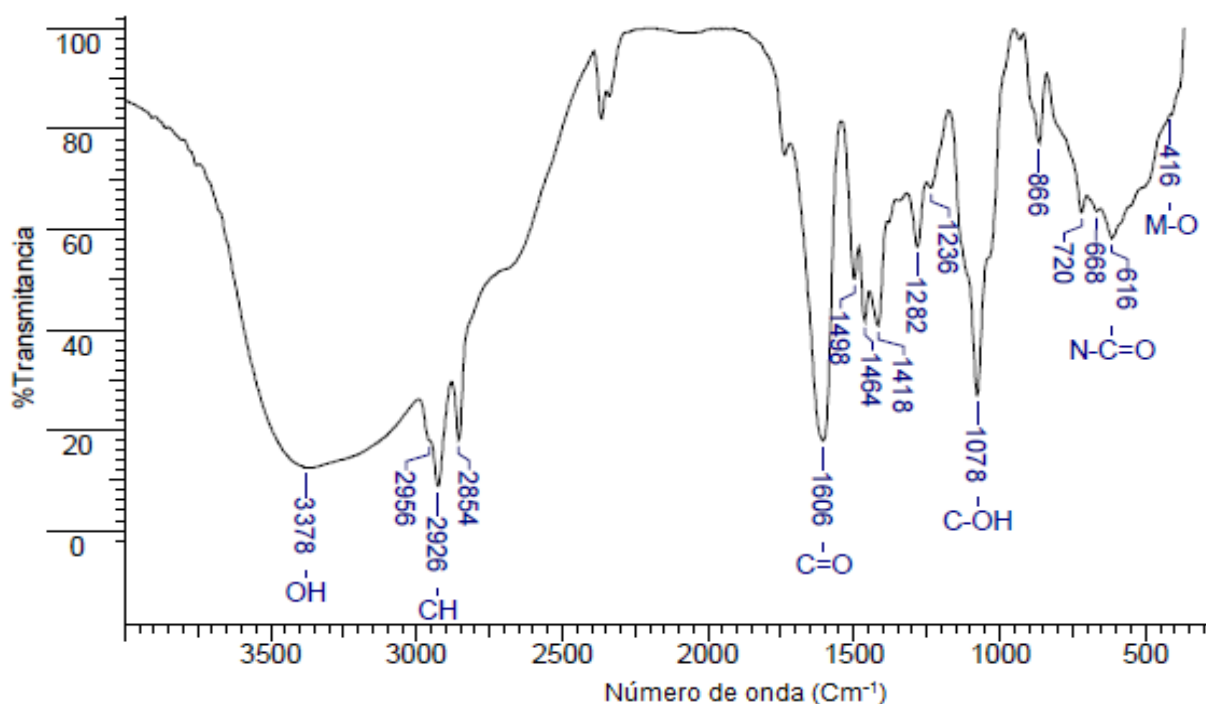


Figura 23 - Espectro vibracional de absorção na região do infravermelho do  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em pastilha de KBr.

A Tabela 7 apresenta algumas das frequências mais importantes de vibrações observadas nos espectros dos complexos metálicos e dos ligantes.

Tabela 7 – Algumas Frequências de vibrações ( $\text{cm}^{-1}$ ) observadas nos espectros dos complexos de Gd(III) e Tb(III) e dos ligantes na região do infravermelho.

Complexos/ligantes	$\nu_{\text{OH}}$	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$	$\nu_{\text{C=O}}$	$\nu_{\text{C-OH}}$	$\delta_{\text{N-C=O}}$
HOCT	3400	2942	2922	2854	1632	1098	632
$[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$	3350	2954	2926	2854	1614	1080	616
$[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$	3350	2954	2928	2854	1614	1080	614
HDEC	3366	2980	2938	-	1678	1094	638
$[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3350	2954	2924	2854	1602	1078	618
$[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3350	2956	2924	2854	1602	1078	616
HDOD	3334	2932	2916	2850	1626	1088	642
$[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3372	2956	2926	2854	1604	1078	616
$[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3378	2956	2926	2854	1606	1078	616

$\nu_{\text{as}}$ \_Estiramento assimétrico,  $\nu_{\text{s}}$ \_Estiramento simétrico,  $\delta$ \_Deformação angular no plano.

Analisando os espectros de absorção na região do infravermelho apresentados nas Figuras 15 a 23, verifica-se que:

- a) Houve mudanças nos picos de absorção dos complexos de Gd(III) e Tb(III) quando comparadas aos ligantes livre.
- b) Os espectros de infravermelho dos complexos de Gd(III) e Tb(III) são muito semelhantes, entre si, sugerindo que os ligantes se coordena de forma semelhante aos respectivos centros metálicos.

Inicialmente observa-se o alargamento dos estiramentos assimétricos e simétricos  $\nu\text{OH}$  dos complexos na região de  $3334\text{-}3380\text{ cm}^{-1}$  quando comparados aos respectivos estiramentos dos ligantes. Esse alargamento pode ser atribuído às hidroxilas presentes nos ligantes ou moléculas de água presentes nos complexos (no caso daqueles que apresentam água na sua fórmula) ou provenientes da higroscopicidade dos mesmos (SONG & GAO, 2013).

Verificou-se ainda que o estiramento do grupo  $\nu\text{C=O}$  no ligante livre, foi deslocado por volta de  $18 - 66\text{ cm}^{-1}$  quando coordenado aos centros metálicos, sugerindo muito fortemente a coordenação dos ligantes aos centros metálicos Gd(III) e Tb(III) (SONG et al., 2013; ANOOP et al., 2012).

Descolamentos para regiões de menores frequências do estiramento  $\nu\text{C-OH}$  nos espectros vibracional dos complexos metálicos em comparação com os ligantes livres são observados, indicando a complexação metal ligante (CAIRES et al., 2013).

Outra mudança ocorreu nas regiões de  $638\text{ cm}^{-1}$  para  $616\text{ cm}^{-1}$  para os complexos de Gd(III) e Tb(III) que refere-se ao grupo  $\text{N-C=O}$  que sugere que o grupo amida do ligante está coordenado ao metal (NAKAMURA & MIYAKE, 1995; SAKAMOTO, 1987).

Mudanças significativas ocorreram nas regiões de  $600\text{ a }400\text{ cm}^{-1}$  para os complexos de Gd(III) e Tb(III) em relação ao ligante livre que devem ser atribuídas as ligações metal-nitrogênio(M-N) e metal-oxigênio(M-O) (PUI et al., 2011; HUSSEIN et al., 2013).

Diante dessas evidências, pode-se sugerir que os ligantes alquilmetilglucamidas coordenam-se ao metal lantanóides na forma tridentada pela participação dos átomos de O e N.



### 3.2.6 Espectrometria de massas com fonte de ionização eletrospray dos complexos de Gd(III) e Tb(III)

A espectrometria de massas com fonte de ionização eletrospray (ESI-MS) foi empregada para a caracterização molecular do produto formado a partir da reação do  $\text{GdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{TbCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  com os ligantes alquilmetilglucamidas.

Realizou-se experimentos para a determinação da massa molecular dos complexos de Gd(III) e Tb(III) sintetizados em solução metanólica pela técnica ESI-MS. Os espectros obtidos no modo negativo não apresentaram sinais significativos. Os resultados obtidos no modo positivo por ESI-MS para a determinação da massa molecular dos complexos de Gd(III) e Tb(III) estão apresentados a seguir:

#### Complexo $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$

A Figura 24 mostra o espectros ESI-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  no modo positivo(+). A Tabela 8 apresenta a razão massa/carga ( $m/z$ ) das principais espécies observadas no espectro e a respectiva fórmula molecular proposta.

Tabela 8 – Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em metanol.

<b>Espécies catiônicas</b>	<b>m/z</b>
$[\text{OCT} + \text{H}]^+$	322,13
$[\text{Gd}(\text{OCT})_2]^+$	798,08
$[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl} - e^-$	833,88
$[\text{Gd}(\text{OCT})_3]^+$	1118,91

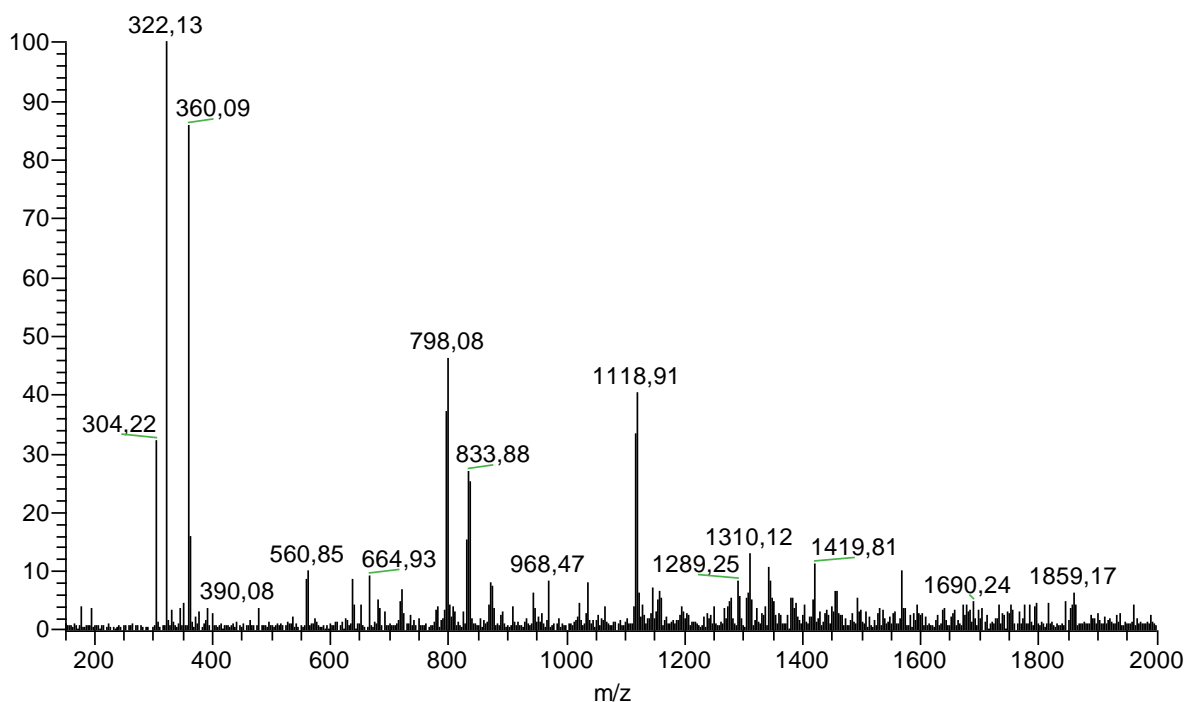
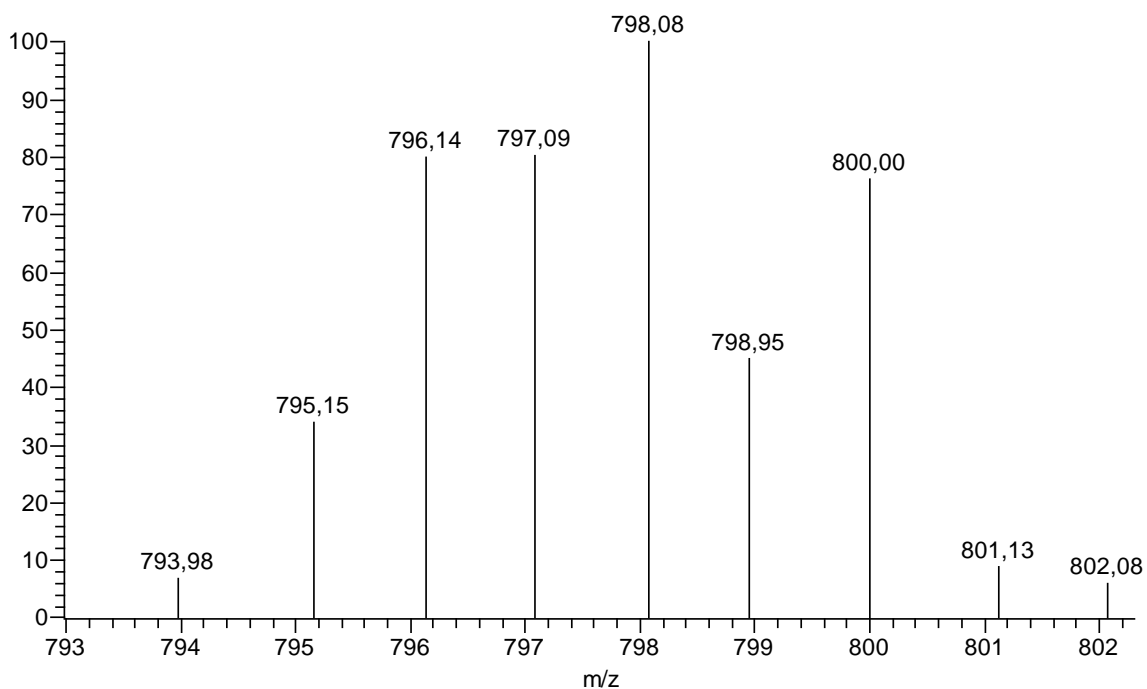


Figura 24 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em metanol.

O sinal encontrado no espectro do complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  (Figura 24) em  $m/z$  798,08, corresponde ao complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]^+$  1:2. O sinal em  $m/z$  1118,91 corresponde ao complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_3]^+$  1:3. Este último não deve ser uma espécie importante no sólido obtido de acordo com as outras análises realizadas nesse trabalho.

Através da expansão do espectro na região do pico  $m/z$  798,08, verificou-se que a espécie proposta está de acordo com a distribuição isotópica para espécie  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]^+$ , formada pela perda do contra-íon cloreto do complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , Figura 25.

a)



b)

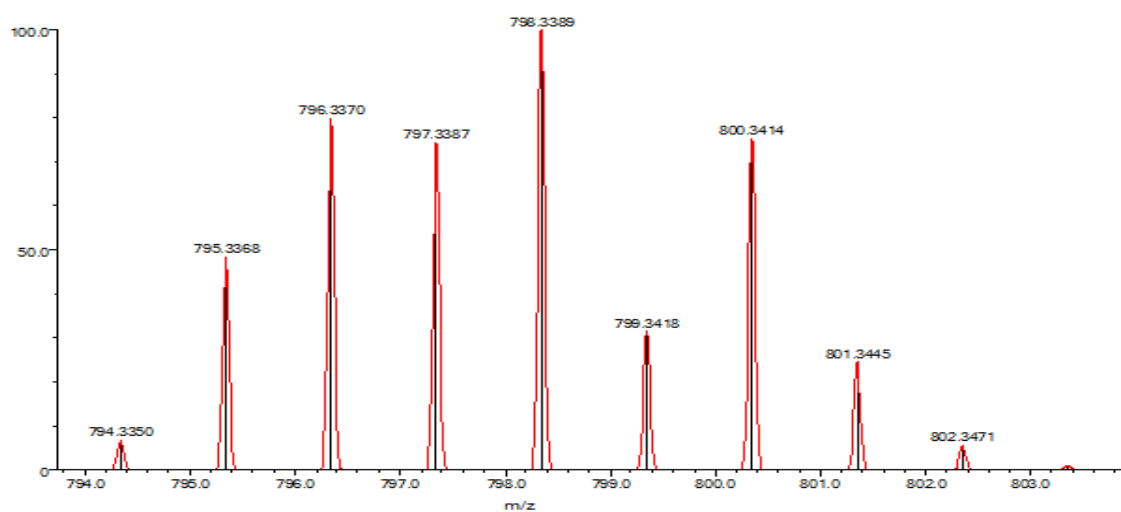


Figura 25 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico 798,08, atribuído à espécie  $[Gd(OCT)_2]^+$  em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada (b).

Estrutura proposta da espécie  $[Gd(OCT)_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[Gd(OCT)_2]Cl$  é apresentada na Figura 26.

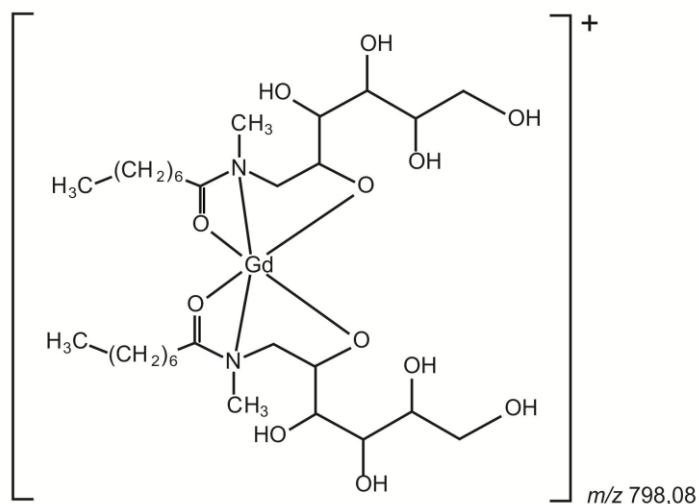


Figura 26 – Estrutura proposta para a espécie  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ .

### Complexo $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$

A Figura 27 mostra o espectro ESI-MS do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  no modo positivo(+). A Tabela 9 apresenta a razão massa/carga ( $m/z$ ) das principais espécies observadas no espectro e a respectiva fórmula molecular proposta.

Tabela 9 - Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em metanol.

Espécies catiônicas	$m/z$
$[\text{OCT} + \text{H}]^+$	322,36
$[\text{Tb}(\text{OCT})_2]^+$	799,29
$[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl} - \text{e}^-$	835,03
$[\text{Tb}(\text{OCT})_3]^+$	1119,93

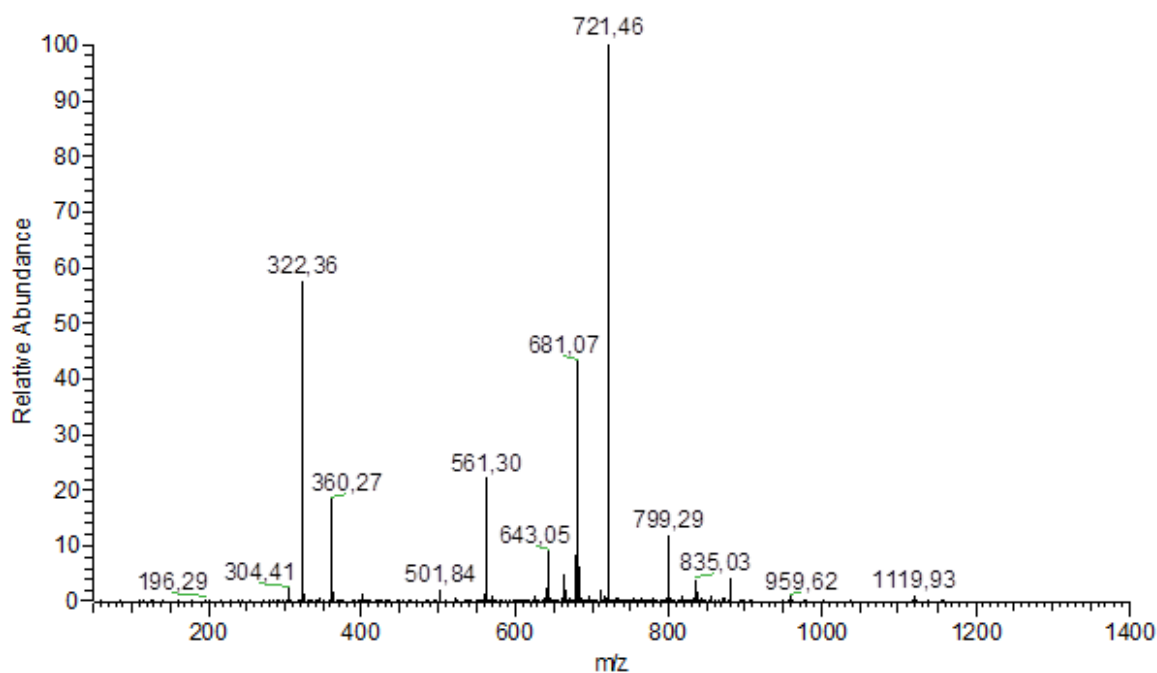


Figura 27 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em metanol.

O sinal encontrado no espectro do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  (Figura 27), m/z 799,29, corresponde ao complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]^+$  1:2. O íon m/z 1119,93 corresponde a espécie  $[\text{Tb}(\text{OCT})_3]^+$  1:3 presente em pequenas proporções.

Através da expansão do espectro na região do pico m/z 799,29, vimos que o mesmo está de acordo com a distribuição isotópica para espécie  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]^+$ , formada pela perda do contra-íon cloreto do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , Figura 28.

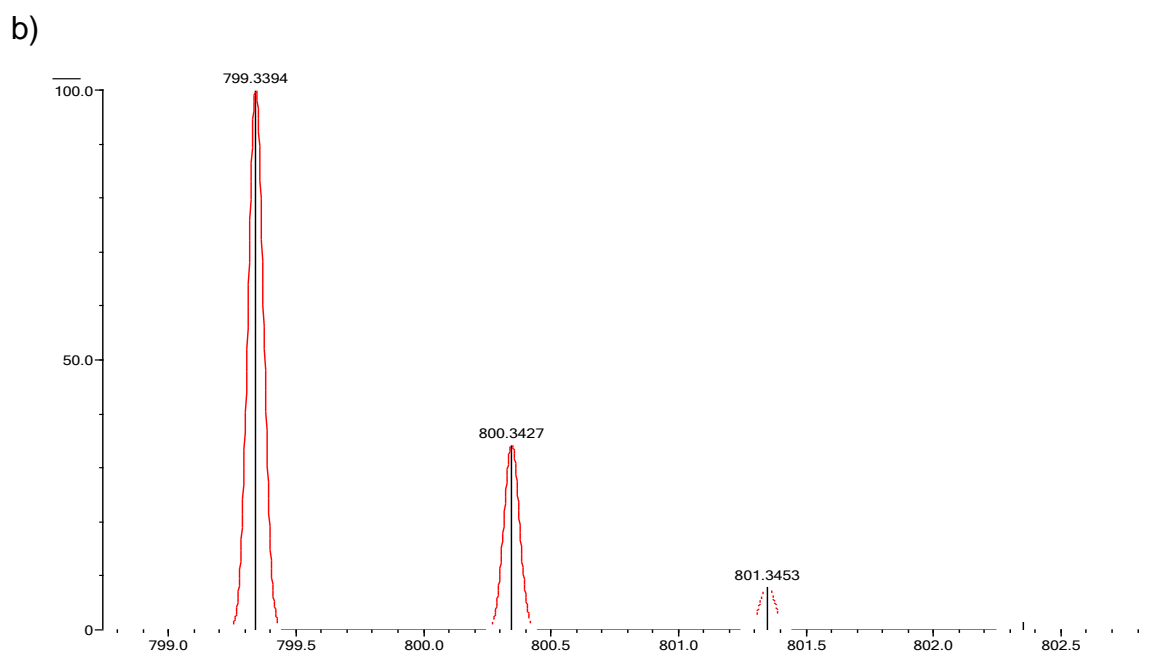
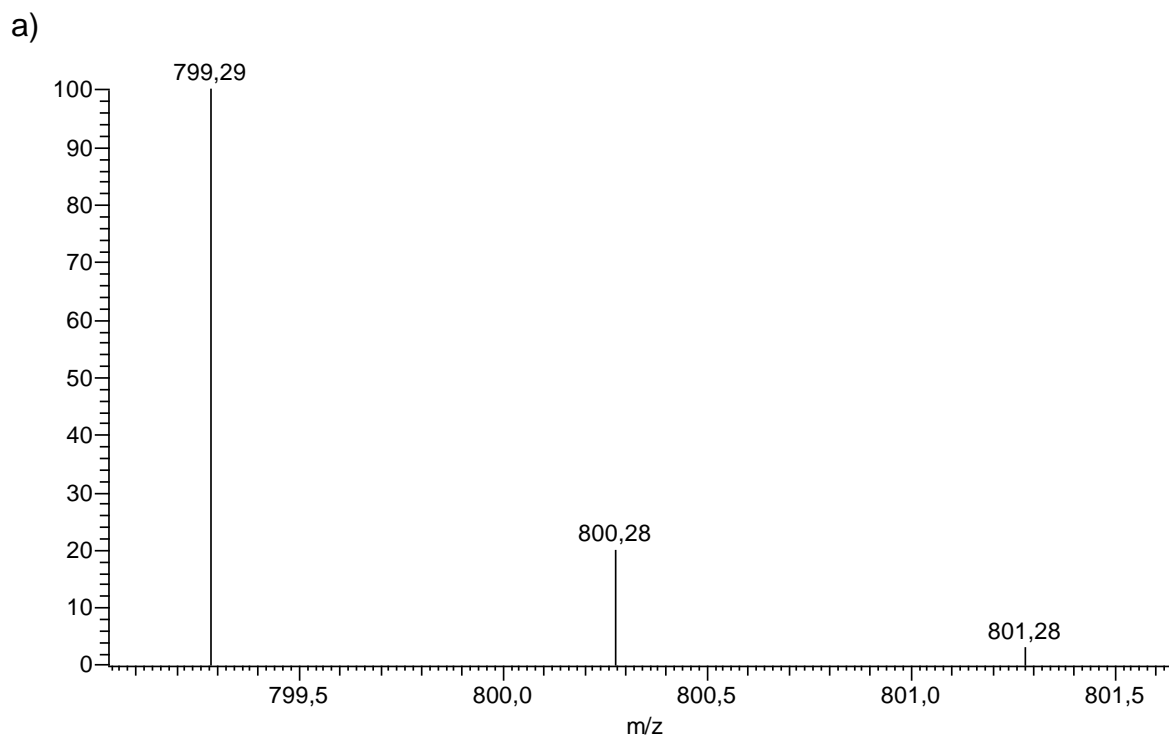


Figura 28 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico em 799,29, atribuído à espécie  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]^+$  em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada.

Estrutura proposta da espécie  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  é apresentada na Figura 29.

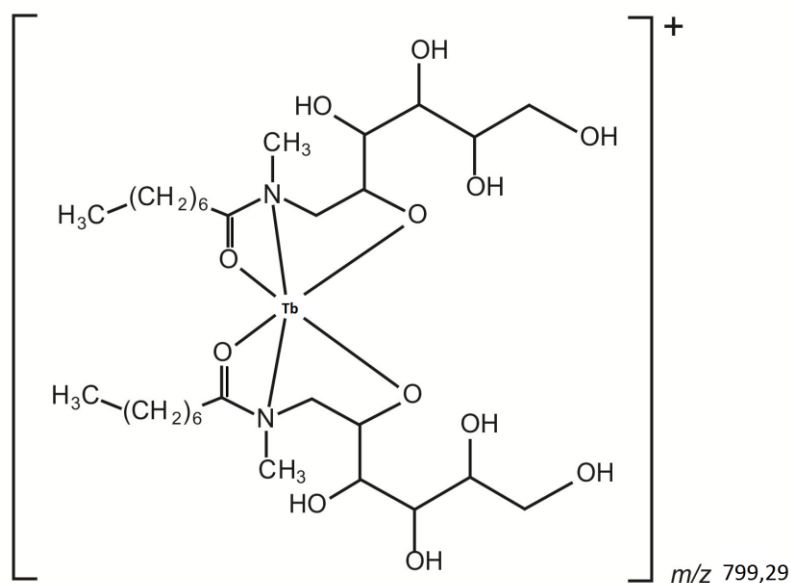


Figura 29 – Estrutura proposta para a espécie  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ .

### Complexo $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$

A Figura 30 mostra o espectro ESI-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  no modo positivo(+). A Tabela 10 apresenta a razão carga/massa ( $m/z$ ) das principais espécies observadas no espectro e a respectiva fórmula molecular proposta.

Tabela 10 - Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em metanol.

Espécies catiônicas	$m/z$
$[\text{Gd}(\text{DEC})_2]^+$	854,23
$[\text{Gd}(\text{DEC})_2]^+ + \text{H}_2\text{O}$	872,73
$[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} - e^-$	889,97

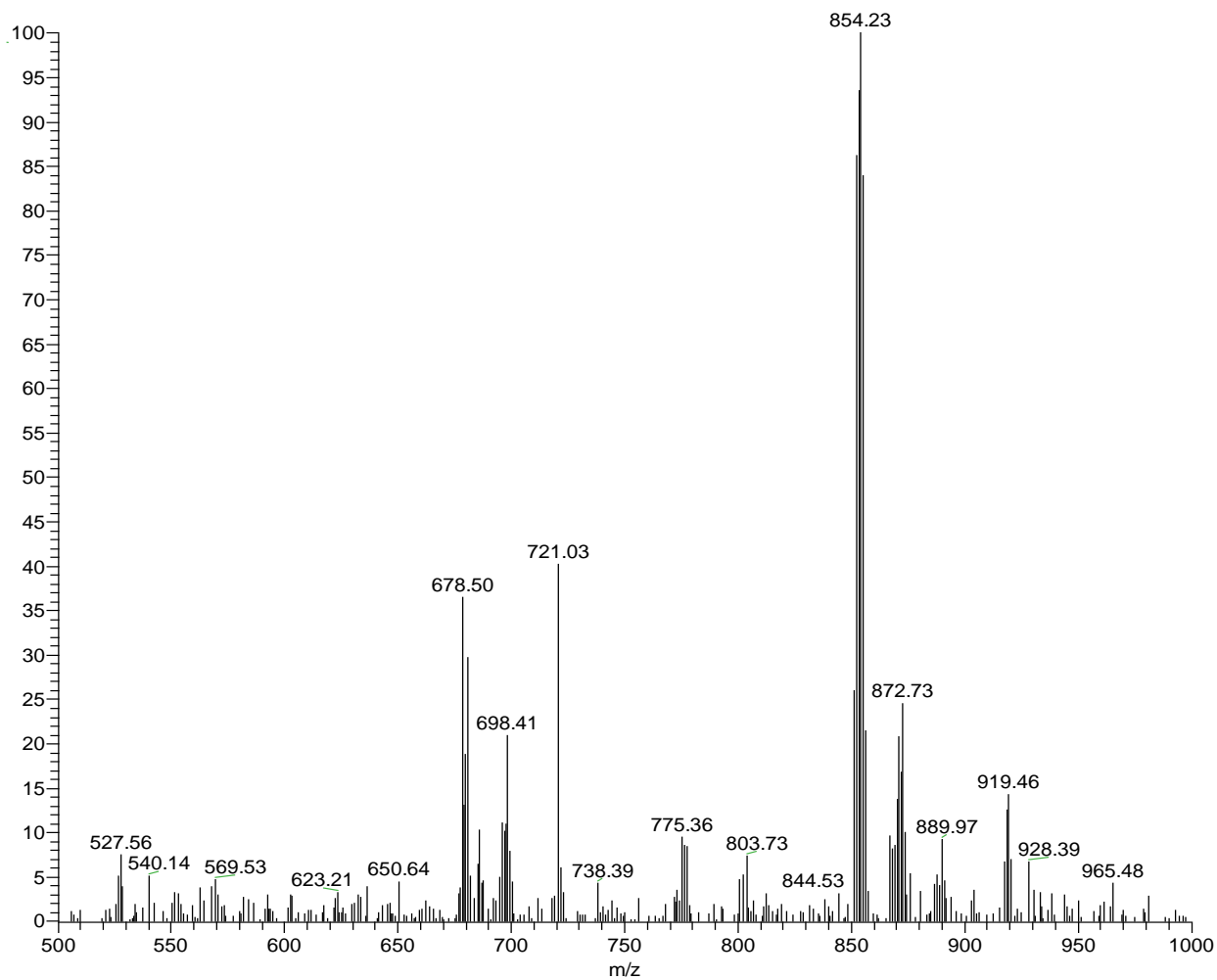


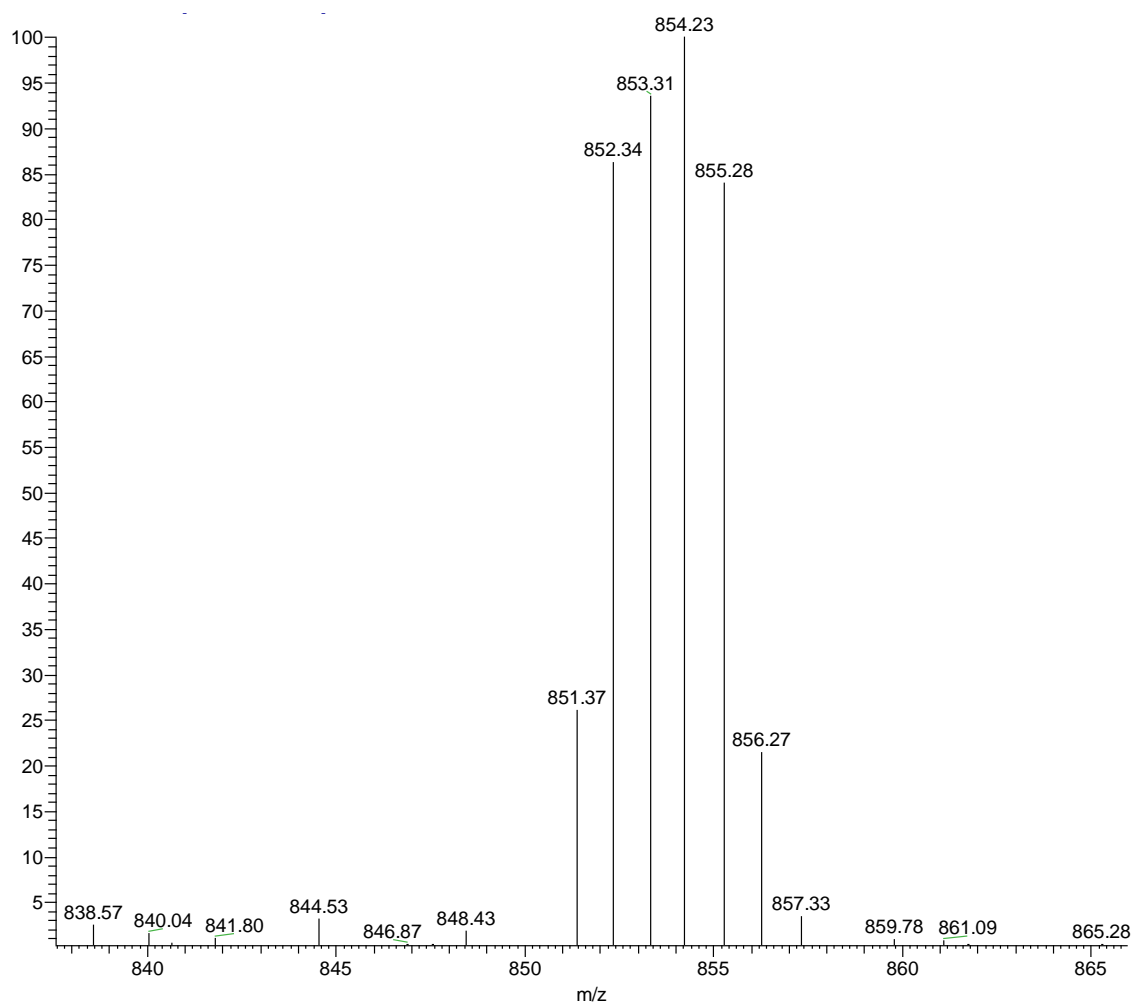
Figura 30 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em metanol.

O principal sinal encontrado no espectro do complexo  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Figura 30), m/z 854,23, corresponde ao complexo  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]^+$  1:2.

Através da expansão do espectro na região do pico m/z 854,23, verificou-se que a espécie proposta está de acordo com a distribuição isotópica para espécie  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]^+$ , formado pela remoção do contra-íon cloreto, confirmando a presença do complexo em solução (Figura 31).



a)



b)

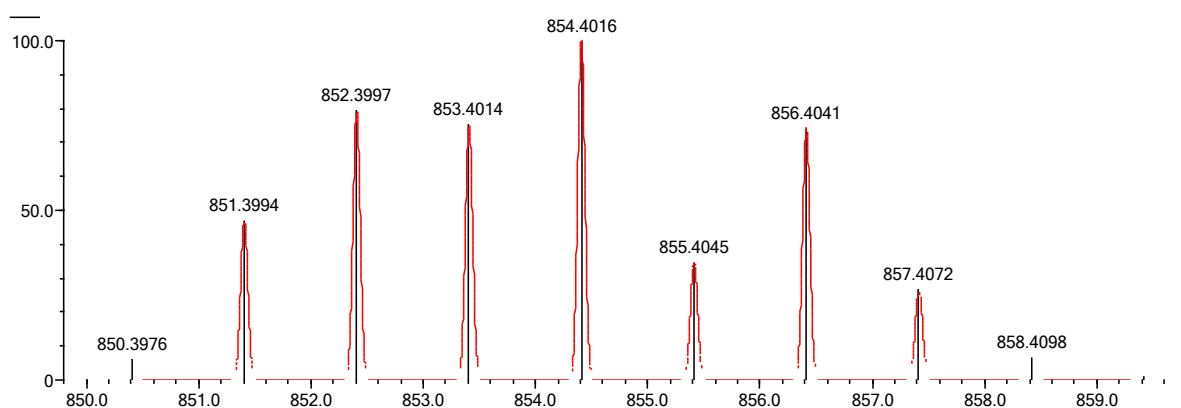


Figura 31 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico em 854,23, atribuído à espécie  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]^+$  em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada (b).

Estrutura proposta da espécie  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  é apresentada na Figura 32.

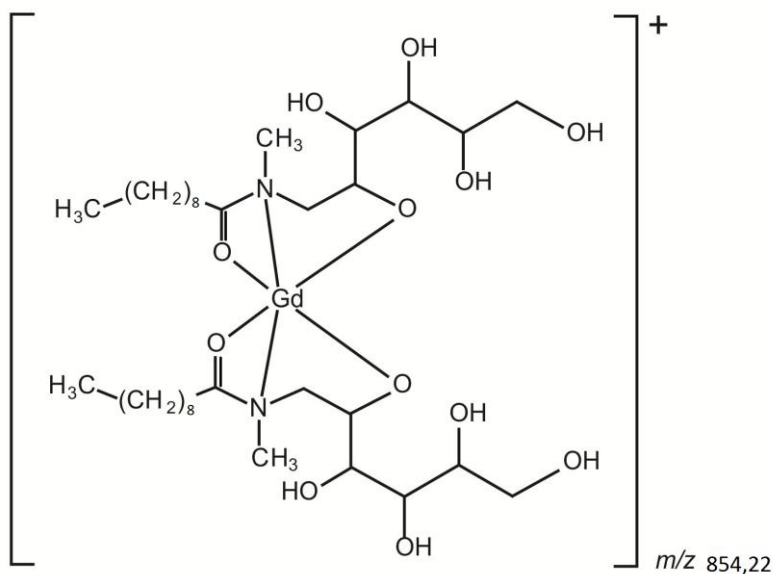


Figura 32 – Estrutura proposta para a espécie  $[Gd(DEC)_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[Gd(DEC)_2]Cl \cdot 5H_2O$ .

### Complexo $[Tb(DEC)_2]Cl \cdot 7H_2O$

A Figura 33 mostra o espectro ESI-MS do complexo  $[Tb(DEC)_2]Cl \cdot 7H_2O$  no modo positivo(+). A Tabela 11 apresenta a razão massa/carga ( $m/z$ ) das principais espécies observadas no espectro e a respectiva fórmula molecular proposta.

Tabela 11 – Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo  $[Tb(DEC)_2]Cl \cdot 7H_2O$  em metanol.

<b>Espécies catiônicas</b>	<b><math>m/z</math></b>
$[DEC + H]^+$	350,16
$[Tb(DEC)_2]^+$	855,16
$[Tb(DEC)_2]Cl - e^-$	890,84
$[Tb(DEC)_3]^+$	1203,91

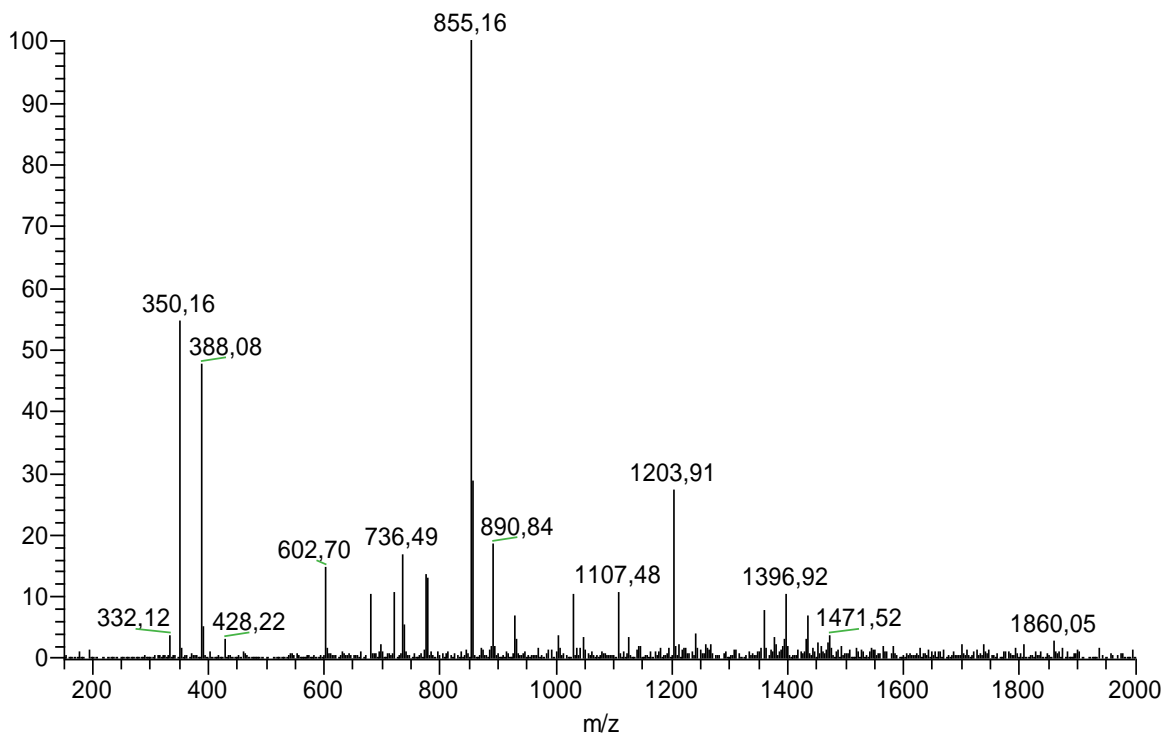
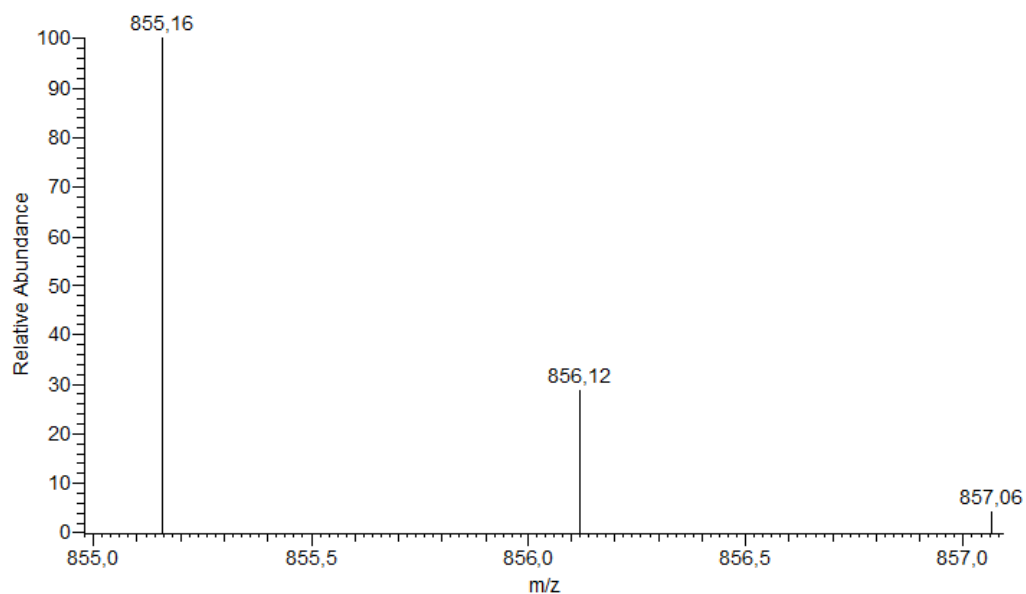


Figura 33 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  em metanol.

O principal sinal encontrado no espectro do complexo  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}$  (Figura 33),  $m/z$  855,16, corresponde ao complexo  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]^+$  1:2. O íon  $m/z$  1203,91 corresponde ao complexo  $[\text{Tb}(\text{DEC})_3]^+$  1:3.

Através da expansão do espectro na região do pico  $m/z$  855,16, verificou-se que a espécie proposta está de acordo com a distribuição isotópica para espécie  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]^+$ , formado pela remoção do contra-íon cloreto, confirmando a presença do complexo em solução, Figura 34.

a)



b)

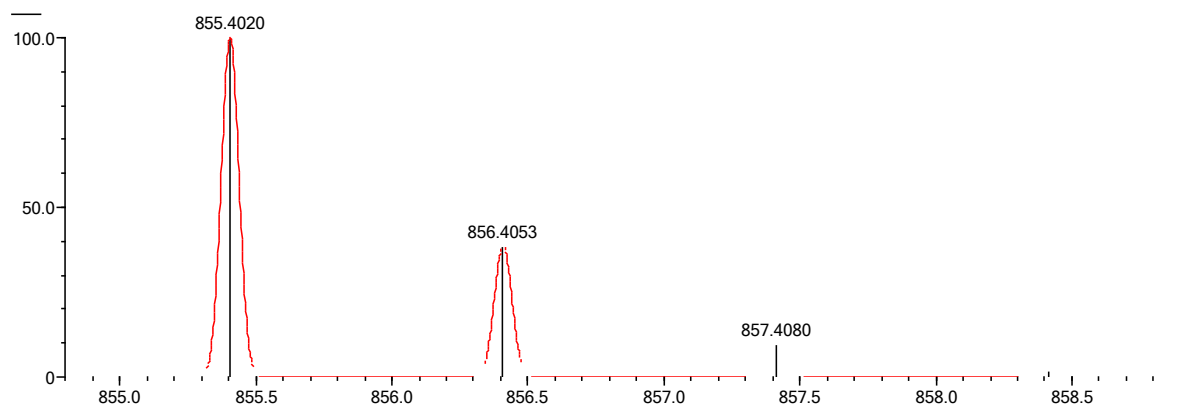


Figura 34 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico em 855,16, atribuído à espécie  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]^+$  em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada (b).

Estrutura proposta da espécie  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  é apresentada na Figura 35.

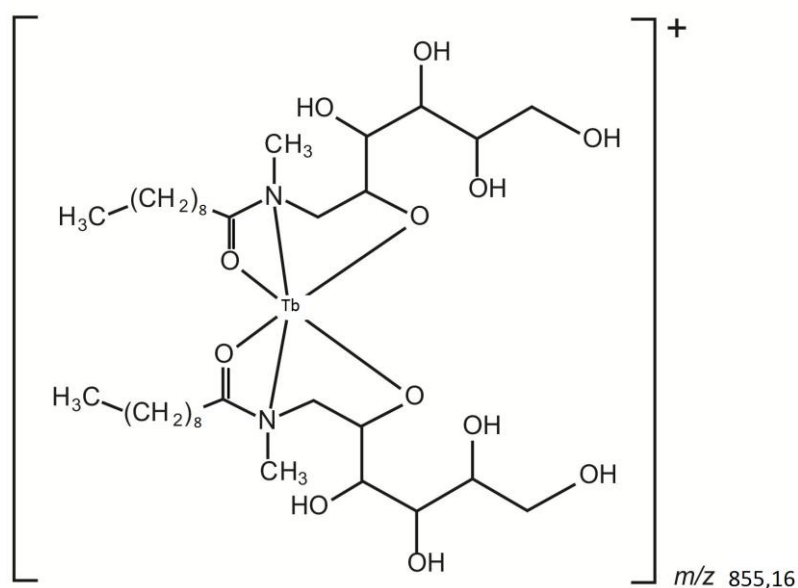


Figura 35 – Estrutura proposta para a espécie  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$

### Complexo $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$

A Figura 36 mostra o espectro ESI-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  no modo positivo(+). A Tabela 12 apresenta a razão carga/massa ( $m/z$ ) das principais espécies observadas no espectro e a respectiva fórmula molecular proposta.

Tabela 12 - Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em metanol.

Espécies catiônicas	$m/z$
$[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+$	910,62
$[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+ + \text{H}_2\text{O}$	928,03
$[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl} - e^-$	945,96

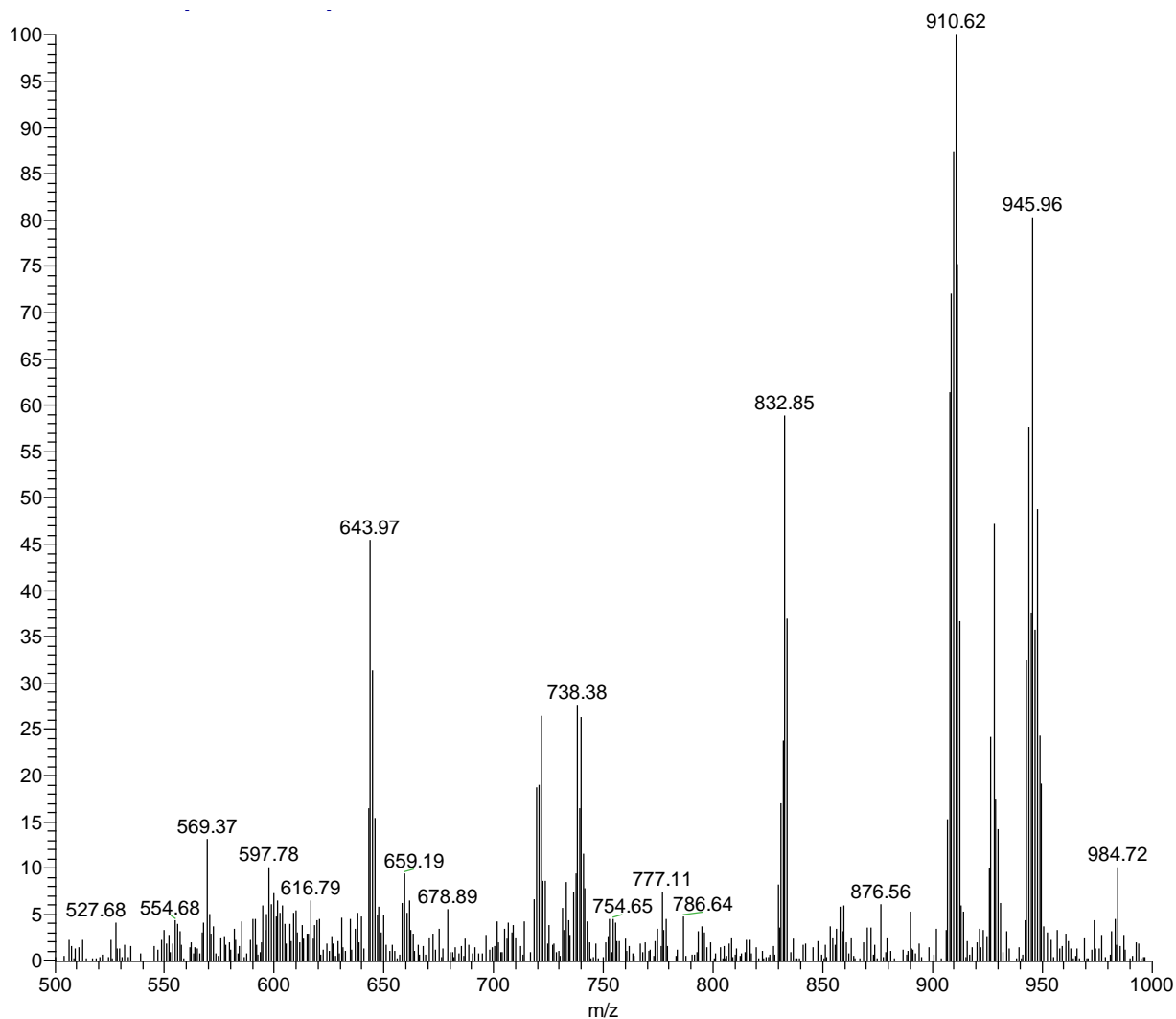
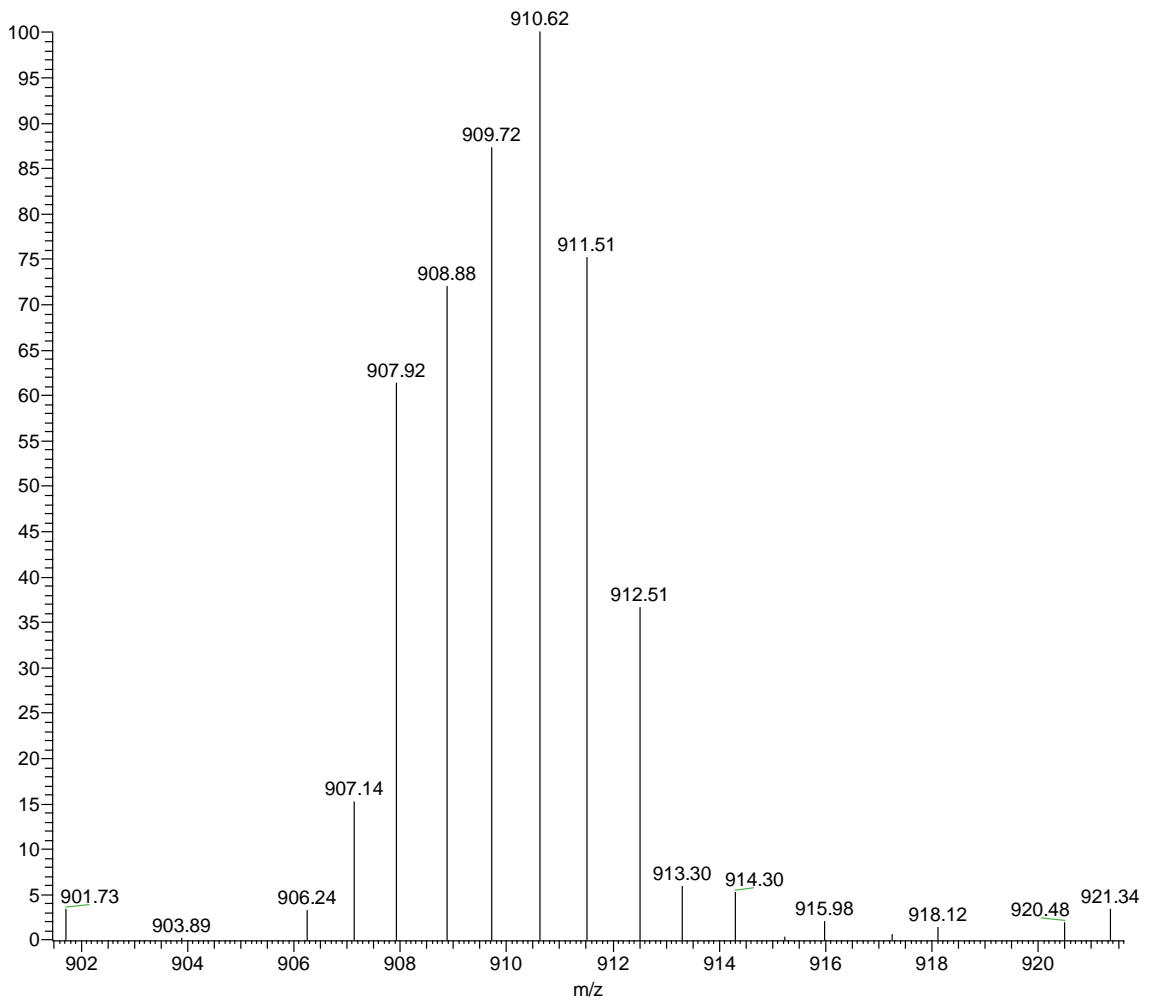


Figura 36 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em metanol.

O principal sinal encontrado no espectro do complexo  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Figura 36),  $m/z$  910,62, corresponde ao complexo  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+$  1:2.

Através da expansão do espectro na região do pico  $m/z$  910,62, verificou-se que a espécie proposta está de acordo com a distribuição isotópica para espécie  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+$ , formada pela perda de moléculas de água e do contra-íon cloreto do complexo  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em solução, Figura 37.

a)



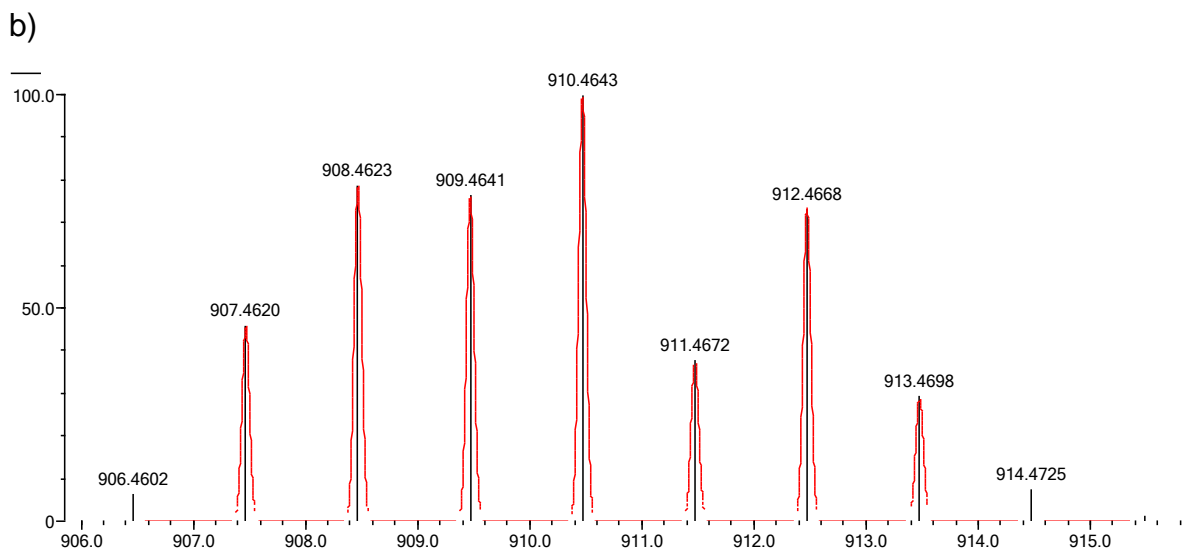


Figura 37 – Região expandida do espectro ESI-MS em metanol, evidenciando o pico em 910,30, atribuído à espécie  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+$  em solução (a), e sua respectiva distribuição isotópica simulada (b).

Estrutura proposta da espécie  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  é apresentada na Figura 38.

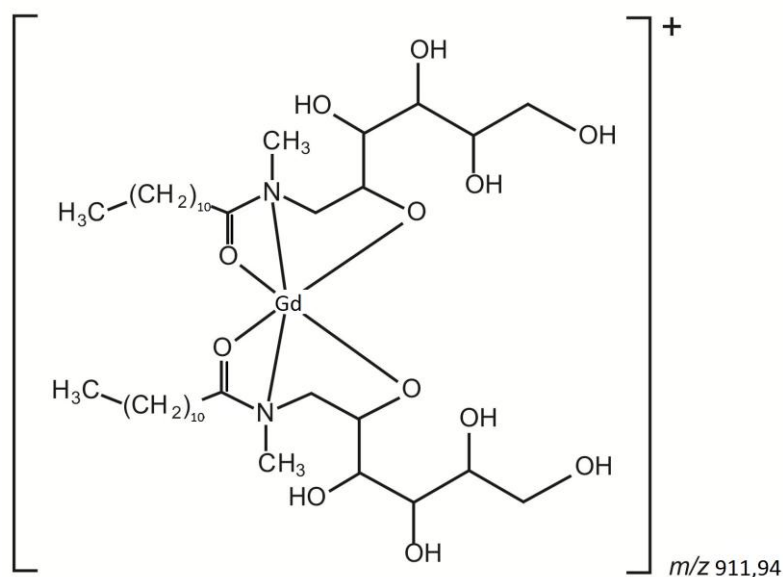


Figura 38 – Estrutura proposta para a espécie  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$

### Complexo $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$

A Figura 39 mostra o espectro ESI-MS do complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  no modo positivo(+). A Tabela 13 apresenta a razão carga/massa ( $m/z$ ) das principais espécies observadas no espectro e a respectiva fórmula molecular proposta.



Tabela 13 - Espécies iônicas identificadas nos espectros de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em metanol.

Espécies catiônicas	m/z
$[\text{Tb}(\text{DOD})_2]^+$	911
$[\text{Tb}(\text{DOD})_2] + \text{H}_2\text{O}$	929
$[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl} - \text{e}^-$	947

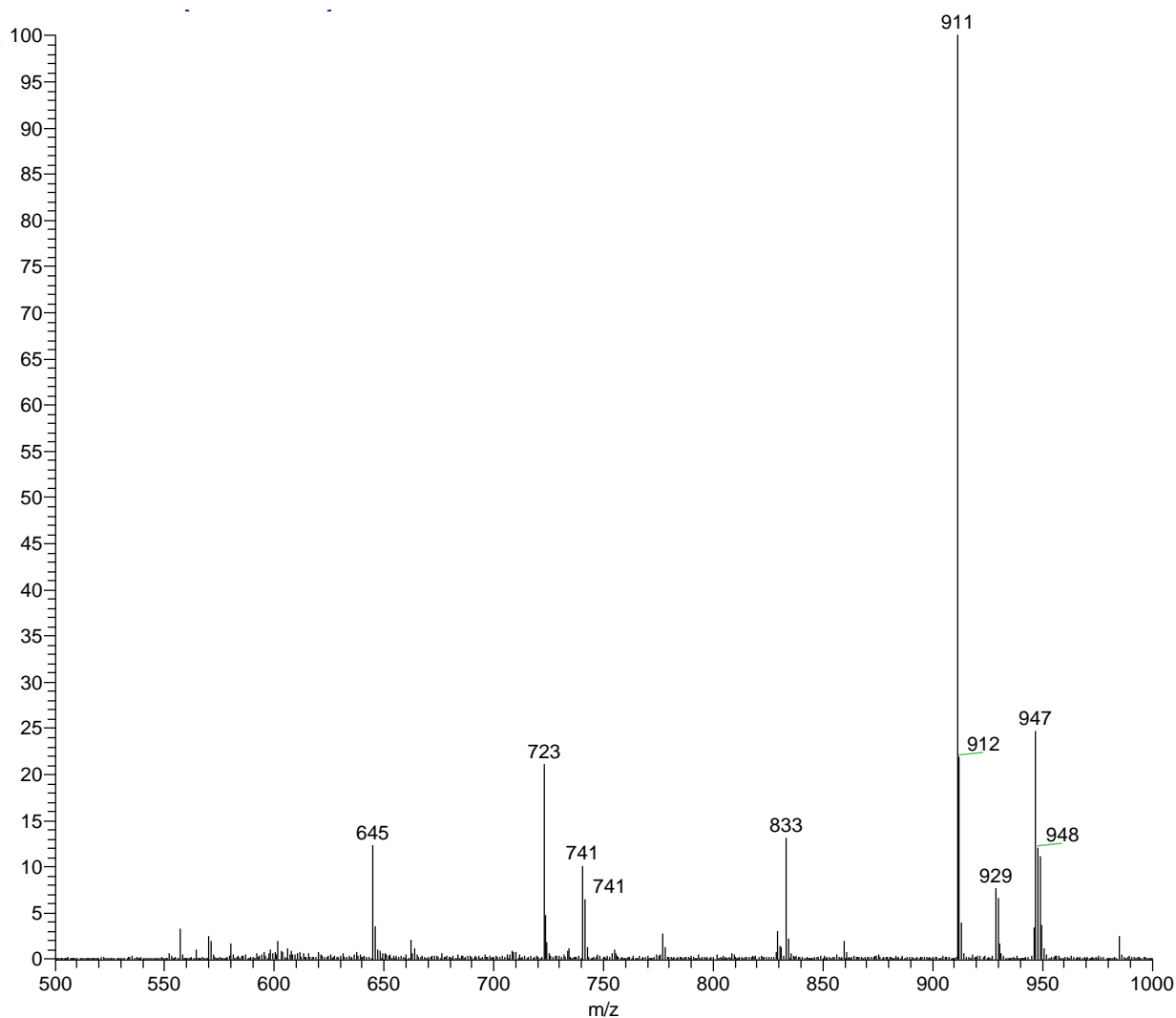


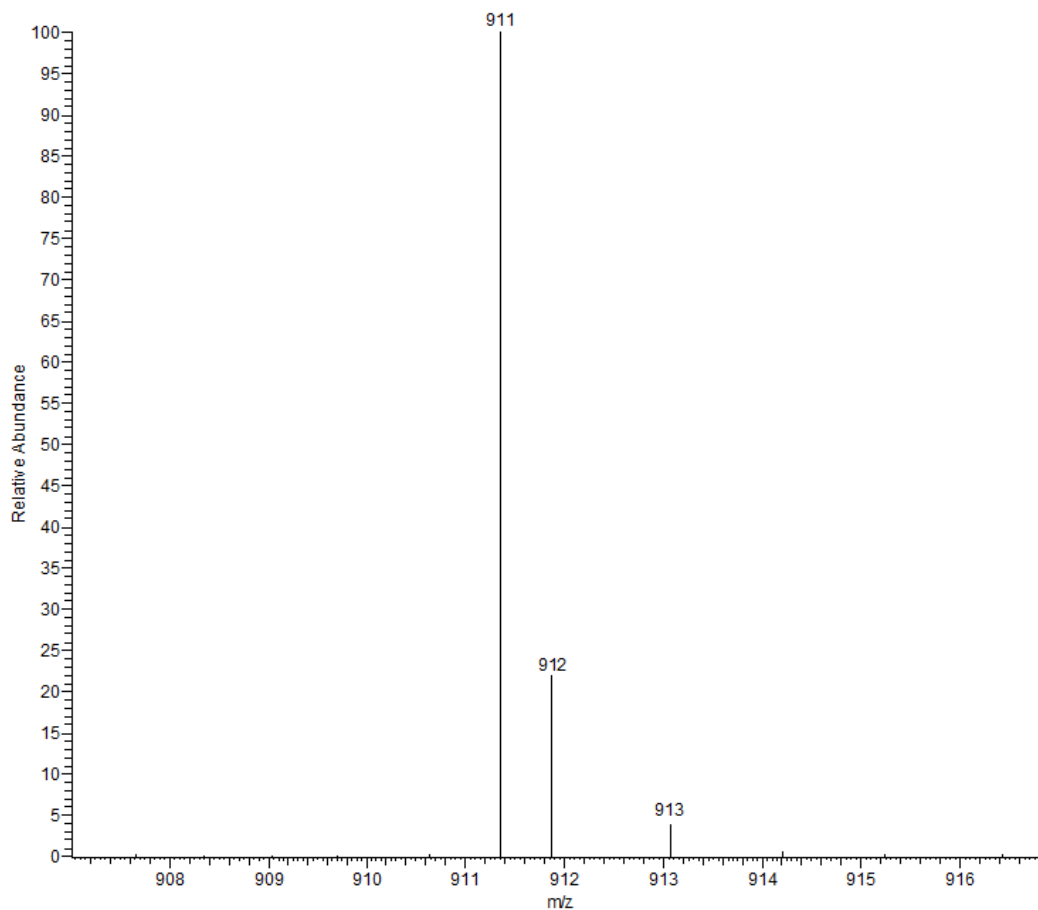
Figura 39 – Espectro de ESI(+)-MS do complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em metanol.

O principal sinal encontrado no espectro do complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Figura 39), m/z 911, corresponde ao complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]^+$  1:2.

Através da expansão do espectro na região do pico m/z 911, verificou-se que a espécie proposta está de acordo com a distribuição isotópica para espécie

$[\text{Tb}(\text{DOD})_2]^+$ , formada pela perda de moléculas de água e do contra-íon cloreto do complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em solução, Figura 40.

a)



b)

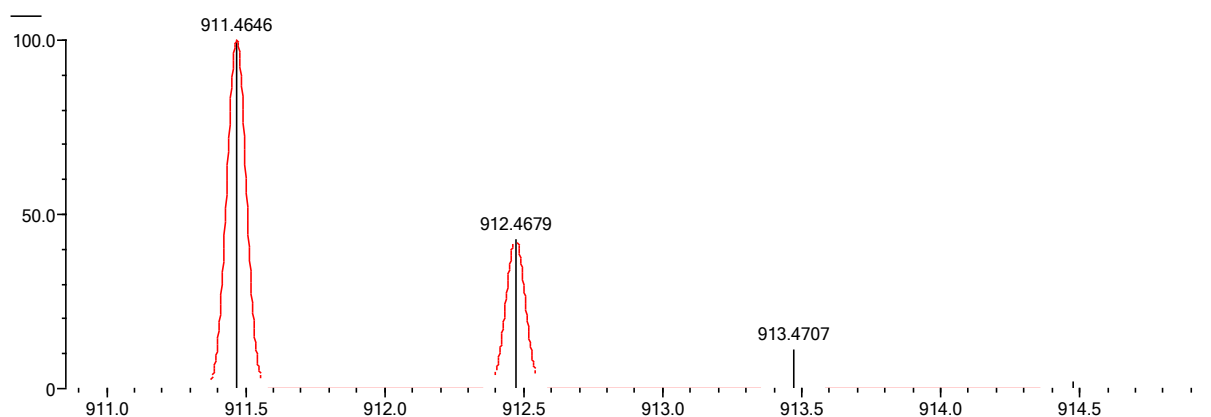


Figura 40 – Região expandida do espectro ESI(+) – MS em metanol, evidenciando o pico em 911, atribuído à espécie  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]^+$ , formada pela perda de moléculas de água e do contra-íon do complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em solução .

Estrutura proposta da espécie  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  é apresentada na Figura 41.

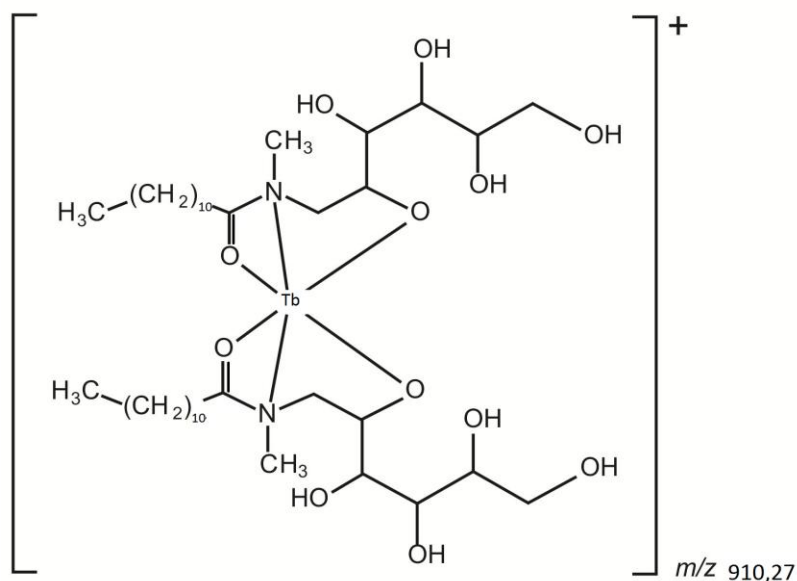


Figura 41 – Estrutura da espécie  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]^+$  identificada por ESI-MS para o complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$

### 3.2.7 Determinação do tamanho dos nanoagregados em solução aquosa

Estudos de DLS foram realizados para a determinação da distribuição de tamanho dos nanoagregados dos complexos metálicos em solução aquosa. A distribuição de tamanho dos agregados formados pelos ligantes HOCT, HDEC e HDOD em dispersões aquosas não foi determinada por DLS por causa dos altos índices de polidispersão e baixo número de partículas. Por outro lado, a análise por DLS para os complexos de Gd(III) e Tb(III) sugere a formação de micelas com diâmetro médio em uma escala de 80 a 523 nm com índice de polidispersão variando de 0,221 a 0,332 (Figura 42).

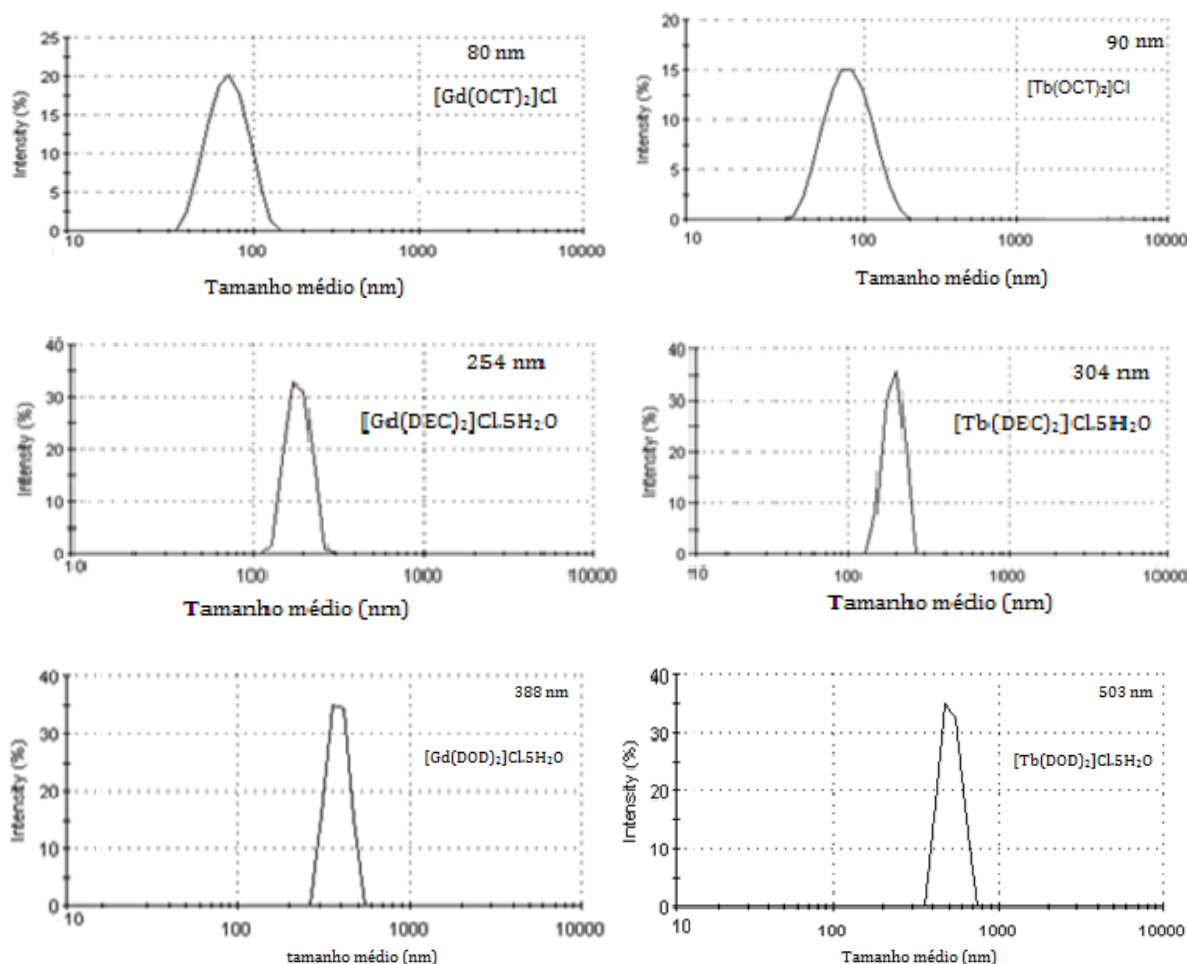


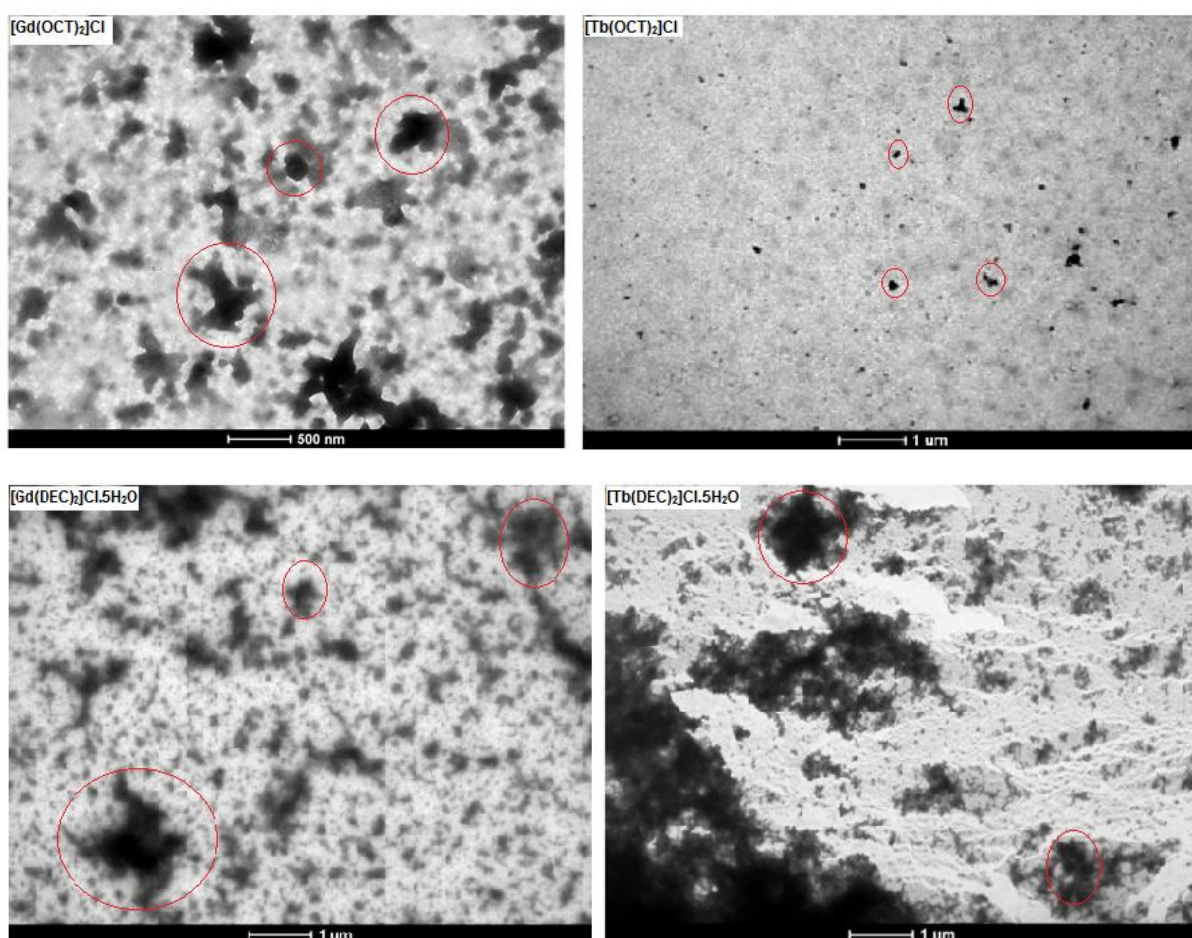
Figura 42 – Curvas de distribuição de tamanho das micelas formadas dos complexos de Gd(III) e Tb(III) a 30 mM em solução aquosa por DLS.

Podemos observar, na Figura 42, que os seis complexos apresentaram uma distribuição de tamanho monomodal, com apenas um pico característico (BAHADORI et al., 2014). Os complexos  $[Gd(DEC)_2]Cl.5H_2O$  e  $[Gd(DOD)_2]Cl.5H_2O$  apresentaram tamanho de partículas maiores do que se deveria esperar para micelas originadas da autoassociação de moléculas anfífilas. Este resultado indica a formação de agregados maiores (VACCARO et al., 2007) ou devido às grandes interações eletrostáticas intermicelares, levando à formação de grandes aglomerados micelares esféricos (ACCARDO et al., 2011).

Os resultados obtidos indicam que, quando diluídos em água os complexos de Gd(III) e Tb(III) podem formar nanoagregados de diâmetro médio entre 80 a 503 nm. Cabe ressaltar que, à medida que a cadeia hidrofóbica aumenta, há um aumento também no tamanho das partículas, que se devem a formação de agregados. Os diâmetros médios aqui obtidos são importantes, pois podem influenciar no perfil da biodistribuição dos complexos.

### 3.2.8 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Os seis complexos lantanóides foram estudados pela análise de microscopia de transmissão (MET), conforme ilustrado na Figura 43. As imagens para os complexos de Gd(III) e Tb(III) mostram que alguns agregados são formados com diferentes diâmetros e uma ampla distribuição de tamanho, inferiores a 150 nm. A formação dos aglomerados também foi observada pela determinação do tamanho de partícula obtido por DLS em meio aquoso.



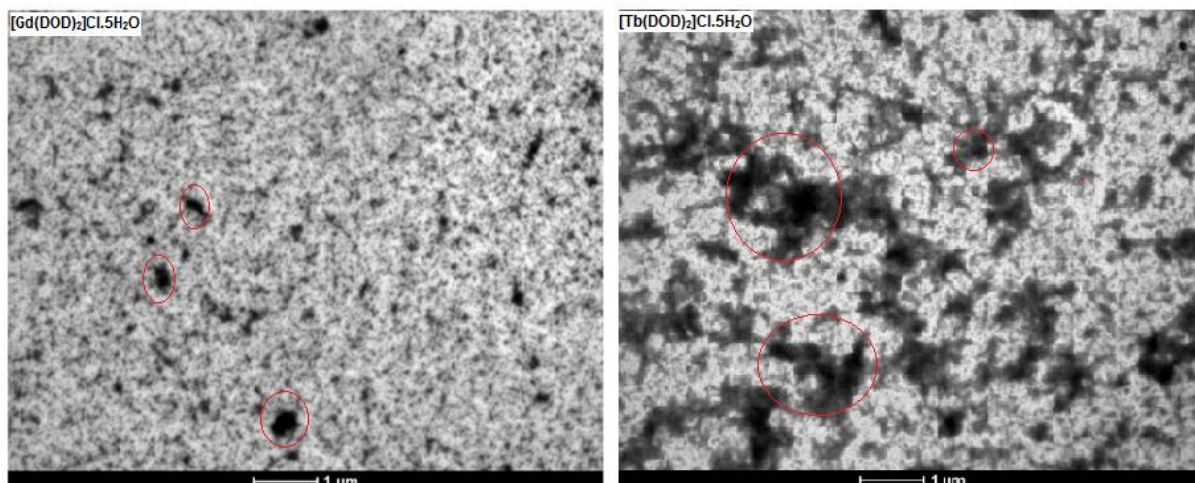


Figura 43 – Imagem da MET mostrando a formação de agregados dos complexos de Gd(III) em cores mais escuras.

### 3.2.9 Estudo de Fluorescência para os complexos de Tb(III)

Complexos lantanóides têm atraído interesse em química bioinorgânica devido a aplicação em análise biomédica, em geral, exibem atividades cancerígenas, fungicidas e sondas luminescentes para análise em meios biológicos (KHORASANI-MOTLAGH et al., 2013).

Estes complexos têm aplicações em fluoroimunoensaios, sistemas laser, conversores catalíticos, catalisadores para o refino de petróleo, magnetos permanentes e de amplificação óptica.

Íons lantanóides (Sm(III), Eu(III), Tb(III), Pr(III), Ho(III), e Dy(III)) e os seus complexos apresentam excelentes propriedades fotoluminescentes resultantes das transições  $f-f$  e pouco serão afetados pelos orbitais das estruturas ligantes, uma vez que, estas transições são poucos perturbados por complexação devido à blindagem dos elétrons dos subníveis 5s e 5p. Os íons lantanóides possuem tempos de vida de luminescência na faixa de milissegundos (BUNZLI & PIGUET, 2005).

A luminescência dos íons lantanóides é fraca devido às transições eletrônicas proibidas por Laporte (mesma paridade) e são maus absorvedores de radiação, mas emitem radiação de forma muito eficiente. Esta limitação pode ser superada pelo uso de um cromóforo como um ligante, que absorve a radiação num comprimento de onda adequado e funciona como “antena”, transferindo parte da energia absorvida pelos ligantes para o íon metálico contribuindo para um grande

aumento da luminescência. Esse fenômeno é denominado como o "efeito antena" (LYSZCZEK & MAZUR, 2012).

A fim de se observar a luminescência do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , espectros de emissão do complexo foram obtidos à temperatura do nitrogênio líquido (77 K), no estado sólido e em soluções aquosa, etanólica e clorofórmica com concentração de  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

O espectro de emissão do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  no estado sólido (Figura 44) registrado em excitação de 300 nm, apresentam linhas de emissão características do íon Tb(III) e uma boa emissão atingindo uma transição máxima em  $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$  de 545 nm, o que vem a contribuir para uma intensa luminescência verde, qualificando-o para atuar como sensibilizadores eficazes de luminescência na forma sólida. Mesma característica observada por Khorasani-Motlagh et al. (2013) ao obter o espectro de emissão para o  $[\text{Tb}(\text{phen})_2\text{Cl}_3 \cdot \text{OH}_2]$  no estado sólido em excitação de 300 nm.

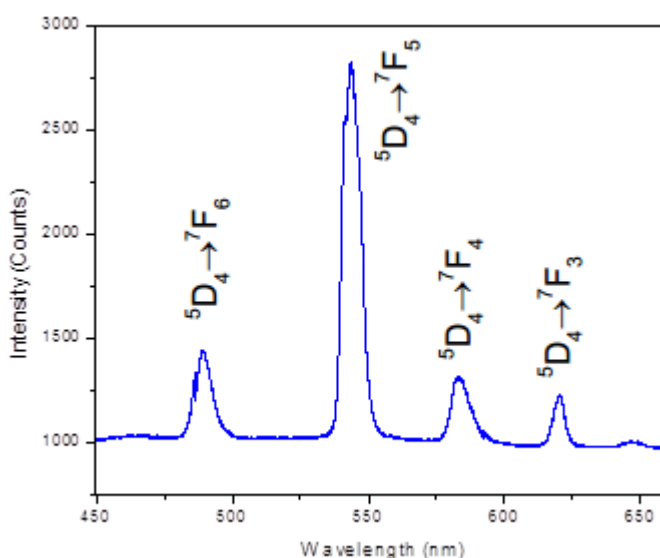


Figura 44 - Espectro de emissão do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  no estado sólido,  $\lambda_{\text{exc}}$  300 nm a 77 K.

O espectro de emissão do  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em solução etanólica (Figura 45), registrado em excitação de 300 nm, apresentou linhas de emissão características para os complexos de Tb(III), atingindo uma transição máxima em  $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$  de 545 nm. Este resultado indica que o complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  é luminescente em solução etanólica e apresenta emissões semelhantes aos observados no espectro de emissão do complexo no estado sólido. O mesmo foi observado por An et al. (2004)

ao estudar espectros de emissão de complexo de Tb(III) em solução etanólica e no estado sólido.

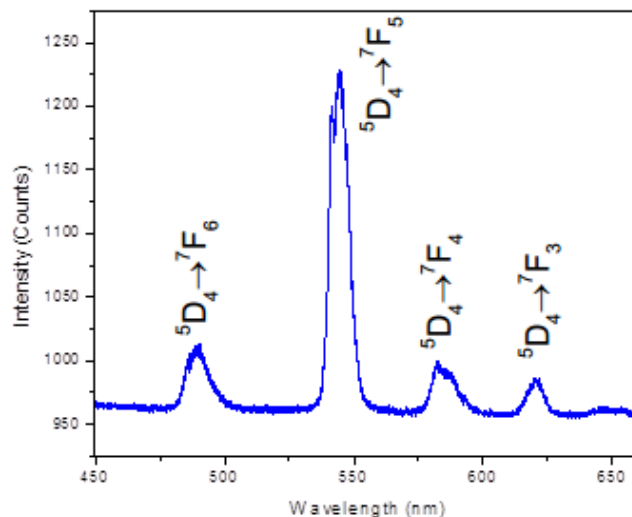


Figura 45 - Espectro de emissão do complexo  $[Tb(OCT)_2]Cl$  em solução etanólica,  $\lambda_{exc}$  300 nm a 77 K.

O espectro de emissão do  $[Tb(OCT)_2]Cl$  em solução etanólica (Figura 46), registrado em excitação de 370 nm, apresentou linhas de emissão características para os complexos de Tb(III), atingindo uma transição máxima em  $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$  de 545 nm. Porém, desvios na linha de base foram observados e se deve ao aumento o comprimento de onda de excitação. O mesmo foi observado por Hussein et al. (2013) ao obter o espectro de emissão do complexo  $[Tb(CMMC)_2(SCN)(C_2H_5OH)(H_2O)]$  em solução etanólica .

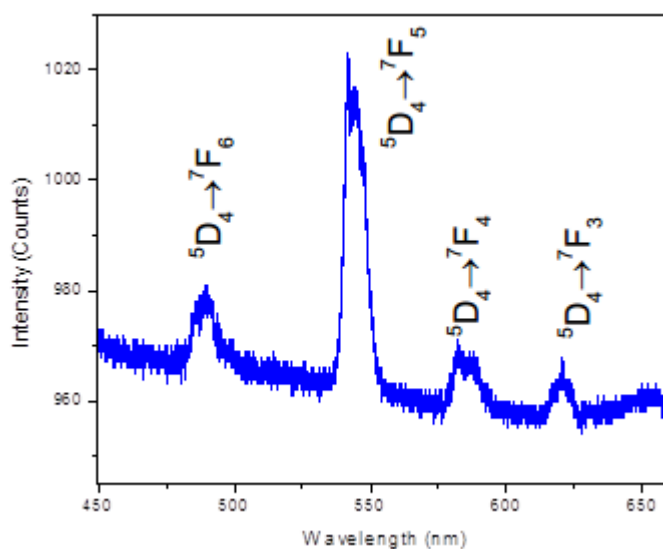


Figura 46 - Espectro de emissão do complexo  $[Tb(OCT)_2]Cl$  em solução etanólica,  $\lambda_{exc}$  370 nm a 77 K.



Os espectros de emissão do  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em solução aquosa (Figura 47 e 48), registrados em excitação de 300 nm e 370 nm, apresentaram linhas de emissão características para os complexos de Tb(III), atingindo uma transição máxima em  $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$  de aproximadamente 544 nm. Porém, desvios na linha de base e ruídos podem ser observados nos espectros de emissão e se devem a supressão de luminescência interferência do solvente apagando o efeito luminescente do composto, o mesmo observado por Yang et al. (2010) ao estudar o espectro de emissão do complexo de Tb(III) N, N', N''-tris(2-benzimidazolmetil) amina em solução aquosa.

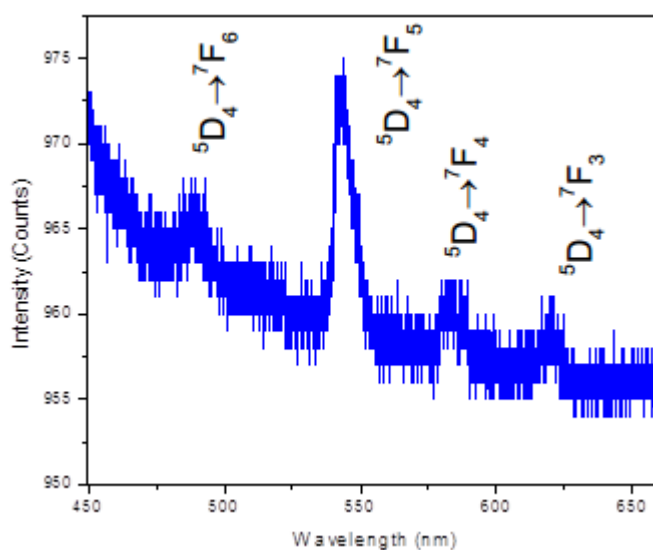


Figura 47 - Espectro de emissão do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em solução aquosa,  $\lambda_{\text{exc}}$  300 nm a 77 K.

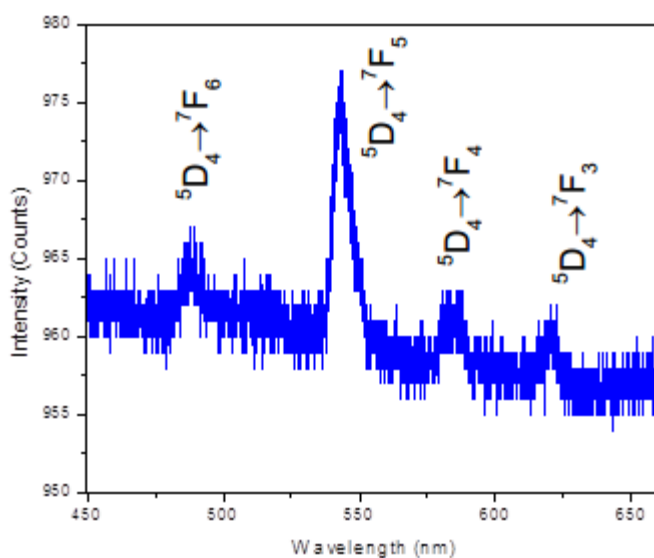


Figura 48 - Espectro de emissão do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em solução aquosa,  $\lambda_{\text{exc}}$  370 nm a 77 K.

O espectro de emissão do  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em solução clorofórmica (Figura 49), registrado em excitação de 370 nm, apresentou linhas de emissão características para os complexos de Tb(III), atingindo uma transição máxima em  ${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_5$  de 543 nm. A solução do complexo de Tb(III) neste solvente não foi eficiente, uma vez que este apresentou variações na linha de base.

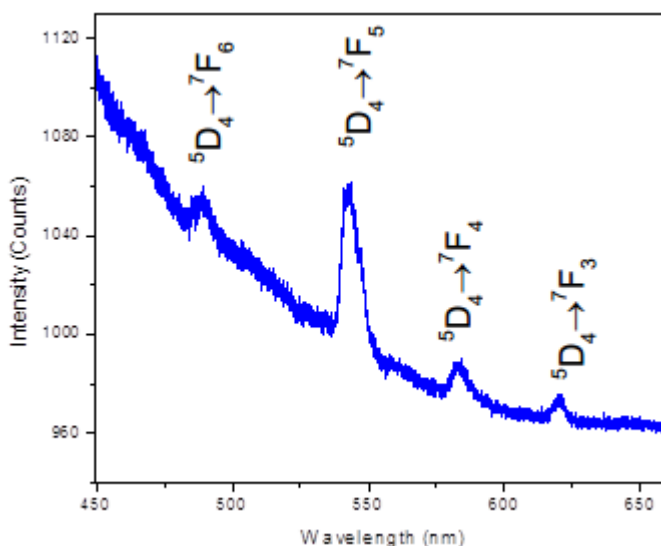


Figura 49 - Espectro de emissão do complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  em solução clorofórmica,  $\lambda_{\text{exc}}$  370 nm a 77 K.

Os espectros de emissão apresentaram semelhanças com quatro bandas de emissão, Tabela 14, atribuídas aos picos de luminescência de  ${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_6$  (em torno de 490 nm),  ${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_5$  (em torno de 545 nm),  ${}^5\text{D}_4 \rightarrow {}^7\text{F}_4$  (em torno de 590 nm)

e  ${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$  (em torno de 620 nm) transições. Entre eles, a banda mais intensa foi em 545 nm, na transição  ${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$  (CHEN et al., 2012; GALLARDO et al., 2011).

Os dados da fluorescência para o complexo de Tb(III) em solução etanólica e na forma sólida estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Dados da fluorescência para os complexos de Tb(III) no estado sólido e em solução etanólica,  $\lambda_{exc}=300nm$ .

<b>Estado/Solvente</b>	<b><math>\lambda_{exc}</math> (nm)</b>	<b><math>\lambda_{em}</math> (nm)</b>	<b>Intensidade</b>	<b>Atribuições</b>
Sólido	300	490	1450	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$
		545	2900	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$
		590	1350	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_4$
		620	1250	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$
Etanol	300	490	1020	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$
		545	1225	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$
		590	990	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_4$
		623	980	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$
Etanol	370	490	982	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$
		545	1020	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$
		589	970	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_4$
		621	965	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$
Aquosa	300	488	967	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$
		541	973	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$
		591	963	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_4$
		620	962	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$
Aquosa	370	489	967	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$
		544	975	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$
		592	963	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_4$
		622	962	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$
Clorofórmica	370	489	1058	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_6$
		543	1060	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_5$
		584	983	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_4$
		620	974	${}^5D_4 \rightarrow {}^7F_3$

Os espectros de luminescência para o complexo de Tb(III) apresentaram emissões que não diferem, dos picos de emissão do complexo sintetizado por Yan , Song e Chen (2004),  $Tb_2(phth)_2(Hphth)_2(phen)_2(H_2O)_4$  com 490,5 , 545, 583 e 621 nm referente às transições  $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$  ;  $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ ;  $D_4 \rightarrow ^7F_4$ ;  $^5D_4 \rightarrow ^7F_3$ , respectivamente.

Os espectros de emissão apresentaram transições características para o complexo de Tb(III), com banda máxima em torno de 545 nm que se devem as transições *f-f*, onde as intensidades de luminescência estão relacionadas com a eficiência de transferência de energia entre metal-ligante nos diferentes solventes (YANG & QIN, 2007; AHMED & IFTIKHAR, 2012).

## 4 ESTUDOS DE RELAXATIVIDADE DOS COMPLEXOS DE GADOLÍNIO(III) E DE SEUS NANOAGREGADOS

### 4.1 Introdução

A ressonância magnética é uma técnica utilizada no meio clínico para obtenção de imagens anatômica e funcional dos tecidos moles sadios e doentes, incluindo tumores sólidos.

A obtenção de imagens por ressonância magnética ocorre pela administração de agentes de contraste visando o aumento do contraste nas imagens o que permite melhor visualização dos diferentes tecidos, possibilitando a detecção de tumor na fase precoce.

A maioria dos agentes de contraste comercialmente aprovados são a base de gadolínio(III) e são frequentemente extracelulares e hepatobiliar, de baixo peso molecular com efeito predominante no encurtamento de  $T_1$ . Porém, estes agentes não são específicos, apresentam efeitos colaterais e baixa relaxatividade.

Grandes esforços têm sido realizados para desenvolver novos complexos que contribuam para elevadas relaxatividades dos prótons, e conseqüentemente melhor contraste nas imagens (ZHOU & RONG-LU, 2013).

Os parâmetros que podem ser melhorados para obter agentes mais eficientes são o tempo de correlação rotacional ( $\tau_R$ ), a taxa de troca de moléculas de água a partir da primeira esfera de coordenação ( $\tau_M$ ) e o número de moléculas de água na primeira esfera ( $q$ ) (DAVIES, KRAMBERGER, DAVIS, 2013).

A busca de agentes de contraste seguros a base de gadolínio tornou-se uma questão importante, uma vez que os agentes de contraste comerciais tornou-se o principal suspeito da fibrose sistêmica nefrogênica, uma doença com alto índice de morbidade e mortalidade (ABU-ALFA, 2011).

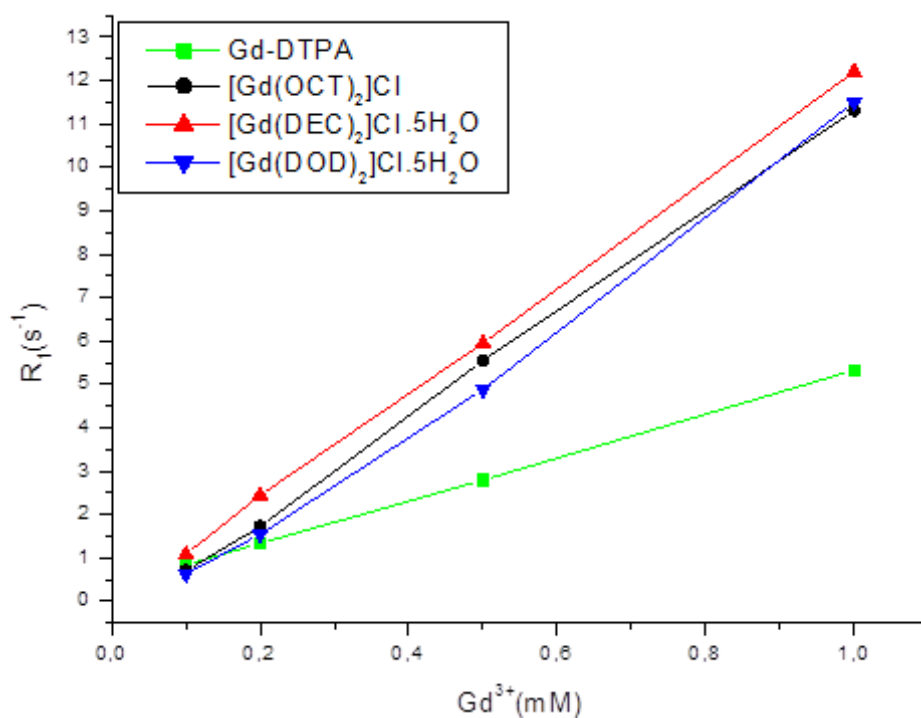
A determinação da concentração micelar crítica (CMC) dos complexos anfífilicos de Gd(III) foi investigada e é de grande relevância, tanto para o conhecimento químico destes complexos em solução aquosa, quanto para a relaxatividade, pois a formação de agregados micelares pode afetar a ação destes complexos metálicos como agentes de contraste.

No presente trabalho, as relaxatividades dos complexos de Gd(III) sintetizados foram avaliadas em solução aquosa em baixo campo 20 MHz (0,5 T), em concentrações abaixo da CMC e acima da CMC.

#### 4.1.1 Relaxatividade longitudinal e transversal dos complexos Gd(III) e do Gd-DTPA

Os gráficos da Figura 50 mostram as curvas da taxa de relaxação longitudinal ( $1/T_1 = R_1$ ) e a taxa de relaxação transversal ( $1/T_2 = R_2$ ) dos complexos  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em solução aquosa e do agente de contraste comercial dimegluminegadopentetate (Gd-DTPA) mais utilizado no meio clínico, em função da concentração, a 25 ° C e 0,47 T (20 MHz).

a)



b)

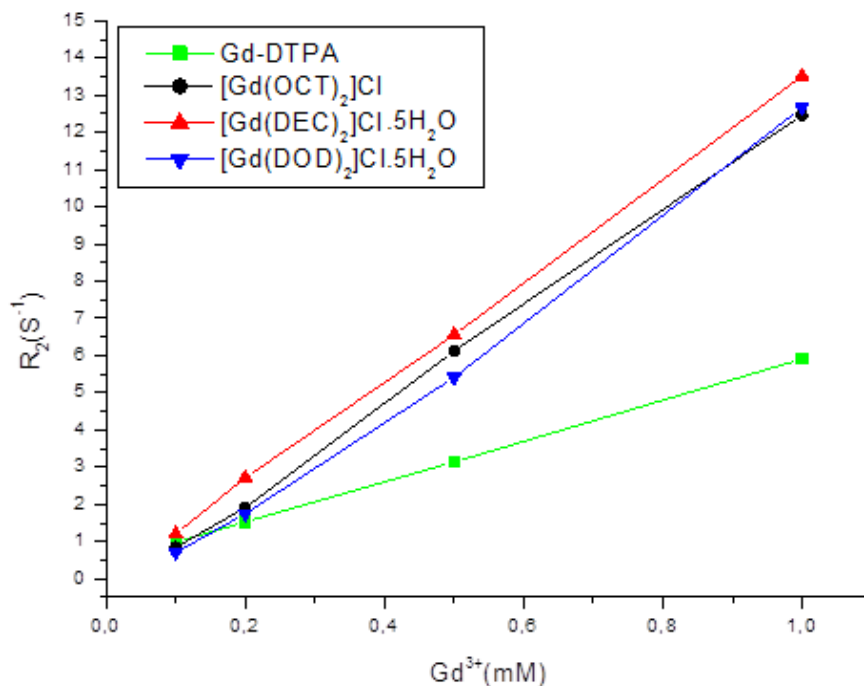


Figura 50 – Gráfico da taxa de relaxação longitudinal  $R_1$ (a) e taxa de relaxação transversal  $R_2$ (b) em função da concentração da amostra, obtidos com pulsos de radiofrequências de inversão-recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), utilizando  $\pi/2 = 3,1 \mu s$  e  $\pi = 6,2 \mu s$ ; Tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms; Para as medidas de  $T_2$  foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s.

Os valores de relaxatividade de  $r_1$  e  $r_2$  foram calculados através das inclinações das retas da Figura 50 por regressão linear e são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 – Medidas das relaxatividade  $r_1$  e  $r_2$  dos complexos Gd(III) em 20 MHz (25 °C).

Complexos	$r_1$ ( $s^{-1} mM^{-1}$ )	$r_2$ ( $s^{-1} mM^{-1}$ )
Gd-DTPA	$4,98 \pm 0,03$	$5,47 \pm 0,03$
[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	$11,90 \pm 0,02$	$13,00 \pm 0,02$
[Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	$12,30 \pm 0,01$	$13,60 \pm 0,02$
[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	$12,20 \pm 0,05$	$13,40 \pm 0,05$

Os dados apresentados na Tabela 15 mostram que os valores de relaxatividade obtidos para os complexos Gd(III) para  $r_1$  e  $r_2$  foram de aproximadamente de  $12 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ , valores estes superiores aos dos agentes de contraste comercial Gd-DTPA que apresentam uma relaxatividade para  $r_1$  e  $r_2$  de aproximadamente de  $5 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$  nas mesmas condições. De acordo com a literatura Ferroud e colaboradores (2008), os valores da  $r_1$  dos agentes de contraste comerciais variam de 3,5 a  $5,0 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ .

Esta elevada relaxatividade mostra que os complexos de Gd(III) apresentam elevado potencial para o emprego como agentes de contraste, uma vez que estes apresentam uma eficiência de relaxatividade de quatro vezes maior, em concentração mil vezes menor que os agentes de contraste comerciais.

Os complexos anfifílicos de Gd(III) sintetizados também apresentaram valores de relaxatividade duas vezes maiores aos relatados por Ratnakar, Samy e Alexander (2012) para o complexo de Gd(III) glicose-6-fosfato conjugado com ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7-triacético, por Zhang et al. (2014) para os complexos de Gd(III) tetranuclear macrocíclico e por Kasala et al. (2011) para o complexo  $[\text{Gd}(\text{Try-TTDA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$  ( $r_1 \sim 7,0 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ ).

Ao comparar os valores dos complexos de Gd(III) sintetizados neste trabalho com os reportados por Grogna et al. (2010) e Kim et al. (2014) para micelas poliméricas carregadas com complexos Gd(III) e aqueles reportado por Accardo et al. (2013) para o complexo anfifílico  $(\text{C18})_2\text{DTPA}$  (Gd) em monooleína e dioleína, observamos que os valores não diferem significativamente.

O aumento da relaxatividade mostrado neste trabalho pode ser explicado pelo tempo de correlação rotacional ( $\tau_R$ ) causado pelo elevado peso molecular ou pela formação de agregados de complexos de Gd(III) anfifílicos como evidenciado nas imagens de microscopia eletrônica de transmissão dando um aumento adicional na  $\tau_R$ , e pode ser melhor compreendido pela Equação 3 (GLOGARD, et al., 2002; CHONG et al., 2008; RICHARD et al., 2008).

$$\text{Equação 3- } 1/\tau_{ci} = 1/\tau_R + 1/\tau_M + 1/T_{ie} \quad i=1,2$$

As elevadas relaxatividades dos prótons frente aos complexos sintetizados, sugere que os complexos de Gd(III) possuem, em solução aquosa, moléculas de água inseridas na esfera de coordenação interna, contribuindo para uma melhor tro-

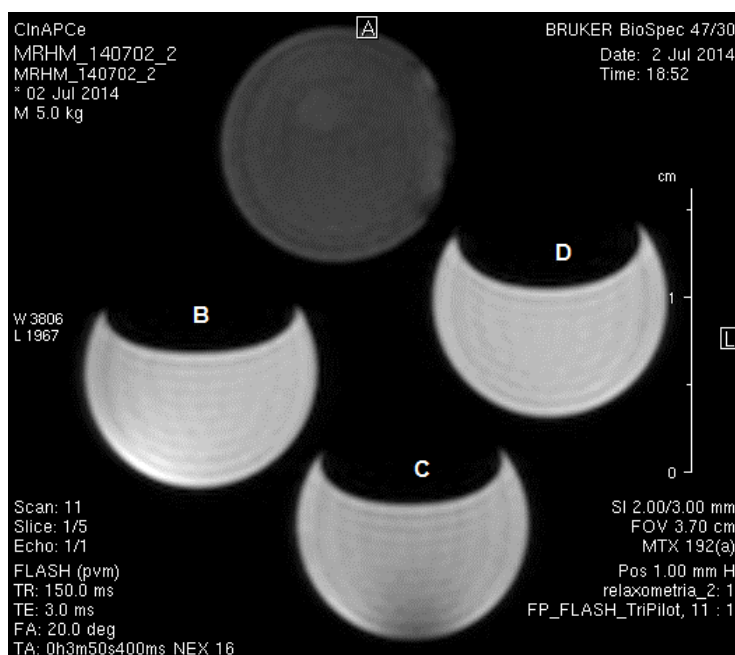


ca de moléculas de água (HATZIPANAYIOTI & VENERIS, 2009; CARAVAN et al., 2009; RAYMOND & PIERRE, 2005; HENOUMONT et al., 2007; EBADIAM-BAGHER et al., 2011).

#### 4.1.2 Imagens ponderadas em $T_1$ e $T_2$ para complexos de Gd(III)

Os complexos  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  foram avaliados para aplicações em RM tomando as imagens ponderadas em  $T_1$  e  $T_2$  em solução aquosa na concentração de 1 mM, Figura 51.

a)



b)

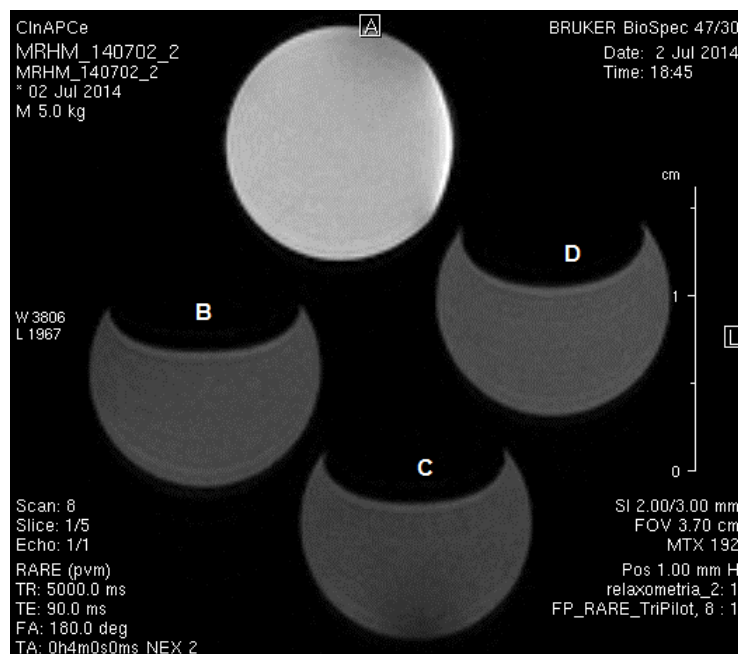


Figura 51 – Imagens ponderadas em  $T_1$ (a) e  $T_2$ (b) do agente de contraste Gd-DTPA (A); dos complexos  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  (B),  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (C) e  $\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (D).

A Figura 51 mostra claramente o aumento do contraste através da utilização dos complexos Gd(III) tanto para imagens ponderadas em  $T_1$  como para imagens ponderadas em  $T_2$ . Os complexos Gd(III) sintetizados neste trabalho apresentaram relaxatividades duas vezes maior do que o complexo Gd-DTPA (agente de contraste comercial-Magnevist®) como discutidos na seção anterior. Tal relaxatividade leva a uma melhora no contraste das imagens ponderadas em  $T_1$  e  $T_2$ . O contraste positivo e o contraste negativo mostram o potencial da utilização dos complexos anfifílicos  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  como agentes de contraste em RM.

#### 4.1.3 Concentração Micelar Crítica (CMC)

Complexos anfifílicos são caracterizados por apresentar uma região hidrofóbica e outra hidrofílica e em solução aquosa podem associar-se formando agregados estruturalmente organizados chamados micelas. Mas isso depende da estrutura molecular, da concentração, temperatura e da composição do composto. Em geral, as micelas podem surgir em concentrações mais elevadas do composto em solução e pode ser observada através da brusca variação da propriedade analisada. A auto-organização de moléculas anfifílicas em solução aquosa conduz a formação de

agregados micelares, assim que uma certa concentração micelar crítica é atingida (CMC). Logo, a concentração micelar crítica (CMC) é a menor concentração do composto anfifílico na qual as micelas se formam (SANTOS et al., 2013).

A CMC pode ser determinada por um método de fluorescência utilizando o 1,6-difenil-1,3,5-hexatrieno (DPH) como sonda fluorescente. Esta molécula tem propriedades fluorescentes que dependem da polaridade do meio. Portanto em meios polares como a água, a sonda apresenta-se na forma não fluorescente, enquanto que em meios apolares, tais como o interior das micelas é bastante fluorescente (Figura 52) (NATALINI et al., 2014).

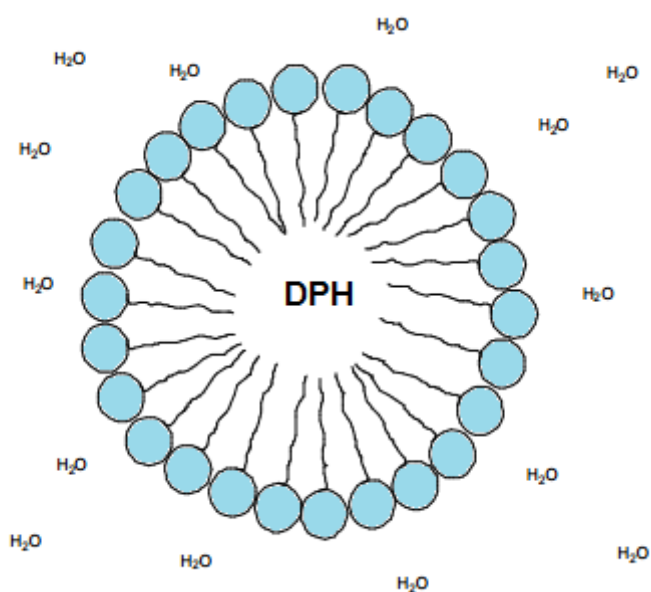


Figura 52 – Esquema ilustrativo da sonda DPH no interior das micelas.

Foram realizados experimentos de fluorescência utilizando os complexos e  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em concentrações de 0,25 a 125 mM em água para determinação da concentração micelar crítica e os valores da CMC são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – CMC dos ligantes (HOCT e HDEC) e dos complexos  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  e  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

<b>Complexos metálicos</b>	<b>CMC</b>
HOCT	50 mM
$[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$	6 mM
HDEC	6 mM
$[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	3 mM

As CMC apresentadas na Tabela 16 para os complexos  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  e  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  foram abaixo da CMC dos ligantes.

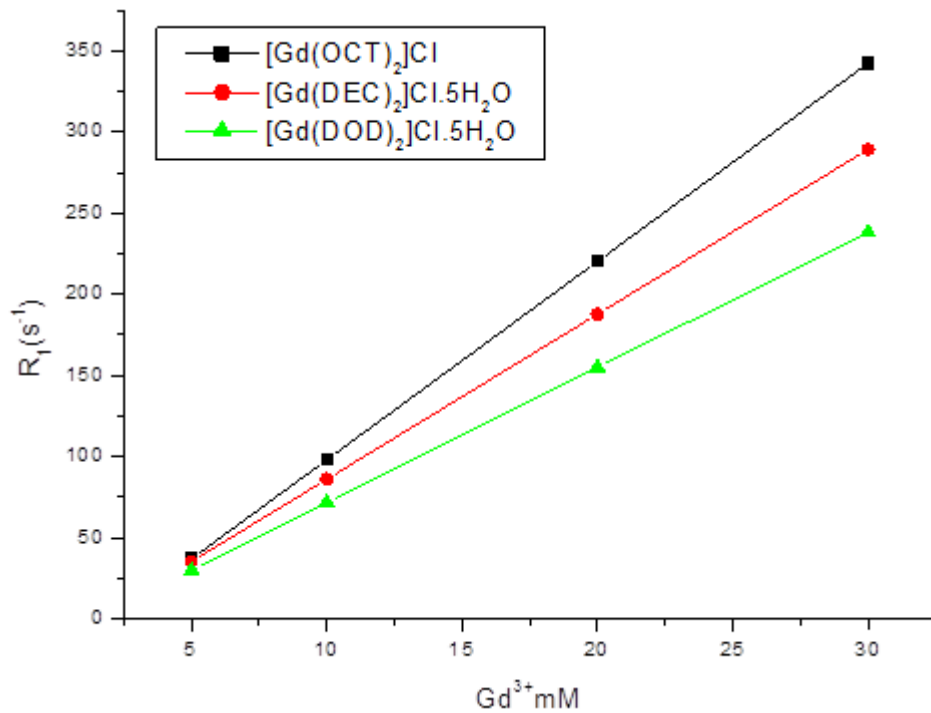
Os resultados da CMC para os complexos  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  e  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  mostram que, uma diminuição no valor da CMC com o aumento da cadeia hidrofóbica, refletindo uma capacidade superior de auto agregação do complexo que apresenta cadeia mais longa, o mesmo observado para a determinação do tamanho de partícula em que os compostos com maior cadeia hidrofóbica foram os que apresentaram maiores tamanhos de diâmetros médios. Dessa forma conclui-se que quanto maior for à cadeia de hidrofóbica maior o tamanho de partículas e maior tendência em formar micelas em baixas concentrações.

Nicolle e colaboradores (2002) mostram através do estudo de CMC realizado para os complexos  $[\text{Gd}(\text{DOTAC}_{10})(\text{H}_2\text{O})]^-$ ,  $[\text{Gd}(\text{DOTAC}_{12})(\text{H}_2\text{O})]^-$ ,  $[\text{Gd}(\text{DOTAC}_{14})(\text{H}_2\text{O})]^-$  e  $[\text{Gd}(\text{DOTASAC}_{18})(\text{H}_2\text{O})]$ , que à medida que a cadeia alquila aumenta a CMC diminui, sendo este efeito, observado no presente trabalho. O mesmo foi observado por Othman et al.(2011) ao determinar a CMC para o complexo SQ-Gd<sup>3+</sup>.

#### 4.1.4 Estudo da dependência da relaxatividade com a CMC

Os gráficos da Figura 53 mostram as curvas da taxa de relaxação longitudinal ( $1/T_1 = R_1$ ) e a taxa de relaxação transversal ( $1/T_2 = R_2$ ) dos complexos  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em solução aquosa, em função da concentração, concentrações acima da concentração micelar crítica dos complexos (5, 10, 20 e 30 mM), a 25 °C e 0,47 T (20 MHz).

a)



b)

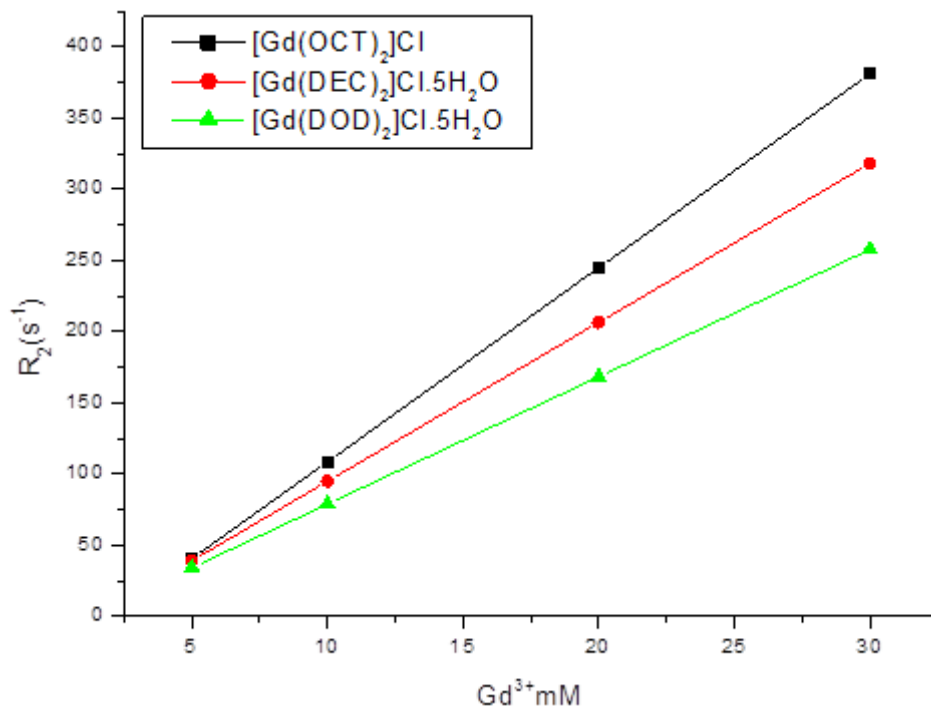


Figura 53 – Gráfico da taxa de relaxação longitudinal  $R_1$ (a) e taxa de relaxação transversal  $R_2$ (b) em função da concentração, para os complexos em solução aquosas, obtidos com pulsos de radiofrequências de inversão-recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), utilizando  $\pi/2 = 3,1 \mu s$  e  $\pi = 6,2 \mu s$ ; Tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms; Para as medidas de  $T_2$  foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s.

Os valores de relaxatividade de  $r_1$  e  $r_2$  foram calculados através das inclinações das retas por regressão linear e são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 – Medidas das relaxatividade  $r_1$  e  $r_2$  dos complexos Gd(III) nas concentrações 5, 10, 20 e 30 mM em 20 MHz (25 °C).

<b>Complexos</b>	<b><math>r_1</math> (s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>r_2</math> (s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup>)</b>
[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	12,22	13,61
[Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	10,16	11,15
[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	8,34	8,93

A formação de micelas resulta em maior tempo de rotação molecular e é esperado um aumento na relaxatividade. No entanto, foi observada para os complexos [Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl e [Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O valores de relaxatividade próximas ao valor encontrado para os complexos quando em concentrações abaixo da CMC. Para o complexo [Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O houve uma diminuição no valor da relaxatividade que se deve a diminuição na velocidade da troca de moléculas de água ( $\tau_M$ ).

Outro fator que pode ter comprometido a relaxatividade dos complexos de Gd(III) nas concentrações acima da CMC é o tamanho dos agregados formados com diâmetros médios de 80, 254 e 388 nm para os complexos Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, [Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e [Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O, respectivamente. Provavelmente ao aumentar o tamanho do nanoagregado, menor contato foi obtido entre o íon metálico e as moléculas de água o que diminui o tempo de troca da molécula de água e, portanto menor relaxatividade.

Torres e colaboradores (2006) realizaram estudos relaxométricos de complexos anfífilicos e observaram que a automontagem dos monômeros anfífilicos conduz a um aumento modesto na relaxatividade.

## 5 ESTUDOS DE RELAXATIVIDADE DOS COMPLEXOS DE GADOLÍNIO(III) EM LIPOSSOMAS

### 5.1 Introdução

A IRM é uma técnica não invasiva que oferece imagens tridimensionais com ótima resolução. Com o desenvolvimento de agentes de contraste, o interesse em suas aplicações tem crescido nos últimos anos. Esforços têm sido realizados a fim de identificar os parâmetros mais importantes que melhoram a eficiência dos compostos paramagnéticos para atuação como agentes de contraste. As nanopartículas são o foco de intensa investigação, devido a uma ampla variedade de aplicações em áreas biomédica, ópticos e eletrônicos (DEBROYE & PARACT-VOGT, 2014).

Os lipossomas têm sido centro de interesse em relação à atuação dos agentes de contraste na RM por causa de suas múltiplas vantagens. Duas das vantagens associadas aos lipossomas são a sua biocompatibilidade e sua biodistribuição em sistemas biológicos. Estas propriedades permitem que os lipossomas possam ser utilizados para incorporação ou encapsulação dos complexos paramagnéticos para aplicação RM (GHAGHADA et al., 2009).

Complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas apresentam ser a alternativa mais viável oferecendo elevada relaxatividade e menor risco de liberação do metal potencialmente tóxico no corpo (ESTELRICH, SANCHEZ-MARTÍN, BUSQUETS, 2015).

Recentemente, complexos de Gd(III) anfifílicos com duas cadeias alifáticas no mesmo centro paramagnético foram investigados em lipossomas. Em que a presença das cadeias alifáticas de braços adjacentes de coordenação apresenta ser uma boa estratégia para o designer de lipossomas agentes para IRM, mostrando altos valores de relaxatividade longitudinal ( $r_1$ ) de 17,0 e 40,0  $\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$  (KIELAR et al, 2010; CITTADINO et al, 2013.).

Neste capítulo estão relatadas as caracterizações dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas para fins de investigação de seu potencial como agente de contraste para obtenção de imagens por RM.

## 5.2 Caracterização dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas

### 5.2.1 Medidas de tamanho de Partícula e potencial zeta

Os valores obtidos para o diâmetro médio, índice de polidispersão e potencial zeta dos complexos de Gd(III) estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Diâmetro médio, índice de polidispersão (PDI), e potencial zeta dos lipossomas contendo ou não os complexos Gd(III).

Amostras	Diâmetro (nm)	PDI	Potencial zeta (mV)
Lipossomas	166,3	0,133	-25,4
Lipo-[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	141,0	0,197	14,7
Lipo-[Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	169,4	0,083	5,4
Lipo-[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	149,4	0,296	0,676

O índice de polidispersão (PDI) reporta a distribuição do diâmetro das vesículas dentro da dispersão e varia de 0,0 para sistemas totalmente monodispersos e a 1,0 para sistemas completamente polidispersos. Logo, as preparações apresentaram uma boa homogeneidade na distribuição do diâmetro das partículas, como indicado pelo PDI.

O diâmetro médio dos lipossomas preparados foi de 166,3 nm, com um potencial zeta de -25,4 mV, o que indica que os lipossomas preparados são estáveis.

Os diâmetros médios dos complexos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O incorporados em lipossomas foi de 141, 169 e 149 nm, com um potencia zeta de 14,7, 5,4 e 0,676 mV, respectivamente.

O diâmetro médio foi, em geral, inferior a 170 nm. Os diâmetros médios dos compostos lipossomais influenciam significativamente nos seus perfis de biodistribuição, uma vez que, nanopartículas com diâmetro inferior a 70 nm são rapidamente removidas da circulação ao extravasarem, enquanto que os de diâmetro superior a



200 nm são sujeitas a mecanismos inespecíficos de filtração esplênica (ZHANG et al., 2009; ALLEN, HANSEN, MENEZES, 1995; DONG & MUMPER, 2010).

Os complexos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O incorporados em lipossomas apresentaram diâmetros que não diferem significativamente dos obtidos por Paract-Vogt et al. (2006) para os complexos anfifílicos bis-amida DTPA contendo ésteres de fenilalanina de cadeia longa (com 14, 16 e 18 átomos de carbono na cadeia alquilo).

O potencial zeta indica o grau de repulsão entre as partículas adjacentes, igualmente carregadas em dispersão. Ao incorporar os complexos de Gd (III) em lipossomas o valor do potencial zeta aumenta de -25,4 mV para 14,7 mV, devido à carga positiva dos complexos. O mesmo foi observado por Doan et al. (2014) ao estudar complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas. Estes resultados indicam que a incorporação dos complexos de Gd(III) alteram as propriedades do diâmetro de partícula e as cargas dos lipossomas.

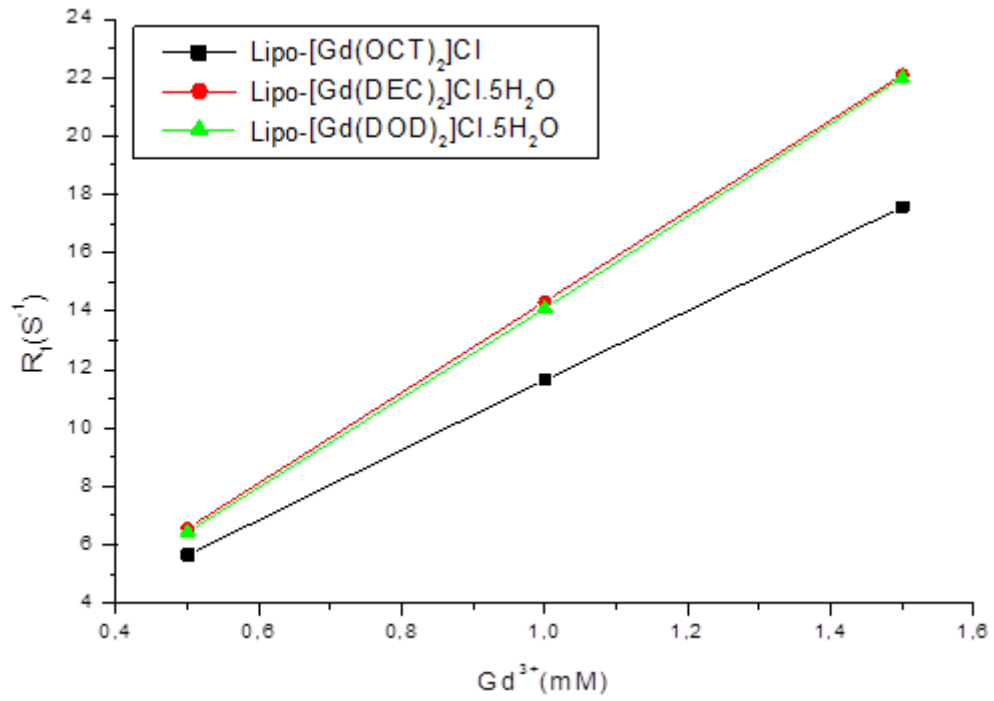
Os valores obtidos de potencial zeta dos complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas zeta indicam a formação de agregados em solução.

### 5.2.2 Efeito da incorporação dos complexos de Gd(III) em lipossomas na relaxatividade

Os complexos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O foram incorporados em lipossomas fosfatidilcolina de soja, como uma tentativa de melhorar ainda mais a relaxatividade.

Os gráficos da Figura 54 mostram as curvas da taxa de relaxação longitudinal ( $1/T_1 = R_1$ ) e a taxa de relaxação transversal ( $1/T_2 = R_2$ ) dos complexos incorporados em lipossomas Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O em solução de sacarose, em função da concentração, a 25 ° C e 0,47 T (20 MHz).

a)



b)

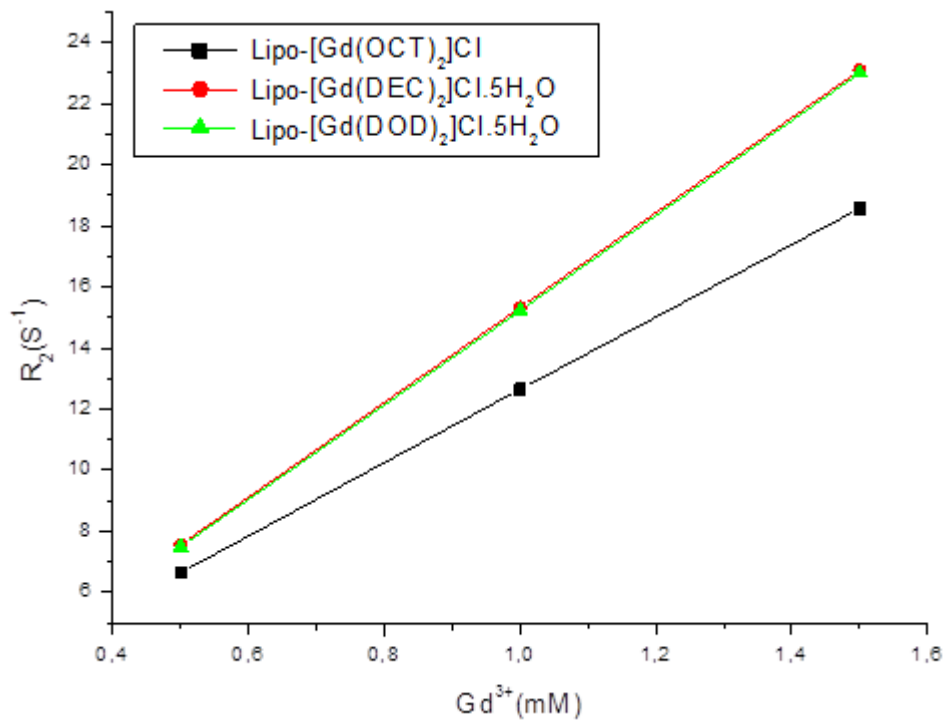


Figura 54 – Gráfico da taxa de relaxação longitudinal  $R_1$ (a) e taxa de relaxação transversal  $R_2$ (b) em função da concentração da amostra incorporada em lipossomas, obtidos com pulsos de radiofrequências de inversão-recuperação (IR) e Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG), utilizando  $\pi/2 = 3,1 \mu\text{s}$  e  $\pi = 6,2 \mu\text{s}$ ; Tempo de inversão na faixa de 10-20000 ms; Para as medidas de  $T_2$  foi utilizado tempo de eco de 2 ms e 5000 ecos e quatro varreduras com um tempo de repetição de 15 s.

Os valores de relaxatividade de  $r_1$  e  $r_2$  para os complexos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O incorporados em lipossomas foram calculados através das inclinações das retas da Figura 54 por regressão linear e são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 – Valores da relaxatividade dos complexos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O incorporados em lipossomas.

<b>Complexos</b>	<b><math>r_1(\text{s}^{-1} \text{mM}^{-1})</math></b>	<b><math>r_2(\text{s}^{-1} \text{mM}^{-1})</math></b>
Lipo-[Gd(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	11,92 ± 0,03	13,41 ± 0,05
Lipo-[Gd(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	15,53 ± 0,12	16,68 ± 0,09
Lipo-[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	15,48 ± 0,02	16,95 ± 0,03

A incorporação dos complexos Gd(III) em lipossomas contribui para um pequeno aumento na relaxatividade para o complexo Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, sendo na sua forma não incorporada apresentava relaxatividade de 11,90 para 11,92 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup>, não havendo nenhuma mudança. O efeito mais pronunciado foi obtido para os complexos Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O, mostrando um aumento de relaxatividade de 12,30 passando para aproximadamente 15,50 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> na forma incorporada em lipossomas. A relaxatividade dos complexos de Gd(III) em lipossomas mostrou aumento significativo, quando comparado aos complexos em concentrações acima da CMC. Além disso, tanto o complexo Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl e Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O apresentaram valores de relaxatividade de quase cinco vezes maior do que aqueles utilizados clinicamente ( $r_1 \sim 3,5\text{-}5,0 \text{ s}^{-1} \text{mM}^{-1}$ ).

As diferenças de relaxatividade devem-se principalmente a taxa de troca de água ligada aos complexos e dos diferentes graus de flexibilidade de rotação local. A ocorrência de movimentos de rotação global do complexo ancorado à nanopartícula representa um segundo fator relevante que limita a  $r_1$ . Os movimentos locais são geralmente mais rápidos que os movimentos de rotação global, dando origem a um movimento de rotação molecular mais curto reduzindo  $r_1$ .

A partir desta perspectiva, é esperado que os complexos Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O tenham flexibilidade rotacional reduzida onde as cadeias alifáticas são posicionados no lipossoma, portanto na forma de pinça (KAMALY & MILLER, 2010; HUANG & TSOURKAS; 2013). Logo, os baixos acoplamentos e mobilidade entre o complexo e a nanopartícula são muito relevantes e afetam significativamente a relaxação. Além disso, a exposição do metal na superfície aquosa externa da partícula facilita a interação das moléculas de água com ao centro paramagnético (PARAC-VOGT et al., 2006; MARIANO et al., 2011).

Os complexos anfifílicos incorporados em lipossomas do presente trabalho apresentaram maiores relaxatividades do que aquela obtida por Hak et al. (2009) ao incorporar o composto Gd(III)DOTA-DSPE em lipossomas e aquela obtida por Han et al. (2013) ao incorporar o composto de Gd(III) DOTA em lipossomas carregado com doxorubicina (DOX).

Kozłowska et al.,(2014) estudaram polímeros anfifílicos de Gd(III), incorporados em lipossomas. Ao avaliar estes complexos em baixa frequência (15-25 MHz), os valores de  $r_1$  estavam na faixa de 13-14 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup>, valores próximos aos encontrados para os complexos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O a 20 MHz.

Kielar et al. (2010) e Cittadino et al. (2013) mostraram que os complexos GdDOTAGAC<sub>12</sub> e GdDOTAGAC<sub>(12)</sub><sub>2</sub> em lipossomas são uma boa estratégia para melhorar a relaxatividade *in vivo* e *in vitro*, com valores que variam de 17 a 40 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> a 298K, 20 MHz(0,47 T).

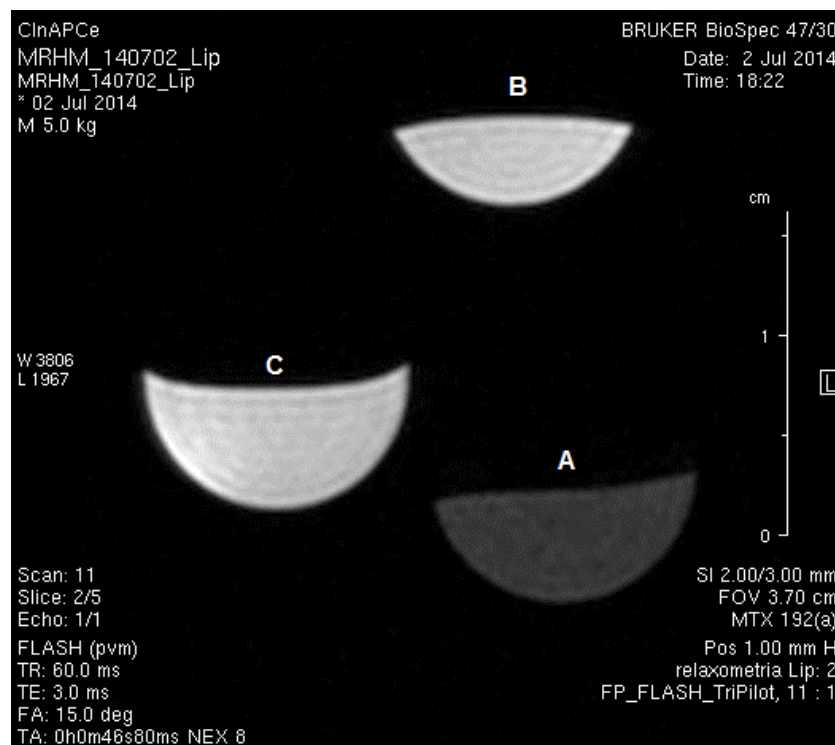
Um importante aumento na relaxatividade também foi relatada Glogard et al. (2002) ao estudarem complexos de gadolínio(III) anfifílicos incorporados em lipossomas constituído por colesterol, obteve-se uma elevada relaxatividade 51 s<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup> a 298K, 20 MHz (0,47 T).

Os complexos incorporados em lipossomas para obtenção de imagens por RM podem apresentar baixa toxicidade e segundo a literatura, complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas apresentam maior tempo de retenção no sistema circulatório e elevada biocompatibilidade, além de aumentar o contraste em ressonância magnética devido ao aumento da intensidade de sinal (LE & CUI, 2006; NA et al., 2011).

### 5.2.3 Imagens ponderadas em $T_1$ e $T_2$ para complexos de Gd(III) incorporados em lipossomas

Os complexos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl e Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl·5H<sub>2</sub>O incorporados em lipossomas foram avaliados para aplicações em RM tomando as imagens ponderadas em  $T_1$  e  $T_2$  em solução de sacarose na concentração de 1 mM, Figura 55.

a)



b)

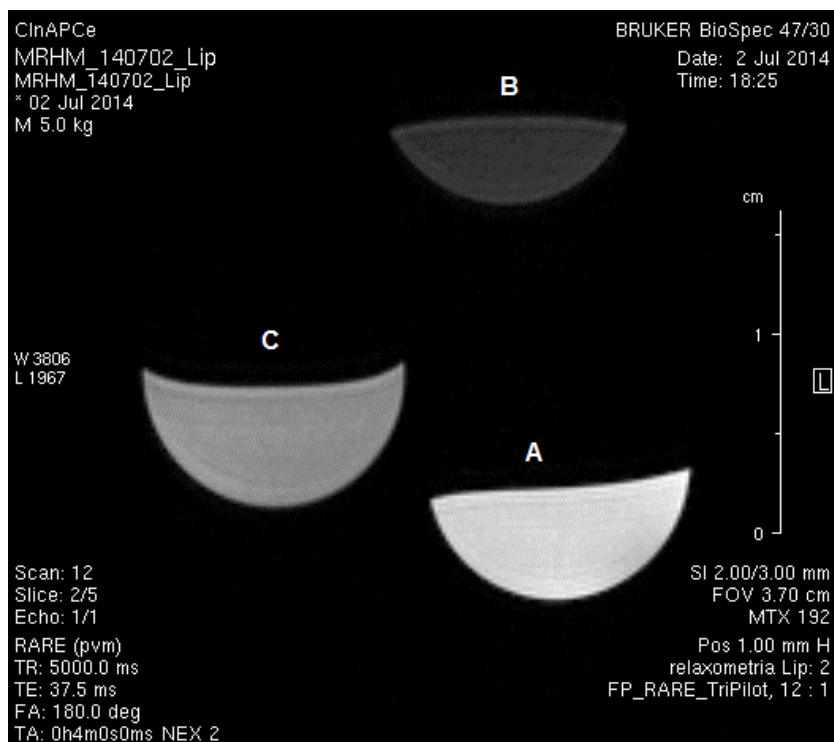


Figura 55 – Imagens ponderadas em  $T_1$ (a) e  $T_2$ (b) do agente de contraste Gd-DTPA (A); dos complexos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl (B) e Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O (C).

A Figura 55 mostra o aumento do contraste através da utilização dos complexos Gd(III) incorporados em lipossomas tanto em  $T_1$  como  $T_2$ . Os complexos Gd(III) incorporados em lipossomas apresentaram um aumento na relaxatividade de cinco vezes comparada ao complexo Gd-DTPA (agente de contraste comercial-Magnevist®) como discutidos na seção anterior. O contraste positivo em  $T_1$  e  $T_2$  confirma a viabilidade da utilização dos complexos anfífilicos Lipo-[Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, Lipo-[Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O e Lipo-[Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O, na sua forma não incorporadas em lipossomas como na forma incorporadas em lipossomas, como agentes de contraste em IRM.

## 6 CAPÍTULO V: ESTUDO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DOS COMPLEXOS DE GADOLÍNIO(III) E TÉRBIO(III)

### 6.1 Introdução

Apesar dos esforços em curso para tratar a doença, o câncer continua a ser uma das principais causas de morte no mundo. Os complexos anticancerígenos à base de metais têm atraído o interesse de químicos bioinorgânicos desde o sucesso dos compostos de platina como agentes anticancerígenos (WANG et al., 2014).

Embora, estas drogas sejam amplamente utilizadas para o tratamento de diversos tipos de cânceres, a sua eficácia clínica é comprometida por graves efeitos secundários, o que limita a dose a ser administrada ao paciente. Além disso, resistências intrínseca ou adquirida são observadas durante o tratamento (SHARMA et al., 2014; CHEN et al., 2011).

Inúmeras tentativas têm sido realizadas para a obtenção de complexos que atuem como agentes antitumorais, porém, poucos complexos foram introduzidos como fármacos antineoplásicos (SHIJU et al., 2013).

Embora o interesse dos pesquisadores por complexos lantanóides tenha sido pequeno durante décadas, um número relevante de complexos lantanóides foram sintetizados e suas citotoxicidades avaliadas, mostrando elevado potencial para atuar como agentes antitumorais, capazes de superar a resistência de alguns tumores (KOSTOVA et al., 2006; KOSTOVA et al., 2005; KOSTOVA et al., 2010).

Este capítulo apresenta a determinação da atividade citotóxica dos complexos de Tb(III) e Gd(III) em três linhagens celulares: L929 (linhagem celular de fibroblastos), B16F10 (linhagem celular de melanoma de musculus) e K562 (linhagem celular de leucemia).

Para a determinação da concentração citotóxica e a avaliação do potencial antitumoral dos complexos de Gd(III) e Tb(III) foram utilizadas três linhagens de células, sendo Fibroblastos L929 e células cancerígenas B16F10 e K562 provenientes do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ):

#### **L929**

As células L929 constituem uma linhagem celular de fibroblastos obtida de tecido subcutâneo de camundongos. As células foram cultivadas aderidas em garrafas T25 contendo meio DMEM, suplementado com 10% de soro bovino fetal. A

cultura foi mantida a 37 °C em estufa com 5% de CO<sub>2</sub>.

### **B16F10**

Esta linhagem celular é derivada de um melanoma murino. Para os testes citotóxicos as células foram cultivadas aderidas em garrafas T25 contendo meio DMEM, suplementado com 10% de soro bovino fetal. A cultura foi mantida a 37 °C em estufa com 5% de CO<sub>2</sub>.

### **K562**

Esta linhagem tem origem da medula óssea e foi isolada de um indivíduo portador de leucemia mielóide crônica. As células foram cultivadas em meio RPMI 1640, contendo L-glutamina e suplementado com 10% de soro fetal bovino a 37 °C, em atmosfera umidificada, contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

#### 6.1.1 Avaliação da citotoxicidade e atividade antitumoral pelo ensaio de MTT ((brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) dos complexos de Gd(III) e Tb(III)

Os estudos foram feitos em colaboração com os Professores Elene Pereira Maia, do Dept<sup>o</sup> de Química da UFMG e o Prof<sup>a</sup>. Miriam Tereza Lopez, do ICB da UFMG.

Para a avaliação da citotoxicidade,  $1 \times 10^5$  células mL<sup>-1</sup> de Fibroblastos L929 e B16F10 foram adicionadas em placas de cultura de 96 poços sendo incubadas em atmosfera úmida com 5% de CO<sub>2</sub> a 37 °C por 24 horas. Em seguida, diferentes concentrações dos complexos de Gd(III) e Tb(III), dos ligantes HOCT, HDEC e HDOD, e dos sais dos metais Gd(III) e Tb(III) (0,1, 0,5, 1,0, 2,0, 5,0, 10,0, 25,0 e 50,0 µM) foram adicionadas, sendo incubadas durante 72 horas.

Após os períodos de incubação, foram adicionados aos poços 10µL da solução MTT (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)]- 2,5-difeniltetrazólio) (Sigma® Co-USA) a 5mg/mL (50µg/poço). As placas foram novamente incubadas por 4 horas a 37°C com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. Após incubação, o sobrenadante foi removido e adicionou-se 100µL de dimetilsulfóxido (DMSO – Sigma® Co -USA.), para solubilizar os cristais de formazan formados no interior da mitocôndria. Posteriormente, as placas foram submetidas à leitura em um leitor ELISA (Thermo Plate TP-Reader), onde a densidade ótica foi lida em comprimento de onda de 570 nm.



O valor final da densidade ótica de cada poço foi subtraído do valor da densidade ótica de uma triplicata de poços contendo apenas DMSO. Cada concentração dos complexos foi testada em triplicata em pelo menos três experimentos independentes. Os resultados foram expressos em gráficos de porcentagem, sendo os valores do eixo y relativos ao controle, considerado como apresentando 100% de viabilidade.

Para o estudo antitumoral junto a linhagem K562,  $1 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  foram incubadas por 72 h na presença e na ausência do composto em várias concentrações, dependendo da atividade do composto. Após este período, a viabilidade das células foi verificada por exclusão com azul de Tripán, que cora somente as células mortas, e as células viáveis foram contadas em um contador de partículas.

#### 6.1.2 Concentração citotóxica ( $\text{CC}_{50}$ )

A concentração citotóxica ( $\text{CC}_{50}$ ) foi definida como àquela que gerou redução de 50% na absorbância, nos ensaios de MTT. A concentração citotóxica foi calculada utilizando software Graph Pad Prism.

#### 6.1.3 Concentração inibitória *in vitro* ( $\text{IC}_{50}$ )

A concentração inibitória ( $\text{IC}_{50}$ ) foi definida como aquela que gerou redução de 50% das células tumorais *in vitro*. A média da densidade ótica dos poços teste foi comparada com a média da densidade ótica do grupo controle para a determinação da concentração inibitória para 50% da cultura ( $\text{IC}_{50}$ ) utilizando o software Graph Pad Prism.

A  $\text{IC}_{50}$  dos complexos frente à linhagem K562 foi determinada com o auxílio do programa computacional Origin7, sendo os dados analisados com ajuste sigmoidal (Boltzmann).

#### 6.1.4 Índice de Seletividade *in vitro* (IS)

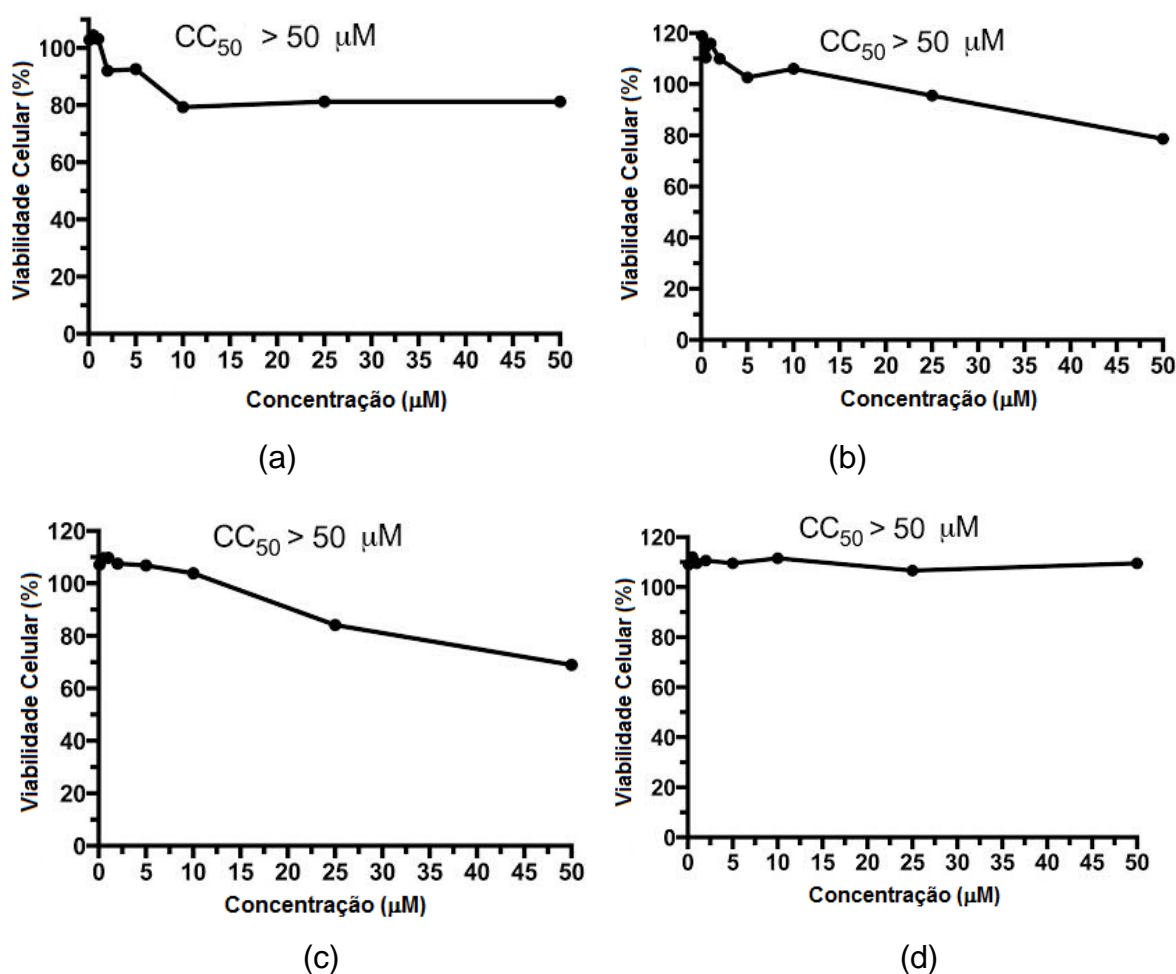
O índice de seletividade (IS) foi calculado pela razão  $\text{CC}_{50} / \text{IC}_{50}$ .

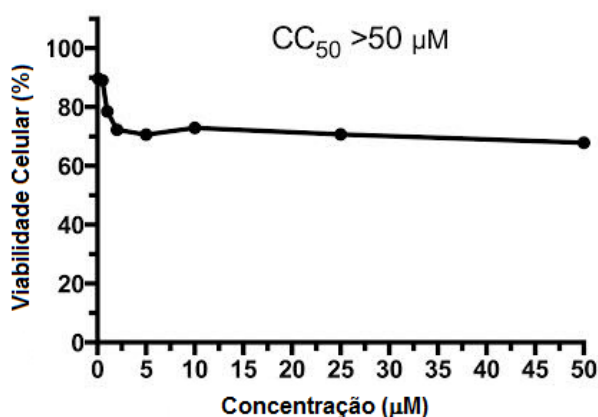
## 6.2 Concentração citotóxica dos complexos de Gd(III) e Tb(III) frente à linhagem celular Fibroblastos L929

Os complexos sintetizados foram testados quanto suas toxicidades em células normais. A citotoxicidade de um complexo refere-se à sua capacidade de ser tóxico. Complexos metálicos são utilizados para proporcionar uma diminuição da viabilidade das células, assim elas param de crescer, de se dividir e conseqüentemente morrem. A viabilidade celular pode ser facilmente avaliada através da medição da integridade da célula.

Neste trabalho optou-se por utilizar as células L929 como modelos de células saudáveis para avaliar a ação dos complexos de Tb(III) e Gd(III), sua escolha deve-se a que esta linhagem apresenta resistência elevada e fácil manipulação.

Na Figura 56 estão apresentados os efeitos citotóxicos dos ligantes HOCT, HDEC, HDOD e dos sais  $GdCl_3 \cdot 6H_2O$  e  $TbCl_3 \cdot 6H_2O$ , realizados em ensaios de MTT em linhagem de célula sadia L929, com tempo de incubação 72 h.





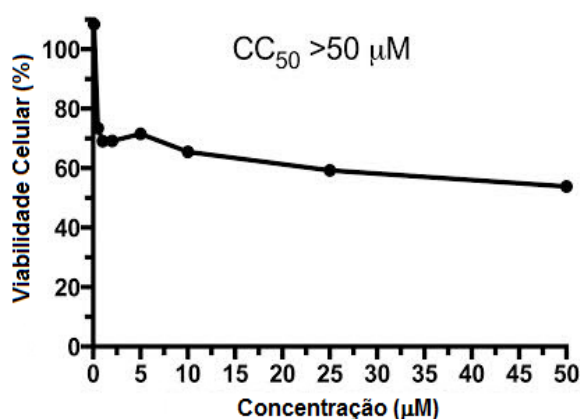
(e)

Figura 56 – Ensaio de MTT para os ligantes e os sais dos metais: (a) HOCT, (b) HDEC, (c) HDOD (d)  $GdCl_3 \cdot 6H_2O$  e (e)  $TbCl_3 \cdot 6H_2O$  em linhagem de célula sadia L929, com tempo de incubação 72 h.

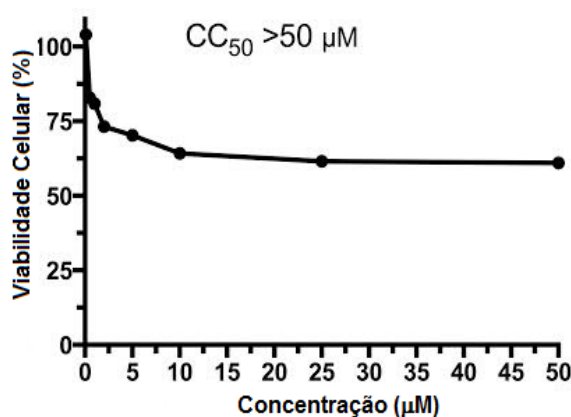
Os ligantes e os metais mostraram  $CC_{50}$  superior 50  $\mu M$  (Figura 56). Os valores de  $CC_{50}$  para ligantes e os sais dos metais frente à célula de fibroblasto L929 foram superiores ao encontrado na literatura para a cisplatina.

Na Figura 57 são apresentados os ensaios de MTT para os complexos  $[Gd(OCT)_2]Cl$ ,  $[Gd(DEC)_2]Cl \cdot 5H_2O$ ,  $[Gd(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$ ,  $[Tb(OCT)_2]Cl$ ,  $[Tb(DEC)_2]Cl \cdot 7H_2O$  e  $[Tb(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$  em linhagem de célula sadia L929, com tempo de incubação 72 h.

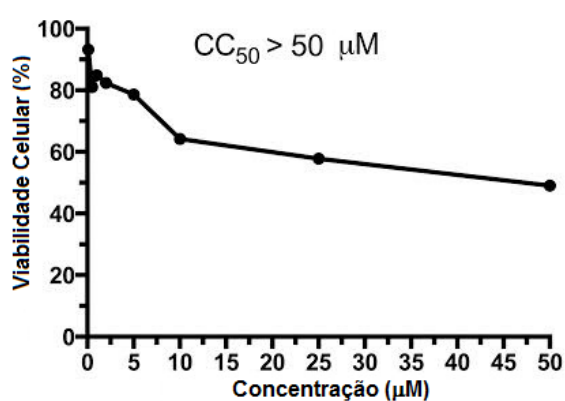
A Tabela 20 apresenta os valores da concentração citotóxica dos ligantes, dos sais dos metais e dos complexos.



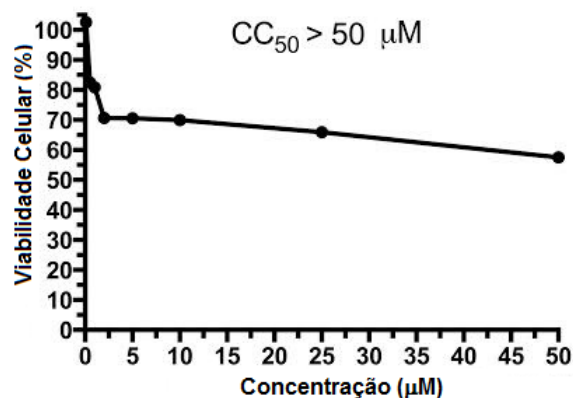
(a)



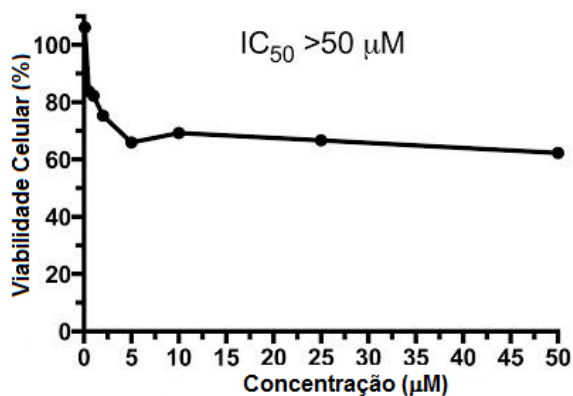
(b)



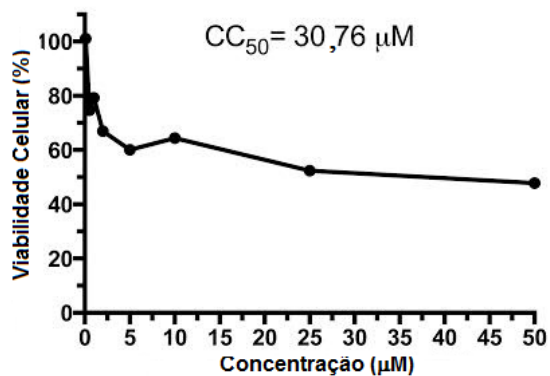
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 57 - Ensaio de MTT para os complexos (a)  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , (b)  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (c)  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (d)  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , (e)  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e (f)  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em linhagem de célula sadia L929, com tempo de incubação 72 h.

Tabela 20 – Valores de CC<sub>50</sub> dos ensaios de MTT para os ligantes, sais dos metais e os complexos em linhagem de célula sadia L929, tempo de incubação 72 h.

Compostos	Fibroblastos L929
	CC <sub>50</sub> µM
HOCT	> 50
$[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$	> 50
$[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$	> 50
HDEC	> 50
$[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	> 50
$[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	> 50

HDOD	> 50
[Gd(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	> 50
[Tb(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	30,76
GdCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	> 50
TbCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	> 50
<sup>a</sup> Cisplatina	29,05

<sup>a</sup>Lima et al., 2014.

Os valores de CC<sub>50</sub> dos complexos de Tb(III) variaram de 30,76 µM a superior a 50 µM e para os complexos de Gd(III) foram superiores a 50 µM. Os resultados mostram que o complexo [Tb(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O é o mais citotóxico para a célula L929 que os ligantes livres e os sais dos metais, com valor de CC<sub>50</sub> de 30,0 µM. Isto implica dizer que nesta concentração tem-se a morte celular das células saudáveis da linhagem celular L929. Enquanto que os demais complexos não são citotóxicos para as células normais L929 com valores CC<sub>50</sub> superiores 50 µM.

As concentrações citotóxicas para os complexos de Gd(III) foram semelhantes aos obtidos por Moghaddam et al. (2014) ao estudar os complexos Gd-DTPA-MP, Gd-DTPA-BO, Gd-DTPA-BP e Gd-DTPA-MO. Boa biocompatibilidade também foi observado por Porsio et al. (2015) ao estudar nanopartículas de gadolínio conjugado com poli (ε-caprolactona) em células de fibroblastos L929.

Comparando os valores de CC<sub>50</sub> dos complexos [Gd(OCT)<sub>2</sub>]Cl, [Gd(DEC)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O, [Gd(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O, [Tb(OCT)<sub>2</sub>]Cl e [Tb(DEC)<sub>2</sub>]Cl.7H<sub>2</sub>O com o da cisplatina, 29,05 µM, observa-se que estes têm valores superiores ao da cisplatina, mostrando desta forma uma boa atividade neste tipo de linhagem celular. Somente o complexo [Tb(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O que apresentou citotoxicidade similar à cisplatina.

### **6.3 Atividade antitumoral *in vitro* e índice de seletividade em linhagem de célula tumoral B16F10**

Para efeito de comparação também foi realizado ensaios de MTT para os ligantes e os sais dos metais em linhagem de célula tumoral B16F10, com tempo de incubação 72 h e são apresentados na Figura 58.

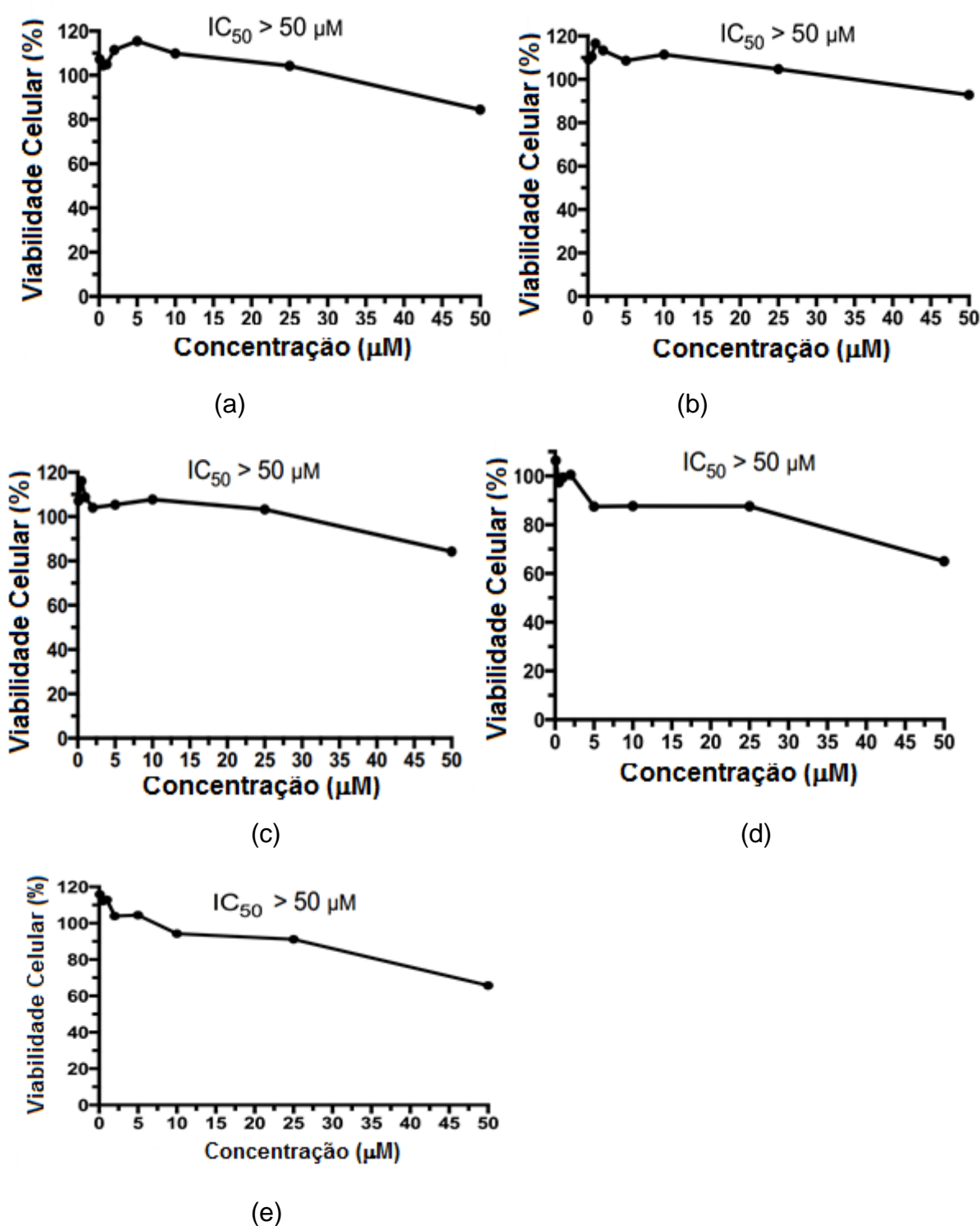
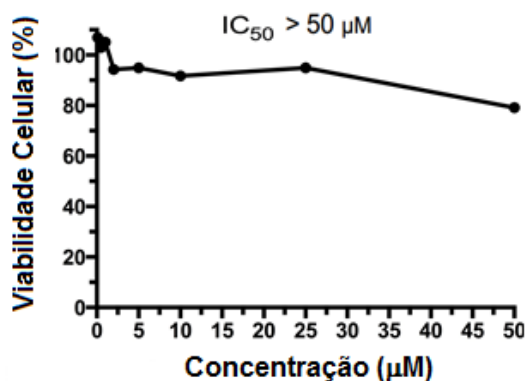


Figura 58 - Ensaio de MTT para os ligantes e os sais dos metais: (a) HOCT, (b) HDEC, (c) HDOD (d) GdCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O e (e) TbCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O em linhagem de célula tumoral B16F10, com tempo de incubação 72 h.

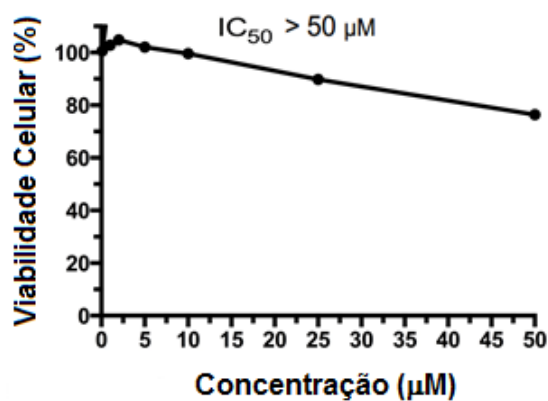
Os ligantes e os sais dos metais mostraram citotoxicidade superiores a 50 µM (Figura 58). Fazendo uma comparação da citotoxicidade da cisplatina (IC<sub>50</sub> 176

$\mu\text{M}$ ) com os ligantes e os metais observa-se para efeito de citotoxicidade em células cancerígenas é necessário doses mais altas da cisplatina.

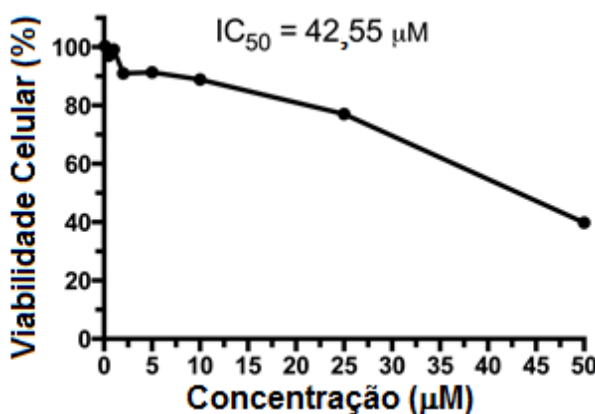
Na Figura 59 são apresentados os ensaios de MTT para os complexos em linhagem de célula tumorais B16F10, com tempo de incubação 72 h. A Tabela 21 apresenta os valores da  $\text{IC}_{50}$  dos ligantes, dos sais dos metais e dos complexos.



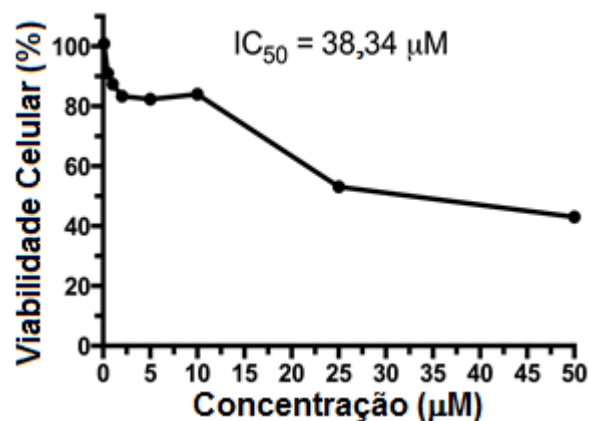
(a)



(b)



(c)



(d)

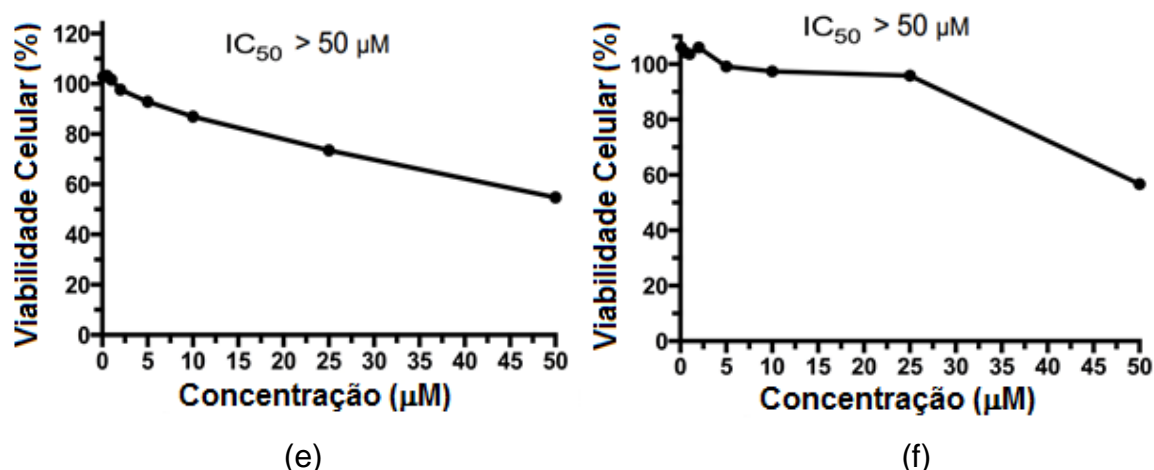


Figura 59 - Ensaio de MTT para os complexos (a)  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , (b)  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (c)  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , (d)  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ , (e)  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e (f)  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  em linhagem de célula tumoral B16F10, com tempo de incubação 72 h.

Tabela 21 - Valores de IC<sub>50</sub> dos ensaios de MTT para os ligantes, sais dos metais e os complexos em linhagem de célula tumoral B16F10, tempo de incubação 72 h.

Compostos	B16F10 IC <sub>50</sub> µM	IS
HOCT	> 50	-
$[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$	> 50	-
$[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$	38,34	-
HDEC	> 50	-
$[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	> 50	-
$[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	> 50	-
HDOD	> 50	-
$[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	42,55	-
$[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	> 50	0,57
$\text{GdCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	> 50	-
$\text{TbCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	> 50	-
Cisplatina	<sup>a</sup> 176	0,16

Os valores da IC<sub>50</sub> obtidos em linhagem B16F10 (Tabela 21) com os complexos Tb(III) variaram de 38,34 a superior 50 µM e para os complexos de Gd(III) variaram de 42,55 a superior 50 µM. Os resultados mostram que os



complexos  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  e  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  são os mais citotóxicos para as células B16F10 com valores de  $\text{IC}_{50}$  de  $38 \mu\text{M}$  a  $\text{IC}_{50}$  de  $42 \mu\text{M}$ , respectivamente. Estes resultados indicam que baixas doses destes complexos são necessárias para o efeito citotóxico em células cancerígenas.

Em geral, os complexos de Gd(III) e Tb(III), com exceção do complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , apresentaram valores de  $\text{IC}_{50}$  para as células do B16F10 inferiores aos valores obtidos para a célula de L929 (Tabela 20), evidenciando seu potencial seletivo.

Todos os complexos aqui testados (Figura 60) em células tumorais do tipo melanoma, apresentam boa atividade, principalmente  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  que apresentou um  $\text{IC}_{50}$  menor do que os dos ligantes, sais dos metais e da cisplatina.

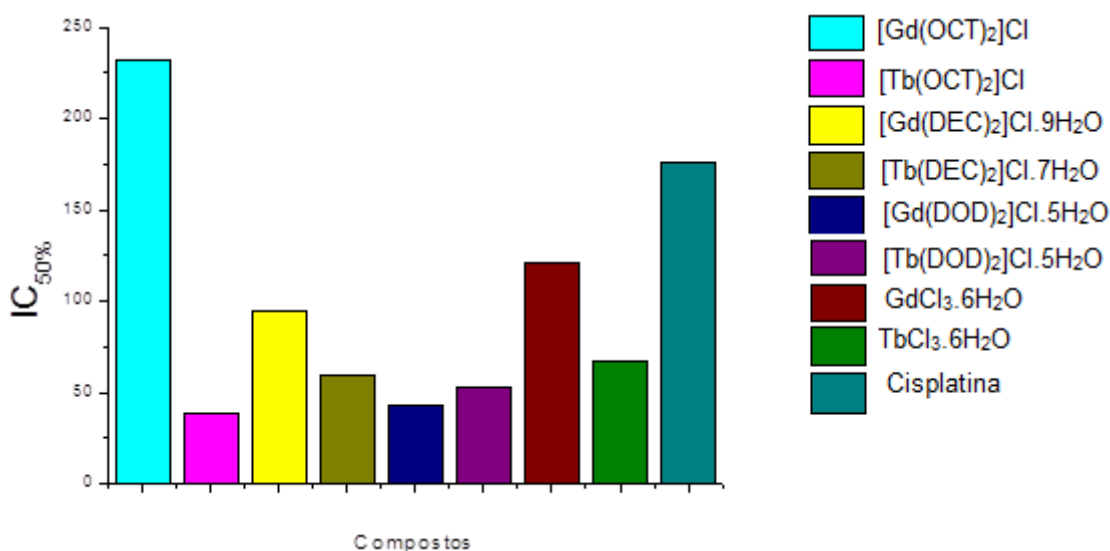


Figura 60 – Histograma  $\text{IC}_{50}$  dos metais, cisplatina e os complexos sintetizados de Gd(III) e Tb(III) em células tumorais B16F10, tempo de incubação 72 h.

Foi observado através da Tabela 21 que os complexos  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  apresentam-se com agentes **teranósticos**, uma vez que estes complexos mostram de forma simultânea a imagiologia dos tumores e terapia em único sistema.

## 6.4 Atividade antitumoral *in vitro* e índice de seletividade em linhagem de célula tumoral K562

Procuramos determinar também por ensaios colorimétricos o valor da concentração capaz de reduzir em 50% a atividade antitumoral ( $IC_{50}$ ) em linhagem celular K562 para os ligantes HOCT, HDEC, HDOD, os complexos de Tb(III) e Gd(III), com tempo de incubação 72 h os resultados são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 – Valores de  $IC_{50}$ , ensaios colorimétricos, para os ligantes, sais dos metais e os complexos em linhagem de célula tumoral K562, tempo de incubação 72 h.

Compostos	K562 $IC_{50}$ $\mu M$	IS
HOCT	Inativo	-
[Tb(OCT) <sub>2</sub> ]Cl	Inativo	-
HDEC	8,6	9,0
[Tb(DEC) <sub>2</sub> ]Cl.7H <sub>2</sub> O	2,0	-
HDOD	7,8	9,4
[Tb(DOD) <sub>2</sub> ]Cl.5H <sub>2</sub> O	1,2	25,6
TbCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	Inativo	-
Cisplatina	<sup>b</sup> 5,54	5,24

<sup>a</sup>Serrano et al., 2011. <sup>b</sup>Pantelic et al., 2014.

Os complexos de Tb(III) foram avaliados quanto a sua capacidade de reduzir o crescimento celular em 50% na linhagem tumoral K562 (Tabela 22). O complexo [Tb(OCT)<sub>2</sub>]Cl mostrou-se inativo e os complexos [Tb(DEC)<sub>2</sub>]Cl.7H<sub>2</sub>O e [Tb(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O apresentaram elevada atividade com valores que variam de 1,2 a 2,0  $\mu M$ . Estes resultados indicam que baixas doses destes complexos são necessárias para obter o efeito citotóxico nessas células cancerígenas.

Os complexos de Tb(III), com exceção do complexo [Tb(OCT)<sub>2</sub>]Cl, apresentaram valores de  $IC_{50}$ , para as células do K562, inferiores aos valores obtidos para a célula de L929 (Tabela 20), evidenciando seu potencial seletivo. Estes apresentaram elevado índice de seletividade (IS) 25,6 (Tabela 22).

Os complexos [Tb(DEC)<sub>2</sub>]Cl.7H<sub>2</sub>O e [Tb(DOD)<sub>2</sub>]Cl.5H<sub>2</sub>O se destacaram entre os complexos testados neste trabalho, por apresentarem baixo valor de  $IC_{50}$

para as células do K562 e também alto IS para as células do K562. Além disso, a concentração necessária para inibir o crescimento de 50% das células do K562 não foi capaz de inibir o crescimento das células normais, pois foi necessária uma concentração quase 30 vezes superior para que o mesmo acontecesse nas células de L929.

Os complexos  $[Tb(DEC)_2]Cl \cdot 7H_2O$  e  $[Tb(DOD)_2]Cl \cdot 5H_2O$  aqui testados como citotóxicos, em células tumorais K562, apresentam boa atividade (Figura 61) e seletividade com um  $IC_{50}$  menor que o dos ligantes, metais e da cisplatina.

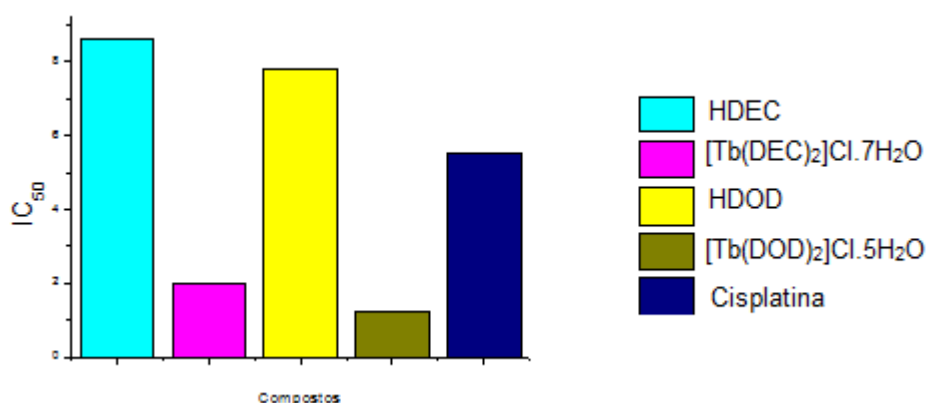


Figura 61 - Histograma  $IC_{50}$  dos metais, cisplatina e dos complexos sintetizados de Tb(III) em células tumorais K562, tempo de incubação 72 h.

Recentemente, complexos de Gd(III), La(III), Ce(III), Nd(III) e Er(III) foram testados em células tumorais K562, e a pesquisa mostrou que todos os complexos têm excelente capacidade anticancerígena contra célula tumoral K562 (DONGFANG et al., 2008).

Complexo de Tb(III) com ligantes 2-thioacetate Benzothiazole (HUSSEIN et al., 2012), 5,7-dichloro-8-quinolinoline (CHEN et al., 2013) e 5,7-dibromo-8-quinolinol (LIU et al., 2013) tem sido testado contra células tumorais MCF7 (células de câncer de mama), BEL7404 (células de carcinoma hepático), SGC7901 (células cancerígena gástricas), HeLa (células de câncer cervical humano linha celular) e A549 (células humanas de epitélio alveolar basal) tem apresentado maior potencial citotóxico do que o metalo-fármaco padrão a cisplatina. O mesmo comportamento foi observado no presente trabalho.

Reji et al. (2013), em um trabalho recente com complexos de Eu(III), Gd(III), Tb(III), Nd(III) e Sm(III) com ácido pentioacético (PTPA), mostrou seus potenciais contra as células tumorais da linhagem de câncer cervical humano linha celular (He-La) e células cancerígenas do cólon (HCT116).

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho pode-se relatar a síntese e caracterização dos complexos de coordenação, inéditos, de fórmula  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  e  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

Os complexos de térbio e gadolínio sintetizados sofreram decomposição quando aquecidos, não sendo possível determinar suas temperaturas de fusão, diferenciando-se dos ligantes utilizados, indicando uma provável formação dos complexos metálicos.

Nos seis complexos o íon metálico está coordenado ao oxigênio da hidroxila, no oxigênio da carbonila e ao nitrogênio do grupo amida, e apresentaram estequiometria 1:2, apoiados pelos estudos realizados por infravermelho, conjuntamente com análise térmica, análise elementar e espectrometria de massas. Os estudos de ressonância paramagnética de elétrons para os complexos foram significantes, pois, mostram os estados de oxidação dos íons lantanóides constituídos nas estruturas dos complexos.

O complexo de térbio com o ligante octanoil N-metil-glucamida apresentou transições típicas do íon  $\text{Tb}(\text{III})$   $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_{6,5,4,3}$  com transição hipersensível  $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$  (em torno de 545 nm que se devem as transições f-f, que estão relacionadas com a eficiência de transferência de energia metal-ligante. Este resultado indica que o complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$  mostra promissor como marcadores ópticos ou sondas fluorescentes.

Os complexos de gadolínio sintetizados foram avaliados em solução aquosa (abaixo da concentração micelar crítica) quanto as suas aplicações como agentes de contraste para obtenção de imagens por ressonância magnética. Estes foram duas vezes mais eficientes que os agentes de contraste comerciais amplamente utilizado, apresentando maior relaxatividade, portanto maior intensidade de sinal.

Os complexos de gadolínio também foram avaliados em solução aquosa (acima da concentração micelar crítica) quanto ao seu potencial para atuar como agentes de contraste. Eles apresentaram relaxatividade um pouco abaixo do valor encontrado de relaxatividade para os complexos de baixa concentração, ainda assim, com intensidade de sinal maior que os encontrados para os agentes de contraste comerciais. A diminuição na relaxatividade deve-se a formação de nanoa-

gregados que provavelmente diminui a velocidade da taxa de troca de moléculas de água.

Os complexos de gadolínio foram incorporados em lipossomas com intuito de melhorar a relaxatividade dos complexos, onde um pequeno aumento foi observado para o complexo  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ . Os complexos  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  e  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$  mostraram elevadas relaxatividades quando comparados com os mesmos na forma não incorporada e em concentrações acima da concentração micelar crítica.

Tanto os complexos de gadolínio na forma não incorporadas como na forma incorporadas em lipossomas foram avaliados quanto ao seu contraste em solução aquosa que mostrou claramente maior brilho nas imagens ponderadas em  $T_1$  obtidas com os nossos complexos em comparação com o agente de contraste comercial Gd-DTPA.

Os complexos de gadolínio e térbio foram avaliados quanto à citotoxicidade em células saudáveis (L929) e em células tumorais (B16F10 e K562). Foi observado que os complexos sintetizados se apresentaram menor citotóxicos para as células saudáveis em comparação ao metalo-fármaco cisplatina. Os complexos de térbio e gadolínio apresentaram elevado potencial frente às células tumorais em comparação com o metalo-fármaco padrão empregado no tratamento do câncer.

Finalmente, pode-se concluir que os objetivos principais deste projeto foram atingidos, pois, sintetizaram-se, e caracterizaram-se seis complexos formados entre os ligantes octanoil N-metil-glucamida (HOCT), decanoil N-metil-glucamida (HDEC) e dodecanoil N-metil-glucamida (HDOD) com íons lantanóides Tb(III) e Gd(III) e verificou-se, que os complexos de gadolínio e térbio tem grande potencialidade para atuar como antitumoral, além disso os complexos de gadolínio têm grande potencialidade para atuar como agentes de contraste.

## 7.1 Perspectivas futuras

- Obtenção de Imagens em Ressonância Magnética dos complexos de gadolínio *in vivo*.
- Obtenção de Imagens em Ressonância Magnética dos complexos de gadolínio incorporados em lipossomas *in vivo*.
- Estudo do potencial teranóstico dos complexos obtidos, livres e incorporados em lipossomas.
- Obtenção de novas formulações lipossomais de complexos de gadolínio visando o aumento da relaxatividade.
- Estudo de luminescência dos complexos de térbio incorporados em lipossomas.
- Obtenção de complexos ternários a partir dos complexos de térbio com os derivados do alquilmetilglucamida visando o efeito luminescente em solução aquosa através do efeito antena.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRÃO, A. **Química e tecnologia das terras-raras**. Rio de Janeiro: CETEM/CNPq, página 212, 1994.
- ABU-ALFA, A. K. **Nephrogenic Systemic Fibrosis and Gadolinium-Based Contrast Agents**. *Chronic Kidney Disease*, volume 18, páginas 188-198, 2011.
- ACCARDO, A; GIANOLIO, E; ARENA, F; BARNET, S. SCHUBERT, R; TESAURO, D; MORELLI, G. **Nanostructures based on monoolein or diolein and amphiphilic gadolinium complexes as MRI contrast agents**. *Journal Materials Chemistry B*, volume 1, páginas 617–628, 2013.
- ACCARDO, A; MORISCO, A; GIANOLIO, E; TESAURO, D; MANGIAPIA, G; RADULESCU, A; BRANDTE, A; MORELLIA, G. **Nanoparticles containing octreotide peptides and gadolinium complexes for MRI applications**. *Journal of Peptide Science*, volume 17, páginas 154–162, 2011.
- ACCARDO, A; TESAURO, D; ALOJ, L; PEDONEA, C; MORELLI, G. **Supramolecular aggregates containing lipophilic Gd(III) complexes as contrast agents in MRI**. *Coordination Chemistry Reviews*, volume 253, páginas 2193–2213, 2009.
- AHMED, Z; IFTIKHAR, K. **Synthesis, luminescence and NMR studies of lanthanide (III) complexes with hexafluoroacetylacetone and phenanthroline. Part II**. *Inorganic Chemical Acta*, volume 392, páginas 165-176, 2012.
- AIME, S; CRICH, S. G; GIANOLIO, E; GIOVENZANA, G. B; TEIA, L; TERRENO, E. **High sensitivity lanthanide(III) based probes for MR-medical imaging**. *Coordination Chemistry Reviews*, volume 250, páginas 1562–1579, 2006.
- ALGHOOOL, S; ZOROMBA, M. S; EI-HALIM, H. F. A. **Lanthanide amino acid Schiff base complexes: synthesis, spectroscopic characterization, physical properties and *in vitro* antimicrobial studies**. *Journal of rare earths*, volume 31, página 715, 2013.
- ALLEN, T; HANSEN, C. B; MENEZES, D. E. L. **Pharmacokinetics of long-circulating liposomes**. *Advanced Drug Delivery Reviews*, volume 16, páginas 267-284, 1995.
- AMIN, A; BURATOVICH, M. A. **New Platinum and Ruthenium Complexes – the Latest Class of Potential Chemotherapeutic Drugs – a Review of Recent Developments in the Field**. *Medicinal Chemistry*, volume 9, páginas 1489-1503, 2009.

- AN, B; GONG, M; CHEAH, K; ZHANG, J; LI, K. **Synthesis and bright luminescence of lanthanide (Eu(III), Tb(III)) complexes sensitized with a novel organic ligand.** *Chemical Physics Letters*, volume 385, páginas 345-350, 2004.
- ANDRADE, F. D; NETTO, A. M; COLNAGO, L. A. **Use of Carr–Purcell pulse sequence with low refocusing flip angle to measure T1 and T2 in a single experiment.** *Journal of Magnetic Resonance*, volume 214, páginas 184–188, 2012.
- ANOOP, M. R; BINIL, P. S; SUMA, S; SUDARSANAKUMAR, M. R. **Synthesis and spectral lanthanide complexes with 1,2-difenyl-4-butyl-3,5-pyrazolidieone: Luminescent property of Tb(III) complex.** *Journal of Rare Earths*, volume 30, páginas 709-715, 2012.
- ANTUNES, O. A. C; WARDELL, J. L; PIMENTEL, L. C. F. **The importance of lanthanide complexes for magnetic nuclear resonance diagnostic.** *Revista Brasileira de Farmacologia*, volume 89, páginas 117-120, 2008.
- ARMELAO, L; QUICI, S; BARIGELLETTI, F; ACCORSI, G; BOTTARO, G; CAVAZZINI, M; TONDELLO, E. **Design of luminescent lanthanide complexes: From molecules to highly efficient photo-emitting materials.** *Coordination Chemistry Reviews*, volume 254, páginas 487-505, 2010.
- BAHADORI, F; DAG, A; DURMAZ, H; CAZIR, N; ONYUKEL, H; TUNCA, U; TOPCU, G; HIZAL, G. **Synthesis and Characterization of Biodegradable Amphiphilic Star and Y-Shaped Block Copolymers as Potential Carriers for Vinorelbine.** *Polymers*, volume 6, páginas 214-242, 2014.
- BATISTA, C. M; CARVALHO, C. M. B; MAGALHÃES, N. S. S. **Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, volume 43, páginas 167-179, 2007.
- BENNETT, K. M; JO, J; CABRAL, H; BAKALOVA, R; AOKI, I. **MR imaging techniques for nano-pathophysiology and theranostics.** *Advanced Drug Delivery Reviews*, volume 74, páginas 75-94, 2014.
- BERTINI, I; BIANCHI, F; CALORINI, L; COLAGRANDE, S; FRAGAI, M; FRANCHI, A; GALLO, O; GAVAZZI, C; LUCHINAT, C. **Persistent contrast enhancement by sterically stabilized paramagnetic liposomes in murine melanoma.** *Magnetic Resonance in Medicine*, volume 52, 669–672, 2004.
- BIBA, F; GROESSL, M; EGGER, A; ROLLER, A; HARTINGER, CG; KEPPLER, BK. **New insights into the chemistry of the antineoplastic lanthanum complex**



**tris(1,10-phenanthroline)tris(thiocyanato-Kn)lanthanum(III) (KP772) and its interaction with biomolecules.** European Journal of Inorganic Chemistry, volume 28, páginas 4282-4287, 2009.

BIERSACK, B; DIETRICH, A; ZOLDAKOVA, M; KALINOWSKI, B; PASCHKE, R; SCHOBERT, R; MUELLER, T. **Lipophilic Pt(II) complexes with selective efficacy against cisplatin-resistant testicular cancer cells.** Journal of Inorganic Biochemistry, volume 105, páginas 1630–1637, 2011.

BINNEMANS, K; JONES, P. T; BLANPAIN, B; GERVEN, T. V; YANG, Y; WALTON, A; BUCHERT, M. **Recycling of rare earths: a critical review.** Journal of Cleaner Production, volume 51, páginas 1-22, 2013.

BUNZLI, J; PIGUET, C. **Taking advantage of luminescent lanthanide ions.** Chemical Society Reviews, volume 34, páginas 1048–1077, 2005.

BUONO-CORE, G. E; LI, H. **Quenching of exciteid states by lanthanide ions and chelates in solution.** Coordination Chemistry Reviews, volume 99, páginas 55-87, 1990.

CAIRES, F. J; GIGANTE, A. C; GOMES, D. J. C; TREU-FILHO, O; LONASHIRO, M. **Synthesis, thermal behavior and spectroscopic study of trivalent lanthanide and yttrium(III)  $\alpha$ -hydroxyisobutyrate, in solid state.** Thermochemica Acta, volume 569, páginas 8-16, 2013.

CARAVAN, P; FARRARA, C. T; FRULLANO, L; UPPALA, R. **Influence of molecular parameters and increasing magnetic field strength on relaxivity of gadolinium- and manganese-based T1 contrast agents.** Contrast Media & molecular Imaging, volume 4, páginas 89–100, 2009.

CARAVAN, P; ZHANG. **Structure–Relaxivity Relationships among Targeted MR Contrast Agents.** European Journal of Inorganic Chemistry, páginas 1916–1923, 2012.

CHEN, Y; LI, H; YUE, B; LIU, Y; CHU, H; ZHAO, Y. **Synthesis, characterization and luminescent property of metal-ion-doped terbium complexes of 2,3-Pyrazinedicarboxylate.** Journal of Luminescence, volume 132, páginas 1414-1419, 2012.

CHEN, Z; GU, Y; SONG, X; LIU, Y; PENG, Y; LIANG, H. **Synthesis, crystal structure, cytotoxicity and DNA interaction of 5,7-dichloro-8-quinolinolato-lanthanides.** European Journal of Medicinal Chemistry, volume 59, páginas 194-

202, 2013.

CHONG, H; SONG, H. A; LIM, S; MACRENARIS, K; MA, XIANG; BUI, L. P; MEADE, T. **A novel cholic acid-based contrast enhancement agent for targeted MRI.** Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, volume 18, páginas 2505–2508, 2008.

CITTADINO, E; BOTTA, M; TEI, LORENZO, T; KIELAR, F; STEFANIA, R; CHIAVAZZA, E; AIME, S; TERRENO, E. **In Vivo Magnetic Resonance Imaging Detection of Paramagnetic Liposomes Loaded with Amphiphilic Gadolinium(III) Complexes: Impact of Molecular Structure.** ChemPlusChem, páginas 1 – 12, 2013.

COURANT, T; ROULLIN, G. V; CADIOU, C; CALLEWAERT, M; ANDRY, M. C; PORTEFAIX, C; HOEFFEL, C; GOLTSTEIN, M. PORT, M; LAURENT, S; ELST, L. V; MULLER, R. N; MOLINARI, M; CHUBURU, F. **Biocompatible nanoparticles and gadolinium complexes for MRI applications.** Comptes Rendus Chimie, volume 16, páginas 531-539, 2013.

CUI, Y.; YUE, Y.; QUIAN, G.; CHEN, B. **Luminescent functional metal-organic frameworks.** Chemical Reviews, volume 112, páginas 1126–1162, 2012.

DAMADIAN, R. **Tumor Detection by Nuclear Magnetic Resonance.** American Association for the advancement of science, volume 171, páginas 1151-1153, 1971.

DAS, N; DAS, D. **Recovery of rare earth metals through biosorption: An overview.** Journal of rare earths, volume 31, páginas 933-943, 2013.

DASARI, S; TCHOUNWOU, P. B. **Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action.** European Journal of Pharmacology, volume 740, páginas 364–378, 2014.

DAVIES, G; KRAMBERGER, I; DAVIS, J. J. **Environmentally responsive MRI contrast agents.** Chemical Communications, volume 49, páginas 9704 – 9721, 2013.

DEBROYE, E; PARAC-VOGT, T. **Towards polymetallic lanthanide complexes as dual contrast agents for magnetic resonance and optical imaging.** Chemical Society Reviews, volume 43, página 8178, 2014.

DOAN, B; CRAUSTE-MANCIET, S; BOURGAUX, C; DHOTAL, H; JUGE, L; BROSSARD, D; SCHERMAN, D; BESSODES, M; CHARLES-ANDRE, C; MIGNET, N. **Lipidic spherulites as magnetic resonance imaging contrast agents.** New Journal

of Chemistry, volume 38, páginas 5190—5197, 2014.

DONG, X; MUMPER, R. **Nanomedicinal strategies to treat multidrug-resistant tumors: current progress.** *Nanomedicine (Lond)*, volume 5, páginas 597–615, 2010.

DONGFANG, X; SHUZSHI, M; GUANGYING, D; QIZHUANG, H; DAZHI, S. **Synthesis, characterization, and anticancer properties of rare earth complexes with Schiff base and o-phenanthroline.** *Journal of Rare Earths*, volume 26, páginas 643-647, 2008.

EBADIAM-BAGHER, H; PAUDYAL, R; NAGARAJA, T. N; CROXEN, R. L; FENSTERMACHER, J. D; EWIG, J. R. **MRI estimation of gadolinium and albumin effects on water proton.** *NeuroImage*, volume 54, páginas S176–S179, 2011.

ESTELRICH, J; SANCHEZ-MARTÍN, M. J; BUSQUETS, M. A. **Nanoparticles in magnetic resonance imaging: from simple to dual contrast agents.** *International Journal of Nanomedicine*, volume 10, páginas 1727–1741, 2015.

European Medicines Agency. **Human Medicines Development and Evaluation.** EMEA, 486286, 2012.

FANG, C; ZHANG, M. **Nanoparticle-based theragnostics: Integrating diagnostic and therapeutic potentials in nanomedicine.** *Journal of Controlled Release*, volume 146, páginas 2–5, 2010.

FERNANDES, F. R; FERREIRA, W. A; CAMPOS, M. A; RAMOS, G. S; KATO, K. C; ALMEIDA, G. G; CORREIA JUNIOR, J. D; MELO, M. N; DEMICHELI, C; FREZARD, F. **Amphiphilic Antimony(V) Complexes for Oral Treatment of Visceral Leishmaniasis.** *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, volume 57, páginas 4229–4236, 2013.

FERROUD, C; BORDERIES, H; LASRI, E; GUY, A; PORT, M. **Synthesis of a novel amphiphilic GdPCTA-[12] derivative as a potential contrast MRI agent.** *Tetrahedron Letters*, volume 49, páginas 5972-5975, 2008.

FRICKER, S. P. **The therapeutic application of lanthanides.** *Chemical Society Reviews*, volume 35, 524–533, 2006.

GALLARDO, H; CONTE, G; BORTOLUZZI, A. J; BECHTOLD, I. H; PEREIRA, A; QUIRINO, G. W; LEGNANI, C; CREMONA, M. **Synthesis, structural characterization, and photo and electroluminescence of a novel terbium(III) complex: {Tris(acetylacetonate) [1,2,5]thiadiazolo[3,4-f][1,10] phenanthro-**

- line}terbium(III)**. *Inorganica Chimica Acta*, volume 365, páginas 152-158, 2011.
- GEARY, W. J. **The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds**. *Coordination Chemistry Reviews*, volume 7, páginas 81-122, 1971.
- GERALDES, C. F. G. C; LAURENT, S. **Classification and basic properties of contrast agents for magnetic resonance imaging**. *Contrast Media & Molecular Imaging*, volume 4, páginas 1–23, 2009.
- Geraldes, C. F. G. C; Urbano, A. M; Alpoim, M. C; SHERRY, A. D; KUAN, K. T; RAJAGOPALAN, R; MATON, F; MULLER, R. N. **Preparation, physico-chemical characterization, and relaxometry studies of various gadolinium (III)-DTPA-bis(amide) derivatives as potential magnetic resonance contrast agents**. *Magnetic Resonance Imaging*, volume 13, número 3, páginas 401-420, 1995
- GEVA, T. **Magnetic Resonance Imaging: Historical Perspective**. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, volume 8, páginas 573–580, 2006.
- GHAGHADA, K. B; RAVOORI, M; SABAPATHY, D; BANKSON, J. KUNDRA, V; ANAPRAGADA, A. **New Dual Mode Gadolinium Nanoparticle Contrast Agent for Magnetic Resonance Imaging**. *Plos one*, volume 4, página e7628, 2009.
- GIGANTE, A. C; GOMES, D. J. C; LIMA, L. S; CAIRES, F. J; TREU-FILHO, O; IONASHIRO, M. **Synthesis, thermal properties and spectroscopic study of solid mandelate of light trivalent lanthanides**. *Thermochimica Acta*, volume 536, páginas 6-14, 2012.
- GIOVENZANA, G. B; NEGRI, R; ROLLA, G. A; TEI, L. **Gd-Aminoethyl-DO3A Complexes: A Novel Class of Ph-Sensitive MRI Contrast Agents**. *European Journal of Inorganic Chemistry*, páginas 2035–2039, 2012.
- GLØGÅRD, C; HOVLAN, R; FOSSHEIM, S. L; AASEN, A. J; KLAVENESS, J. J. **Synthesis and physicochemical characterization of new amphiphilic gadolinium DO3A complexes as contrast agents for MRI**. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, volume 2, página 1047, 2000.
- GLOGARD, C; STENSRUD, G; HOVLAND, R; FOSSHEIM, S. L; KLAVENEE, J. **Liposomes as carriers of amphiphilic gadolinium chelates: the effect of membrane composition on incorporation efficacy and *in vitro* relaxivity**. *International Journal of Pharmaceutics*, volume 233, páginas 131–140, 2002.

- GROGNA, M; CLOOTS, R; LUXEN, A; JÉRÔME, C; PASSARINE, C; LAUTRAM, ; DESREUXE, J; DETREMBLEUR, C. **Polymer micelles decorated by gadolinium complexes as MRI blood contrast agents: design, synthesis and properties.** *Polymer Chemistry*, volume 1, páginas 1485–1490, 2010.
- GUDASI, K. B; HAVANUR, V. C; PATIL, S. A; PATIL, B. R. **Antimicrobial Study of Newly Synthesized Lanthanide(III) Complexes of 2-[2-hydroxy-3-methoxyphenyl]-3-[2-hydroxy-3-methoxybenzylamino]-1,2-dihydroquinazolin-4(3H)-one.** *Metal-Based Drugs*. Doi:10.1155/2007/37348, 2007.
- GUO, S; MIAO, L; WANG, Y; HUANG, L. **Unmodified drug used as a material to construct nanoparticles: delivery of cisplatin for enhanced anti-cancer therapy.** *Journal of Controlled Release*, volume 174, páginas 137–142, 2014.
- GUPTA, A; STAIT-GARDNER, T; CAMPO, L; WADDINGTON, L. J; KIRBY, N; PRICE, W. S; MOGHADDAM, M. J. **Nanoassemblies of Gd–DTPA–monooleyl and glycerol monooleate amphiphiles as potential MRI contrast agents.** *Journal of Materials Chemistry B*, volume 2, páginas 1225-1233, 2014.
- HAGE, M. C. F. N. S; IWASAKI, M. **Imagem por Ressonância Magnética: Princípios básicos.** *Ciência Rural*, volume 39, páginas 1287-1295, 2009.
- HAK, S; SANDERS, H. M. H. F; AGRAWAL, P; LANGEREIS, S; GRULL, H; KEIZER, H. M; ARENA, F; TERRENO, E; STRIJKERS, G. J; NICOLAY, K. **A high relaxivity Gd(III)DOTA-DSPE-based liposomal contrast agent for magnetic resonance imaging.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, volume 72, páginas 397–404, 2009.
- HAN, H. D; JUNG, S. H; SEONG, H; CHO, S. H; SHIN, B. C. **Dual Functional Gd(III)-DOTA Liposomes for Cancer Therapy and Diagnosis as a Theragnostic Carrier.** *Journal. Bulletin of the Korean Chemical Society*, volume 34, páginas 154-158, 2013.
- HATZIPANAYIOTI, D; VENERIS, D. **Preparation, spectroscopic and high field NMR relaxometry studies of gadolinium (III) complexes with the asymmetric tetraamine 1,4,7,11-tetraazaundecane.** *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, volume 74, páginas 363–369, 2009.
- HENOUMONT, C; HENROTTE, V; LAURENT, S; ELST, L. V; MULLER, R. N. **Synthesis of a new gadolinium complex with a high affinity for human serum albumin and its manifold physicochemical characterization by proton relaxation**

**rate analysis, NMR diffusometry and electrospray mass spectrometry.** Journal of Inorganic Biochemistry, volume 102, páginas 721–730, 2008.

HERMANN, P; KOTEK, J; KUBICEK, V; LUKES, I. **Gadolinium(III) complexes as MRI contrast agents: ligand design and properties of the complexes.** Dalton Transactions, páginas 3027-3047, 2008.

HEYMSFIELD, S. B. **Development of imaging methods to assess adiposity and metabolism.** International Journal of Obesity, volume 32, páginas S76–S82, 2008.

HINATSU, Y. **Magnetic Susceptibility and Electron Paramagnetic Resonance Studies of Tetravalent Terbium Ions in BaTbO<sub>3</sub>, and SrTbO<sub>3</sub>.** Journal of Solid State Chemistry, volume 100, páginas 136-140, 1992.

HUANG, C; TSOURKAS, A. **Gd-based macromolecules and nanoparticles as magnetic resonance contrast agents for molecular imaging.** Current Topics in Medicinal Chemistry, volume 13, páginas 411–421, 2013.

HUSSEIN, B. H. M; AZAAB, H. A; EI-AZAAB, M. F; EI-FALOUJI, A; I. **A novel anti-tumor agent, Ln(III) 2-thioacetate benzothiazole induces anti-angiogenic effect and cell death in cancer cell lines.** European Journal of Medicinal Chemistry, volume 51, páginas 99-109, 2012.

HUSSEIN, B. H. M; AZAB, H. A; FATHALLA, W; SHERIN, A. M. **Synthesis of novel fluorescent probe Tb(III)-7-carboxymethoxy-4-methylcoumarin complex for sensing of DNA.** Journal of Luminescence, volume 134, página 441-446, 2013.

JORDENS, A; CHENG, Y. P; WATERS, K. E. **A review of the beneficiation of rare earth element bearing minerals.** Minerals Engineering, volume 41, páginas 97–114, 2013.

JUNIOR, J. E; SANTOS, A. C; KOENIGKAM, M. S; BARBOSA, M. H. N; MUGLIA, V. F. **Complicações do uso intravenoso de agentes de contraste à base de gadolínio para ressonância magnética.** Radiologia Brasileira, volume 4, páginas 263–267, 2008

KABALKA, G. W; BUONOCORE, E; HUBNER, K; DAVIS, M; HUANG, L. **Gadolinium-labeled liposomes containing paramagnetic amphipathic agents – targeted MRI contrast agents for the liver.** Magnetic Resonance in Medicine, volume 8, páginas 89–95, 1988.

KAMALY, N; MILLER, A. D. **Paramagnetic Liposome Nanoparticles for Cellular**

**and Tumour Imaging.** International Journal of Molecular Sciences, volume 11, páginas 1759-1776, 2010.

KASALA, T. S; LIN, t; CHEN, C; KAO, C; CHENG, T. L; WANG, Y. [Gd (Try-TTDA) (H<sub>2</sub>O)]<sup>2-</sup> : **A new MRI contrast agent for copper ion sensing.** Dalton Transactions, volume 40, páginas 5018-5025, 2011.

KAUFFMAN, G. **Nobel Prize for MRI Imaging Denied to Raymond V. Damadian a Decade Ago.** The Chemical Educator, volume 19, 73–90, 2014.

KHORASANI-MOTLAGH, M; NOROOZIFAR, M; NIROOMAND, S; MOODI, A. **Photoluminescence studies of a Terbium(III) complex as a fluorescent probe for DNA detection.** Journal of Luminescence, volume 143, páginas 56-62, 2013.

KIELAR, F; TEI, L; TERRENO, E; BOTTA, M. **Large Relaxivity Enhancement of Paramagnetic Lipid Nanoparticles by Restricting the Local Motions of the Gd<sup>III</sup> Chelates.** Journal of the American Society, volume 132, páginas 7836–7837, 2010.

KIM, J. K; CHOI, K; LEE, M; JO, M; KIM, S. **Molecular imaging of a cancer-targeting theragnostics probe using a nucleolin aptamer- and microRNA-221 molecular beacon-conjugated nanoparticle.** Biomaterials, volume 33, páginas 207-217, 2012.

KIM, K. S; PARK, W; HU, J; BAE, Y. H; NA, K. **A cancer-recognizable MRI contrast agents using Ph-responsive polymeric micelle.** Biomaterials, volume 35, páginas 337-343, 2014.

KOSTOVA, I; KOSTOVA, R; MOMEKOV, G; TRENDAFILOVA, N; KARAIVANOVA, M. **Antineoplastic activity of new lanthanide (cerium, lanthanum and neodymium) complex compounds.** Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, volume 18, páginas 219–226, 2005.

KOSTOVA, I; MOMEKOV, G. **New cerium(III) complexes of coumarins e Synthesis, characterization and cytotoxicity evaluation.** European Journal of Medicinal Chemistry, volume 43, páginas 178-188, 2008.

KOSTOVA, I; STEFANOVA, T. **Synthesis, characterization and cytotoxic/cytostatic activity of La(III) and Dy(III) complexes.** Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, volume 24, páginas 7-13, 2010.

- KOSTOVA, I; TRENDAAFILOVA, N; MOMEKOVC, G. **Theoretical, spectral characterization and antineoplastic activity of new lanthanide complexes.** Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, volume 22, páginas 100-111, 2008.
- KOZLOWSKA, D; BISWAS, S; FOX, E. K; WU, B; BOLSTER, F; EDUPUGANTI, O. P; TORCHILIN, V; EUSTACE, S; BOTTA, M; O'KENEDY, R; BROUGHAM, D. F. **Gadolinium-loaded polychelating amphiphilic polymer as an enhanced MRI contrast agent for human multiple myeloma and non Hodgkin's lymphoma (human Burkitt's lymphoma).** Royal Society of Chemistry-Advances, volume 4, páginas 18007–18016, 2014.
- KOZLOWSKA, D; FORAN, P; MACMAHON, P; SHELLY, M. J; EUSTACE, S; O'KENEDY, R. **Molecular and magnetic resonance imaging: The value of immunoliposomes.** Advanced Drug Delivery Reviews, volume 61, páginas 1402–1411, 2009.
- LAURENT, S; HENOUMONT, C; ELST, L. V; MULLER, R. **Synthesis and Physico-chemical Characterisation of Gd-DTPA Derivatives as Contrast Agents for MRI.** European Journal of Inorganic Chemistry, páginas 1889–1915, 2012.
- LAUTERBUR, P. C. **Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance.** Nature, volume 242, páginas 190-191, 1973.
- LE, U. M; CUI, Z. **Long-circulating gadolinium-encapsulated liposomes for potential application in tumor neutron capture therapy.** International Journal of Pharmaceutics, volume 312, páginas 105-112, 2006.
- LI, Y; BEIJA, M; LAURENT, S; ELST, L. V; MULLER, R. N; DUONG, H. T. T. **Macromolecular Ligands for Gadolinium MRI Contrast Agents.** Macromolecules volume 45, páginas 4196–4204, 2012.
- LIANG, X; CHEN, C; ZHAO, Y; WANG, P. **Circumventing Tumor Resistance to Chemotherapy by Nanotechnology.** Methods in Molecular Biology, volume 596, páginas 467–488, 2010.
- LIMA, A. P; PEREIRA, F. C; ALMEIDA, M. A. P; SANTOS, F. M; PIRES, W. C; PINTO, T. M; DELELLA, F. K; FELISBINO, S. L; MORENO, V; BATISTA, A. A; LACERDA, E. P. S. **Cytotoxicity and Apoptotic Mechanism of Ruthenium(II) Amino Acid Complexes in Sarcoma-180 Tumor Cells.** Plos one, volume 9, página e105865, 2014.



- LIU, Y; CHEN, Z; SONG, X; PENG, Y; QIN, Q; LIANG, H. **Synthesis, crystal structure, cytotoxicity and DNA interaction of 5,7-dibromo-8-quinolinolato-lanthanides**. European Journal of Medicinal Chemistry, volume 59, páginas 168-175, 2013.
- LYSZCZEK, R; MAZUR, L. **Polynuclear complexes constructed by lanthanides and pyridine-3,5-dicarboxylate ligand: Structures, thermal and luminescent properties**. Polyhedron, volume 41, páginas 7-19, 2012.
- MANUS, L. M; STRAUCH, R. C; HUNG, A. H; ECKERMANN, A. L; MEADE, T. J. **Analytical Methods for Characterizing Magnetic Resonance Probes**. Analytical Chemistry, doi.org/10.1021/ac300527z, 2010.
- MARIANO, R. N; ALBERTI, D; CUTRIN, J. C; CRICH, S. G; AIME, S. **Design of PLGA Based Nanoparticles for Imaging Guided Applications**. Molecular pharmaceuticals, volume 11, páginas 4100–4106, 2011.
- MARTINEZ, M. D.; RUSTOY, E. M; RAGGIO, N; BURTON, G. **Synthesis and characterization of a new polyaminocarboxylic macrocyclic ligand and its non-ion gadolinium complex. *In vitro* relaxivity studies at 0.2 T**. Inorganic Chemistry Communications, volume 51, páginas 110–113, 2015.
- MARTINS, T. S; ISOLANI, P. C. **Terras raras: aplicações industriais e biológicas**. Química Nova, volume 28, páginas 111-117, 2005.
- MATSUMOTO, Y; JASANOFF, A. **Metalloprotein-based MRI probes**. FEBS Letters, volume 587, páginas 1021–1029, 2013.
- MAYER, L. D; HOPE, M. J; CULLIS, P. R; JANOFF, A. S. **Solute distributions and trapping efficiencies observed in freeze–thawed multilamellar vesicles**. Biochim. Biophys. Acta, volume 817, páginas 193–196, 1985.
- MOGHADDAM, M. J; CAMPO, L; HIRABAYASHI, M; BEAN, P. A; WADDINGTON, L. J; SCOBLE, J. A; COIA, G; DRUMMOND, C. J. **Gadolinium-DTPA amphiphile nanoassemblies: agents for magnetic resonance imaging and neutron capture therapy**. Biomaterials Science, DOI: 10.1039/c3bm60235d, 2014.
- MORAES, T. B; COLNAGO, L. A. **Simulação de sinais de RMN através das equações de Bloch**. Química Nova, volume 37, páginas 1410-1416, 2014.
- MULDER, W. J. M; STRIJKERS, G. J; TILBORG, G. A. F. V; GRIFFIOEN, A. W; NICOLAY, K. **Lipid-based nanoparticles for contrast-enhanced MRI and molecular imaging**. NMR In Biomedicine, volume 19, páginas 142–164, 2006.

- NA, K; LEE, S. A; JUNG, S. H; SHIN, B. C. **Gadolinium-based cancer therapeutic liposomes for chemotherapeutics and diagnostics.** Colloids and Surfaces B: Bio-interfaces, volume 84, páginas 82–87, 2011.
- NAKAMURA, T; MIYAKE, C. **Coordination structure of lanthanide(III)(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-diamide complexes.** Journal of Alloys and Compounds, volume 225, páginas 334–337, 1996.
- NATALINI, B; SARDELLA, R; GIOIELLO, A; IANNI, F; MICHELE, A. D; MARINOZZI, M. **Determination of bile salt critical micellization concentration on the road to drug discovery.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, volume 87, páginas 62–81, 2014.
- NAYAR, R; HOPE, M. J; CULLIS, P. R. **Generation of large unilamellar vesicles from longchain saturated phosphatidyl cholines by extrusion technique.** Biochim. Biophys. Acta, volume 986, páginas 200–206, 1989
- NICOLLE, G. M; TOTH, E; EISENWIEMER, K. P; MACKE, H. R; MERBACH, A. E. **From monomers to micelles: investigation of the parameters influencing proton relaxivity.** Journal of Biological Inorganic Chemistry, volume 7, páginas 757–769, 2002.
- NUSSBAUMER, S; FLEURY-SOUVERAINA, S; SCHAPPLER, J; RUDAZ, S; VEUTHEY, J; BONNABRYA, P. **Quality control of pharmaceutical formulations containing cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin by micellar and microemulsion electrokinetic chromatography (MEKC, MEEKC).** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, volume 55, páginas 253–258, 2011.
- OLIVEIRA, G. M; HORNER, M; MACHADO, A; BACK, D. F; MONTEIRO, J. H. S. K. **New chelate complexes of trivalent Y and lanthanides (Eu, Ho, Yb) with a triazene N-oxide: Synthesis, structural characterization and luminescence properties.** Inorganica Chimica Acta, volume 366, páginas 203–208, 2011.
- OTHMAN, M; DESMA, D; COUVREUR, P; ELST, L. V; LAURENT, S; MULLER, R. N; BOURGAUX, C; MORVAN, E; POUGET, T; LEPETRE-MOUELHI, S; DURANDE, P; GREF, R. **Synthesis and physicochemical characterization of new squalenoyl amphiphilic gadolinium complexes as nanoparticle contrast agents.** Organic & Biomolecular Chemistry, volume 9, páginas 4367–4386, 2011.
- OU, M; CHENG, T; LIU, G; WANG, Y. **Physicochemical Characterization of Four Gadolinium(III) DTPA-like Complexes.** Journal of the Chinese Chemical Society,

volume 52, páginas 895–906, 2005.

PAN, H; LAN, J; LUO, X; GAO, J; XIE, X; GUO, H. **Biologic properties of gadolinium diethylenetriaminepentaacetic acid-labeled and PKH26-labeled human umbilical cord mesenchymal stromal cells.** *Cytotherapy*, volume 16, páginas 74–83, 2014.

PANTELIC, N; ZMEJKOVSKI, B. B; STANOJKOVIC, T. P; JEVTIC, V. V; RADIC, G. P; TRIFUNOVIC, S. R; KALUDEROVIC, G. N; SABO, T. J. **Synthesis and high *in vitro* cytotoxicity of some (S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-propanoate dihydrochloride esters.** *Journal of the Serbian Chemical Society*, volume 79, páginas 649–658, 2014.

PARAC-VOGT, T. N; LAURENT, K. K. S; PIERART, C; ELST, L. V; MULLER, R. N; BINNEMANS, K. **Paramagnetic liposomes containing amphiphilic bisamide derivatives of Gd-DTPA with aromatic side chain groups as possible contrast agents for magnetic resonance imaging.** *European Biophysics Journal*, volume 35, páginas 136–144, 2006.

PEREZ-HERRERO, E; FERNANDEZ-MEDARDE, A. **Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, volume 93, páginas 52–79, 2015.

PORSIO, B; LEMAIRE, L; HABNOUNI, S. E; DARCOS, V; FRACONI, F; GARRIC, X; COUDANE, J; NOTTELET, B. **MRI-visible nanoparticles from hydrophobic gadolinium poly( $\epsilon$ -caprolactone) conjugates.** *Polymer*, volume 56, páginas 135-140, 2015.

PUI, A; MALUTAN, T; TATARU, L; MALUTAN, C; HUMELNICU, D; CARJA, G. **New complexes of lanthanide Ln(III), (Ln = La, Sm, Gd, Er) with Schiff bases derived from 2-furaldehyde and phenylenediamines.** *Polyhedron*, volume 30, páginas 2127-2131, 2011.

RATNAKAR, J. S; SAMY, N. A; ALEXANDER, V. **A new potential contrast agent for magnetic resonance imaging: Synthesis and relaxivity studies of a gadolinium(III) complex of glucose-6-phosphate conjugated 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7-triacetic acid.** *Polyhedron*, volume 38, páginas 1-6, 2012.

RAYMOND, K. N.; PIERRE, V. C. **Next generation, high relaxivity MRI agents.** *Bioconjugate Chemistry*, volume 16, páginas 3-8, 2005.

- REJI, T. F. A. F; PEARL, A. J; ROSY, B. A. **Synthesis, characterization, cytotoxicity, DNA cleavage and antimicrobial activity of homodinuclear lanthanide complexes of phenylthioacetic acid.** Journal of rare earths, volume 31, páginas 1009, 2013.
- RICHARD, C; DOAN, B; BELOEIL, J; BESSODES, M; TOTTH, E; SHERMAN, D. **Noncovalent functionalization of carbon chelates: toward powerful T1 and T2 MRI contrast agents.** Nano Letters, volume 2008, páginas 232-236, 2008.
- RIM, K. T.; KOO, K. H; PARK, J. S. **Toxicological Evaluations of Rare Earths and Their Health Impacts to Workers: A Literature Review.** Safety and Health at Work, volume 4, páginas 12-26, 2013.
- RIRI, M; HOR, M; KAMAL, O; ELJADDI, T; BENJJAR, A; HLAIBI, M. **New gadolinium(III) complexes with simple organic acids (Oxalic, Glycolic and Malic Acid).** Journal of Materials and Environmental Science, volume 3, páginas 303-308, 2011.
- ROHRER, M; BAUER, H; MINTOROVITH, J; REQUARDT, M; WEINMANN, H. J. **Comparison of Magnetic Properties of MRI Contrast Media Solutions at Different Magnetic Field Strengths.** Investigative Radiology, volume 40, páginas 715-724, 2005.
- RYU, J. H; KOO, H; SUN, I; HONG, S; CHOI, K; KIM, K; KWON, I. C. **Tumor-targeting multi-functional nanoparticles for theragnosis: New paradigm for cancer therapy.** Advanced Drug Delivery Reviews, volume 64, páginas 1447–1458, 2012.
- SAKAMOTO, M. **Synthesis and Characterization of Lanthanoid(III) Complexes with a Pentadentate Ligand Derived from 2,6-Diacetylpyridine and Benzoylhydrazide.** Inorganica Chimica Acta, volume 131, páginas 139-142, 1987.
- SANTOS, S; MEDRONHO, B; SANTOS, T; ANTUNES, F. E. **Amphiphilic Molecules in Drug Delivery Systems.** Drug Delivery Systems: Advanced Technologies Potentially Applicable in Personalised Treatment, Advances in Predictive, Preventive and Personalised Medicine 4, DOI 10.1007/978-94-007-6010-3\_\_2, 2013.
- SERRANO, F. A; MATSUO, A. L; MONTEFORTE, P. T; BECHARA, A; SAMILI, S. S; ANTAN, D. P; RODRIGUES, T; PEREIRA, F. V; SILVA, L. S; MACHADO, J; SANTOS, E. L; PESQUERO, J. B; MARTINS, R. M; TRAVASSOA, L. R; CAIRES, A. C. F; RODRIGUES, E. G. **A cyclopalladated complex interacts with mitochondrial membrane thiol-groups and induces the apoptotic intrinsic pathway in murine**

**and cisplatin-resistant human tumor cells.** BioMed Central Cancer, volume 11, páginas 296, 2011.

SHARMA, A. R; GANGRADE, D. M; BAKSHI, S. D; JHON, J. S. **Ruthenium Complexes: - Potential candidate for Anti-Tumour Activity.** International Journal of ChemTech Research, volume 6, páginas 828-837, 2014.

SHIJU, C; ARISH, D; KUMARESAN, S. **Homodinuclear lanthanide complexes of phenylthiopropionic acid: Synthesis, characterization, cytotoxicity, DNA cleavage, and antimicrobial activity.** Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, volume 105, páginas 532–538, 2013.

SONG, L; GAO, J. **Synthesis, crystal structure, and luminescence properties of new binuclear europium and terbium complexes with tubular morphology.** Journal of Molecular Structure, volume 1032, páginas 207-211, 2013.

SONG, X; XING, D; LEI, Y; ZHAO, M; CHENG, G; WANG, X; PENG, Y. **Lanthanide coordination polymers constructed by a new semirigid bridging salicylamide ligand: Synthesis, supramolecular structure and luminescence properties.** Inorganica Chimica Acta, volume 404, páginas 113-122, 2013.

STEFANAKIS, D; SEIMENIS, I; GHANOTAKIS, D. **Synthesis and characterization of gadolinium nanosheets with bound rose bengal: potential use in photodynamic therapy and mri.** Journal of Nanoparticle Research, volume 16, página 2694, 2014.

STEPHEN, Z. R; KIEVIT, F. M; ZHANG, M. **Magnetite nanoparticles for medical MR imaging.** Materials today, volume 14, páginas 330-338, 2011.

SZPAK, A; FIEJDASZ, S; PRENDOTA, W; STRACZEK, T; KAPUSTA, C; SZMYD, J. NOWAKOWSKA, M; ZAPOTOCZNY, S. **T<sub>1</sub>–T<sub>2</sub> Dual-modal MRI contrast agents based on superparamagnetic iron oxide nanoparticles with surface attached gadolinium complexes.** Journal of Nanoparticle Research, volume 16, página 2678, 2014.

SZYCZEWSKI, A; LIS, S; KRUCZNSKI, Z; STAWOMIR, M. **EPR study of sandwiched gadolinium(III) complexes with polyoxometalates.** Journal of Alloys and Compounds, volume 341, páginas 307-311, 2002.

TILCOCK, C; UNGER, E; CULLIS, P; MACDOUGALL, P. **Liposomal Gd-DTPA: preparation and characterization of relaxivity.** Radiology, volume 171, páginas 77-80, 1989.

TORRES, S; MARTINS, J. A; ANDRÉ, J. P; GERALDES, C. F. G. C. **Supramolecular Assembly of an Amphiphilic GdIII Chelate: Tuning the Reorientational Correlation Time and the Water Exchange Rate.** Chemistry - A European Journal, volume 12, páginas 940 – 948, 2006.

TU, C; OSBORNE, E. A; LOUIE, A. **Activatable T1 and T2 Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents.** Annals of Biomedical Engineering, volume 39, páginas 1335–1348, 2011.

VACCARO, M; ACCARDO, A; D'ERRICO, G; SCHILLEN, K; RADULESCU, A; TE-SAURO, D; MORELLI, G; PADUANO, L. **Peptides and Gd Complexes Containing Colloidal Assemblies as Tumor-Specific Contrast Agents in MRI: Physicochemical Characterization.** Biophysical Journal, volume 93, páginas 1736–1746, 2007.

VALCHEVA-TRAYKOVA, M; SASO, L. KOSTOVA, I. **Involvement of Lanthanides in the Free Radicals Homeostasis.** Current Topics in Medicinal Chemistry, volume 14, 2014.

VILLARAZA, A. J; BUMB, A; BRECHBIEL, M. W. **Macromolecules, Dendrimers and Nanomaterials in Magnetic Resonance Imaging: The Interplay Between Size, Function and Pharmacokinetics.** Chemical Reviews, volume 110, páginas 2921–2959, 2010.

WANG, B; YANG, Z-Y; CREWDSON, P; WANG, D. **Synthesis, crystal structure and DNA-binding studies of the Ln(III) complex with 6-hydroxychromone-3-carbaldehyde benzoyl hydrazine.** Journal of Inorganic Biochemistry, volume 101, páginas 1492-1504, 2007.

WANG, Q; HUANG, Y; ZHANG, J; YANG, X. **Synthesis, Characterization, DNA Interaction, and Antitumor Activities of La (III) Complex with Schiff Base Ligand Derived from Kaempferol and Diethylenetriamine.** Bioinorganic Chemistry and Applications, article ID 354138, 2014.

WERNER, E. J; DATTA, A; JOCHER, C. J; RAYMOND, K. N. **High-Relaxivity MRI Contrast Agents: Where Coordination Chemistry Meets Medical Imaging.** Angewandte Chemie International, volume 47, páginas 8568-8580, 2008.

WHEATE, N. J; TALEB, W. J; KRAUSE-HEUER, A. M; COOK, R. L; WANG, S; HIGGINS, V. J; ALDRICH-WRIGHT, J. **Novel platinum(II)-based anticancer complexes and molecular hosts as their drug delivery vehicles.** Dalton transactions, páginas 5055-5064, 2007.

XIE, F; ZHANG, T. A; DREISINGER, D; DOYLE, F. **A critical review on solvent extraction of rare earths from aqueous solutions.** Minerals Engineering, volume 56, páginas 10-28, 2014.

YAN, B; SONG, Y; CHEN, Z. **A novel quaternary dinuclear luminescent terbium complex  $Tb_2(phth)_2(Hphth)_2(phen)_2(H_2O)_4$ : hydrothermal synthesis, crystal structure and photophysics.** Journal of Molecular Structure, volume 694, páginas 115–120, 2004.

YAN, GUO-PING; ROBINSON, LESLIE; HOGG, PETER. **Magnetic resonance imaging contrast agents: Overview and perspectives.** Radiography, volume 13, páginas 5–19, 2007.

YANG, T; GAO, M; QIN, W; YANG, J. **Synthesis and novel fluorescence phenomenon of terbium (III) with N, N', N''-tris(2-benzimidazolmethyl) amine.** Indian Journal of Chemistry, volume 49A, páginas 45-48, 2010.

YANG, T; QIN, W. **Synthesis and novel fluorescence phenomenon of terbium complex with a new Schiff base ligand derived from condensation of triamino-triethylamine and 3-indolemethanal.** Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, volume 67, páginas 568-571, 2007.

YOUSEF, M. I; HUSSEIN, H. M. **Cisplatin-induced renal toxicity via tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin 6, tumor suppressor P53, DNA damage, xanthine oxidase, histological changes, oxidative stress and nitric oxide in rats: Protective effect of ginseng.** Food and Chemical Toxicology, volume 78, páginas 17–25, 2015.

ZENG, Y-B; YANG, N; LIU, WS; TANG, N. **Synthesis, characterization and DNA-binding properties of La(III) complex of chrysinJ.** Journal of Inorganic Biochemistry, volume 97, páginas 258-264, 2003.

ZHANG, G; YANG, Z; LU, W; ZHANG, R; HUANG, Q; TIAN, M; LI, L; LIANG, D; LI, C. **Influence of anchoring ligands and particle size on the colloidal stability and in vivo biodistribution of polyethylene glycol-coated gold nanoparticles in tumor-xenografted mice.** Biomaterials, volume 30, páginas 1928–1936, 2009.

ZHANG, W; LU, C; ZHAO, G; ZHANG, J; FANG, X; WANG, P; FANG, X; XU, J; YANG, W. **A Tetranuclear Gadolinium(III) Macrocyclic Complex: Towards High Relaxivity with the Rigid Linkers for Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent.** Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie, DOI: 10.1002/zaac.201400397, 2014.

ZHAO, GH; FHLLI, H. L; LINA, HK. **Synthesis, characterization and biological activity of complexes of lanthanum(III) with 2-(10-phenyl- 20-carboxyl-30-aza-n-butyl)-1,10-phenanthroline and 2-(10-p-phenol-20-carboxyl-30-aza-n-butyl)-1,10-phenanthroline.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, volume 15, páginas 533-540, 2007.

ZHOU, J; LU, Z; SHAN, G; WANG, S; LIAO, Y. **Gadolinium complex and phosphorescent probe-modified NaDyF<sub>4</sub> nanorods for T1- and T2-weighted MRI/CT/phosphorescence multimodality imaging.** Biomaterials, volume 35, páginas 368 – 377, 2014.

ZHOU, Z. **Liposome Formulation of Fullerene-Based Molecular Diagnostic and Therapeutic Agents.** Pharmaceutics, volume 5,páginas 525-541, 2013.

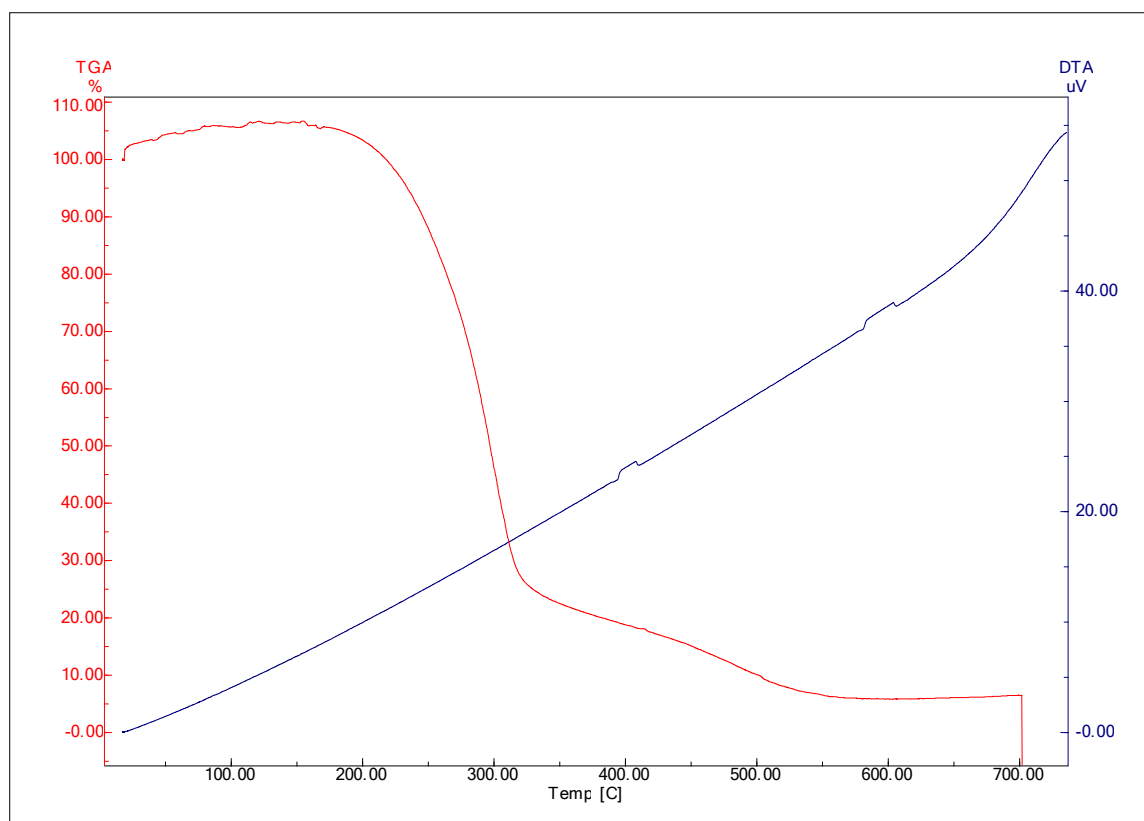
ZHOU, Z; RONG-LU, Z. **Gadolinium-Based Contrast Agents for MR Cancer Imaging.** Nanomedicine and Nanobiotechnology, volume 5, páginas 1–18, 2013.

ZHU, D; LIU, F; WANG, Z. **Nanoparticle-Based Systems for T1-Weighted Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents.** International Journal of Molecular Sciences, volume 14, páginas 10591-10607, 2013.

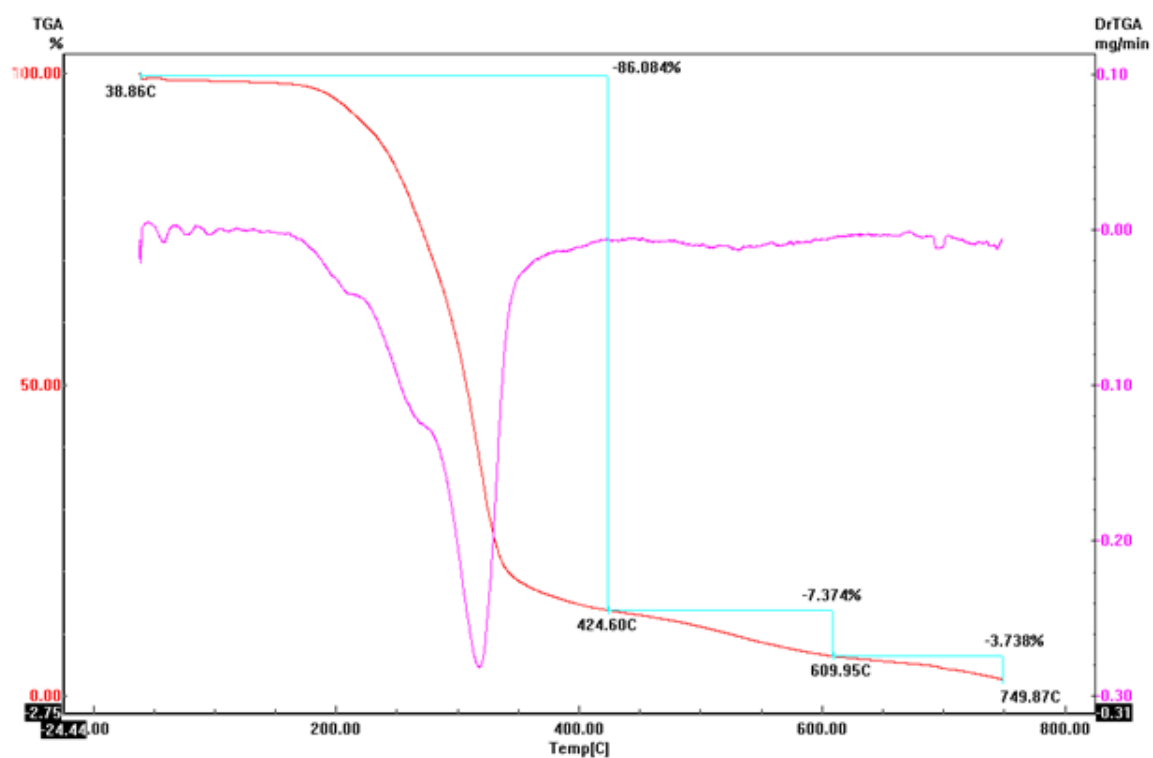
ZIMNY, A; ZINSKA, L; BLADOWSKA, J; NESKA-MATUSZEWA, M; SASIADEK, M. **Intracranial lesions with high signal intensity on T1-weighted MR images – review of pathologies.** Polish Journal of Radiology, volume 78, páginas 36-46, 2013.



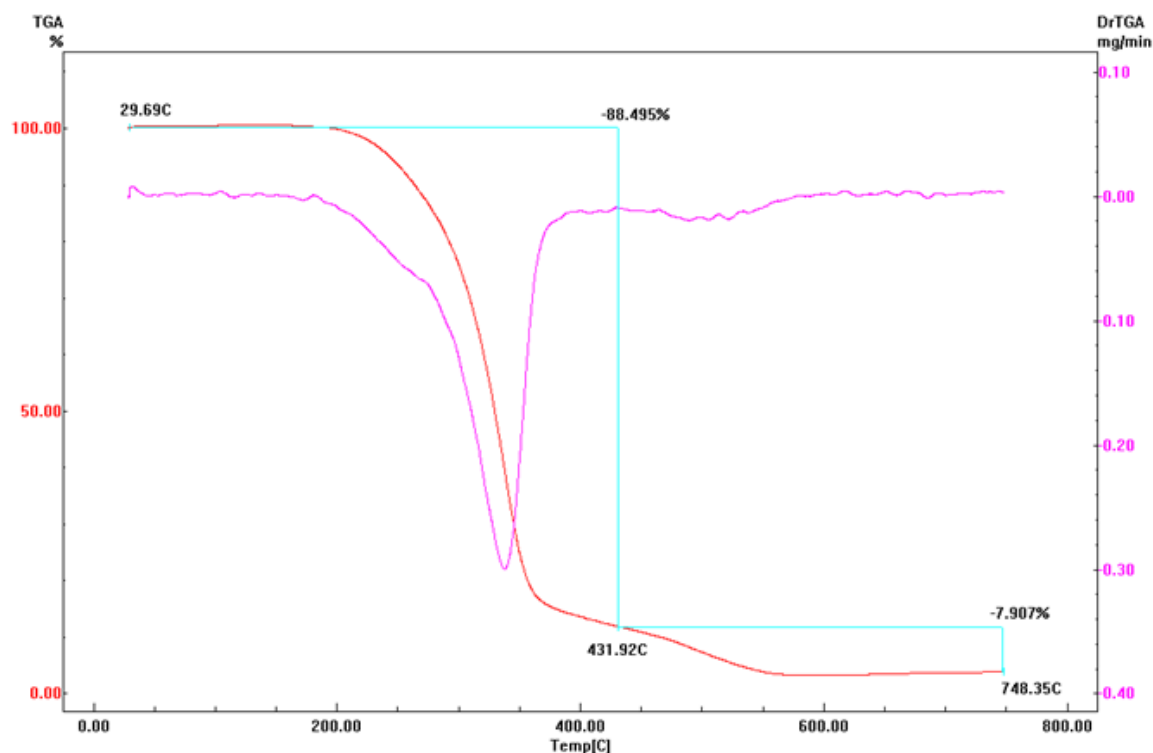
## **ANEXOS**



Curva TG/DTG do ligante HOCT realizado em atmosfera de ar.



Curva TG/DTG do ligante HDEC realizado em atmosfera de ar.



Curva TG/DTG do ligante HDOD realizado em atmosfera de ar.

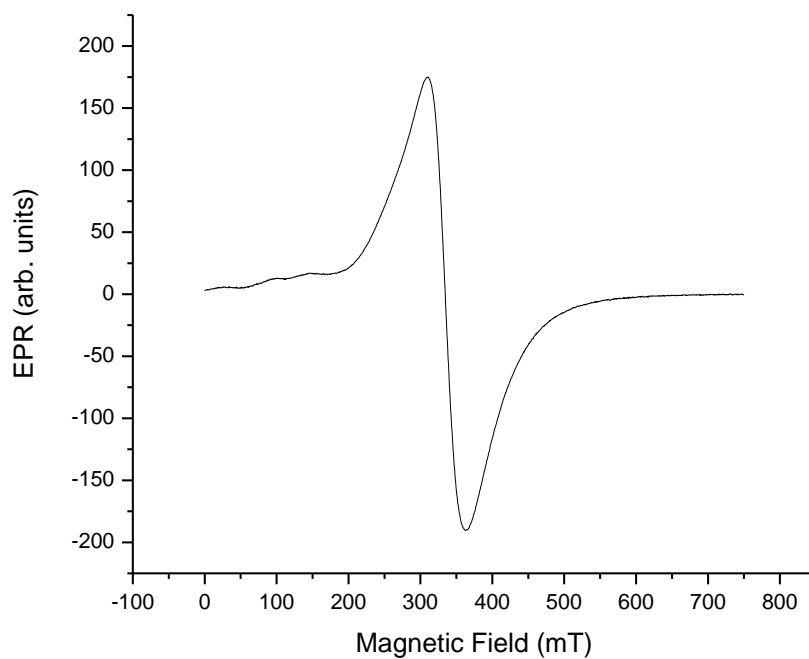
### **Espectroscopia por Ressonância Paramagnética de Elétrons (RPE)**

A análise de RPE foi realizada para confirmar do estado de oxidação dos íons metálicos presentes nos complexos sintetizados deste trabalho.

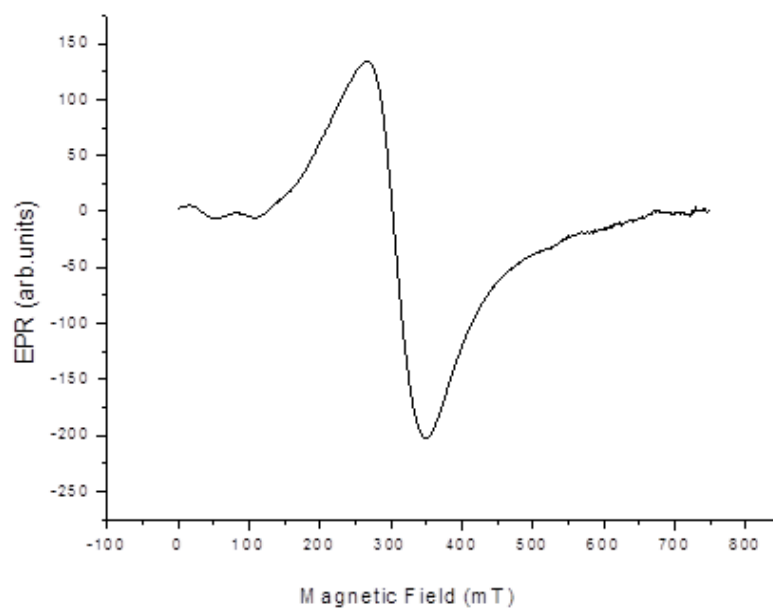
A espectroscopia por RPE para os complexos de Tb(III) foi realizada a baixas temperaturas (77 K), condição ideal para observação da estrutura hiperfina característica de térbio trivalente, devido ao rápido tempo de relaxação com tempo de relaxação  $10^{-13}$  s (SZYCZEWSKIA et al., 2002).

Os espectros dos complexos de Gd(III) foram medidos em temperatura ambiente (298 K) (HINATSU, 1992), condição necessária para obtenção da estrutura hiperfina característica de gadolínio trivalente, contribuída pelo o maior tempo de relaxação que varia de  $10^{-9}$  a  $10^{-10}$  s (ANOOP et al., 2012).

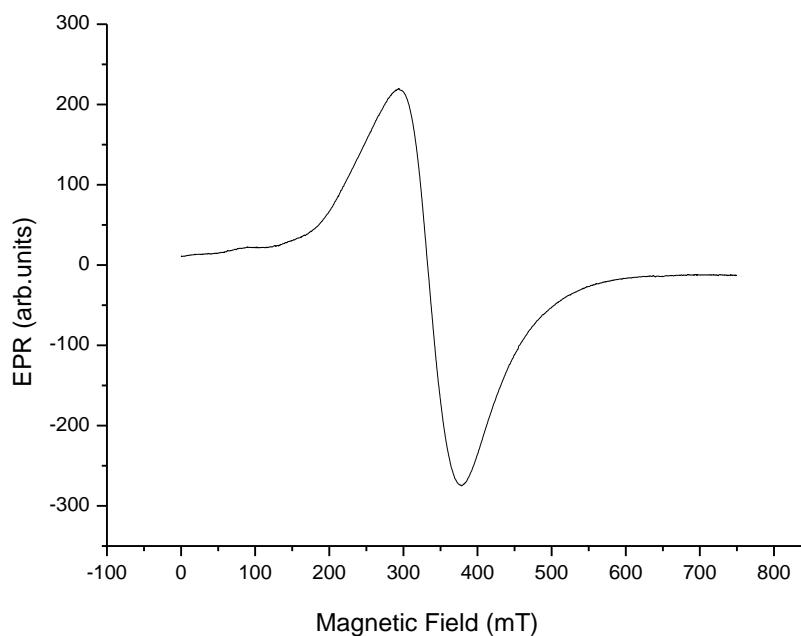
As Figuras abaixo apresentam os espectros experimentais dos complexos de Gd(III) e Tb(III) a 77 K e a 298 K.



Espectro de RPE obtido a 298 K do composto  $[\text{Gd}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$

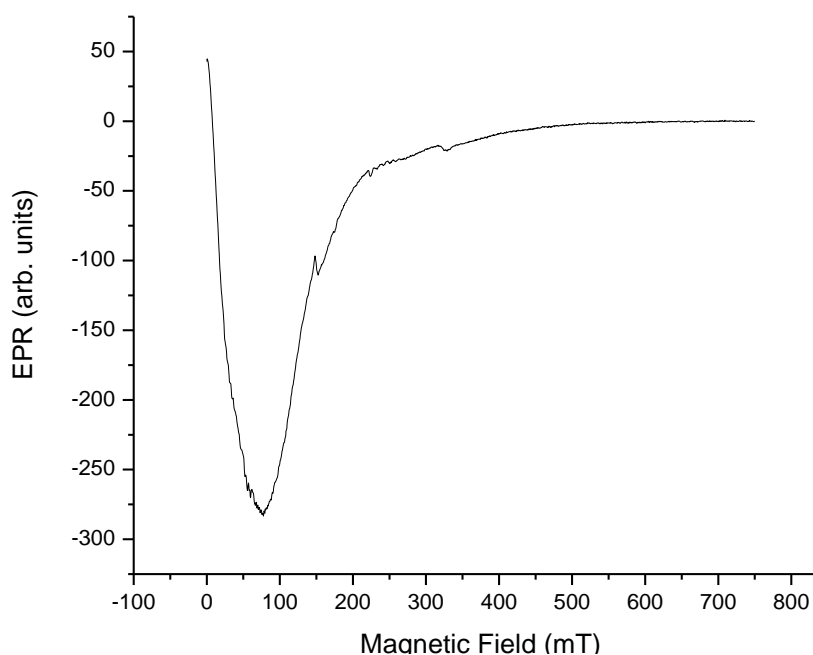


Espectro de RPE obtido a 298 K do composto  $[\text{Gd}(\text{DEC})_2]\text{Cl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

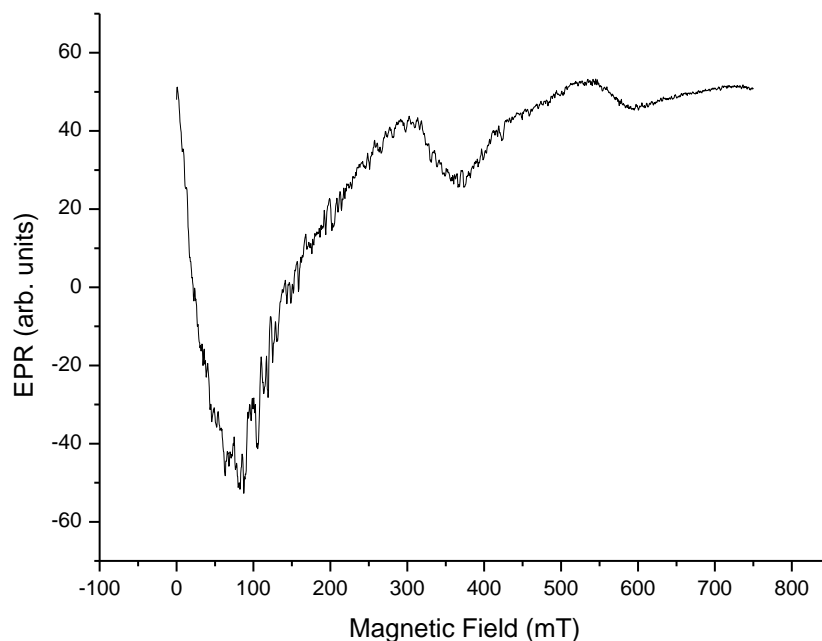


Espectro de RPE obtido a 298 K do composto  $[\text{Gd}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$

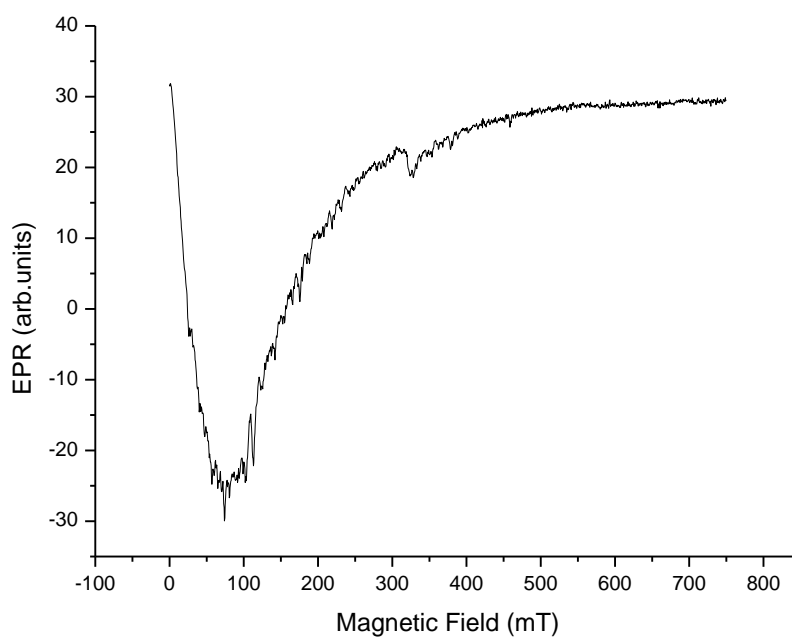
As Figuras acima mostram os espectros de RPE para os complexos de Gd(III) tendo uma mesma estrutura hiperfina em todas as direções (OU et al., 2005) com um fator  $g$  igual a  $2,000 \pm 0,03$  com spin efetivo  $\frac{1}{2}$ , indicando que a configuração é  $4f^7$  sendo trivalente positivo, uma vez que em baixas temperaturas não foi possível a obtenção da estrutura hiperfina.



Espectro de RPE obtido a 77 K do composto  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$



Espectro de RPE obtido a 77 K do composto  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$



Espectro de RPE obtido a 77 K do composto  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Os espectros de RPE do complexo de Tb(III) apresentados nas Figuras acima confirmam o estado de oxidação trivalente, uma vez que, em temperatura ambiente não foi possível a obtenção da estrutura hiperfina. O fator  $g$  encontrado para os complexos de Tb(III) foi de  $6,004 \pm 0,01$  para o complexo  $[\text{Tb}(\text{OCT})_2]\text{Cl}$ ,  $14,000 \pm$

0,04, para o complexo  $[\text{Tb}(\text{DEC})_2]\text{Cl}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e  $16,007 \pm 0,03$  para o complexo  $[\text{Tb}(\text{DOD})_2]\text{Cl}\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

Os resultados aqui obtidos para os complexos de Gd(III) mostraram hiperfinas em temperatura ambiente o que confirma o estado de oxidação trivalente dos complexos (HINATSU, 1992). Além disso, todos os complexos de Gd(III) apresentaram uma isotropia, ou seja, um mesmo comportamento em todas as direções. Por outro lado, os complexos de Tb(III) apresentaram estruturas hiperfinas somente em baixas temperaturas o que confirma o estado de oxidação tetravalente, porém estes apresentam uma anisotropia, uma vez que este não apresenta um comportamento semelhante em todas as direções (SZYCZEWSKI, 2002).