



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**CATHERINE MORAIS TELES**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E INVESTIGAÇÃO BIOLÓGICA DE  
COMPLEXOS DE Ir(III) COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA**

**FORTALEZA**

**2016**

**CATHERINE MORAIS TELES**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E INVESTIGAÇÃO BIOLÓGICA DE  
COMPLEXOS DE Ir(III) COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique S. de Sousa.

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.

**FORTALEZA**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- T272s Teles, Catherine.  
Síntese, Caracterização e Investigação Biológica de Complexos de Ir(III) com Potencial Atividade Anticancerígena / Catherine Teles. – 2015.  
132 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2015.  
Orientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique S. de Sousa.  
Coorientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.
1. Metalofármaco. 2. anticâncer. 3. Organometálico. 4. Ir(III). 5. DNA. I. Título.

CDD 540

---

**CATHERINE MORAIS TELES**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E INVESTIGAÇÃO BIOLÓGICA DE  
COMPLEXOS DE Ir(III) COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTICANCERÍGENA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovada em: 19/02/2016.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Eduardo Henrique S. de Sousa (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Luiz Constantino Grambone Vasconcellos  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dra. Marta Sofia Paixe Carepo  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

Aos professores Eduardo Henrique e Luiz Gonzaga que me orientaram durante os dois anos de mestrado de forma consistente colaborando imensamente com o trabalho desenvolvido e minha formação científica. Agradeço aos dois pelas oportunidades e instrução.

Agradeço ao Marcos Silveira, por toda a discussão que influenciou esse trabalho, mas também, pelos anos de amizade sincera, meu grande mentor e amigo.

Ao Florêncio, por toda a ajuda dentro e fora do trabalho, foi meu companheiro e amigo.

Aos amigos, Dieric, Amanda, Edinilton, e Carlos Daniel que tornaram esses ‘dois’ anos tão especiais, não há palavras para agradecer o companheirismo e amizade que me foi dado por esse grupo formidável de químicos.

Ao grupo de Bioinorgânica da UFC e cada um de seus alunos e professores por instrução, companheirismo, apoio e amizade. Em especial ao professor Tércio de Freitas Paulo que realizou junto ao CENAPAD os estudos de DFT, a Dra. Ana Cláudia Gondim quem em colaboração com a Dra. Maria Júlia Barbosa Bezerra (Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC), Profa. Cláudia do Ó Pessoa e Prof. Manoel Odorico de Moraes Filho, Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC realizou o screening anticâncer dos complexos.

Aos meus pais, Solange e Nelson, que me deram régua e compasso.

Por fim, agradeço a CAPES, pelo financiamento e grande oportunidade.

## RESUMO

Atualmente a maioria dos metalofármacos utilizados no tratamento anticâncer são complexos de platina. Apesar do sucesso clínico, esses complexos possuem restrições como toxicidade alta, causando efeitos colaterais e resistência de algumas linhagens cancerígenas, logo a busca por novos metais a serem utilizados com diferentes mecanismos de ação se faz necessária. Neste trabalho, foram sintetizados 9 complexos organometálicos de Ir(III), do tipo  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{XY})\text{Z}]^{0/+2}$ , em que XY= biperidina, fenantrolina, dipiridofenazina e fenilpiridina e Z=NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, indazol e 7-azaindol. Procurava-se regular a citotoxicidade através das substituições estruturais, para isso, foi realizado um *screening* anticâncer em 3 linhagens celulares cancerígenas. A substituição do ligante NO<sub>2</sub><sup>-</sup> não se mostrou promissora em combinação com 3 dos quelantes destacados, mas para o complexo contendo o quelante dipiridofenazina (dppz) observou-se quase o dobro de atividade em todas as linhagens cancerígenas quando comparado ao precursor já ativo contendo o ligante cloreto. Uma substituição também promissora foi com o ligante 7-azaindol, apesar de sua semelhança estrutural com o ligante indazol (complexo 1-ain), o composto contendo 7-azaindol e o quelante biperidina (complexo 3-ain), apresentou atividade moderada e muito superior ao seu precursor inativo contendo cloreto e o análogo contendo indazol. Para se entender o possível mecanismo de ação dos complexos, investigou-se preliminarmente o DNA como alvo molecular. Os dois complexos contendo dppz mostraram atividade nuclease, observados com DNA plasmidial por eletroforese em gel de agarose, e tiveram essa atividade intensificada quando submetidos a irradiação de luz ultravioleta branda (290nm) por 30 minutos. O complexo 3-ain apresentou ainda efeito hipocrômico em titulação com CT-DNA e foi capaz de efetivamente competir com o brometo de etídio em titulação fluorimétrica, sugerindo interação ao DNA através de intercalação. Por outro lado, o complexo 1-ain não apresentou diferenças significativas e nem atividade citotóxica expressiva, logo, espera-se que haja um alvo biológico diferente que justifique o aumento significativo de sua atividade. Desta forma, este trabalho identificou uma rota estratégica para desenvolver novos agentes anticâncer a base de irídio que merecerem posteriores estudos.

Palavras chave: Metalofármaco. Anticâncer. Organometálico. Ir(III). DNA.

## ABSTRACT

Currently, most metallodrugs used in anticancer treatment are platinum-based complexes. Despite their clinical success, these complexes have restrictions such as, high toxicity causing side effects and resistance to some cancer cell lines. These issues stimulated the search for new metals with different mechanisms of action. In this study, nine (9) organometallic complexes of Ir (III) of the type  $[\text{Cp} * \text{Ir} (\text{XY}) \text{Z}]^{0/+2}$ , where XY = bipyridine, phenanthroline, dipyrrophenazine and phenylpyridine and Z =  $\text{NO}_2^-$ , indazole and 7-azaindole were synthesised. These compounds were prepared aiming to modulate the cytotoxicity by structural replacements, which were investigated for anti-cancer activity in a screening using three cancer cell lines. Interestingly, three iridium complexes containing distinct chelating ligands did not show any enhancement on anti-cancer activity using as a  $\text{NO}_2^-$  ligand. However, for the complex containing dipyrrophenazine (dppz) as a chelating agent, it was observed almost double of cytotoxic activity in all cancer cell lines when compared with already active precursor containing chloride. Beside those results, using 7-azaindole as Z ligand, it was observed moderate activity and much higher when compared with inactive precursor containing chloride and also analogous containing indazole. Aiming to understand the mechanism of action for these complexes, it was investigated, preliminarily, DNA as a molecular target. Both complexes containing dppz as chelating ligand showed nuclease activity using plasmid DNA monitored by agarose gel electrophoresis, and also an enhanced activity when subjected to ultraviolet light irradiation (290nm) for 30 minutes. The complex 1-ain had also its interaction with DNA investigated by agarose gel electrophoresis, but it did not show similar differences with indazole or any expressive activity. So, it is possible to expect a different biological target to explain its expressive increase in cytotoxicity. A complex containing 7-azaindole and dppz chelator was synthesized (3-ain) exhibiting nuclease activity, hypochromic effect upon titration with CT-DNA and displacement of ethidium bromide bound to CT-DNA supporting a possible mode of interaction to DNA through intercalation. All together these results support our structural strategy can generate new anti-cancer agents.

Keywords: Metallodrugs. Anticancer. Organometallic. Ir(III). DNA.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	- Estrutura dos complexos de platina atualmente em uso clínico.....	21
<b>Figura 2</b>	- Estrutura dos complexos de rutênio em testes clínicos.....	22
<b>Figura 3</b>	- Estruturas dos complexos anticâncer de ouro e de gálio.....	23
<b>Figura 4</b>	- Complexos arenos de rutênio com o ligante quelante etilenodiamina.....	25
<b>Figura 5</b>	- Estrutura dos complexos de Ir(III) com ligantes polipiridil.....	28
<b>Figura 6</b>	- Estrutura geral dos complexos de Ir(III) com diferentes arenos.....	29
<b>Figura 7</b>	- Estrutura dos complexos [Cp*Ir(bpy)Cl] e [Cp*Ir(phpy)Cl] e seus valores de IC <sub>50</sub> para linhagem cancerígena A2780.....	30
<b>Figura 8</b>	- Complexos de Ir(III) com o ligantes Fenilpiridina modificados e seus valores de IC <sub>50</sub> para linhagem cancerígena A2780.....	31
<b>Figura 9</b>	- Estrutura geral dos complexos sintetizados nesse trabalho.....	33
<b>Figura 10</b>	- Representação das reações de substituição para formação dos complexos em estudo.....	36
<b>Figura 11</b>	- Placa com 96 LEDs de 3W com comprimento de onda de 390nm em cada poço.....	43
<b>Figura 12</b>	- Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 1-indz (—), seu precursor 1(—) e o ligante indazol livre (—).....	48
<b>Figura 13</b>	- Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 1-ain (—), seu precursor 1(—) e o ligante 7-azaindol livre (—).....	49
<b>Figura 14</b>	- Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 2-indz (—) e seu precursor 2(—).....	50
<b>Figura 15</b>	- Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 3-ain (—) e seu precursor 3(—).....	51
<b>Figura 16</b>	- Formas em que o íon NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> pode se ligar a um metal.....	54
<b>Figura 17</b>	- Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 1-NO <sub>2</sub> (—) e seu precursor 1(—).....	55
<b>Figura 18</b>	- Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 2-NO <sub>2</sub> (—) e seu precursor 2(—).....	56
<b>Figura 19</b>	- Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 3-NO <sub>2</sub> (—) e seu precursor 3 (—).....	57
<b>Figura 20</b>	- Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 4-	58



	NO <sub>2</sub> (—) e seu precursor 4 (—).....	
<b>Figura 21</b>	- Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis experimental para o complexos 1-ain(—) em metanol e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro teórico (—) (b).....	61
<b>Figura 22</b>	- Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis experimental para o complexos 1-indz(—) em metanol e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro teórico (—) (b).....	63
<b>Figura 23</b>	- Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis experimental para o complexos 1-NO <sub>2</sub> (—) em metanol e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro do precursor 1 (—) em metanol e a deconvolução espectral (—) (b).....	64
<b>Figura 24</b>	- Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexo 2-NO <sub>2</sub> (—) em metanol e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro teórico (—) (b).....	67
<b>Figura 25</b>	- Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexo 3-NO <sub>2</sub> (—) em metanol e a deconvolução espectral (—) (a) e o espectro teórico (—) (b).....	70
<b>Figura 26</b>	- Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexos 3-ain(—) em metanol e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro teórico(—) (b) .....	72
<b>Figura 27</b>	- Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexos 4-NO <sub>2</sub> (—) em metanol e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro teórico(—) (b) .....	75
<b>Figura 28</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 1-indz, em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO (a) Espectro de RMN COSY para o complexo 1-indz (b).....	77
<b>Figura 29</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 2-indz. , em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO.....	79
<b>Figura 30</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 1-ain, em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO (a) Espectro de RMN COSY para o complexo 1-ain (b).....	81
<b>Figura 31</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 2-ain, em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO.....	83
<b>Figura 32</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 3-ain, em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO (a) Espectro de RMN COSY para o complexo 3-ain (b).....	84
<b>Figura 33</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 1-NO <sub>2</sub> , em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO.....	87
<b>Figura 34</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 2-NO <sub>2</sub> , em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO.....	88

<b>Figura 35</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 3-NO <sub>2</sub> , em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO.....	89
<b>Figura 36</b>	- Espectro de RMN <sup>1</sup> H para o complexo 4-NO <sub>2</sub> , em (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO (a) 90 Espectro de RMN COSY para o complexo 4-NO <sub>2</sub> (b).....	
<b>Figura 37</b>	- Cátions observados no espectro de massa para o complexo 1-indz (a) 94 Espectro de massa para o complexo 1-indz em metanol (b).....	
<b>Figura 38</b>	- Cátions observados no espectro de massa para o complexo 3-NO <sub>2</sub> (a) 95 Espectro de massa para o complexo 3-NO <sub>2</sub> em metanol (b).....	
<b>Figura 39</b>	- Ilustração das três formas do DNA plasmidial (A) e suas diferenças após 97 eletroforese em gel de agarose (B).....	
<b>Figura 40</b>	- Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se 98 DNA plasmidial (3,5 ng/μL) e os complexos 1-NO <sub>2</sub> , 2-NO <sub>2</sub> , 3-NO <sub>2</sub> e 4- NO <sub>2</sub> em diferentes concentrações (5, 25 e 50μM) no escuro incubados por 90min.....	
<b>Figura 41</b>	- Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se 100 DNA plasmidial (3,5 ng/μL) e os complexos 1, 2, 3 e 4 em diferentes concentrações (5, 25 e 50μM) no escuro incubados por 90min.....	
<b>Figura 42</b>	- Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se 101 DNA plasmidial (3,5 ng/μL) e o complexo 3-ain em diferentes concentrações (5, 25 e 50μM) no escuro 30min e sob irradiação de luz (390nm) também por 30min.....	
<b>Figura 43</b>	- Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se 102 DNA plasmidial (3,5 ng/μL) e os complexos 3-NO <sub>2</sub> e 3-ain em diferentes concentrações (5, 10 e 20μM) no escuro 30min e sob irradiação de luz (385-395nm) também por 30min.....	
<b>Figura 44</b>	- Estudo de interação e clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se DNA 103 plasmidial (3,5 ng/μL) e os complexos 1-indz e 1-ain em diferentes concentrações (5, 25 e 50μM) sob irradiação de luz (385-395nm) por 30min e no escuro por 30min.....	
<b>Figura 45</b>	- Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se 104 DNA plasmidial (3,5 ng/μL) e os complexos 3-NO <sub>2</sub> e 3-ain em diferentes concentrações (5, 10 e 20μM) na ausência e presença de GSH(5mM) durante 30min.....	
<b>Figura 46</b>	- Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se 105	

	DNA plasmidial (3,5 ng/ $\mu$ L) e os complexos 3-NO <sub>2</sub> e 3-ain em diferentes concentrações (5, 10 e 20 $\mu$ M) na ausência e presença de GSH(5mM) durante 90min.....	
<b>Figura 47</b>	- Efeitos possíveis para absorção após ligação entre o complexo e o DNA	106
<b>Figura 48</b>	- Medição da interação com DNA por espectroscopia eletrônica (a) Titulação para o complexo 3, com sucessivas adições de CT DNA. (b) Gráfico com ajuste dos dados experimentais a equação 1 para medição da constante de associação para o complexo 3.....	107
<b>Figura 49</b>	- Medição da interação com DNA por espectroscopia eletrônica (a) Titulação para o complexo 3-NO <sub>2</sub> , com sucessivas adições de CT DNA. (b) Gráfico com ajuste dos dados experimentais a equação 1 para medição da constante de associação para o complexo 3-NO <sub>2</sub> .....	108
<b>Figura 50</b>	- Medição da interação com DNA por espectroscopia eletrônica (a) Titulação para o complexo 3-ain, com sucessivas adições de CT DNA. (b) Gráfico com ajuste dos dados experimentais a equação 1 para medição da constante de associação para o complexo 3-ain.....	108
<b>Figura 51</b>	- Titulação espectrofluorimétrica de brometo de etídio 1 $\mu$ M associado ao DNA 20 $\mu$ M com sucessivas adições do complexo 3-NO <sub>2</sub> .....	109
<b>Figura 52</b>	- Titulação espectrofluorimétrica de brometo de etídio 1 $\mu$ M associado ao DNA 20 $\mu$ M com sucessivas adições do complexo 3-ain.....	110
<b>Figura 53</b>	- Análise da competição dos complexos 3-ain e 3-NO <sub>2</sub> frente ao brometo de etídio intercalado ao DNA empregando tratamento Stern-Volmer.....	111
<b>Figura 54</b>	- Percentual de inibição do crescimento celular (potencial antiploriferativo) para os complexos 1, 1-NO <sub>2</sub> , 1-indz e 1-ain frente às linhagens SF-295, PC-3 e HCT-116. ....	112
<b>Figura 55</b>	- Percentual de inibição do crescimento celular (potencial antiploriferativo) para os complexos 1, 1-NO <sub>2</sub> , 2, 2-NO <sub>2</sub> , 3, 3-NO <sub>2</sub> , 4 e 4-NO <sub>2</sub> , frente às linhagens SF-295, PC-3 e HCT-116.....	113

## LISTA DE TABELAS

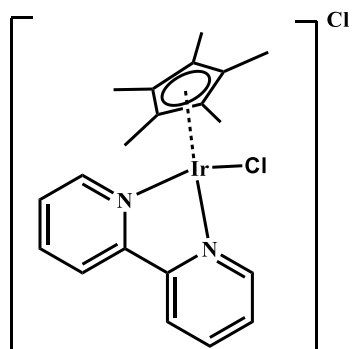
Tabela 1	- Estados de oxidação e geometrias para complexos organometálicos de Ir....	26
Tabela 2	- Complexos Organometálicos de Ir com suas atividades catalíticas.....	27
Tabela 3	- Dados espectroscópicos na região do infravermelho dos complexos de formulação $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{NN})\text{Z}](\text{PF}_6)_{1/2}$ , em pastilha de KBr.....	51
Tabela 4	- Valores de estiramentos $\nu_a\text{NO}_2$ e $\nu_s\text{NO}_2$ para os complexos e para o ânion livre. ....	58
Tabela 5	- Contribuições dos fragmentos do complexo 1-ain para seus orbitais moleculares.....	60
Tabela 6	- Contribuições dos fragmentos do complexo 1-indz para seus orbitais moleculares.....	62
Tabela 7	- Complexos com o ligante bipyridina e suas transições eletrônicas na região do UV-vis em metanol.....	65
Tabela 8	- Contribuições dos fragmentos do complexo 2-NO <sub>2</sub> para seus orbitais moleculares.....	66
Tabela 9	- Complexo 2-NO <sub>2</sub> e suas transições eletrônicas na região do UV-vis.....	68
Tabela 10	- Contribuições dos fragmentos do complexo 3-NO <sub>2</sub> para seus orbitais moleculares.....	69
Tabela 11	- Contribuições dos fragmentos do complexo 3-ain para seus orbitais moleculares. ....	71
Tabela 12	- Complexos com o ligante dipiridofenazina (dppz) e suas transições eletrônicas na região do UV-vis .....	73
Tabela 13	- Contribuições dos fragmentos do complexo 4-NO <sub>2</sub> para seus orbitais moleculares.....	74
Tabela 14	- <sup>1</sup> H-RMN para os hidrogênios do ligante indazol nos complexos 1-indz, 2- indz e indazol livre em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .....	80
Tabela 15	- <sup>1</sup> H-RMN para os hidrogênios do ligante 7-azaindol nos complexos 1-ain, 2-ain, 3-ain e 7-azaindol livre, em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .....	86
Tabela 16	- <sup>1</sup> H-RMN dos hidrogênios da bipyridina e do ligante pentametilciclopentadienil nos complexos 1-indz, 1-ain e 1-NO <sub>2</sub> e seu precursor em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .....	92
Tabela 17	- <sup>1</sup> H-RMN dos hidrogênios da fenantrolina e do ligante	92

pentametilciclopentadienil nos complexos 2-indz, 2-ain e 2-NO<sub>2</sub> e seu precursor em (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO.....

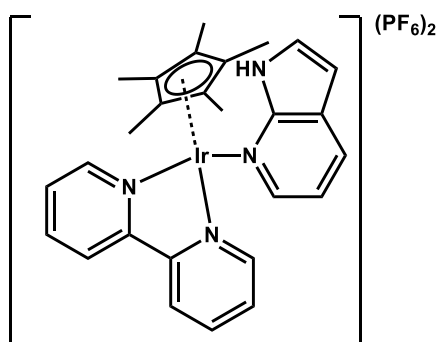
Tabela 18 - Dados de condutividade para os complexos, 1mmolL<sup>-1</sup>, em 96 metanol.....

## Abreviaturas e Símbolos

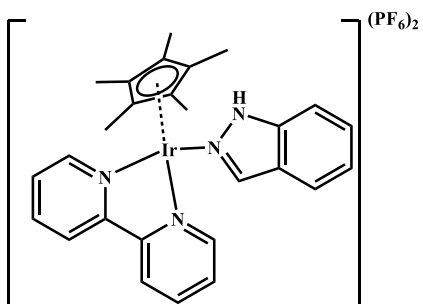
1



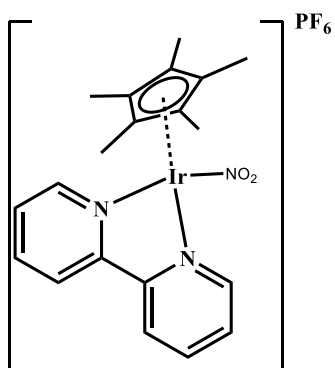
1-ain



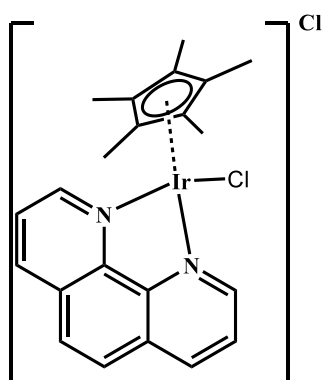
1-indz



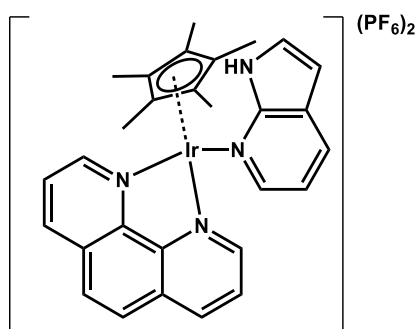
1-NO<sub>2</sub>



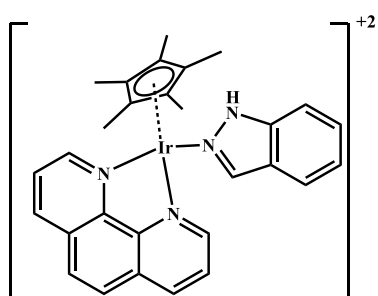
2



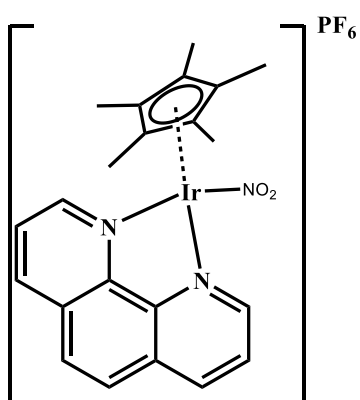
2-ain



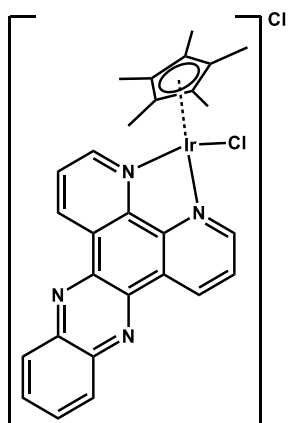
2-indz



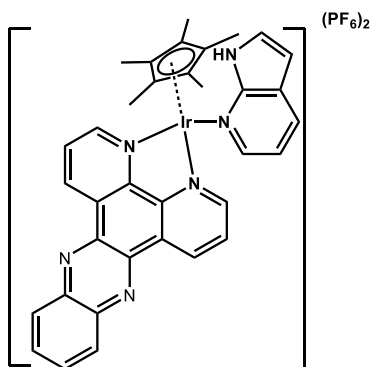
2-NO<sub>2</sub>



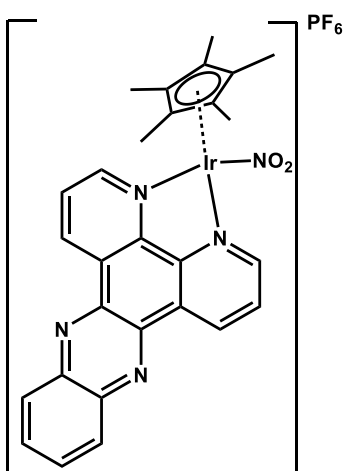
3



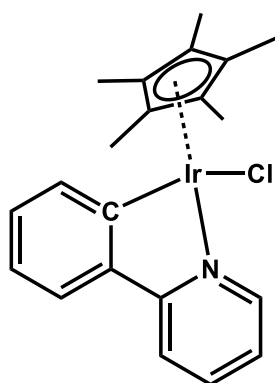
3-ain



3-NO<sub>2</sub>

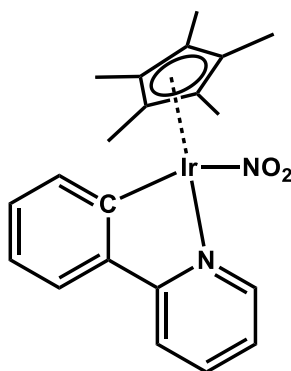


4





4-NO<sub>2</sub>



ain	7-azaindol
bpy	2,2-Bipiridina
cm	Centímetro, 10 <sup>-2</sup> m
cm <sup>-1</sup>	Frequência de Estiramento
Cp	Ciclopentadienil
Cp*	1,2,3,4,5-Pentametilciclopentadienil
DMSO	Dimetilsufóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dppn	Benzodipiridofenazinha
dppz	Dipiridofenazina
dpq	Dipiridoquinoxilina
en	Etilenodiamina
Im	Imidazol
indz	Indazol
Me	Metil
nm	Nanometro, 10 <sup>-9</sup> m
phen	1,10-Fenantrolina
phpy	2-Fenilpiridina
py	Piridina
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	Segundos
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta/Visível
v	Estiramento
λ	Comprimento de Onda
ε	Absortividade Molar

μ	Micro, 10 <sup>-6</sup>
μg	Micrograma, 10 <sup>-6</sup> g

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	20
1.1	Complexos Metálicos como Agentes Anticâncer .....	20
1.2	Complexos Organometálicos como agentes anticâncer.....	23
1.2.1	<i>Arenos de Ósmio e Rutênio</i> .....	24
1.3	Complexos Anticâncer de Irídio .....	25
2	JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS .....	32
2.1	Objetivos Específicos .....	33
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	34
3.1	Reagentes.....	34
3.2	Síntese dos Precursores .....	34
3.2.1	<i>Síntese do complexo [Cp*IrCl<sub>2</sub>]<sub>2</sub></i> .....	34
3.2.2	<i>Síntese do complexo [Cp*Ir(bpy)Cl]Cl (1)</i> .....	34
3.2.3	<i>Síntese do complexo [Cp*Ir(phn)Cl]Cl (2)</i> .....	35
3.2.4	<i>Síntese do complexo [Cp*Ir(dppz)Cl]Cl (3)</i> .....	35
3.2.5	<i>Síntese do complexo [Cp*Ir(phpy)Cl] (4)</i> .....	35
3.3	Síntese dos Complexos em Estudo.....	36
3.3.1	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(bpy)(indz)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> (1-indz)</i> .....	37
3.3.2	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(bpy)(ain)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> (1-ain)</i> .....	37
3.3.3	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(bpy)(NO<sub>2</sub>)](PF<sub>6</sub>) (1-NO<sub>2</sub>)</i> .....	37
3.3.4	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(phn)(indz)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> (2-indz)</i> .....	38
3.3.5	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(phn)(ain)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> (2-ain)</i> .....	38
3.3.6	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(phn)(NO<sub>2</sub>)](PF<sub>6</sub>) (2-NO<sub>2</sub>)</i> .....	38
3.3.7	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(dppz)(NO<sub>2</sub>)]Cl (3-NO<sub>2</sub>)</i> .....	38
3.3.8	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(dppz)(ain)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> (3-ain)</i> .....	39
3.3.9	<i>Síntese do Complexo [Cp*Ir(phpy)NO<sub>2</sub>] (4-NO<sub>2</sub>)</i> .....	39
3.4	Caracterização dos complexos.....	39
3.4.1	<i>Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho</i> .....	39
3.4.2	<i>Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Visível</i> .....	40
3.4.3	<i>Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup>H</i> .....	40
3.4.4	<i>Espectroscopia de Massa</i> .....	40
3.4.5	<i>Condutividade Molar</i> .....	40

<b>3.5</b>	<b>Teoria do Funcional de Densidade (DFT)</b> .....	41
<b>3.6</b>	<b>Ensaio de Clivagem de DNA</b> .....	42
<b>3.5.1</b>	<b>Interação com DNA Plasmidial</b> .....	42
<b>3.7</b>	<b>Interação com o DNA genômico de timo de bezerro (CT, calf thymus).</b>	44
<b>3.7.1</b>	<b>Titulação com CT DNA</b> .....	44
3.7.1.1	Preparação das soluções estoque de DNA de timo de bezerro (Calf thymus, CT) e de complexos de Ir(III).....	44
3.7.1.2	Titulação.....	44
<b>3.7.2</b>	<b>Titulação do aduto DNA/Brometo de Etídio</b> .....	45
<b>3.8</b>	<b>Screening de atividade anticâncer</b> .....	45
<b>3.8.1</b>	<b>Material</b> .....	45
3.8.1.1	Células.....	45
3.8.1.2	Amostras .....	46
<b>3.8.2</b>	<b>Método</b> .....	46
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	47
<b>4.1</b>	<b>Caracterização dos Complexos Precusores</b> .....	47
<b>4.2</b>	<b>Caracterização dos Complexos em Estudo</b> .....	47
<b>4.2.1</b>	<b>Espectroscopia Vibracional na Região do Infra-Vermelho</b> .....	47
4.2.1.1	Complexos com o Ligante Indazol e 7-azaindol .....	47
4.2.1.2	Complexos com o Ligante $\text{NO}_2^-$ .....	53
<b>4.2.2</b>	<b>Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Visível</b> .....	59
4.2.2.1	Complexos com Bipyridina .....	59
4.2.2.2	Complexos com Fenantrolina.....	65
4.2.2.3	Complexos com Bipyridofenazina(dppz).....	68
4.2.2.4	Complexos com Fenilpiridina .....	73
<b>4.2.3</b>	<b>Ressonância Magnética Nuclear de <math>^1\text{H}</math></b> .....	75
4.2.3.1	Complexos com o ligante indazol.....	76
4.2.3.2	Complexos com o ligante 7-azaindol.....	80
4.2.3.3	Complexos com o ligante $\text{NO}_2^-$ .....	86
4.2.3.4	Efeito do ligante monodentado no quelante.....	91
<b>4.2.4</b>	<b>Espectroscopia de Massa</b> .....	92
<b>4.2.5</b>	<b>Condutividade Molar</b> .....	95
<b>4.3</b>	<b>Ensaio de Clivagem do DNA Plasmidial</b> .....	96

4.3.1	<i>Efeito da Concentração.....</i>	97
4.3.2	<i>Influência da Irradiação de Luz.....</i>	100
4.3.3	<i>Efeito da Glutathione .....</i>	103
4.4	<b>Interação com DNA Genômico de Timo de Bezerro (Calf thymus).....</b>	105
4.4.1	<i>Titulação Espectrofotométrica no UV-Visível.....</i>	105
4.4.2	<i>Titulação Fluorimétrica em Competição com Brometo de Etídio.....</i>	109
4.5	<b>Screening Anticâncer</b>	111
5	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....</b>	114
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	116
	<b>APÊNDICE A – APÊNDICE A – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA</b>	123
	<b>MAGNÉTICA NUCLEAR PARA O COMPLEXO [Cp*Ir(bpy)Cl]Cl (1)</b>	
	<b>APÊNDICE B – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA</b>	124
	<b>NUCLEAR PARA O COMPLEXO [Cp*Ir(phen)Cl]Cl (2)</b>	
	<b>APÊNDICE C – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA</b>	125
	<b>NUCLEAR PARA O COMPLEXO [Cp*Ir(dppz)Cl]Cl (3)</b>	
	<b>APÊNDICE D – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA</b>	126
	<b>NUCLEAR COSY PARA O COMPLEXO [Cp*Ir(phpy)Cl] (4)</b>	
	<b>APÊNDICE E – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA</b>	127
	<b>NUCLEAR PARA O COMPLEXO 3-NO<sub>2</sub>, em DMSO</b>	

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é o termo usado genericamente para definir um grande grupo de doenças que podem afetar qualquer área do corpo. São doenças causadas por danos no material genético que provocam perda de algumas restrições normais ao crescimento e divisão celular.<sup>1</sup> Esse crescimento desregulado provoca a formação de massas de células grandes e desformes que podem comprimir nervos, bloquear ou alterar o fluxo sanguíneo causando danos às células sadias mais próximas.<sup>2</sup> Elas ainda são capazes de migrar pelo organismo originando novos focos da doença. Esse processo, conhecido como metástase, é uma das maiores dificuldades no tratamento da doença. Enquanto cirurgia e radioterapia são eficientes no tratamento primário e localizado, a aplicação de um quimioterápico que seja capaz de reduzir a taxa de metástase e destruir seletivamente a célula cancerígena parece ser a melhor opção de tratamento.<sup>1</sup>

A organização mundial de saúde (OMS) aponta o câncer como uma das maiores causas de mortalidade no mundo inteiro. Em 2012, aproximadamente 8,2 milhões de mortes foram causadas por câncer no mundo e é esperado que nas próximas duas décadas esse valor aumente em 70%.<sup>3</sup> No Brasil, o número de novos casos de câncer esperados para o ano de 2016 segundo o Instituto Nacional de Câncer se aproximam de 600000.<sup>4</sup>

### 1.1 Complexos Metálicos como Agentes Anticâncer

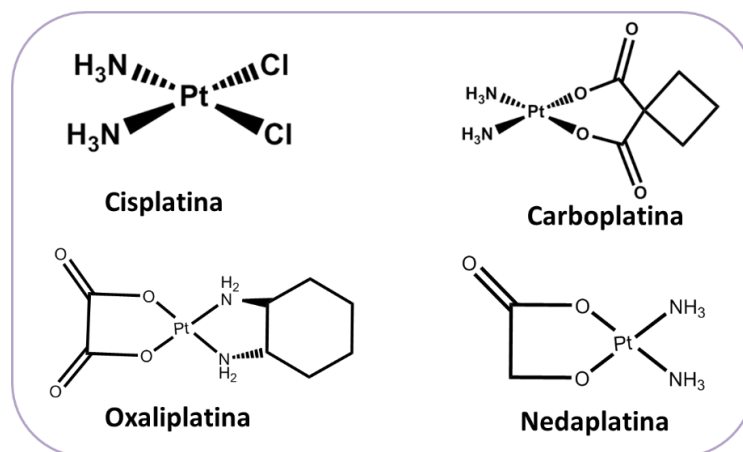
O descobrimento fortuito da atividade anticâncer do complexo  $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$  (conhecido como cisplatina) na década de 60, levou ao desenvolvimento de um dos agentes anticâncer mais eficientes da história (ainda utilizado no tratamento de câncer testicular), e motivou o desenvolvimento de novos complexos inorgânicos com possíveis aplicações na medicina. Apesar do descobrimento da atividade antitumoral da cisplatina ter sido ao acaso, atualmente, as pesquisas em química inorgânica medicinal, demonstram ter alcançado expressiva maturidade. Assim, o desenvolvimento de novas drogas é realizado de forma muito mais racional, possibilitando, além de buscar melhorar a atividade dos complexos contendo platina (como reduzir os efeitos colaterais) a utilização de outros metais como possíveis agentes anticâncer, com possíveis diferentes mecanismos de ação.<sup>5,6</sup>

O emprego de complexos metálicos para o desenvolvimento ou modificação de fármacos incorporam interessantes vantagens estruturais, o que pode proporcionar maior

seletividade ou atividade farmacológica. Pode-se citar as diferentes possibilidades de geometrias e números de coordenação, acessibilidade a diferentes estados redox, propriedades específicas dos cátions metálicos e dos seus ligantes que podem ser significativamente alteradas quando formam o complexo metálico. Estas propriedades oferecem ao químico inorgânico um largo espectro de possibilidades para o desenvolvimento estratégico de fármacos, ou até mesmo o resgate de drogas em desuso.<sup>68</sup>

Devido ao sucesso clínico dos complexos com platina e propostas iniciais de seu mecanismo de ação centrado no DNA, muitas das pesquisas iniciais feitas com complexos metálicos focam em sua interação e reatividade com o DNA. Todavia, atualmente, sabe-se que somente uma pequena fração do complexo de platina interage com o DNA, havendo outros alvos biológicos. Nas últimas décadas, mais de 3000 complexos de platina foram sintetizados e testados com respeito a sua atividade biológica, entretanto, menos de 30 compostos entraram em testes clínicos.<sup>9</sup> Atualmente, 4 complexos de platina estão em uso clínico mundialmente: cisplatina, carboplatina, oxaliplatina e nedaplatina (Figura 1). Apesar do sucesso dos complexos de platina, existem problemas restringindo seu uso clínico, tais como sua atividade limitada a um número restrito de linhagens cancerígenas, alguns tumores adquiriram resistência e além do fato deles geralmente causarem efeitos colaterais severos. O sucesso clínico e as desvantagens dos complexos baseados em platina estimularam o estudo de vários metais como possíveis agentes anticâncer incluindo paládio, irídio, ródio, rutênio, estanho, cobre e ouro. Curiosamente, diversos complexos que apresentaram potenciais atividades antitumorais não se comportavam como a cisplatina.<sup>6</sup>

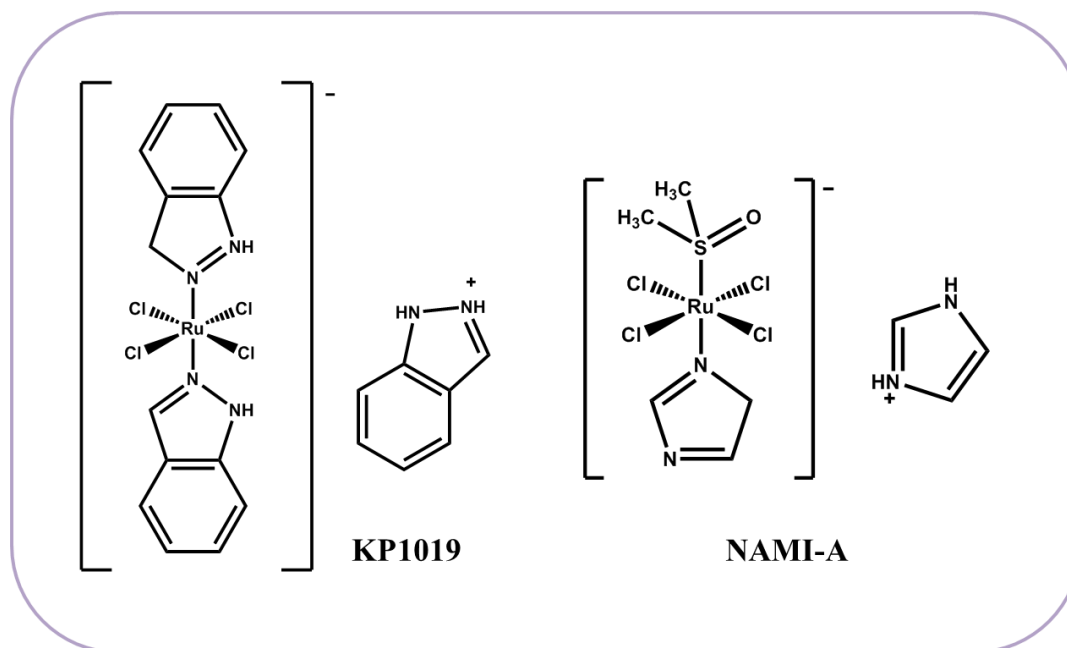
**Figura 1.** Estrutura dos complexos de platina atualmente em uso clínico.



Fonte: Elaborado pela autora.

Compostos de rutênio são considerados candidatos adequados para *design* de fármacos anticâncer pois possuem uma interessante química redox rica ( $\text{Ru}^{\text{II}}$  e  $\text{Ru}^{\text{III}}$ ), útil para controle de reatividade, e exibirem um espectro de cinética química similar à platina(II).<sup>10</sup> Alguns compostos de rutênio mostraram promissora atividade anticancerígena e dois complexos de  $\text{Ru}(\text{III})$  entraram em testes clínicos,  $[\text{trans-RuCl}_4(\text{Indz})_2][\text{IndzH}]$  (KP1019, Indz = indazol) e  $[\text{trans-RuCl}_4(\text{DMSO})(\text{Im})][\text{ImH}]$  (NAMI-A, DMSO = dimetilsulfóxido, Im = imidazol) (Figura 2). NAMI-A, foi o primeiro complexo de rutênio a entrar em fase clínica e se mostrou bastante eficácia contra metástase<sup>11,12</sup> atualmente, NAMI-A é investigado em combinação com gemcitabina como segunda linha de quimioterapia para carcinoma de células pulmonares sob metástases, encontrando-se em fase II de estado clínico.<sup>13</sup> Enquanto o complexo KP1019 apresentou atividade contra carcinoma de cólon<sup>14</sup> e seu sal solúvel KP1339 encerrou Fase I dos testes clínicos para carcinomas neuroendócrinos.<sup>15</sup> Estudos previamente reportados mostraram que complexos de  $\text{Ru}^{\text{III}}$  são ativados por redução quando *in vivo* formando uma espécie mais reativa de  $\text{Ru}^{\text{II}}$  devido à baixa estabilidade da ligação  $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-Cl}$ .<sup>16</sup> O que resultou no aumento de interesse dos complexos de  $\text{Ru}^{\text{II}}$ , especialmente os complexos organometálicos de arenos de  $\text{Ru}^{\text{II}}$ , inclusive alguns em estudo pré-clínico.

**Figura 2.** Estrutura dos complexos de rutênio em testes clínicos.

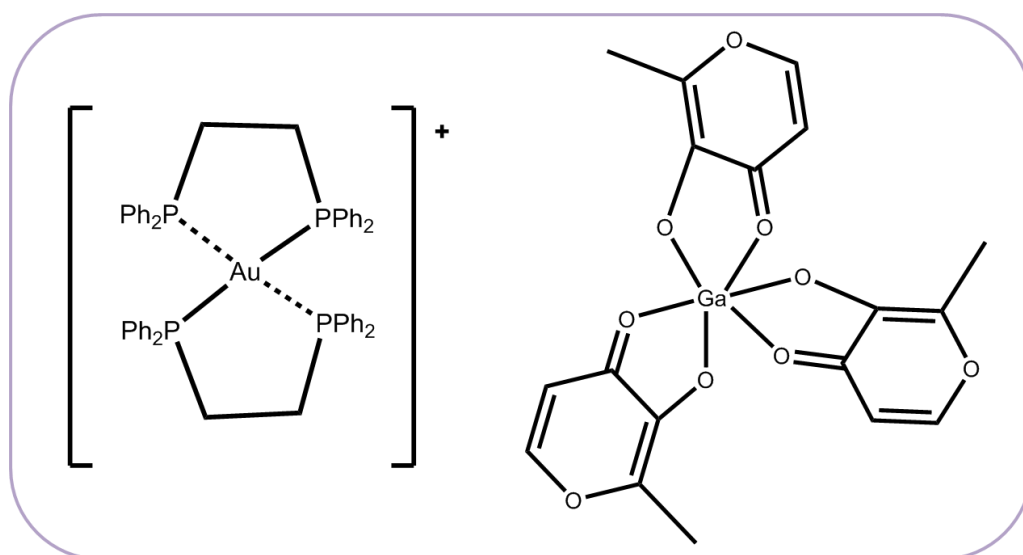


Fonte: Elaborado pela autora.



Um complexo de ouro foi descrito na literatura também com atividade anticâncer (Figura 3), todavia, possui mecanismo de ação diferente da cisplatina e, tendo como alvo a mitocôndria, destruindo o potencial da membrana.<sup>17</sup> Sais de gálio também são conhecidos por exibir atividade anticancerígena, estando o maltolato de Gálio<sup>III</sup> (Figura 3) em fase 1 de estudos clínicos para o tratamento de doença óssea e problemas relacionados<sup>18</sup>.

**Figura 3.** Estruturas dos complexos anticâncer de ouro e de gálio.



Fonte: Elaborado pela autora.

## 1.2 Complexos Organometálicos como agentes anticâncer

A química de organometálicos, principalmente de metais de transição, se desenvolveu rapidamente durante a segunda metade do século 20 o que enriqueceu e transformou esta área de pesquisa a um nível com poucos paralelos.<sup>19</sup> Complexos organometálicos são definidos pela presença de no mínimo uma ligação metal-carbono. Eles possuem uma alta variedade de escolha dos metais, ligantes, estados de oxidação e números de coordenação variados, variedade estrutural e estabilidade cinética. Portanto, complexos organometálicos representam uma ampla plataforma para desenvolvimento de novos agentes anticâncer.<sup>19</sup>

Os exemplos mais simples desses complexos organometálicos são aqueles contendo o ligante monóxido de carbono (grupo carbonil) coordenado ao centro metálico, mas que nesse trabalho serão abordados, focando em complexos coordenados a ligantes aromáticos cíclicos ligados através do sistema  $\pi$ . Para esses complexos uma nomenclatura especial foi formulada pela comunidade científica de forma a designar a maneira com que esses ligantes se

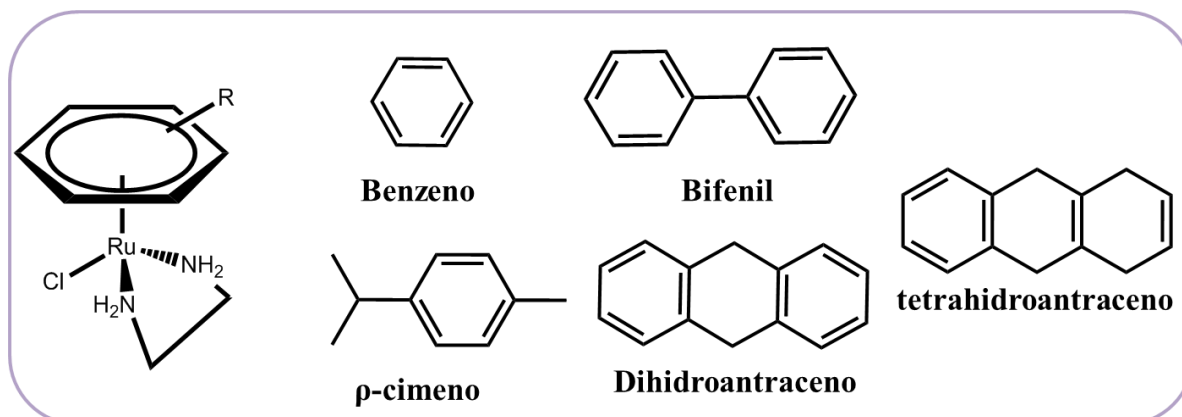
coordenam ao átomo metálico, pois muitos desses ligantes podem se ligar por diferentes números de átomos. O número de átomos pelo qual o ligante se coordena é indicado pela letra grega  $\eta$  (êta) seguida pelo número sobrescrito de átomos associados diretamente ao centro metálico. Por exemplo, o ciclopentadienil coordenado ao ferro no complexo ferroceno, se liga pelos cinco átomos de carbono, logo, é designado  $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5$  e a fórmula do ferroceno ( $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5$ )<sub>2</sub>Fe, geralmente a literatura científica apresenta ligantes desse tipo escritos antes do metal, apesar de que a recomendação IUPAC seja de manter sempre o metal antes de todos os ligantes.<sup>20</sup>

### 1.2.1 Arenos de Ósmio e Rutênio

Meggers e colaboradores desenvolveram uma série de inibidores de quinases que apresentavam o ligante ciclopentadienil modificado coordenado ao Ru(II), que também apresentavam potente atividade anticancerígena em diversas linhagens celulares.<sup>21</sup> Arenos neutros coordenantes ( $\eta^6$ ) conseguem estabilizar rutênio e ósmio em seu estado de oxidação +2. Devido a esse aspecto, Sadler e colaboradores investigaram a atividade anticâncer de complexos do tipo  $[(\eta^6\text{-areno})\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Os}^{\text{II}}(\text{XY})\text{Z}]$ , onde XY é um ligante quelante bidentado e Z trata-se de um ligante facilmente substituível, como o íon cloreto. A estrutura desses complexos permite variações em 3 componentes estruturais, o areno, o quelante (XY) e o ligante monodentado (Z), favorecendo o *design* e ajustando as propriedades termodinâmicas, cinéticas e farmacológicas.<sup>22</sup>

Os complexos arenos de rutênio contendo o quelante etilenodiamina (en),  $[(\eta^6\text{-areno})\text{Ru}^{\text{II}}(\text{en})\text{Cl}]$ , apresentaram atividade anticâncer promissora tanto *in vitro* quanto *in vivo*.<sup>22,23</sup> Nesses estudos, foi observado que a citotoxicidade, apresentada em IC<sub>50</sub>, sendo que IC<sub>50</sub> trata-se da concentração de composto que inibe 50% o crescimento celular, frente as linhagens celulares cancerígenas de ovário humano (A2780) aumentava com o tamanho do areno coordenado ao rutênio, seguindo a ordem: benzeno (IC<sub>50</sub> = 17  $\mu\text{M}$ , < *p*-cymene (IC<sub>50</sub> = 10  $\mu\text{M}$ ) < bifenil (IC<sub>50</sub> = 5  $\mu\text{M}$ ) < dihidroantraceno (IC<sub>50</sub> = 2  $\mu\text{M}$ ) < tetrahydroanthracene (IC<sub>50</sub> = 0.5  $\mu\text{M}$ ) (Figura 4).<sup>22</sup> Esse comportamento sugere que a hidrofobicidade do areno pode ocasionar no aumento da habilidade de intercalar com um dos alvos moleculares para esses complexos, o DNA.

**Figura 4.** Complexos arenos de rutênio com o ligante quelante etilenodiamina.



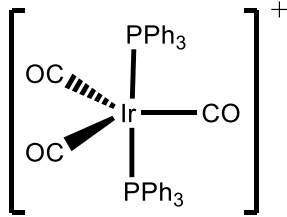
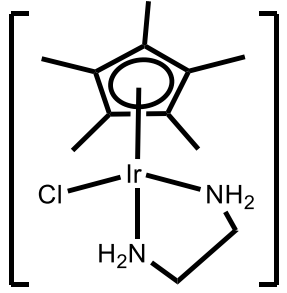
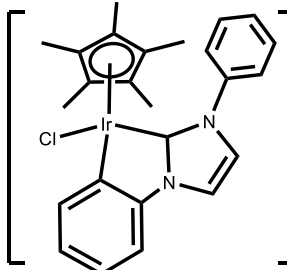
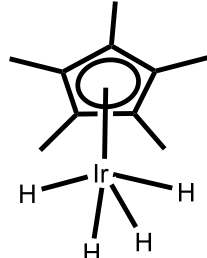
Fonte: Elaborado pela autora.

Ao contrário do congênere mais leve, rutênio, o ósmio teve sua atividade farmacológica pouco investigada. Os análogos de ósmio dos complexos com etilenodiamina,  $[(\eta^6\text{-areno})\text{Os}^{\text{II}}(\text{en})\text{Cl}]$ , também apresentaram atividade promissora para a linhagem celular cancerígena de ovário humano (A2780) com  $\text{IC}_{50} = 9\mu\text{M}$ .<sup>24</sup> Uma das razões para a menor citotoxicidade do análogo de ósmio foi atribuída a sua cinética de hidrólise lenta (aproximadamente 40 vezes mais lenta que a do rutênio), o que pode ser regulada com a substituição do ligante quelante etilenodiamino.<sup>24</sup> Os arenos de rutênio e ósmio foram importantes para o desenvolvimento de organometálicos como possíveis agentes anticâncer sob desenvolvimento planejado.

### 1.3 Complexos Anticâncer de Irídio

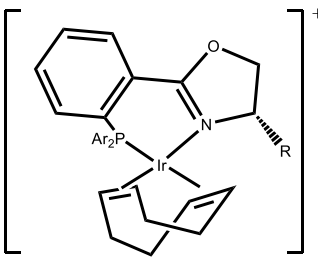
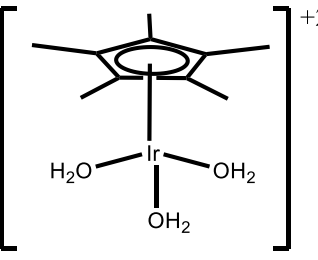
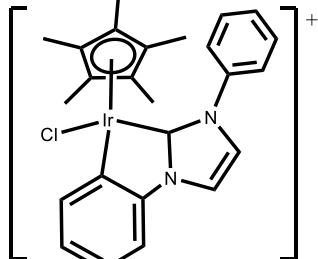
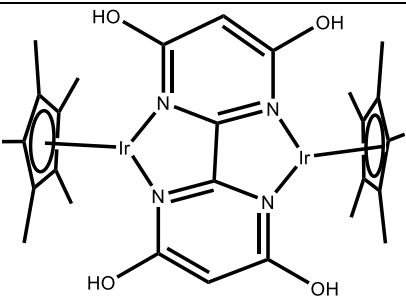
Irídio (Ir) é um metal de transição congênere do cobalto e ródio, fazendo parte do grupo de ‘‘metais preciosos’’ junto com a platina. Ele é um metal relativamente raro, descoberto em 1803 como uma impureza da platina. O irídio é um metal inerte e resistente à corrosão. Em 2007, a demanda global de Ir foi de 3700 kg, e metade foi utilizado em aplicações elétricas e eletroquímicas enquanto 20% foi utilizado em catálise. A variedade dos estados de oxidação ( $\text{Ir}^{\text{I}}$ ,  $\text{Ir}^{\text{III}}$  e  $\text{Ir}^{\text{IV}}$ ), números de coordenação e geometrias de coordenação dos complexos organometálicos de irídio estão ilustrados na Tabela 1.<sup>25</sup> Essas propriedades atraíram a atenção de diversos grupos e áreas de pesquisa, principalmente envolvendo a catálise.

Tabela 1. Estados de oxidação e geometrias para complexos organometálicos de Ir.

Estado de Oxidação	Exemplo	Geometria
-1	$\text{H}[\text{Ir}(\text{CO})_4]$	Tetraédrica
0	$\text{Ir}(\text{CO})_4$	Tetraédrica
+1	$[\text{Ir}(\text{CO})_2\text{I}_2]^-$	Quadrado Planar
		Bipirâmide Trigonal
+3		Pseudooctaédrica
+4		Pseudooctaédrica
+5		

Esses complexos são amplamente utilizados devido suas propriedades catalíticas,<sup>26,27</sup> as quais estão compiladas na Tabela 2. Em comparação com a atividade catalítica, já bem desenvolvida, complexos de irídio com atividade biológica ainda estão em estado inicial. Atualmente, existem três aplicações principais de organometálicos de Ir com aplicação biológica, sensores biológicos luminescentes,<sup>28</sup> inibidores de proteínas<sup>29</sup> e agentes anticâncer.<sup>30</sup>

Tabela 2. Complexos Organometálicos de Ir com suas atividades catalíticas.

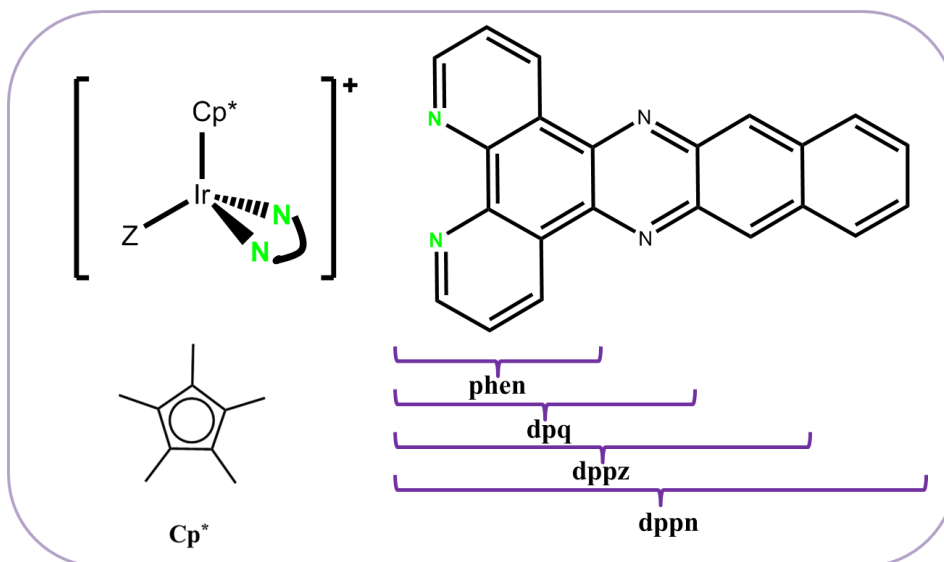
Complexo	Função
	Hidrogenação <sup>31</sup>
	Oxidação da Água <sup>32,33</sup>
	Oxidação da Água <sup>26</sup>
	Armazenamento e liberação de hidrogênio <sup>27</sup>

Durante o período de 1970-2000, a atenção para complexos anticâncer estava centrada nos complexos de Ir<sup>I</sup> com geometria quadrado planar semelhante a cisplatina, tais como os complexos [Ir(acetilacetato)(1,5-ciclooctadieno)]<sup>34</sup> e o binuclear [IrCl(1,5-ciclooctadieno)]<sub>2</sub>.<sup>35</sup>

Atualmente, os complexos de Ir<sup>III</sup> tem apresentado maior versatilidade para o *design* e atividade anticâncer. Os arenos neutros não estabilizam o centro metálico de Ir(III), entretanto, o ligante pentametilciclopentadienil (Cp\*), carregado negativamente, é geralmente utilizado como agente estabilizante desses complexos. Este fragmento oferece,

semelhantemente aos complexos de rutênio e ósmio, a possibilidade de *design* de novas metalodrogas por ser igualmente sensível a modificações em seus 3 componentes estruturais, o ligante Cp\*, o quelante e o ligante monodentado. As propriedades anticancerígenas de complexos de Ir(III) com o ligante Cp\* começaram a chamar atenção em 2007 quando Sheldrick e colaboradores reportaram uma série destes complexos com quelantes N,N do tipo polipiridil (dipiridoquinoxilina (dpq), dipiridofenazina (dppz), benzodipiridofenazinha (dppn)) com três ligantes monodentados (Z = Cl, (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CS e (NMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CS), todos baseados em complexos similares de Ru<sup>II</sup> com atividade citotóxica frente a células cancerígenas<sup>36,37</sup> (Figura 5). O aumento na área de contato molecular de um ligante polipiridil, geralmente, resulta no aumento de sua força de ligação com o DNA<sup>38</sup>, logo, complexos contendo o ligante dppz fornecem possibilidades para explorar interações intercalativas com o DNA. Adicionalmente, foi descrito que não somente o tamanho do ligante polipiridil mas também o ligante monodentado influenciavam nas interações com o DNA, pois o tamanho do ligante poderia otimizar a interação.<sup>36</sup>

**Figura 5.** Estrutura dos complexos de Ir(III) com ligantes polipiridil.



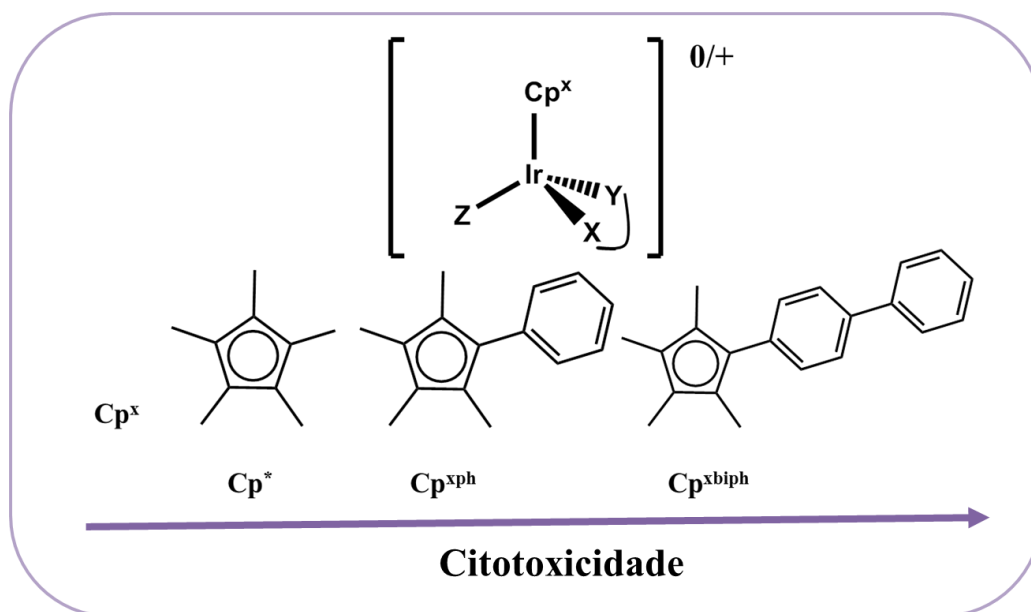
Fonte: Elaborado pela autora.

Sadler e colaboradores, baseados nas estruturas de arenos contendo Ru(II) e Os(II), exploraram a estrutura base  $[(\eta^5\text{-Cp}^x)\text{Ir}(\text{XY})\text{Cl}]^{0/+}$  ( $\text{Cp}^x$  = pentametilciclopentadienil modificados e XY=diferentes ligantes quelantes), empregando uma série de ligantes, e tendo observado alterações na atividade anticâncer destes complexos.<sup>39</sup>

Este grupo observou que os complexos do tipo  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Ir}(\text{XY})\text{Cl}]$ , onde XY eram ligantes quelantes como etileno diamina(en), bipyridina (bpy), fenantrolina (phen), associados

via átomos de N ou picolinato(pico) associado via átomos de N e O, mostraram-se todos inativos ( $IC_{50} > 100\mu M$ ) para linhagem cancerígena de cólon humano (A2780). Todavia, novos estudos realizados substituindo uma metila do ligante  $Cp^*$  por uma fenila ou por um 4'-fenilbenzeno, observou-se um expressivo aumento da citotoxicidade dos complexos. Interessantemente, essa propriedade melhorava à medida que se aumentava o número de anéis conjugados ao ligante areno  $Cp^*$ .<sup>40</sup> Esse estudo, em complemento com o já observado em arenos de rutênio, mostrou uma influência entre a hidrofobicidade dos complexos e a sua atividade anticâncer (Figura 6).

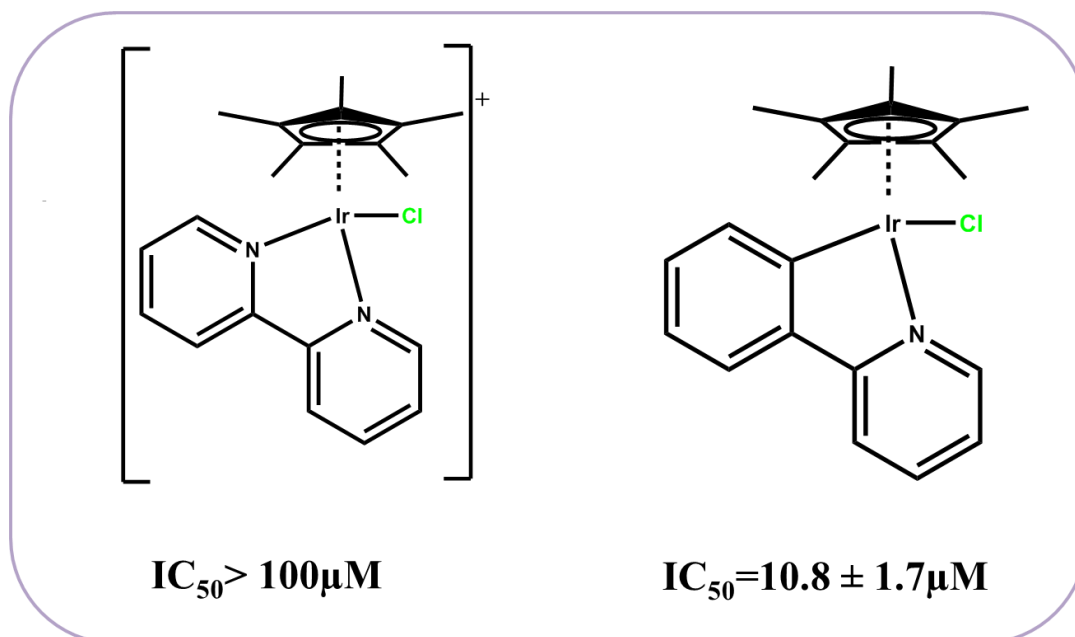
**Figura 6.** Estrutura geral dos complexos de Ir(III) com diferentes arenos.



Fonte: Elaborado pela autora.

Além desse estudo com o ligante  $Cp^*$ , foi realizado uma investigação do efeito anticâncer através da alteração dos ligantes quelantes. Desta forma, pode-se estabelecer que há também um aumento considerável da citotoxicidade, de mais de 10 vezes com a substituição de um ligante quelante neutro coordenado pelo N, por um ligante negativamente carregado coordenado por C e N, no caso em particular a 2-fenilpiridina (phpy) (Figura 7).<sup>41</sup>

**Figura 7.** Estrutura dos complexos  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]$  e  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phpy})\text{Cl}]$  e seus valores de  $\text{IC}_{50}$  para linhagem cancerígena A2780.

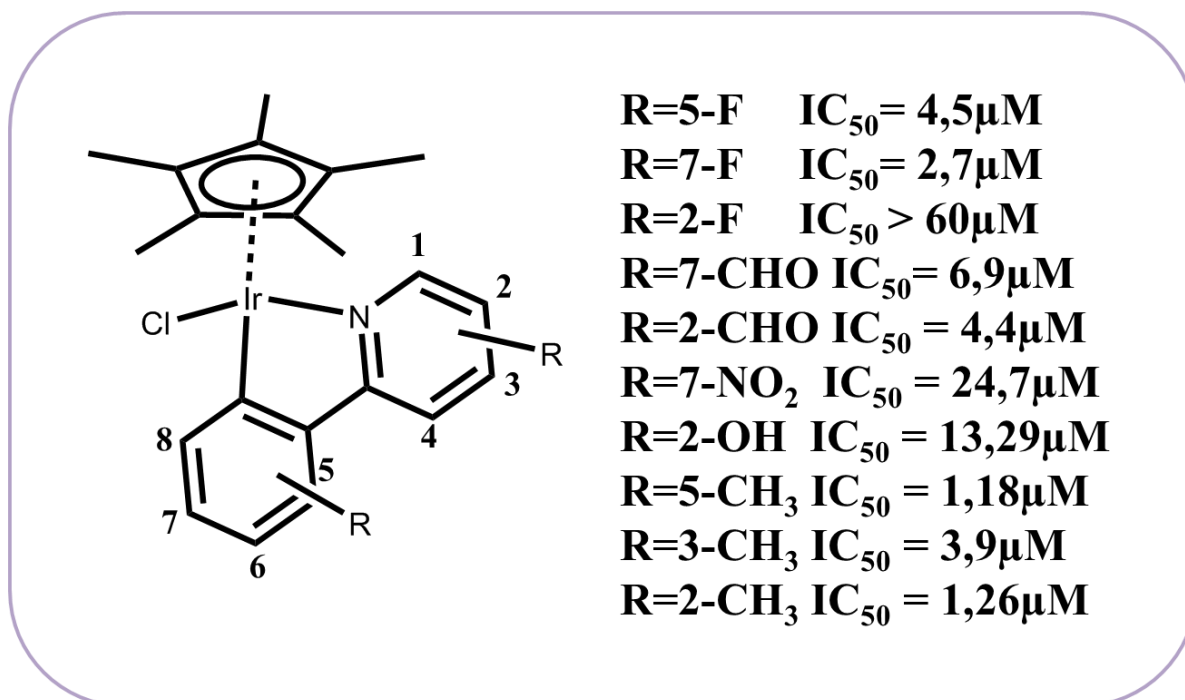


Fonte: Elaborado pela autora.

Modificações estruturais de complexos do tipo  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Ir}(\text{XY})\text{Cl}]^{0/+}$  vem sendo continuamente explorados nos últimos anos.<sup>42,45</sup> Recentemente, a substituição realizada nos anéis da 2-fenilpiridina com a formação de novos ligantes quelantes, revelou uma significativa dependência com a citotoxicidade, fortemente dependente do substituinte presente na porção da 2-fenilpiridina (Figura 8).<sup>43</sup> A substituição do ligante monodentado cloreto por um ligante neutro do tipo piridina (py) e derivados também apresentou uma forte correlação estrutura/atividade.<sup>44</sup> Desta forma, modulou-se a citotoxicidade de forma ampla alterando-se a vizinhança do irídio, provocando alterações de reatividade e hidrofobicidade além de espaciais que devem em conjunto ser responsáveis pelo efeito farmacológico.



**Figura 8.** Complexos de Ir(III) com o ligantes Fenilpiridina modificados e seus valores de IC<sub>50</sub> para linhagem cancerígena A2780.



Fonte: Elaborado pela autora.

## 2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

A investigação da relação estrutural dos complexos com sua atividade é fundamentalmente importante para o *design* racional de novos medicamentos. Além de correlacionar a estrutura, a proposta de um possível mecanismo de ação baseado em evidências obtidas *in vivo* auxilia no desenvolvimento de novos medicamentos, tornando esses estudos menos aleatórios.

Nesse estudo, pretendeu-se empregar os conhecimentos adquiridos sobre o sistema de  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Ir}(\text{XY})\text{Cl}]$  e realizar o *design* planejado de possíveis novas metalodrogas, tendo como foco inicial a atividade anticâncer.

Foram sintetizados e caracterizados 9 novos complexos de Ir(III) tendo como base 4 complexos precursores já sintetizados previamente. Os primeiros dois precursores,  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$  (1) e  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Ir}(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$  (2), não apresentam atividade anticâncer e, esperava-se, que as modificações estruturais resultassem em complexos ativos. Os outros dois precursores,  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Ir}(\text{dppz})\text{Cl}]\text{Cl}$  (3) e  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Ir}(\text{phpy})\text{Cl}]$  (4), já possuem atividade anticancerígena e pretende-se, com as modificações, aumentar sua solubilidade e atividade biológica. As modificações estruturais foram realizadas substituindo o ligante monodentado cloreto por diferentes ligantes e estudou-se a influência que esses ligantes terão na reatividade e atividade biológica dos complexos. Essa estratégia se fundamenta na literatura, onde há descrições de que modificações no ligante monodentado mostraram ser uma forma eficiente de aumentar a citotoxicidade e seletividade de complexos similares.<sup>44,46</sup>

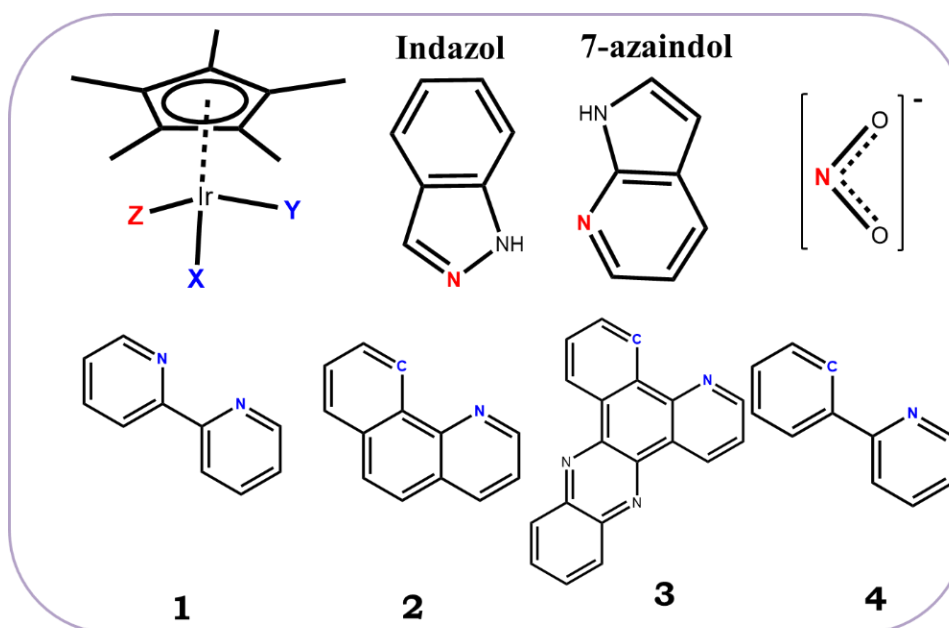
Os ligantes nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), indazol (indz) e 7-azaindol (ain) foram selecionados para substituir o ligante cloreto nos precursores descritos. O nitrito foi selecionado devido a sua conversão em pH ácido a NO, funcionando assim como um potencial doador de óxido nítrico<sup>47</sup>. O NO, geralmente, utilizado como vasodilatador, desagregador plaquetário, anti-inflamatório tem apresentado também atividade anticancerígena<sup>48</sup>. Desta forma a adição de um doador de NO ao complexo poderia potencializar uma atividade sinérgica com o NO, a simples adição do nitrito sem que o mesmo se converta a NO poderia ainda adicionar propriedades interessantes ao complexo, já que o nitrito também apresenta atividade biológica<sup>49</sup>. Os indazóis constituem uma importante classe de N-heterociclos que apresentam propriedades biológicas importantes, como antidepressiva, anti-inflamatória, analgésica, anticancerígena e anti-HIV,<sup>50</sup> inclusive trata-se de um dos ligantes presentes nos complexos de Ru KP-1019 e KP-1339 em fase 1 e 2 testes clínicos anticancerígenos. Uma classe de

derivados do 7-azaindol, os *merilolins*, mostraram uma potente atividade anticancerígena *in vivo*,<sup>51</sup> tornando-o um ligante promissor neste estudo. Portanto, a coordenação do nitrito, indazol e do 7-azaindol poderia promover uma possível atividade sinérgica a qual foi avaliada neste trabalho.

## 2.1. Objetivos Específicos

- Sintetizar 9 complexos de fórmula  $[(\eta^5\text{-Cp}^*)\text{Ir}(\text{XY})\text{Z}]$ , em que XY= ligantes quelantes do tipo: 2,2'-bipiridina(bpy), 1,10-fenantrolina(phen), dipiridofenazina(dppz) e 2-fenilpiridina(phpy), e  $\text{Z}=\text{NO}_2^-$ , indazol e 7-azaindol
- Caracterizar esses complexos por técnicas espectrofotométricas (UV-Vis e infravermelho), ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massa, microanálise e condutividade.
- Investigar a interação dos complexos com o DNA empregando eletroforese em gel de agarose, titulação espectrofotométrica no UV-Vis e por fluorescência.
- Determinar a citotoxicidade dos complexos em diferentes linhagens de células cancerígenas e comparar com a atividade dos complexos precursores, realizar uma tentativa de avaliar a relação estrutura/atividade

**Figura 9.** Estrutura geral dos complexos sintetizados nesse trabalho



Fonte: Elaborado pela autora.

### 3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de pureza analítica sem nenhuma purificação prévia. A água utilizada em toda as sínteses e experimentos foi obtida em equipamento de ultrapurificação (Direct Q<sup>®</sup> 3UV, MILLIPORE). Os ligantes empregados nas sínteses foram adquiridos da Sigma-Aldrich e utilizados como recebidos, enquanto o ligante dipiridofenazina (dppz) foi sintetizado segundo procedimento já descrito na literatura<sup>42</sup>. Tricloreto de Ir(III) hidratado fora adquirido da Precious Metals Online (Australia) e empregado sem qualquer pré-tratamento.

#### 3.2. Síntese dos Complexos Precursores

Todos os complexos precursores já haviam sido sintetizados previamente, desta forma sintetizou-se esses compostos seguindo os procedimentos descritos na literatura, tal como brevemente descritos abaixo.

##### 3.2.1. Síntese do complexo $[Cp^*IrCl_2]_2$

1,2,3,4,5-Pentametilciclopentadieno (7,00g, 51,5 mmol) foi dissolvido em metanol anidro (250 mL) e manteve-se sob agitação em atmosfera de argônio por 30 min.  $IrCl_3 \cdot xH_2O$  (2,00 g, 6,71 mmol) foi adicionado e a mistura ficou em refluxo por 48 h em atmosfera inerte. O volume da mistura reacional foi reduzido a um terço do inicial em pressão reduzida. A solução foi filtrada para isolar um sólido laranja que foi lavado com éter etílico e armazenado em dessecador.<sup>52,53</sup> (rendimento:1,78 g, 66%). <sup>1</sup>H RMN (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  =1,58ppm (s, 30H, Cp\*)

##### 3.2.2. Síntese do complexo $[Cp^*Ir(bpy)Cl]Cl$ (1)

$[Cp^*IrCl_2]_2$  (150mg, 0,188 mmol) foi solubilizado em DMF (15mL) e ficou sob agitação em atmosfera inerte por 5 minutos. Em seguida, 2,2-bipiridina (73,3mg, 0,470 mmol) foram adicionados a solução laranja. Após 15min, a solução mudou de coloração para

amarela. A solução ficou sob agitação em atmosfera inerte por 5h. Éter etílico foi adicionado para precipitar o sólido amarelo que foi lavado com éter e hexano e guardado em dessecador.<sup>54</sup> (rendimento: 84mg, 40%)  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 9,15$  (d, 2H, bpy), 8,89 (d, 2H, bpy), 8,37(t, 2H, bpy), 7,94 (t, 2H, bpy) 1,79ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.2.3. Síntese do complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$ (2)

O complexo  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phn})\text{Cl}]\text{Cl}$  foi sintetizado de forma análoga ao complexo  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$ , utilizando  $[\text{Cp}^*\text{IrCl}_2]_2$  (150 mg, 0,188 mmol), 1,10-fenantrolina (85mg, 0,470mmol) em DMF (15mL), mantido em atmosfera inerte por 5h. O sólido amarelo foi precipitado por adição de éter etílico. O sólido foi isolado através de filtração em funil de placa porosa e lavado com éter etílico seguido de hexano em seguida, armazenado em dessecador.<sup>54</sup> (rendimento: 160 mg, 73%)  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 9,56$  (d, 2H), 9,00 (d, 2H), 8,30(dd, 2H), 8,39 (s, 2H) 1,86ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.2.4. Síntese do complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{dppz})\text{Cl}]\text{Cl}$ (3)

O complexo  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{dppz})\text{Cl}]\text{Cl}$  foi sintetizado de forma análoga ao complexo  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$ , utilizando  $[\text{Cp}^*\text{IrCl}_2]_2$  (150mg, 0.188 mmol), dipiridofenazina (dppz) (116mg, 0.408mmol) em DMF (20mL), mantido em atmosfera inerte por 5h. O sólido amarelo foi precipitado por adição de éter etílico. O sólido foi isolado através de filtração em funil de placa porosa e lavado com éter etílico seguido de hexano, então mantido seco em dessecador.<sup>54</sup> (rendimento: 200 mg, 56%)  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 9,91$  (d, 2H, dppz), 9,63 (d, 2H, dppz), 8,53(dd, 2H, dppz), 8,47 (dd, 2H, dppz), 8,22 (dd, 2H, dppz) 1,90ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.2.5. Síntese do complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phpy})\text{Cl}]\text{Cl}$ (4)

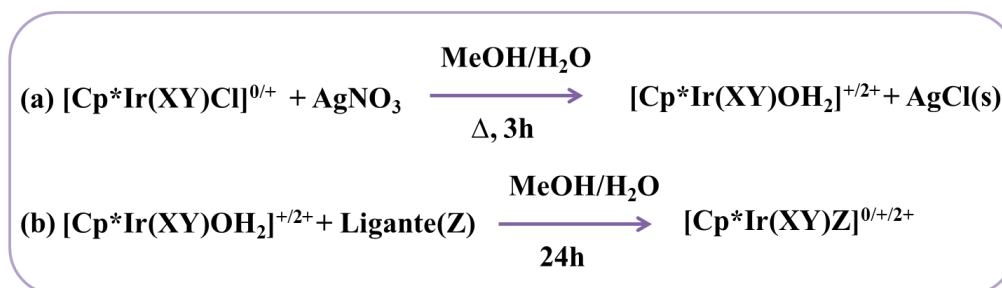
O complexo  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phpy})\text{Cl}]\text{Cl}$  foi sintetizado adaptando procedimento previamente descrito na literatura.<sup>55</sup> O ligante 2-fenilpiridina(107 mg, 0,692 mmol) foi dissolvido em 50mL de diclorometano e mantido em atmosfera inerte em um frasco do tipo Schlenk por 15 minutos, na presença de acetato de sódio (113 mg, 1,384 mmol). Em seguida, o complexo

$[\text{Cp}^*\text{IrCl}_2]_2$  (200mg, 0,346mmol) foi adicionado ao frasco. A suspensão ficou em agitação no frasco schlenk sob atmosfera de argônio por 36h. Após o período reacional a suspensão foi filtrada empregando celite e a solução resultante rotaevaporada a securo. O sólido laranja foi dissolvido em clorofórmio e recristalizado por mistura de solventes clorofórmio/hexano e filtrado em funil de placa porosa e lavado com hexano. (rendimento: 160mg, 45%)  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 8,78$  (d, 1H, phpy), 8,01 (d, 1H, phpy), 7,82(t, 1H, phpy), 7,77 (2, 1H, phpy), 7,25 (t, 1H, phpy), 7,11 (t, 1H, phpy), 6,96 (t, 1H, phpy), 1,66ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.3. Síntese dos Complexos em Estudo

Os complexos em estudo foram sintetizados se baseando em metodologia adotada para substituição do ligante cloreto pelo ligante piridina adaptado da literatura.<sup>44</sup> A reação genérica pode ser observada na Figura 10. Na figura 10a, o precursor contendo o íon cloreto é dissolvido em uma mistura metanol/água em proporção de 1:1 e mantida em refluxo com uma quantidade um pouco abaixo da estequiométrica de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) durante 3h. Após a retirada forçada do ligante cloreto, a solução é filtrada empregando celite para separar a solução com o complexo aqua do sólido de cloreto de prata. Em seguida, a solução contendo o complexo aqua permanece em agitação e atmosfera inerte com o ligante que se deseja coordenar em excesso de 5 vezes por 24h. Após este tempo, os complexos que possuem carga tiveram sua precipitação realizada com adição do sal hexafluorfosfato de amônio ( $\text{NH}_4\text{PF}_6$ ) cerca de 8 vezes em excesso.

**Figura 10.** Representação das reações de substituição para formação dos complexos em estudo.



Fonte: Elaborado pela autora.

#### 3.3.1. Síntese do Complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})(\text{indz})](\text{PF}_6)_2$ (1-indz)

Este complexo foi sintetizado utilizando-se  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$  (62,4 mg , 0,113 mmol) , dissolvido em uma mistura de 30mL metanol/água (1:1). Seguido da adição de  $\text{AgNO}_3$  (37.8

mg, 0,224 mmol) e após filtração adição de indazol (70 mg, 0,593 mmol) e  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (300 mg, 1,84 mmol). Depois de isolado o sólido marrom claro foi lavado com água e recristalizado em metanol/ éter etílico, rendendo um sólido amarelo claro. (rendimento: 50 mg, 49,6%)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 12,61$  (s, 1H, NH) 9,66 (d, 2H, bpy), 8,76(d, 2H, bpy), 8,50(t, 2H, bpy), 8,43(s, 1H, indz), 8,18(t, 2H, bpy), 7,74(d, 1H, indz), 7,47(s, 2H, indz), 7,24(t, 1H, indz) 1,85ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.3.2. Síntese do Complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})(\text{ain})](\text{PF}_6)_2$ (1-ain)

Este complexo foi sintetizado utilizando  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$  (100 mg, 0,180 mmol), dissolvido em uma mistura de 20mL metanol/água (1:1) adicionando  $\text{AgNO}_3$  (37,8 mg, 0,224 mmol) e, após filtração, adição de 7-azaindol (85mg, 0,720mmol),  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (300 mg, 1,84 mmol). O sólido amarelo isolado por filtração foi lavado com água e recristalizado em metanol/ éter etílico rendendo um sólido amarelo pálido. (rendimento: 60 mg, 37.3%)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 9,85$  (d, 2H, bpy), 9,30 (s, 1H, NH), 8,73(d, 2H, bpy), 8,50(t, 2H, bpy), 8,22(t, 2H, bpy), 8,19(m, 2H, 7-aza), 7,53(s, 1H, 7-aza), 7,19(t, 1H, 7-aza), 6,72(s, 1H, 7-aza) 1,82ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.3.3. Síntese do Complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})(\text{NO}_2)](\text{PF}_6)$ (1- $\text{NO}_2$ )

Foi sintetizado utilizando  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$  (100mg, 0,180 mmol), dissolvido em uma mistura de 20mL metanol/água (1:1) adicionando  $\text{AgNO}_3$  (37,8mg, 0,224mmol), e, após filtração adição  $\text{NaNO}_2$  (49,7mg, 0,720mmol),  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (300mg, 1,84mmol). O sólido cristalino amarelo foi recolhido em funil de placa porosa e lavado com água. (rendimento: 45mg, 37%)  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 9,29$  (d, 2H, bpy), 8,78 (d, 2H, bpy), 8,46(t, 2H, bpy), 8,02 (t, 2H, bpy), 1,79ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.3.4. Síntese do Complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phen})(\text{indz})](\text{PF}_6)_2$ (2-indz)

Este complexo foi sintetizado utilizando  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$  (70mg, 0,120 mmol),  $\text{AgNO}_3$  (37,8mg, 0,224mmol) em uma mistura de 20mL metanol/água (1:1) e, após filtração, adição indazol (85mg, 0,720mmol),  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (300mg, 1,84mmol). O sólido amarelo foi

recristalizado em metanol/ éter etílico. (rendimento: 15mg, 14%)  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 10,03$  (d, 2H, phn), 9,08(d, 2H, phn), 8,48(dd, 2H, phn), 8,33 (s, 3H,phn+ indz), 7,60(d, 1H, indz), 7,36(s, 2H, indz), 7,11(t, 1H, indz) 1,89ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.3.5. Síntese do Complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phen})(\text{ain})](\text{PF}_6)_2$ (2-ain)

Este complexo foi sintetizado utilizando  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$  (70mg, 0,120 mmol),  $\text{AgNO}_3$  (23mg, 0,136mmol) em uma mistura de 20mL metanol/água (1:1), e, após filtração, 7-azaindol (85mg, 0,720mmol),  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (300mg, 1,84mmol). O sólido amarelo foi recolhido em funil de placa porosa, lavado com água e recristalizado em metanol/ éter etílico.  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 10,20$  (d, 2H, phn), 8,89 (d, 2H, phn), 8,32 (dd, 2H, phn), 8,22 (s, 2H, phn), 8,04(d, 1H, ain), 7,53 (d, 1H, ain), 6,71(d, 1H, ain), 6,64(t, 1H, ain), 5,99(d, 1H, ain) 1,75ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.3.6. Síntese do Complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phen})(\text{NO}_2)](\text{PF}_6)$ (2- $\text{NO}_2$ )

Este complexo foi sintetizado utilizando  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{phen})\text{Cl}]\text{Cl}$  (80mg, 0,138 mmol),  $\text{AgNO}_3$  (23mg, 0,136mmol) em uma mistura de 20mL metanol/água (1:1),  $\text{NaNO}_2$  (38mg, 0,552mmol),  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (300mg, 1,84mmol). O sólido amarelo foi recolhido em funil de placa porosa e lavado com água.(rendimento: 80mg, 82%)  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 9,68$  (d, 2H, phn), 9,06 (d, 2H, phn), 8,40(s, 2H, phn), 8,36 (dd, 2H, phn), 1,85ppm (s, 15H, Cp\*).

### 3.3.7. Síntese do Complexo $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{dppz})(\text{NO}_2)]\text{PF}_6$ (3- $\text{NO}_2$ )

Este complexo foi sintetizado utilizando  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{dppz})\text{Cl}]\text{Cl}$  (67,2mg, 0,138 mmol),  $\text{AgNO}_3$  (33mg, 0,195mmol) em uma mistura de 40mL metanol/água (1:1), e, após filtração, adição de  $\text{NaNO}_2$  (27.2mg, 0,394mmol),  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (300mg, 1,84mmol). O sólido marrom foi recolhido em funil de placa porosa e lavado com água (rendimento: 38mg, 34%).  $^1\text{H RMN}$  (500 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta = 9,97$  (d, 2H, dppz), 9,82 (d, 2H, dppz), 8,52(m, 4H, dppz), 8,22 (dd, 2H, dppz), 1,85ppm (s, 15H, Cp\*).



### 3.3.8. Síntese do Complexo $[Cp^*Ir(dppz)(ain)](PF_6)_2$ (3-ain)

Este complexo foi sintetizado utilizando  $[Cp^*Ir(dppz)Cl]Cl$  (67,2mg, 0,138 mmol),  $AgNO_3$  (33mg, 0,195mmol) em uma mistura metanol/água (20mL, 1:1), 7-azaindol (47mg, 0,394mmol),  $NH_4PF_6$  (300mg, 1,84mmol). O sólido marrom foi recolhido em funil de placa porosa e lavado com água (rendimento: 20mg, 14%).  $^1H$  RMN (500 MHz,  $(CD_3)_2CO$ )  $\delta$  = 10,33 (d, 2H, dppz), 10,02 (d, 2H, dppz), 9,50 (s, 1H, ain), 8,67(dd, 2H, dppz), 8,45 (m, 3H, dppz + ain), 8,18 (dd, 2H, dppz), 8,13 (d, 1H, ain), 7,55(s, 1H, ain), 7,17(t, 1H, ain), 7,10 (d, 1H, ain), 1,90ppm (s, 15H,  $Cp^*$ ).

### 3.3.9. Síntese do Complexo $[Cp^*Ir(phpy)NO_2]$ (4- $NO_2$ )

Este complexo foi sintetizado de forma análoga ao complexo  $[Cp^*Ir(bpy)indz](PF_6)_2$ , utilizando  $[Cp^*Ir(phpy)Cl]$  (71mg, 0,137 mmol),  $AgNO_3$  (23mg, 0,136mmol) em uma mistura metanol/água (50mL, 1:1) e, em seguida adicionou-se,  $NaNO_2$  (69mg, 0,548mmol). O complexo amarelo precipitou assim que o nitrito de sódio foi adicionado, mas a síntese permaneceu em agitação por 24h. Em seguida, foi filtrado e lavado com água. (rendimento: 25mg, 34%)  $^1H$  RMN (500 MHz,  $(CD_3)_2CO$ )  $\delta$  = 8,90 (d, 1H, phpy), 8,08 (d, 1H, phpy), 7,94(t, 1H, phpy), 7,82 (d, 1H, phpy), 7,79 (d, 1H, phpy), 7,32 (t, 1H, phpy), 7,15 (t, 1H, phpy), 7,06 (t, 1H, phpy), 1,70ppm (s, 15H,  $Cp^*$ ).

## 3.4. Caracterização dos complexos

### 3.4.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros vibracionais dos compostos foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro de infravermelho com Transformada de Fourier FTIR da ABB Bomem FTLA 2000-102, apresentando uma janela espectral de 4000 a 400  $cm^{-1}$ . As amostras foram preparadas dispersas em KBr seco, grau espectroscópico, na forma de pastilhas translúcidas.

### ***3.4.2. Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Visível***

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e visível dos complexos foram obtidos em um espectrofotômetro Cary 5000 UV-Vis-NIR da Varian. As amostras foram preparadas e medidas em solução utilizando uma cubeta de quartzo retangular de caminho óptico de 1cm, os espectros foram obtidos à temperatura ambiente.

### ***3.4.3. Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$***

Os espectros de  $^1\text{H}$  RMN foram adquiridos em tubos de RMN de 5 mm a 298 K com espectrômetro Bruker DPX 500. As faixas para referência interna foram atribuídas ao  $\text{CDCl}_3$  (7,26 ppm) ou  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  (2,05 ppm) para acetona- $d_6$ . Os solventes deuterados foram adquiridos da Sigma Aldrich e utilizados tal como recebidos, sem qualquer tratamento prévio.

### ***3.4.4. Espectroscopia de Massa***

Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em espectrômetro SHIMADZU, modelo LCMS-IT-TOF, equipado com uma fonte de ionização por electrospray (IES), sendo os scans adquiridos no modo positivo. Condições gerais das análises: voltagens do capilar 3500V; temperatura e fluxo do gás secante: 150°C e 150 $\mu\text{L}/\text{h}$ . Nitrogênio foi utilizado como gás de nebulização e solução de NaTFA foi usada como padrão para calibração do IT-TOF.

### ***3.4.5. Condutividade Molar***

As medidas de condutividade foram realizadas em condutivímetro Q795M2 da QUIMIS. Foram preparadas soluções dos complexos (1 mmol  $\text{L}^{-1}$ ) em metanol, bem como padrões de referência, e realizada leitura direta.

### 3.5. Teoria do Funcional de Densidade (DFT)

Todas as otimizações geométricas foram conduzidas utilizando-se a Teoria do Funcional de Densidade (DFT) implementada no pacote de bases do Software Gaussian09 (Gaussian Inc, Wallingford, CT).<sup>56</sup> Distâncias de ligação e frequências vibracionais foram previstas com a utilização do funcional híbrido B3LYP (restrito). Este funcional usa uma combinação do funcional de troca de 03 parâmetros de Becke, B3, com o funcional de correlação com correções de gradiente fornecidas através dos estudos de Lee, Yang e Parr (LYP).<sup>57,59</sup> Os elétrons de caroço (eletrons core) - 1s até 4f - foram descritos pelo Los Alamos National Laboratory, através da utilização da função de base de pseudo-potencial de núcleo efetivo do tipo duplo-ZETA; (LANL2DZ), cuja aplicação serviu para otimizar e descrever o átomo de Ru. Para a caracterização dos outros átomos (C, H, N, O, F, S, Cl, Br e F) utilizou-se a função de base conjunto de base 6-31G(d,p).<sup>60</sup>

A análise vibracional foi realizada quando nenhuma frequência imaginária foi encontrada indicando que as geometrias otimizadas foram em um mínimo da superfície de energia potencial. Os espectros IR foram gerados pelo programa GaussView usando uma largura de banda de  $5 \text{ cm}^{-1}$ . Baseado nas geometrias de equilíbrio nos estados fundamental e excitado, a teoria do funcional de densidade dependente do tempo (TD-DFT) foi aplicada para investigar as propriedades eletrônicas do estado excitado dos compostos.

As energias das excitações verticais foram determinadas por protocolo time-dependent density functional theory (TDDFT) usando também o funcional B3LYP e o conjunto misto de bases supracitado. Foi utilizado o modelo de solvatação contínuo "polarizable continuum model" (PCM), considerando a constante dielétrica do metanol, para simular o efeito do solvente.<sup>61</sup>

As informações sobre energia e contribuição das transições, energia e a contribuição dos átomos dos orbitais foram analisadas usando os programas Gausssum 3,0<sup>62</sup> e multiwfn.<sup>63</sup>

Estas medidas foram desenvolvidas junto ao Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho, CENAPAD, instalado na Universidade Federal do Ceará.

### 3.6. Ensaios de Clivagem de DNA

### 3.6.1. Interação com DNA Plasmidial

Para realização dos experimentos foi utilizado como modelo de molécula de DNA, o plasmídeo pBR322 que apresenta o tamanho de 4.361 pares de bases, sendo sua massa molar de  $2,83 \times 10^6$  Daltons. O plasmídeo foi obtido comercialmente da New England Biolabs<sup>®</sup> Inc e posteriormente amplificado em bactéria *E. coli*, sendo isolado utilizando o kit QIAprep Spin Miniprep da QIAGEN seguindo protocolo padrão do fabricante.

A qualidade e concentração do DNA foram determinadas empregando-se espectroscopia na região do ultravioleta (densidade ótica = 1,0 ( $A_{260}$ ) = 50 ng/ $\mu$ L) e eletroforese em gel de agarose. O teste de verificação da presença de proteínas na amostra foi realizado utilizando a razão  $A_{260}/A_{280}$ , como parâmetro, uma vez que se obteve valores de 1,9 indicando que a amostra se apresentava livre de proteínas ( $1,8 < \text{razão} < 2,0$  indica amostra livre de proteínas).

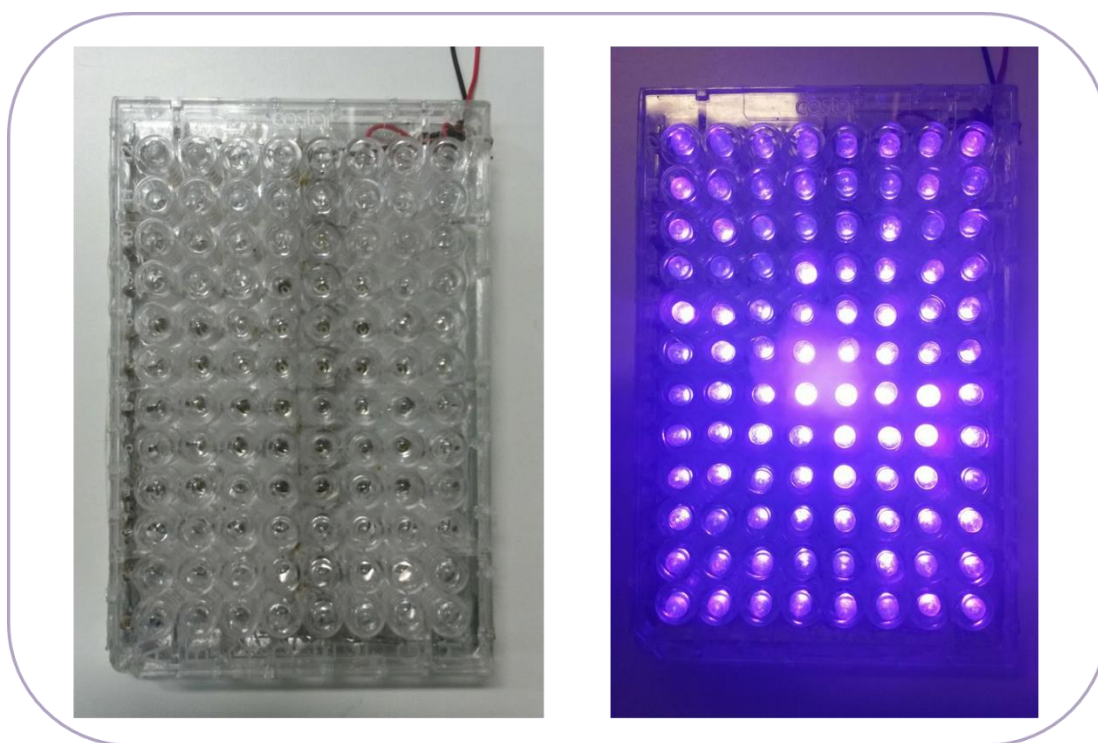
A eletroforese em gel de agarose consiste em um método padrão e simples para separar, identificar, analisar, caracterizar e purificar fragmentos de DNA. As bandas no gel podem ser marcadas por corantes seletivos tais como brometo de etídio (Atenção: reagente mutagênico e carcinogênico, manipulação controlada e sujeito a tratamento para descarte) ou Gel Red<sup>™</sup>. Concentrações de até 1 ng de DNA podem ser visualizadas por exame direto do gel empregando luz ultravioleta dependendo do agente intercalante. No caso deste trabalho, foram utilizados os dois corantes, mas predominantemente o brometo de etídio. Para que a molécula de DNA seja analisada através desse método é necessário que ela seja submetida a um campo elétrico, onde migrará para o eletrodo positivo na velocidade ou mobilidade eletroforética, proporcional a força do campo e a carga líquida da molécula.

Os géis de agarose foram preparados por meio da dissolução, com auxílio de aquecimento em forno de microondas, de 0,4g de agarose, em 50mL de tampão TAE 1X (Tris 89mM, ácido acético 89mM, EDTA 2mM – pH 8,0), a concentração final obtida do gel foi de 0,8% (m/v).

Os testes realizados exploraram como diferentes condições variavam a eficiência de clivagem ou interação do DNA pelos complexos. Foi utilizada a série de nitro complexos (1-NO<sub>2</sub>, 2-NO<sub>2</sub>, 3-NO<sub>2</sub> e 4-NO<sub>2</sub>) inicialmente em diferentes concentrações (5 $\mu$ M, 25  $\mu$ M e 50  $\mu$ M) com tempo de incubação fixo de 90 minutos. Em seguida, realizou-se similar

experimento com os complexos precursores (1, 2, 3 e 4). Os complexos da série 3 (com o dppz como quelante) tiveram sua atividade testada na presença de glutathione (5mM) e, em seguida, somente na presença de luz UV (390nm) (Figura 11) por 30 minutos e os complexos 1-indz e 1-ain também foram investigados sobre influência da luz. Nesses experimentos foram utilizados cerca de 42ng de DNA supernovelado (pBR322), num volume final de reação de 12 $\mu$ L, correspondendo a uma concentração final de 3,5 ng/ $\mu$ L em cada poço, equivalente de 5,4 $\mu$ M em pares de bases.

**Figura 11.** Placa com 96 LEDs de 3W com comprimento de onda de 390nm em cada poço.



Fonte: Elaborado pela autora.

As amostras foram preparadas conforme a literatura,<sup>51</sup> utilizando 3,5 ng/ $\mu$ L de DNA supernovelado (pBR322) por poço. Em seguida, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose por aproximadamente 60 minutos, ou até que a frente de migração do *Gel Loading* (azul de bromofenol) atingisse o final do gel, sob tensão constante de 70V e corrente variável de 53-64 mA. Para todos os experimentos foi utilizada a fonte de corrente contínua Apelex (modelo: PS 305).

As bandas de DNA foram visualizadas e analisadas após aproximadamente 60 minutos de incubação com GelRed™ da Biotium ou brometo de etídio (1mM), empregando-se fotodocumentador GelDOC XR (Bio-Rad). Foi utilizado marcador de fita linear, *Ladder*, marcador 1 Kb de DNA linear da Life Technologies, Invitrogen™.

As frações de cada forma de DNA foram quantificadas por densitometria utilizando o Software Quantity One 4.6.9 Basic (Bio-Rad Laboratories, Inc.). Em todos os experimentos foi empregado um ou mais controles negativos, essas amostras foram submetidas às mesmas condições das amostras em análise, porém sem adição do complexo metálico.

### **3.7. Interação com o DNA genômico de timo de bezerro (CT, calf thymus)**

#### **3.7.1. Titulação com CT DNA**

3.7.1.1. Preparação das soluções estoque de DNA de timo de bezerro (Calf thymus, CT) e de complexos de Ir(III)

Partindo de soluções com concentrações conhecidas de CT DNA e de complexos em estudo dissolvido em tampão Tris-HCl 50mM + NaCl 100mM pH 8,0 com auxílio de uma pequena quantidade de DMSO de forma que o volume final de DMSO fosse inferior a 5%, foram preparadas, por diluição, três soluções diferentes.

A solução **A** (2 mL) contendo 10 $\mu$ M do complexo em estudo em tampão Tris pH 8.

A solução **B** (150 $\mu$ L) contendo 10 $\mu$ M do complexo em estudo e 400 $\mu$ M de CT DNA.

A solução **C** (150  $\mu$ L) contendo 400  $\mu$ M de CT DNA.

3.7.1.2. Titulação

Foi utilizado um espectrofotômetro Cary 5000 UV-Vis-NIR da Varian com a função duplo feixe. Empregou-se duas cubetas de quartzo, colocou-se na primeira todo o volume da solução **A** (2mL) e na segunda apenas o tampão para ser utilizado como linha de base. Em seguida, foram feitas 10 adições de 13 $\mu$ L da solução **B** na cubeta contendo a solução **A** e simultaneamente, da solução **C** na cubeta com o tampão, com intervalos de 5 minutos entre as adições.

### ***3.7.2. Titulação do aduto DNA/Brometo de Etídio***

Os espectros de fluorescência foram obtidos utilizando um fluorímetro estacionário modelo QM-40 da PTI. Numa cubeta foi adicionado 2mL de tampão Tris-HCl 50mM pH 8,0, contendo 1  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de brometo de etídio (EB) com 20  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de CT DNA. Logo após foram realizadas 10 adições de 2 $\mu\text{L}$  de uma solução 1  $\text{mmol.L}^{-1}$  dos complexos em estudo. Checou-se as absorvâncias finais para os complexos de forma a garantir que não houve significativo efeito de filtro interno no comprimento de onda de excitação (540nm) com faixa de emissão de 550-700nm, cujas absorvâncias foram inferiores a 0,05.

### ***3.8. Screening de atividade anticâncer***

Os ensaios foram desenvolvidos em conjunto pela Dra. Ana Cláudia Gondim (Departamento de Química Orgânica e Inorgânica) e Dra. Maria Júlia Barbosa Bezerra (Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC) em colaboração com a Profa. Cláudia do Ó Pessoa e Prof. Manoel Odorico de Moraes Filho, Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC.

#### ***3.8.1 Material***

##### ***3.8.1.1 Células***

As linhagens tumorais utilizadas, SF-295 (glioblastoma - humano), PC-3 (próstata), HL60 (Leucêmica) e HCT-116 (colón) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

##### ***3.8.1.2 Amostras***

As amostras foram diluídas em água Milli-q. As amostras foram testadas na concentração de 5  $\mu\text{g/mL}$ . Para determinação da CI<sub>50</sub>, as amostras foram testadas em concentrações crescentes em diluição seriada.

### 3.8.2 Método

Análise de citotoxicidade pelo método do MTT é um dos métodos utilizados no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano.<sup>64</sup> É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman em 1983, tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas<sup>65</sup> (MOSMANN, 1983). O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação.<sup>66</sup>

As células foram plaqueadas na concentração de  $0,1 \times 10^6$  células/mL para as linhagens de PC-3 e SF-295,  $0,3 \times 10^6$  células/mL para a linhagem de HL-60 e  $0,7 \times 10^5$  células/mL para a linhagem HCT-116. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante, removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização dos Complexos Precusores

Os 5 complexos precusores sintetizados nesse estudo possuem suas sínteses e caracterizações já descritas na literatura. Para confirmar a obtenção dos precusores, foi utilizado RMN de  $^1\text{H}$  sendo possível identificar e atribuir todos os sinais observados (Apêndice A-D). Adicionalmente, foram feitas caracterizações por espectroscopia vibracional na região do infravermelho e espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível, os quais se mostraram consistentes com o descrito na literatura.<sup>53,55, 52,54,67</sup>

### 4.2. Caracterização dos Complexos em Estudo

#### 4.2.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

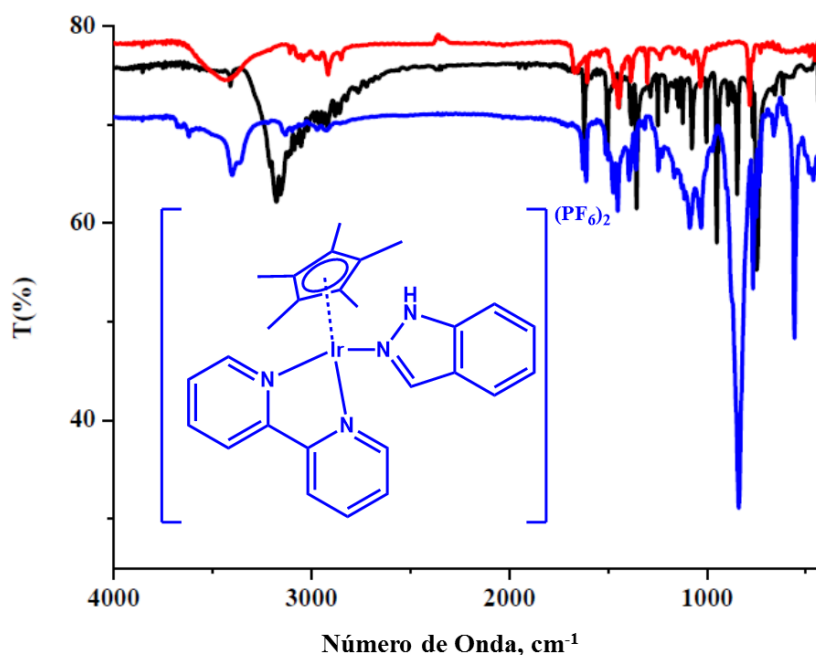
A espectroscopia vibracional na região do infravermelho, juntamente com outras espectroscopias, sendo um importante recurso para a identificação e elucidação estrutural de várias substâncias orgânicas e inorgânicas. Embora o espectro de infravermelho seja característico da espécie como um todo, certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem aproximadamente na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula<sup>68</sup>. É justamente a presença dessas bandas que auxilia a identificação e elucidação das estruturas de compostos químicos.

##### 4.2.1.1. Complexos com o Ligante Indazol e 7-azaindol

Na análise de espectros de infravermelho a região de 3500 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  apresenta superpostas as absorções referentes aos modos normais de estiramento N-H e C-H, todavia com feições (largura/intensidade) capazes de sugerir sua natureza. Adicionalmente, na região de 1280 a 1350  $\text{cm}^{-1}$ , espera-se observar bandas referentes a deformação axial de C-N, que devem ser observadas nos ligantes empregados nessa dissertação.<sup>69</sup> Neste trabalho, buscou-se realizar as atribuições de bandas vibracionais associadas aos ligantes coordenados, todavia devido ao número demasiado de bandas em grande proximidade deve-se considerar esse trabalho como tentativas de atribuições.

O espectro de infravermelho para o complexo 1-indz (Figura 12) apresentou sinais consistentes com a estrutura do complexo proposto. A absorção em  $3400\text{cm}^{-1}$  condiz com estiramento NH do ligante indazol que se mostrou deslocada, o que sugere coordenação ao metal, além disso próximo a  $3000\text{ cm}^{-1}$  pode se observar bandas de estiramento CH de aromáticos, bem como vibrações de deformação axial das ligações do anel compreendidas entre  $1300$  a  $1640\text{ cm}^{-1}$ (Tabela 3). Como os ligantes possuem grupos orgânicos similares, torna-se não trivial realizar a atribuição dos sinais de cada ligante. Todavia, pode-se observar na figura 12 que o complexo manteve suas bandas no FTIR bastante semelhante ao precursor, entretanto, observa-se novas bandas que apontam para a coordenação do ligante como é o caso das bandas em  $1359\text{ cm}^{-1}$  e  $1248\text{ cm}^{-1}$  que não apareciam no precursor e foram atribuídas a estiramentos da ligação C-N, presente no ligante indazol.

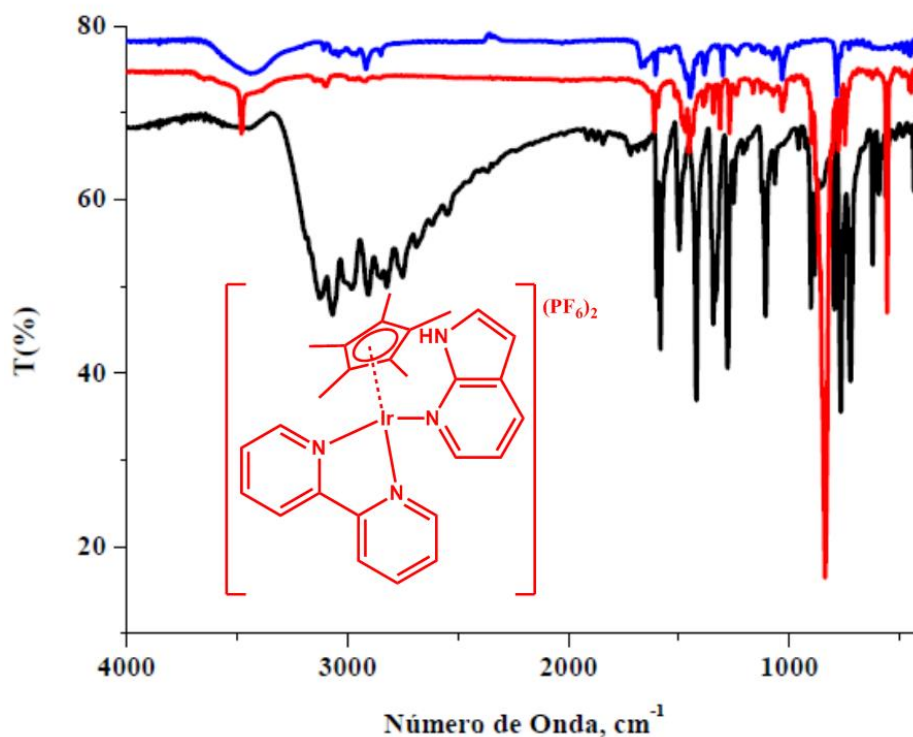
**Figura 12.** Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 1-indz (—), seu cloro precursor 1(—) e o ligante indazol livre (—).



Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro de infravermelho para o complexo 1-ain (Figura 13) também se manteve bastante semelhante a seu precursor, mas além da absorção em  $3468\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento N-H do ligante 7-azaindol, pode-se observar o aparecimento das absorções em  $1348\text{ cm}^{-1}$  e  $1270\text{ cm}^{-1}$  atribuídas aos estiramentos C-N do ligante.

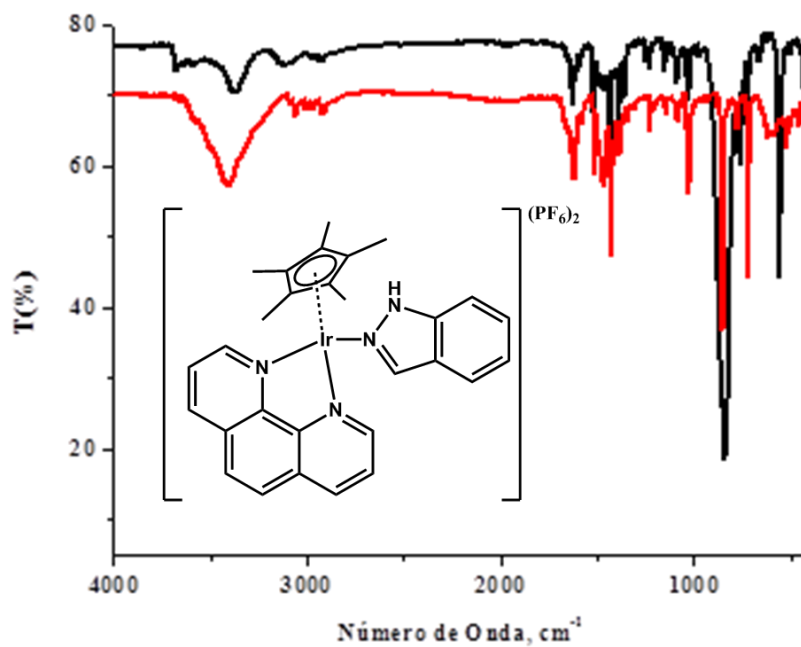
**Figura 13.** Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 1-ain (—), seu precursor 1(—) e o ligante 7-azaindol livre (—).



Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo 2-indz se mostrou bastante semelhante ao complexo precursor (Figura 14), o que era esperado pois os modos vibracionais da fenantrolina e do indazol são muito semelhantes, a fenantrolina, sendo mais rígida que a bipyridina também contribui para os espectros tão semelhantes. A banda mais evidente neste caso foi o estiramento N-H em 3371cm<sup>-1</sup> referente ao ligante indazol.

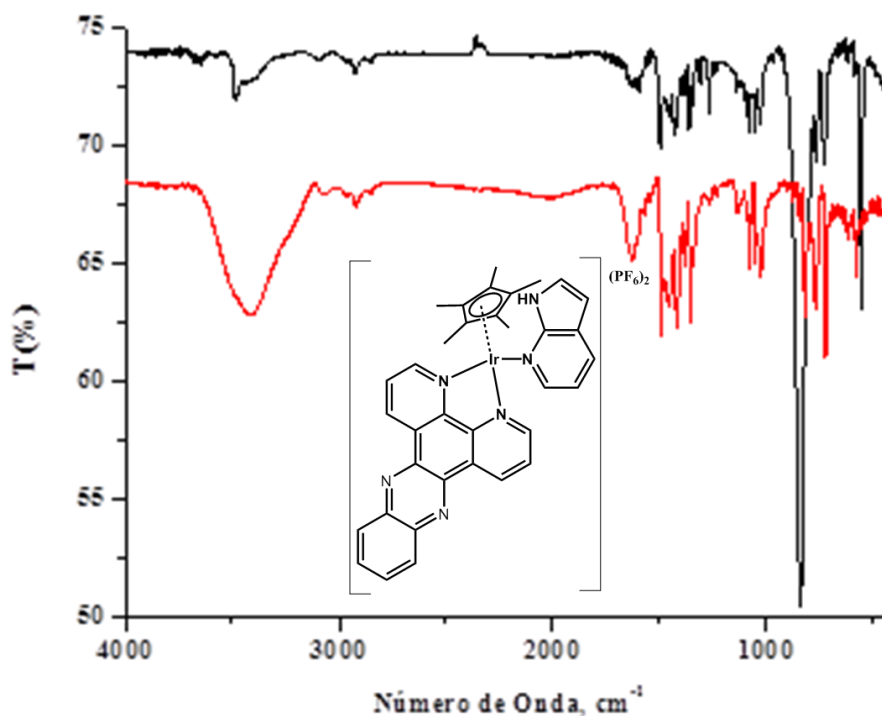
**Figura 14.** Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 2-indz (—) e seu precursor 2(—).



Fonte: Elaborado pela autora.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho do complexo 3-ain e seu precursor 3 (Figura 15) também se mostraram bastante semelhantes, por causa dos modos vibracionais similares, o surgimento do estiramento N-H em  $3483\text{cm}^{-1}$  o que corrobora com a proposta de coordenação do ligante ao centro metálico.

**Figura 15.** Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 3-ain (—) e seu precursor 3(—).



Fonte: Elaborado pela autora.

Na tabela 3 estão condensados os dados dos estiramentos dos complexos e seus precursores.

Tabela 3. Dados espectroscópicos na região do infravermelho dos complexos de formulação  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{NN})\text{Z}](\text{PF}_6)_{1/2}$ , em pastilha de KBr.

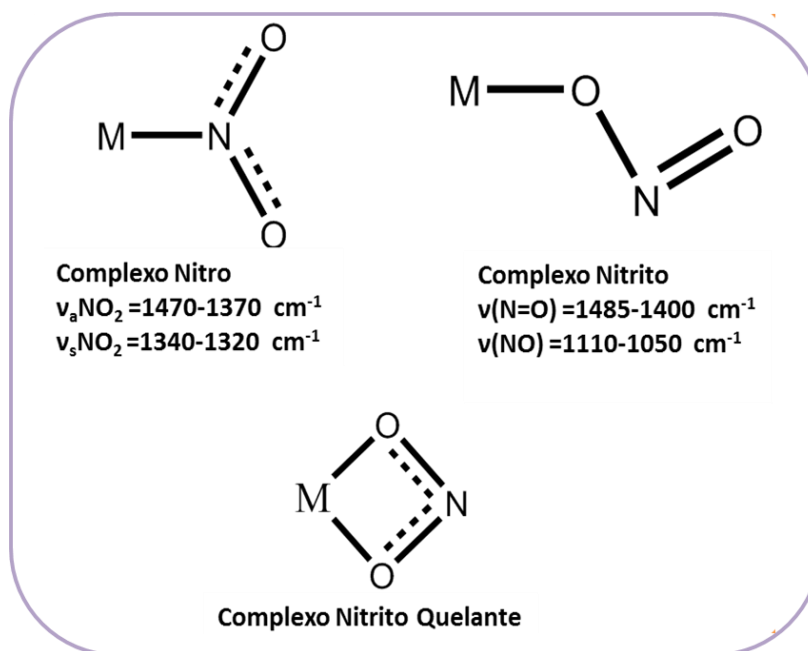
Complexo	Número de Onda, $\text{cm}^{-1}$	Atribuição
$[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$	3500-3000	$\nu\text{C-H}$ (aromático)
	1605	$\nu\text{C}=\text{N}$
	1456-785	$\nu\text{C}=\text{C}$ $\nu\text{C-H}$
$[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{indz}](\text{PF}_6)_2$	3410	$\nu\text{N-H}$
	2918-3115	$\nu\text{C-H}$ (aromático)
	1631, 1605	$\nu\text{C}=\text{N}$
	1509-1023	$\nu\text{C}=\text{C}$ $\nu\text{C-H}$
	840 e 560	$\nu\text{P-F}$ ( $\text{PF}_6$ )
	775	$\delta\text{C-H}$

[Cp*Ir(bpy)ain](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	3481 2923-3150 1610, 1594 1488-1031 840 e 560 775	νN-H νC-H (aromático) νC=N νC=C νC-H νP-F (PF <sub>6</sub> ) δC-H
[Cp*Ir(bpy)NO <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> )	2926-3118 1608 1380, 1322 1493-1030 840 e 560 770	νC-H (aromático) νC=N νaNO <sub>2</sub> νsNO <sub>2</sub> νC=C νC-H νP-F (PF <sub>6</sub> ) δC-H
[Cp*Ir(phen)Cl]Cl	2915-3186 1615, 1606 1517-855 775	νC-H (aromático) νC=N νC=C νC-H δC-H
[Cp*Ir(phen)indz](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	3371 2915-3186 1627 1521-971 840 e 560 775	νN-H νC-H (aromático) νC=N νC=C νC-H νP-F (PF <sub>6</sub> ) δC-H
[Cp*Ir(dppz)Cl]Cl	3074-2840 1635 1500-835 772 e 724	νC-H (aromático) νC=N νC=C νC-H δC-H
[Cp*Ir(dppz)ain](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	3483 2848-3087 1623, 1593 1501-1026 840 e 560 770, 734	νN-H νC-H (aromático) νC=N νC=C νC-H νP-F (PF <sub>6</sub> ) δC-H

#### 4.2.1.2. Complexos com o Ligante $\text{NO}_2^-$

O íon  $\text{NO}_2^-$  pode-se coordenar ao centro metálico por modos variados, como ilustrado na Figura 16, os quais podem ser diferenciados por espectroscopia vibracional no infravermelho.<sup>70</sup> A formação de complexos metálicos contendo o íon nitrito coordenado via nitrogênio (formação de nitro complexos) conduz a vibrações similares às esperadas por um sistema planar de uma molécula  $\text{ZXY}_2$ .<sup>70</sup> Esses complexos apresentam estiramentos assimétrico  $\nu_a\text{NO}_2^-$  em  $1470\text{--}1370\text{ cm}^{-1}$  e estiramento simétrico  $\nu_s\text{NO}_2^-$  em  $1340\text{--}1320\text{ cm}^{-1}$ , enquanto o ligante livre apresenta esses estiramentos em  $\nu_a\text{NO}_2^-$   $1250$  e  $\nu_s\text{NO}_2^-$   $1335\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. A energia do estiramento assimétrico muda drasticamente com a coordenação enquanto o estiramento simétrico pouco se modifica. Em caso de ligações pelo oxigênio (formação de nitrito complexos) os estiramentos para o ligante,  $\nu\text{NO}_2$ , ficam bastante afastados sendo um estiramento  $\nu(\text{N}=\text{O})$  em  $1485\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$  e um segundo  $\nu(\text{N}-\text{O})$  em  $1110\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$ , a distinção entre complexos nitro e nitrito podem ser feitas baseados nessa diferença entre os estiramentos.<sup>70</sup> No sistema estudado é improvável a ligação do nitrito como quelante, mas se ocorresse, os estiramentos  $\nu(\text{N}=\text{O})$  e  $\nu(\text{N}-\text{O})$  seriam deslocados para menor e maior frequência, respectivamente, quando comparados aos complexos nitrito unidentados, ocasionando uma diferença menor entre os dois sinais, o que não foi observado nos complexos.

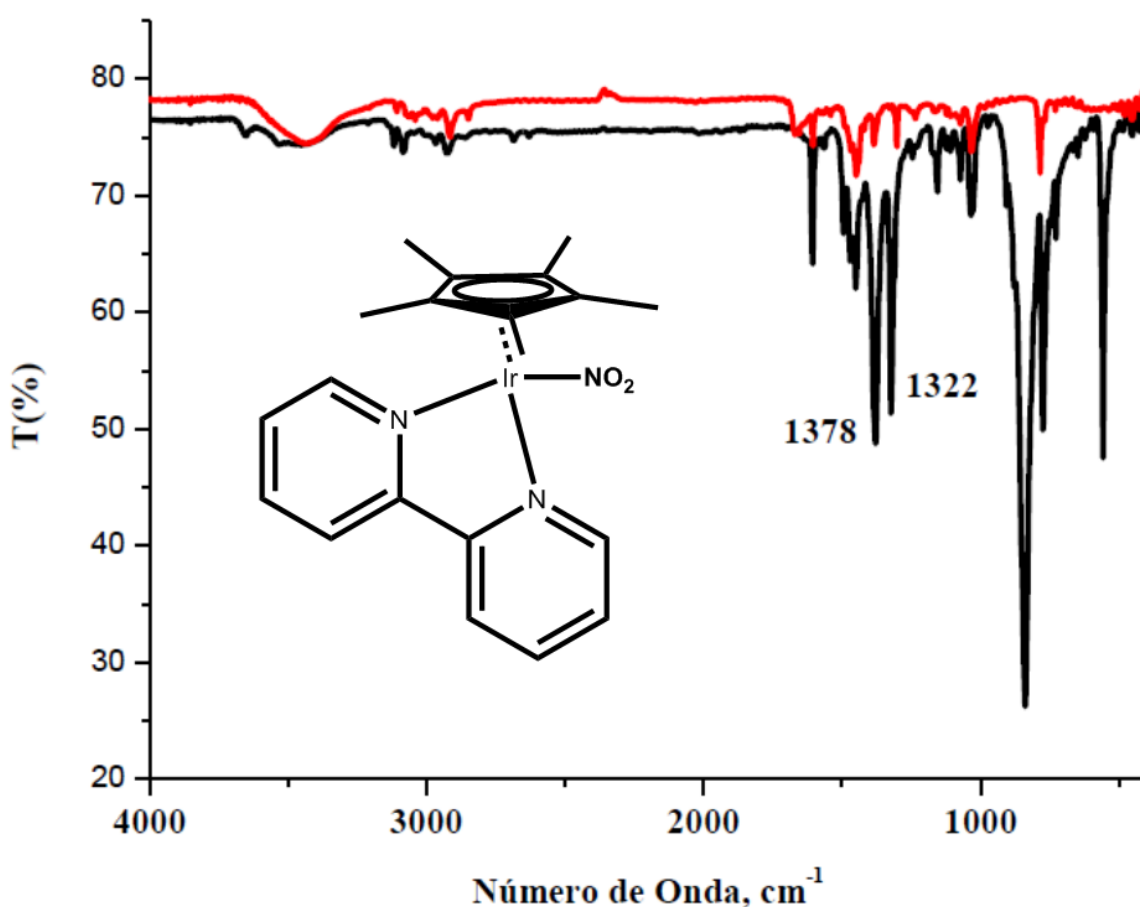
**Figura 16.** Formas em que o íon  $\text{NO}_2^-$  pode se ligar a um metal.



Fonte: Adaptado da referência 70.

Todos os complexos sintetizados com o ligante  $\text{NO}_2^-$  indicaram a formação de nitro-complexos, tal como observado na tabela 4. No espectro de infravermelho do complexo 1- $\text{NO}_2$  (Figura 17) pode se observar sinais semelhantes ao precursor, tal como os sinais entre  $1450\text{ cm}^{-1}$  e  $1600\text{ cm}^{-1}$  indicando a presença dos anéis aromáticos do ligante 2,2'-bipiridina, mas também o surgimento de duas bandas intensas em  $1378\text{ cm}^{-1}$  e  $1322\text{ cm}^{-1}$  atribuídos aos estiramentos  $\nu_a\text{NO}_2$  e  $\nu_s\text{NO}_2$ , respectivamente.

**Figura 17.** Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 1- $\text{NO}_2$  (—) e seu precursor 1(—).

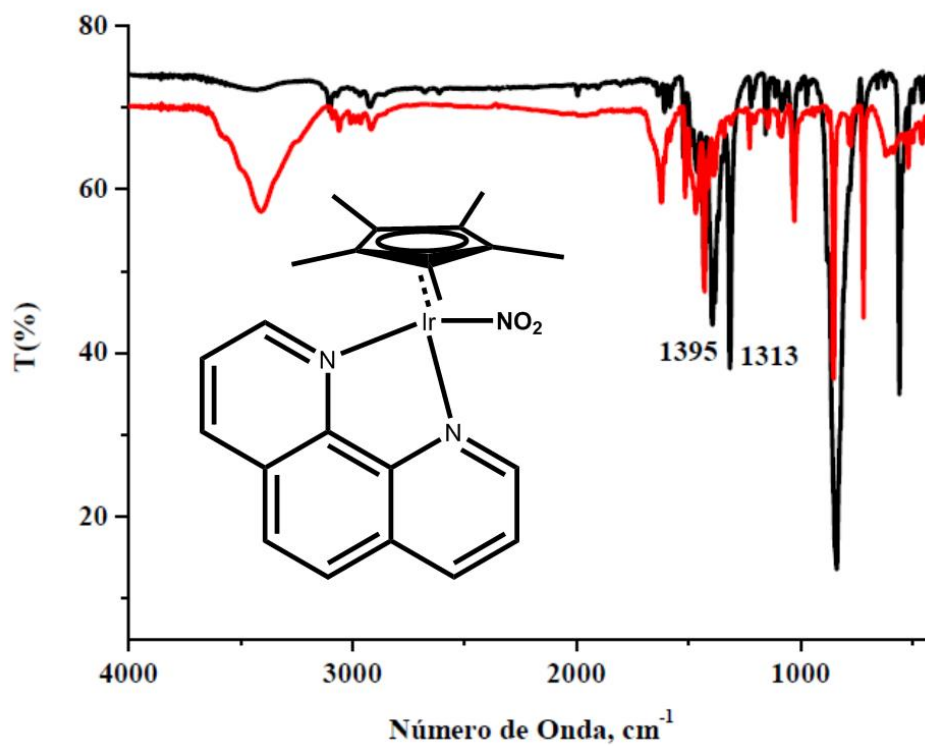


Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro de infravermelho para o complexo 2- $\text{NO}_2$  apresentou bandas parecidas com seu precursor (Figura 18), os sinais entre  $1450\text{ cm}^{-1}$  a  $1600\text{ cm}^{-1}$  apontam a presença dos anéis aromáticos provenientes do ligante 1,10-fenantrolina e o sinal em  $1429\text{ cm}^{-1}$  foi atribuído a estiramento  $\nu\text{C-N}$  também proveniente desse ligante. Os sinais para os estiramentos  $\nu_a\text{NO}_2$  e  $\nu_s\text{NO}_2$  se encontraram em  $1395\text{ cm}^{-1}$  e  $1313\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente.



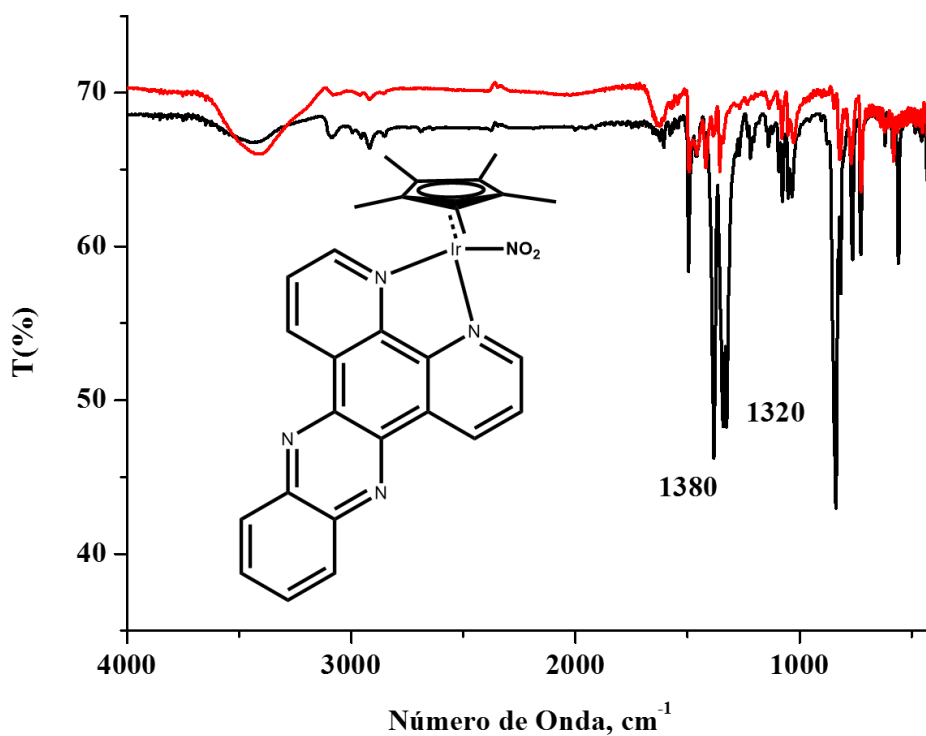
**Figura 18.** Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 2-NO<sub>2</sub> (—) e seu precursor 2(—).



Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo 3-NO<sub>2</sub> manteve bandas semelhantes às do precursor (Figura 19), o que indica que o ligante dppz permaneceu coordenado após a coordenação do ligante NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. O ligante dppz possui bandas semelhantes aos ligantes 2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina, apesar de exibir um número bem maior de bandas na região de 1450 a 1600cm<sup>-1</sup>, devido possuir maior número de anéis aromáticos. Adicionalmente tem-se o surgimento de mais sinais devido aos estiramentos de  $\nu_a\text{NO}_2$  e  $\nu_s\text{NO}_2$  em 1380cm<sup>-1</sup> e 1320cm<sup>-1</sup>, respectivamente.

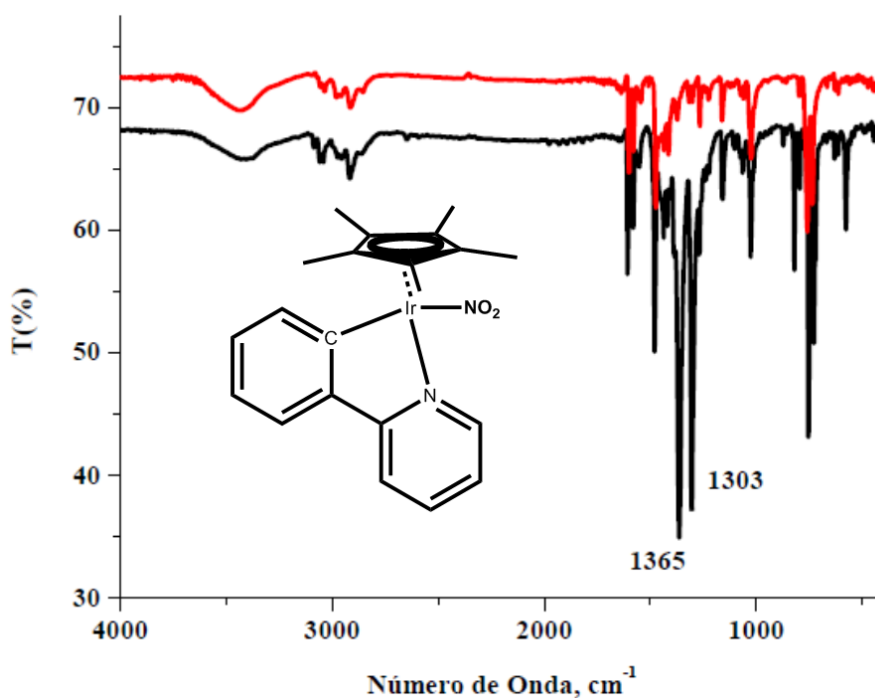
**Figura 19.** Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 3-NO<sub>2</sub> (—) e seu precursor 3 (—).



Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro vibracional da região do infravermelho para o complexo 4-NO<sub>2</sub> (Figura 20), manteve as bandas presentes no precursor. Diferentemente dos outros complexos, que são carregados e tem como contra íon o PF<sub>6</sub><sup>-</sup> o complexo 4-NO<sub>2</sub> é neutro facilitando assim a observação de bandas de deformação angular do anel aromático do ligante 2-fenilpiridina em 760cm<sup>-1</sup>. As bandas em 1363 cm<sup>-1</sup> e 1304 cm<sup>-1</sup> foram atribuídos aos estiramentos  $\nu_a$ NO<sub>2</sub> e  $\nu_s$ NO<sub>2</sub>, respectivamente.

**Figura 20.** Espectro Vibracional na Região do Infravermelho para o Complexo 4-NO<sub>2</sub> (—) e seu precursor 4 (—).



Fonte: Elaborado pela autora.

Os valores para os estiramentos  $\nu_a\text{NO}_2$  e  $\nu_s\text{NO}_2$  para os 4 complexos sintetizados estão listados na tabela 4. Não foi possível traçar um padrão em que se correlacionasse o valor dos estiramentos do nitrito com a força do ligante quelante pois os estiramentos mais significativos são referentes as ligações entre o nitrogênio e o oxigênio do metal, o que sugere que outros fatores, diferentes dos quelantes, sejam responsáveis pela frequência dessa absorção.

**Tabela 4.** Valores de estiramentos  $\nu_a\text{NO}_2$  e  $\nu_s\text{NO}_2$  para os complexos e para o ânion livre.

Complexo	$\nu_a\text{NO}_2$ (cm <sup>-1</sup> )	$\nu_s\text{NO}_2$ (cm <sup>-1</sup> )	$\Delta$ (cm <sup>-1</sup> )
1-NO <sub>2</sub>	1378	1322	56
2-NO <sub>2</sub>	1395	1313	82
3-NO <sub>2</sub>	1380	1320	60
4-NO <sub>2</sub>	1363	1304	59
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1270	1335	-

#### 4.2.2. Espectroscopia Eletrônica na Região do UV-Visível

A absorvância molecular nas regiões do espectro do ultravioleta (UV) e do visível dependem da estrutura eletrônica do composto. A absorção da energia desta radiação eletromagnética é quantificada e promove a transferência de elétrons de orbitais de energia mais baixa, correspondentes ao estado fundamental, para orbitais de mais elevada energia, correspondente a um estado excitado.<sup>34</sup>

Em todos os complexos as absorções de energia se mostraram em alta energia (< 400nm), o que geralmente é uma faixa que envolve transições intraligantes. Cálculos de teoria do funcional de diferencial (DFT) para os complexos foram utilizados para auxiliar na atribuição da natureza das transições eletrônicas.

##### 4.2.2.1. Complexos com Bipyridina

A espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis foi utilizada para a caracterização dos compostos em conjunto com os resultados de DFT tornando assim possível fazer uma análise mais completa da composição das bandas de maior interesse, além de reforçar a atribuição das bandas dos espectros. Esta análise em conjunto é possível devido ao fato dos estudos de DFT dos compostos terem sido capazes de descrever o perfil espectral dos mesmos, com valores de  $\lambda_{max}$  bastante parecidos com os valores experimentais em metanol.

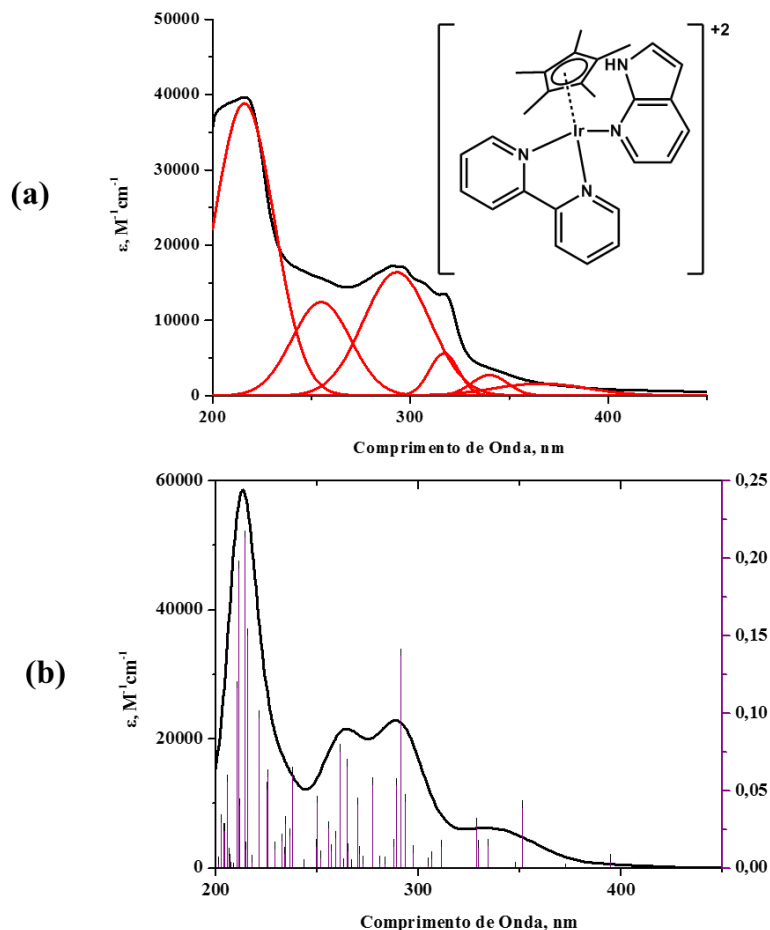
Na figura 21, encontra-se o espectro para o complexo 1-ain experimental (a) e teórico (b). No espectro experimental para o complexo, foi feita deconvolução espectral utilizando o programa Fitky.<sup>71</sup> As absorvâncias em 255, 293 e 316nm são características do ligante bipyridina coordenado ao centro metálico.<sup>72</sup> Essas atribuições foram confirmadas com os resultados obtidos pelo estudo de DFT. A composição dos orbitais envolvidos na transição em 255nm é HOMO-3→LUMO+2 (21%), HOMO-2→LUMO+5 (16%), HOMO-1→LUMO+5 (36%) HOMO-5→LUMO+2 (4%), HOMO-4→LUMO (3%), HOMO-3→LUMO+1 (3%), HOMO-3→LUMO+5 (3%). A tabela 5 contém as contribuições de cada fragmento com os orbitais moleculares, o ligante bipyridina é majoritário em contribuições nos orbitais LUMO, LUMO+5 e LUMO+2, ou seja, a transição em 255 é uma transferência eletrônica do ligante 7-azaindol e do metal para o ligante bipyridina. A composição para a transição em 293nm é HOMO-5→LUMO (17%), HOMO-4→LUMO (30%), HOMO→LUMO+4 (22%), HOMO-5→LUMO+1 (3%), HOMO-3→LUMO+1 (3%), HOMO-2→LUMO+3 (4%).

O orbital HOMO-4 é praticamente todo formado por orbitais da bipyridina (>95%), logo a transição HOMO-4→LUMO pode ser vista como uma intraligante da bipyridina, enquanto a transição HOMO→LUMO+4 pode ser visto como um intraligante do ligante 7-azaindol devido às contribuições do mesmo nesses orbitais. A composição para a transição em 316nm é HOMO-3→LUMO (73%), HOMO-2→LUMO+2 (3%), HOMO-1→LUMO+1 (3%), HOMO→LUMO+1 (7%) que é majoritariamente formado por transferências do metal e do ligante 7-azaindol para a bipyridina.

Tabela 5. Contribuições percentuais dos fragmentos do complexo 1-ain para seus orbitais moleculares.

Orbital	Energia (eV)	Ir(%)	Cp*(%)	Bpy(%)	ain(%)
LUMO+10	0,53	71,28	20,77	2,60	5,35
LUMO+9	0,45	12,99	83,98	1,65	1,38
LUMO+8	0,33	23,31	67,98	4,36	4,35
LUMO+7	-0,36	2,36	0,63	4,08	92,93
LUMO+6	-0,43	0,71	0,65	93,60	5,04
LUMO+5	-1,76	13,75	9,48	74,11	2,66
LUMO+4	-1,82	1,23	0,30	5,47	93,00
LUMO+3	-1,92	16,69	13,89	64,54	4,88
LUMO+2	-2,01	34,00	26,7	38,41	0,89
LUMO+1	-2,07	30,69	24,10	36,16	9,05
<b>LUMO</b>	-2,94	3,62	0,87	94,12	1,39
<b>HOMO</b>	-6,66	4,11	0,98	0,94	93,97
HOMO-1	-7,13	25,23	9,48	6,18	59,11
HOMO-2	-7,15	44,51	21,54	14,65	19,30
HOMO-3	-7,39	38,00	21,28	7,94	32,78
HOMO-4	-7,71	0,93	1,79	96,60	0,68
HOMO-5	-8,07	61,92	14,11	10,22	13,75
HOMO-6	-8,4	32,97	43,55	22,93	0,55
HOMO-7	-8,53	47,50	40,89	5,81	5,80
HOMO-8	-9,1	0,75	1,09	47,28	50,88
HOMO-9	-9,24	1,36	1,70	77,54	19,40
HOMO-10	-9,31	12,25	6,14	80,08	1,53

**Figura 21.** Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexo 1-ain,  $2 \times 10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup>, em metanol (—) e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro teórico (—) (b).



Fonte: Elaborado pela autora.

A figura 22 apresenta o espectro eletrônico na região do UV-vis para o complexo 1-indz com bandas em 293, 304 e 318nm foram atribuídas ao ligante bipyridina coordenado ao centro metálico. As contribuições dos orbitais moleculares para a transição em 293 são HOMO-4→LUMO (46%), HOMO→LUMO+3 (14%) HOMO-5→LUMO+2 (4%), HOMO-3→LUMO+2 (5%), HOMO-3→LUMO+4 (5%), HOMO-2→LUMO+3 (8%), HOMO-1→LUMO+4 (5%), HOMO→LUMO+1 (3%). A tabela 6 contém as contribuições dos fragmentos do complexo 1-indz para formação de seus orbitais moleculares, e pode-se observar a alta contribuição do ligante bipyridina para os orbitais HOMO-4 e LUMO (>95%) logo, essa transição foi atribuída a uma transição intraligante da bipyridina. As contribuições para a transição em 304 nm são HOMO-4→LUMO (16%), HOMO-3→LUMO+2 (14%), HOMO-1→LUMO+2 (24%), HOMO-3→LUMO+4 (4%), HOMO-2→LUMO+1 (9%),

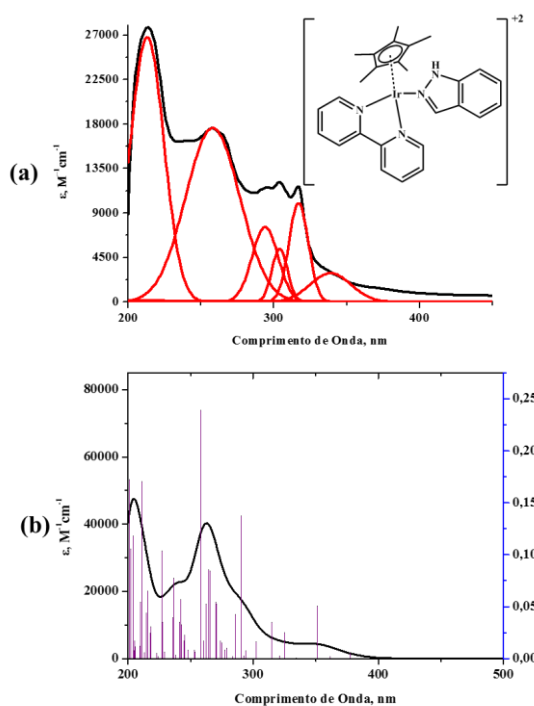
HOMO-2→LUMO+3 (7%), HOMO-1→L+4 (5%), HOMO→LUMO+1 (6%), HOMO→LUMO+2 (3%) sendo uma transição de combinação entre transições intraligantes da bipyridina e transições entre o ligante indazol para o ligante bipyridina. As contribuições para as transições em 318nm são HOMO-2→LUMO+2 (48%), HOMO-2→LUMO+4 (23%), HOMO-6→LUMO+2 (3%), HOMO-5→LUMO+3 (2%), HOMO-3→LUMO (4%), HOMO→LUMO+2 (6%), HOMO→LUMO+4 (2%), sendo as transições HOMO-2→LUMO+2 e HOMO-2→LUMO+4 de caráter metal para o ligante bipyridina. A transição eletrônica em cerca de 258 nm apresentou a maior força de oscilador no espectro teórico e foi atribuída, com ajuda do cálculo de DFT, como uma transição intraligante do ligante indazol. A composição da transição em 258 é HOMO-1→LUMO+5 (65%), HOMO-3→LUMO+5 (5%), HOMO-2→LUMO+4 (4%), HOMO-2→LUMO+5 (6%), HOMO→LUMO+5 (7%), HOMO→LUMO+7 (2%). Os orbitais HOMO e LUMO+5 são basicamente formados pelo ligante indazol (>95%), então essa transição possui na verdade forte caráter de uma transição intraligante.

Tabela 6. Contribuições percentuais dos fragmentos do complexo 1-indz para seus orbitais moleculares.

Orbital	Energia (eV)	Ir(%)	Cp*(%)	Bpy(%)	Indz(%)
LUMO+10	0,52	89,14	5,45	0,04	5,37
LUMO+9	0,49	15,56	47,37	0,09	36,98
LUMO+8	0,36	31,30	38,19	2,21	28,30
LUMO+7	-0,12	1,08	1,50	0,52	98,21
LUMO+6	-0,41	0,72	0,66	96,96	1,66
LUMO+5	-1,69	2,04	0,90	4,83	92,23
LUMO+4	-1,73	19,55	14,23	62,71	3,51
LUMO+3	-1,84	34,16	27,66	30,47	7,71
LUMO+2	-1,89	27,02	22,52	50,09	0,37
LUMO+1	-1,97	13,96	10,40	70,93	4,71
<b>LUMO</b>	-2,9	3,19	0,71	95,09	1,01
<b>HOMO</b>	-6,73	2,10	0,65	0,60	96,65
HOMO-1	-7,09	33,11	7,05	5,29	54,55
HOMO-2	-7,18	52,46	27,73	17,03	2,78
HOMO-3	-7,46	31,88	25,31	6,28	36,53

HOMO-4	-7,68	0,54	1,78	97,56	0,12
HOMO-5	-8,17	56,68	7,66	13,10	22,56
HOMO-6	-8,36	32,10	41,90	24,98	1,02
HOMO-7	-8,53	40,90	42,57	6,26	10,27
HOMO-8	-8,9	3,49	3,75	13,04	79,72
HOMO-9	-9,18	1,37	1,42	94,91	2,30
HOMO-10	-9,31	12,66	6,52	79,42	1,40

**Figura 22.** Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexos 1-indz,  $3,7 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ , em metanol (—) e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro teórico (—).



Fonte: Elaborado pela autora.

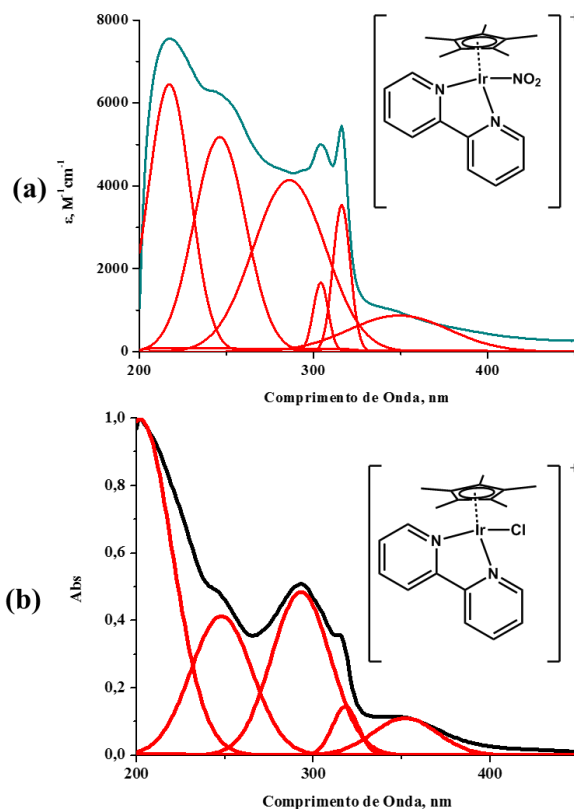
A figura 23 apresenta o espectro eletrônico na região do UV-Vis para o complexo 1-NO<sub>2</sub> em metanol. Através da deconvolução espectral foram observadas 6 bandas de absorção principais. O complexo 1-NO<sub>2</sub> diferiu significativamente do perfil esperado pelo espectro teórico portanto, teve suas atribuições realizadas com ajuda do espectro do precursor 1, e de valores reportados para sistemas semelhantes na literatura.

A banda em 217 nm aparece um banda geralmente atribuída a uma transição  $\pi^* \leftarrow \pi$  do ligante nitrito.<sup>20</sup> Comparando com o precursor, observa-se 4 transições similares em 246nm, 292nm, 316 nm e 352nm, que devido a não alteração com a substituição do ligante cloreto pelo nitrito foram atribuídas a transições intraligantes do ligante bipyridina. A banda



em 303nm ( $\epsilon = 1729 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ) foi atribuída a uma transição do metal para o ligante nitrito (MLCT).

**Figura 23.** Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis experimental para o complexos 1-NO<sub>2</sub>,  $1,25 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ , em metanol (—) e a deconvolução espectral(—) (a) e o precursor 1 (—) em metanol e a deconvolução espectral(—) (b).



Fonte: Elaborado pela autora.

Na tabela 7, encontra-se sumarizados as atribuições realizadas para os 3 complexos e suas transições.

Tabela 7. Complexos com o ligante biperidina e suas transições eletrônicas na região do UV-vis em metanol.

Complexo	$\lambda_{nm}$ ( $\epsilon, \text{ mol}^{-1} \text{ Lcm}^{-1}$ )	Atribuição
[Cp*Ir(bpy)ain](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>1-ain</b> )	255 (12665)	bpy $\leftarrow$ ain, bpy $\leftarrow$ Ir
	293 (16563)	bpy ( $\pi^* \leftarrow \pi$ ), ain ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )
	316 (5711)	bpy $\leftarrow$ ain, bpy $\leftarrow$ Ir
[Cp*Ir(bpy)indz](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>1-indz</b> )	258 (17487)	Indz( $\pi^* \leftarrow \pi$ )
	293 (7867)	bpy ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )

	304 (5624) 318 (10034)	bpy ( $\pi^* \leftarrow \pi$ ), bpy $\leftarrow$ indz bpy $\leftarrow$ Ir
[Cp*Ir(bpy)NO <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> ( <b>1-NO<sub>2</sub></b> )	215 (6604) 246 (5223) 292 (4189) 303 (1729) 316 (3570) 352 (924)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ( $\pi^* \leftarrow \pi$ ) bpy ( $\pi^* \leftarrow \pi$ ) bpy ( $\pi^* \leftarrow \pi$ ) bpy $\leftarrow$ Ir bpy ( $\pi^* \leftarrow \pi$ ) bpy ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )

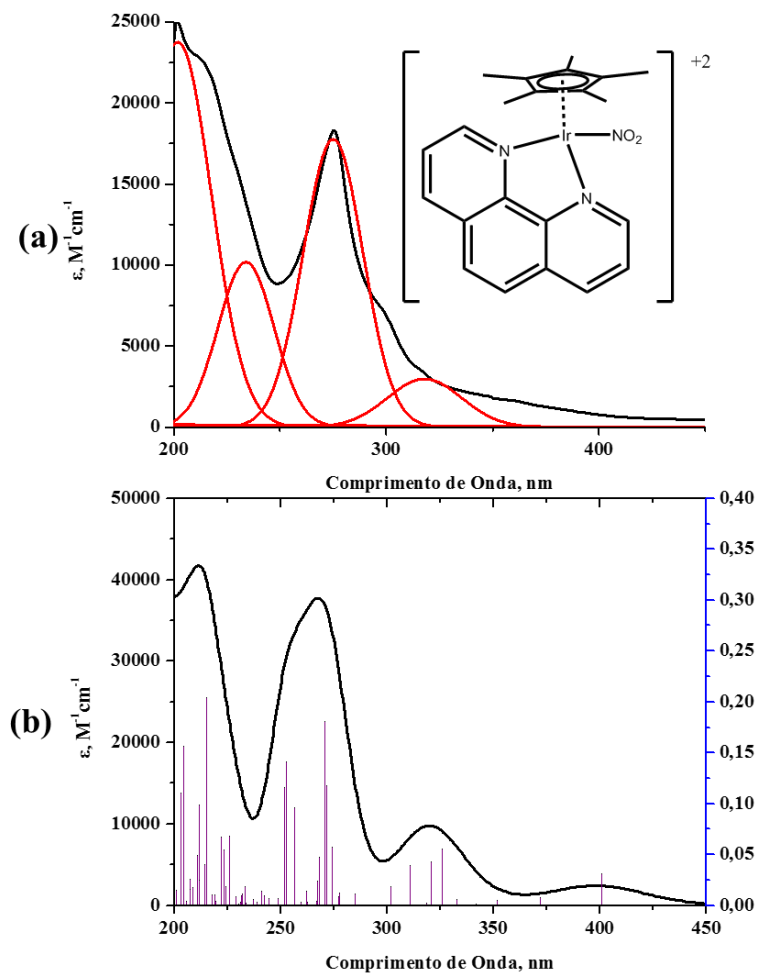
#### 4.2.2.2. Complexos com Fenantrolina

Na figura 24, encontram-se os espectros do complexo 2-NO<sub>2</sub> em metanol, tendo sido feito deconvolução espectral para correlacionar com o espectro teórico. A banda eletrônica em 235 nm tem contribuições dos orbitais HOMO-6→LUMO+3 (25%), HOMO-5→LUMO+2 (10%), HOMO-2→LUMO+3 (30%) HOMO-5→LUMO+3 (4%), HOMO-3→LUMO+2 (6%), HOMO-3→LUMO+3 (5%), HOMO→L+6 (5%) quando se observa as contribuições dos fragmentos do complexo nos orbitais na tabela 8 se atribui essa banda a um conjunto de transições do metal para o ligante Cp\* e de transferência de carga da fenantrolina para o metal e para o ligante Cp\*. A banda em cerca de 275nm se refere às contribuições dos orbitais encontrados para essa transição HOMO-3→LUMO (27%), HOMO-3→LUMO+1 (11%), HOMO→LUMO+5 (20%) HOMO-7→LUMO (9%), HOMO-6→LUMO (3%), HOMO-2→LUMO+1 (8%), HOMO-1→LUMO+5 (8%), sendo que os orbitais HOMO-3, LUMO, LUMO+1 e LUMO+5 são formados majoritariamente pelo ligante fenantrolina, logo, essa transição foi atribuída o caráter de intraligante da fenantrolina. A banda em cerca de 320nm apresenta a transição eletrônica com composição de orbitais HOMO-2→LUMO (76%) HOMO-3→LUMO+1 (7%), HOMO-1→LUMO+1 (4%), HOMO-1→LUMO+3 (4%), HOMO→LUMO+2 (4%), sendo que o orbital HOMO-2, assim como o orbital LUMO, também possui contribuição majoritária da fenantrolina, logo, a transição foi atribuída como intraligante da fenantrolina.

Tabela 8. Contribuições percentuais dos fragmentos do complexo 2-NO<sub>2</sub> para seus orbitais moleculares.

Orbital	Energia (eV)	Ir(%)	Cp*(%)	phen(%)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (%)
LUMO+10	0,88	73,34	26,12	0	0,54
LUMO+9	0,85	31,35	42,26	26,26	0,13
LUMO+8	0,81	8,35	18,11	73,30	0,24
LUMO+7	0,63	25,03	72,22	1,93	0,82
LUMO+6	-0,41	0,97	0,28	98,72	0,03
LUMO+5	-1,16	2,19	2,25	85,83	9,73
LUMO+4	-1,28	8,64	3,01	9,54	78,81
LUMO+3	-1,39	44,55	32,35	10,25	12,85
LUMO+2	-1,5	44,51	34,92	14,33	6,24
LUMO+1	-2,44	0,41	0,60	98,84	0,15
<b>LUMO</b>	-2,62	2,70	0,63	95,69	0,98
<b>HOMO</b>	-6,4	24,46	30,69	6,04	38,81
HOMO-1	-6,66	48,43	18,58	12,18	20,81
HOMO-2	-7,15	9,65	1,62	84,08	4,65
HOMO-3	-7,6	1,27	4,08	92,87	1,78
HOMO-4	-7,71	17,69	31,77	7,46	56,92
HOMO-5	-7,86	48,72	5,5	12,18	33,60
HOMO-6	-7,93	63,81	13,3	12,26	10,63
HOMO-7	-8,07	17,53	16,15	15,57	50,75
HOMO-8	-8,21	21,95	15,4	9,25	53,40
HOMO-9	-8,45	29,22	47,77	9,41	13,60
HOMO-10	-9,17	3,05	0,80	95,70	0,45

**Figura 24.** Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexo 2-NO<sub>2</sub>, 4 x 10<sup>-5</sup> mol.L<sup>-1</sup>, em metanol (—) e a deconvolução espectral(—) (a) e o espectro teórico (—).



Fonte: Elaborado pela autora.

A tabela 9 condensa as atribuições e transições para o complexo 2-NO<sub>2</sub>.

Tabela 9. Complexo 2-NO<sub>2</sub> e suas transições eletrônicas na região do UV-vis.

Complexo	$\lambda_{nm}$ ( $\epsilon$ , mol <sup>-1</sup> Lcm <sup>-1</sup> )	Atribuição
[Cp*Ir(phen)NO <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> (2-NO <sub>2</sub> )	235 (10317)	Cp* ← phen, Cp* ← Ir
	275 (17876)	phen ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )
	320 (3020)	phen ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )

#### 4.2.2.3. Complexos com Dipiridofenazina (dppz)

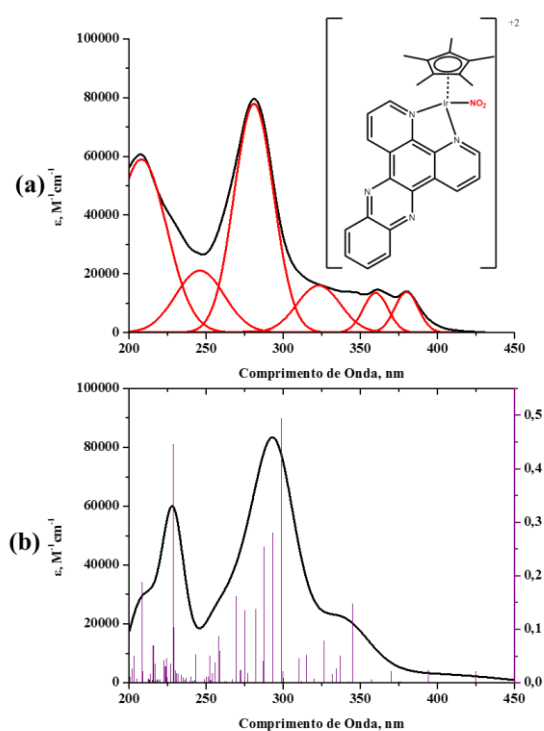
Na figura 25, encontra-se os espectros do complexo 3-NO<sub>2</sub> experimental e teórico, com bandas em 360(ε = 13360 mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>) e 380 nm (ε = 13620 mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), que são típicas da transição π\*← π do ligante dppz.<sup>36</sup> Para confirmar as atribuições, fez-se comparação com o espectro teórico e análise dos orbitais envolvidos para a transição similarmente ao descrito anteriormente. Apesar destas bandas teóricas não aparecerem no mesmo comprimento de onda do espectro experimental, o espectro teórico prevê uma transição próxima àquelas, em 345nm, com contribuições de orbitais HOMO-3→LUMO (65%), HOMO-2→L+2 (19%), HOMO-1→LUMO+2 (11%), como pode ser observado na tabela 10, os orbitais HOMO-3, HOMO-2, LUMO e LUMO+2 são majoritariamente formados por contribuições do ligante dppz, logo essa transição tem caráter de intraligante do dppz. No espectro experimental pode-se observar uma banda em 325 nm, que no espectro teórico possui contribuição de orbitais HOMO-1→LUMO+3 (66%), HOMO→LUMO+5 (10%) HOMO-1→LUMO+2 (3%), HOMO-1→LUMO+4 (3%), HOMO→LUMO+4 (6%), sendo que os orbitais HOMO-1 e LUMO+3 possuem maior contribuição do metal (>40%) enquanto o orbital HOMO e LUMO+5 possuem maiores contribuições do ligante nitrito, logo, essa transição foi atribuída a uma combinação de transições do metal (d-d) e intraligante do nitrito. A banda em 280nm no espectro experimentais se atribuiu as contribuições de orbitais HOMO-5→LUMO (27%), HOMO-3→LUMO (12%), HOMO-2→LUMO+2 (37%) HOMO-7→LUMO (5%), HOMO-6→LUMO (4%), HOMO-5→LUMO+1 (2%), HOMO-3→LUMO+1 (9%) que também foi atribuído um caráter de transição intraligante do dppz.

Tabela 10. Contribuições percentuais dos fragmentos do complexo 3-NO<sub>2</sub> para seus orbitais moleculares.

Orbital	Energia (eV)	Ir(%)	Cp*(%)	dppz(%)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (%)
LUMO+10	0,61	24,26	73,17	1,71	0,86
LUMO+9	-0,03	0,2	0,87	98,84	0,09
LUMO+8	-0,09	0,15	0,16	99,68	0,01
LUMO+7	-0,79	0,82	0,19	98,95	0,04
LUMO+6	-0,97	1,08	1,14	96,94	0,84
LUMO+5	-1,28	8,04	2,92	1,37	87,67
LUMO+4	-1,43	46,51	32,85	7,12	13,52

LUMO+3	-1,54	44,01	35,5	14,87	5,62
LUMO+2	-2,35	0,4	0,55	98,9	0,15
LUMO+1	-2,67	2,83	0,68	95,6	0,89
<b>LUMO</b>	-2,99	0,13	0,07	99,71	0,09
<b>HOMO</b>	-6,44	23,96	31,06	5,18	39,8
HOMO-1	-6,68	48,34	19,31	12,25	20,1
HOMO-2	-6,87	0,49	0,27	99,19	0,05
HOMO-3	-7,19	6,34	0,95	90,12	2,59
HOMO-4	-7,41	0,406	0,104	99,33	0,16
HOMO-5	-7,71	29,22	15,58	11,33	43,87
HOMO-6	-7,74	2,27	4,8	91,52	1,41
HOMO-7	-7,83	38,45	7,12	15,38	39,05
HOMO-8	-7,95	60,66	13,63	6,76	18,95
HOMO-9	-8,09	18,7	16,44	18,58	46,28
HOMO-10	-8,22	19,52	14	10,12	56,36

**Figura 25.** (a) Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexos  $3\text{-NO}_2$   $1 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$  em metanol (—) e a deconvolução espectral(—) (b) e o espectro teórico(—).



Fonte: Elaborado pela autora.

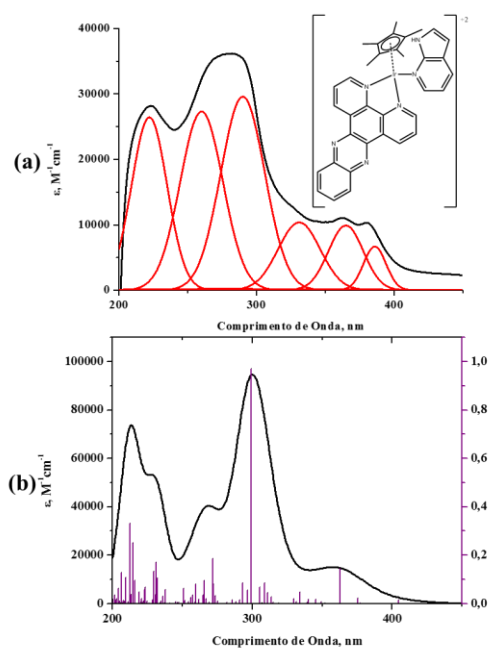
Na figura 26, observa-se os espectros experimental e teórico para o complexo 3-ain. Assim como foi observado para o complexo 3-NO<sub>2</sub>, o complexo 3-ain possui duas absorções em 365nm ( $\epsilon = 10295 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ) e 386nm ( $\epsilon = 6975 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ) que são características do ligante dppz, entretanto, o espectro teórico parece não prevê esse perfil apresentando apenas uma transição significativa em 362 nm com composição de orbitais HOMO-2→LUMO (68%), HOMO-2→LUMO+1 (12%), HOMO-4→LUMO (5%), HOMO-3→LUMO+1 (2%), HOMO-1→LUMO+2 (4%). Na tabela 11 se encontra os valores de contribuição dos orbitais para os fragmentos do complexo 3-ain, e se pode observar que os orbitais LUMO e LUMO+1 são formados por contribuições quase exclusivas do ligante dppz (>90%), logo, a transição prevista para 362nm pode ser atribuída a transições do metal e do 7-azaindol para o ligante dppz. A banda em 290 nm no espectro experimental foi atribuído ao sinal com maior força de oscilador no espectro teórico em 298nm com contribuições de orbital HOMO-5→LUMO (11%), HOMO-1→LUMO+2 (45%), HOMO-7→LUMO (4%), HOMO-6→LUMO (8%), HOMO-6→LUMO+1 (3%), HOMO-5→LUMO+1 (4%), HOMO-4→LUMO (8%), HOMO-4→LUMO+1 (3%), HOMO-4→LUMO+2 (3%), HOMO-3→LUMO+2 (2%) sendo uma transição de caráter intraligante do dppz. A banda em 260nm no espectro experimental foi atribuído a transição em 270nm no espectro teórico com contribuições de orbitais HOMO-2→LUMO+5 (58%) HOMO-8→LUMO+4 (4%), HOMO-5→LUMO+5 (2%), HOMO-4→LUMO+4 (9%), HOMO-2→LUMO+4 (3%), HOMO-1→LUMO+5 (2%), HOMO→LUMO+5 (4%), HOMO→LUMO+8 (6%) os orbitais HOMO-2 e LUMO+5 que são formados majoritariamente pelo ligante 7-azaindol, logo, a transição foi atribuída a uma intraligante do ligante 7-azaindol.

Tabela 11. Contribuições percentuais dos fragmentos do complexo 3-ain para seus orbitais moleculares.

Orbital	Energia (eV)	Ir(%)	Cp*(%)	dppz(%)	ain(%)
LUMO+10	-0,18	0,07	0,25	99,32	0,36
LUMO+9	-0,23	0,32	1,78	93,37	4,53
LUMO+8	-0,36	2,51	0,8	5,16	91,53
LUMO+7	-0,94	1,03	0,36	98,19	0,42
LUMO+6	-1,18	0,8	1,58	96,68	0,94
LUMO+5	-1,83	1,93	0,52	0,58	96,97
LUMO+4	-2,0	46,43	35,87	17,07	0,63

LUMO+3	-2,06	45,3	36,46	8,5	9,74
LUMO+2	-2,57	0,82	1,37	97,3	0,51
LUMO+1	-2,92	3,59	1,08	94,11	1,22
<b>LUMO</b>	-3,13	0,37	0,19	99,12	0,32
<b>HOMO</b>	-6,66	3,91	0,92	1,26	93,91
HOMO-1	-6,97	0,09	0,09	98,97	0,85
HOMO-2	-7,1	18,38	5,3	20,62	55,7
HOMO-3	-7,19	52,09	24,51	16,01	7,39
HOMO-4	-7,32	8,56	4,79	46,85	39,8
HOMO-5	-7,49	18,7	10,66	66,43	4,21
HOMO-6	-7,54	13,52	8,55	73,91	4,02
HOMO-7	-7,94	1,34	3,87	94,52	0,27
HOMO-8	-8,1	61,38	12,97	11,68	13,97
HOMO-9	-8,47	34,12	42,73	22,37	0,78
HOMO-10	-8,56	47,26	41,12	5,54	6,08

**Figura 26.** (a) Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexos 3-ain  $2,5 \times 10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup> em metanol (—) e deconvolução espectral(—) (b) e o espectro teórico(—).



Fonte: Elaborado pela autora.



Os complexos com dppz com suas transições eletrônicas e atribuições estão compilados na tabela 12.

Tabela 12. Complexos com o ligante dipiridofenazina (dppz) e suas transições eletrônicas na região do UV-vis.

Complexo	$\lambda_{nm}$ ( $\epsilon$ , mol <sup>-1</sup> Lcm <sup>-1</sup> )	Atribuição
[Cp*Ir(dppz)ain](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>3-ain</b> )	260 (27437)	ain ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )
	290 (29612)	dppz ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )
	365 (10295)	dppz $\leftarrow$ Ir, dppz $\leftarrow$ ain
	386 (6975)	dppz ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )
[Cp*Ir(dppz)NO <sub>2</sub> ](PF <sub>6</sub> ) ( <b>3-NO<sub>2</sub></b> )	280 (78224)	dppz( $\pi^* \leftarrow \pi$ )
	325 (15934)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ( $\pi^* \leftarrow \pi$ ), d $\leftarrow$ d
	360 (13360)	dppz ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )
	380 (13620)	dppz ( $\pi^* \leftarrow \pi$ )

#### 4.2.2.4. Complexos com Fenilpiridina

Na figura 27, encontra-se os espectros teórico e experimental do complexo 4-NO<sub>2</sub>. O perfil espectral entre o teórico e experimental nesse complexo se mostrou o mais semelhante da série. A banda em 336nm ( $\epsilon = 2369$  mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>) no espectro experimental e em 357nm no espectro teórico uma transição tem contribuições de orbitais HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO (83%), HOMO $\rightarrow$ LUMO (14%). Na tabela 13, observa-se as contribuições dos fragmentos do complexo 4-NO<sub>2</sub> para os orbitais, sendo que os orbitais HOMO e LUMO possuem grande contribuição do ligante fenilpiridina enquanto o orbital HOMO-1 possui contribuições maiores do metal e do ligante Cp\*, logo a transição em 336 nm deve ser uma transferência de carga do metal e do ligante Cp\* para o ligante fenilpiridina. A banda em 287nm ( $\epsilon = 6290$  mol<sup>-1</sup> Lcm<sup>-1</sup>) no espectro experimental foi assumida em 290nm no espectro teórico, com contribuição de orbitais HOMO-4 $\rightarrow$ LUMO (14%), HOMO-3 $\rightarrow$ LUMO (38%), HOMO-2 $\rightarrow$ LUMO (21%) HOMO-5 $\rightarrow$ LUMO (2%), HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+1 (4%), HOMO-1 $\rightarrow$ LUMO+4 (4%), HOMO $\rightarrow$ LUMO+4 (7%), HOMO $\rightarrow$ LUMO+5 (2%), os orbitais HOMO-3 e HOMO-2 possuem maiores contribuições do ligante fenilpiridina (>50%) e o orbital LUMO é formado quase exclusivamente por esse ligante (>95%) logo, a transição foi atribuído um caráter de intraligante do fenilpiridina. A banda em 245 nm ( $\epsilon = 10186$  mol<sup>-1</sup> L

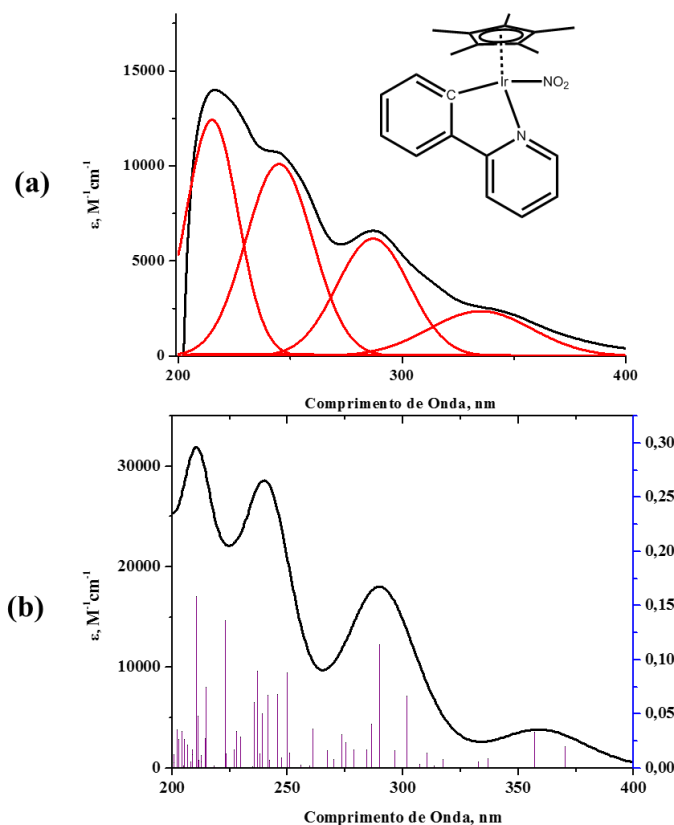
cm<sup>-1</sup>) no espectro experimental foi atribuída a banda em 250 nm no espectro teórico, cuja contribuição de orbitais é HOMO-6→LUMO (47%), HOMO-4→LUMO+1 (25%)

HOMO-5→LUMO+1 (9%), HOMO-4→LUMO+2 (2%), HOMO-3→LUMO+1 (4%), HOMO-2→LUMO+1 (6%), o orbital HOMO-6 e HOMO-2 possuem maior contribuição do ligante nitrito, enquanto os orbitais LUMO e LUMO+1 são formados majoritariamente pelo ligante fenilpiridina logo, essa transição foi atribuída a uma transferência de carga do nitrito para a fenilpiridina.

Tabela 13. Contribuições percentuais dos fragmentos do complexo 4-NO<sub>2</sub> para seus orbitais moleculares.

Orbital	Energia (eV)	Ir(%)	Cp*(%)	phpy(%)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (%)
LUMO+10	1,4	33,72	65,25	0,83	0,2
LUMO+9	1,34	56,66	36,47	5,69	1,18
LUMO+8	1,25	86,55	12,4	0,06	0,99
LUMO+7	1,05	80,56	15	4,28	0,16
LUMO+6	0,83	2,73	0,76	96,48	0,03
LUMO+5	0,23	6,93	2,74	89,89	0,44
LUMO+4	-0,11	42,6	25,01	28,51	3,88
LUMO+3	-0,52	31,35	25,31	7,28	36,06
LUMO+2	-0,83	19,04	15,45	4,95	60,56
LUMO+1	-1,01	2,2	0,89	96,23	0,68
<b>LUMO</b>	-1,54	2,86	0,80	95,77	0,57
<b>HOMO</b>	-5,65	31,35	14,98	40,47	13,2
HOMO-1	-5,77	36,42	37,00	13,66	12,92
HOMO-2	-6,29	13,94	17,06	54,6	14,4
HOMO-3	-6,43	23,87	6,75	53,88	15,5
HOMO-4	-6,74	11,98	16,33	32,36	39,33
HOMO-5	-6,81	54,65	11,06	7,6	26,69
HOMO-6	-7,17	27,25	11,49	20,72	40,54
HOMO-7	-7,53	3,08	3,15	2,1	91,67
HOMO-8	-7,57	31,14	27,32	23,19	18,35
HOMO-9	-7,75	37,3	24,43	28,25	10,02
HOMO-10	-8,05	2,6	0,84	94,18	2,38

**Figura 27.** (a) Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexos  $4\text{-NO}_2$   $6 \times 10^{-5}$  mol.L $^{-1}$  (—) em metanol e a deconvolução espectral(—) (b) e o espectro teórico(—).



Fonte: Elaborado pela autora.

Nenhum dos complexos apresentados tiveram bandas na região do visível, o que dificulta a utilização de irradiação de luz visível como uma forma de ativação seletiva para esses complexos. Entretanto, as bandas em torno de 360 e 380 nos complexos com dppz possibilitam a utilização de uma fonte de luz UV branda (385-395nm).

#### 4.2.3. Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$

A ressonância magnética nuclear (RMN) é um tipo de técnica de espectroscopia de absorção. A RMN é observada quando se incide ondas de radiofrequência em uma amostra que possui isótopos com spin nuclear maior que zero (como é o caso do  $^1\text{H}$ , que foi o isótopo investigado neste estudo) na presença de um campo magnético. O sinal do RMN reflete o ambiente químico em que o núcleo se encontra, quando o ambiente é modificado

eletronicamente observa-se um deslocamento no sinal do núcleo. Esse deslocamento químico faz com que a RMN seja uma técnica de determinação estrutural amplamente utilizada<sup>73</sup>.

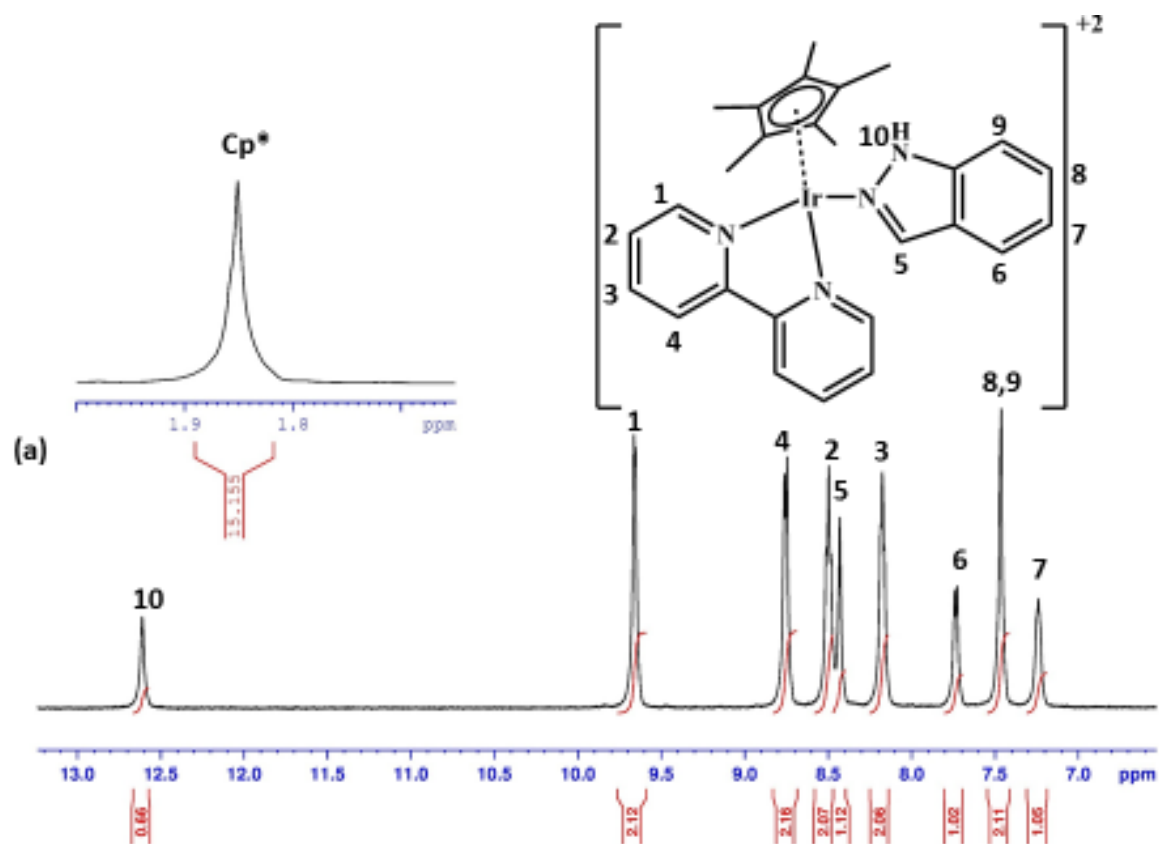
#### 4.2.3.1. Complexos coordenados ao ligante Indazol

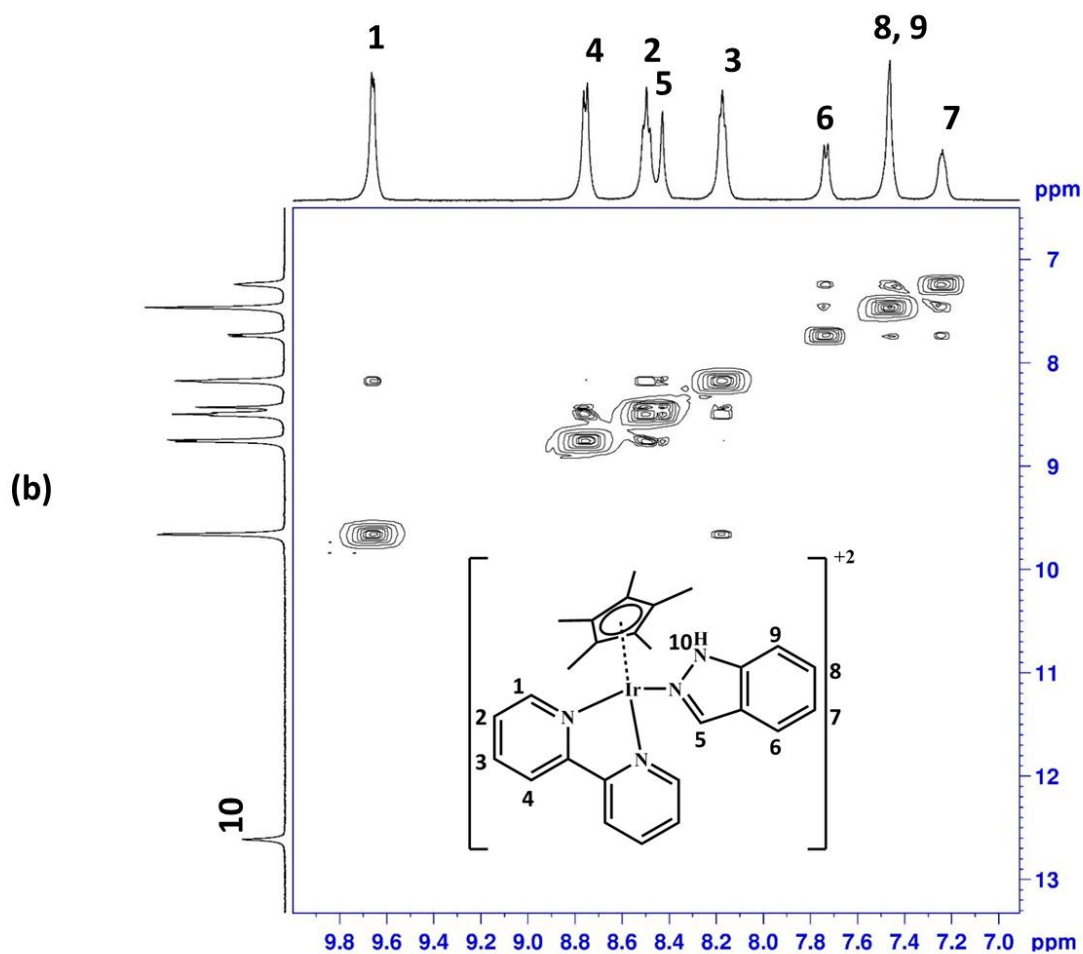
Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para os complexos 1-indz (Figura 28) e 2-indz (Figura 29) apesar da presença de ligantes quelantes diferentes apresentaram desdobramentos similares para o ligante indazol. Em nenhum dos dois casos, a coordenação do ligante indazol desfez a simetria dos quelantes, logo os 6 sinais dos hidrogênios do indazol podem ser facilmente identificados.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 1-indz teve os sinais dos hidrogênios marcados de 1-10, com os quatro primeiros do ligante bipyridina sendo considerados como referentes a dois hidrogênios, devido o ligante ser simétrico. O sinal em 9,66ppm foi atribuído ao hidrogênio H1 que é um dubleto pois acopla com H2. O sinal em 8,76ppm se refere a um segundo dubleto atribuído ao hidrogênio H4 que acopla com H3. Os hidrogênios H2 e H3 são tripletos, pois cada um deles acoplam entre si e com H1 e H4, respectivamente. O sinal do hidrogênio H2 encontra-se em 8,18ppm enquanto o do hidrogênio H3 em 8,50ppm. Lembrando que cada hidrogênio marcado na bipyridina corresponde a integração de dois hidrogênios devido a simetria do ligante, pode-se realizar a quantificação dos números de hidrogênio totais, que se mostraram consistentes com a estrutura do complexo.

Com relação ao indazol, o sinal de um hidrogênio singlete em 12,61 ppm foi atribuído ao hidrogênio H10 do ligante indazol (N-H), a sua integração destoou dos outros sinais, todavia devido ao hidrogênio H10 ser um hidrogênio de possível troca química com o solvente esse comportamento é justificado. O sinal de um singlete em 8,43ppm foi atribuído ao hidrogênio H5. O sinal de um dubleto em 7,74ppm foi atribuído ao hidrogênio H6, que acopla com o hidrogênio H7. O espectro apresentou uma aparente anomalia quanto ao sinal de um dubleto e um triplete esperados para esse ligante, mas que se apresentaram na forma de um único singlete, atribuídos aos hidrogênios H8 e H9. Apesar do sinal aparentar um singlete no espectro COSY (Figura 28-b) observa-se acoplamentos entre esse singlete e o triplete mais protegido em 7,24ppm que é atribuído ao hidrogênio H7, logo, válida a atribuição. Em campo alto, se encontra o sinal singlete para 15 hidrogênios do ligante pentametilciclopentadienil ( $\text{Cp}^*$ ) em 1,85ppm.

**Figura 28.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 1-indz, em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  (a) Espectro de RMN COSY para o complexo 1-indz (b).



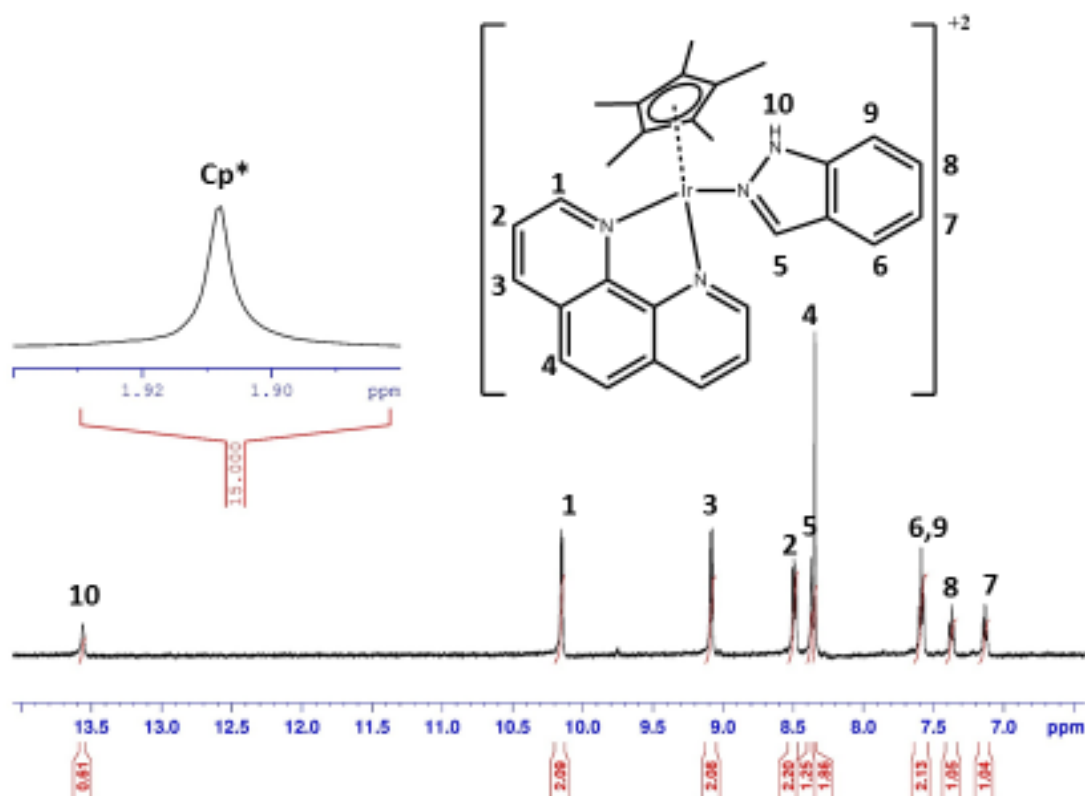


Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro de RMN do complexo 2-idzn apresentou 8 sinais (Figura 29). O sinal duplete em 10,15ppm foi atribuído ao hidrogênio H1 que acopla com o hidrogênio H2. O sinal em 9,08ppm foi atribuído ao hidrogênio H3 que acopla com o hidrogênio H2, consequentemente formando um duplete. O hidrogênio H2 acopla com os hidrogênios H1 e H3, mas como esses hidrogênios não são tão parecidos como é o caso dos hidrogênios da bipyridina, ao invés de formar um tripleto observa-se um duplete de duplete em 8,48 ppm. O sinal de singlete em 8,34 ppm possui integração para 2 hidrogênios e foi atribuído ao hidrogênio H4 da fenantrolina que acopla entre si e forma um sinal de singlete, sendo o sinal de singlete em 8,36ppm atribuído ao hidrogênio H5 do ligante indazol. O sinal em 7,58ppm é um multiplete que foi atribuído aos dois dubletos que seriam dos hidrogênios H6 e H9, enquanto o tripleto em 7,37ppm foi atribuído ao hidrogênio H8 e o tripleto em 7,11 ppm foi atribuído ao hidrogênio H7. O sinal para o hidrogênio 10 foi observado em 13,55ppm como

um singlete largo, o que pode ocorrer devido a troca química com o solvente. O sinal em 1,91 ppm, se trata de um singlete referente aos 15 hidrogênios do ligante Cp\*.

**Figura 29.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 2-indz, em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na tabela 14, pode-se comparar os sinais atribuídos ao ligante indazol nos dois complexos de irídio com o ligante livre. Um sinal promissor de coordenação do ligante é o deslocamento ocorrido quando se passa de um ligante quelante para o outro e quando comparado ao ligante livre. Os sinais para o ligante se aproximaram mais ao espectro do ligante livre quando se trocou o sistema de bipyridina pelo de fenantrolina, o que sugere uma interação mais forte do metal com o ligante fenantrolina.

**Tabela 14.**  $^1\text{H}$ -RMN para os hidrogênios do ligante indazol nos complexos 1-indz, 2-indz e indazol livre em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .

Hidrogênios Indazol	1-indz (ppm)	2-indz(ppm)	Indazol
5	8,43	8,36	8,03
6	7,74	7,58	7,77
7	7,24	7,11	7,12
8	7,47	7,37	7,35
9	7,47	7,58	7,58
10	12,61	13,55	12,26

#### 4.2.3.2. Complexos coordenados ao ligante 7-azaindol

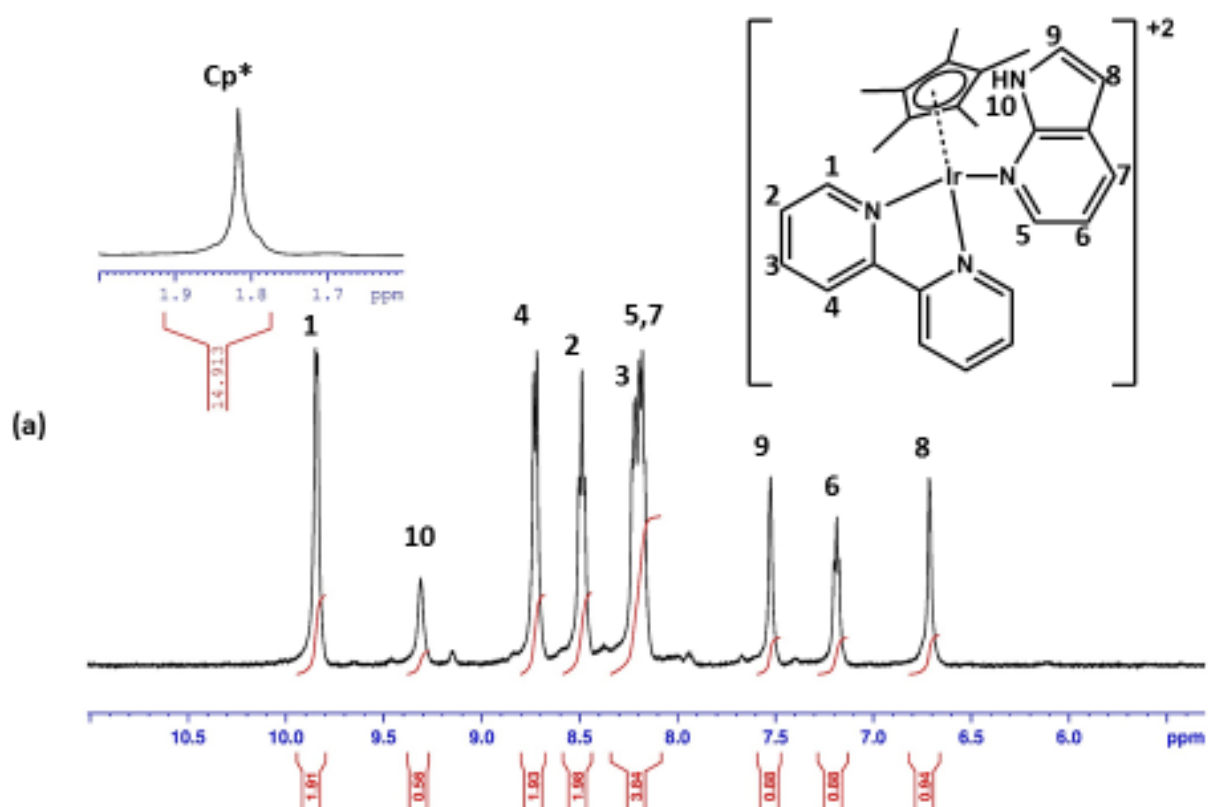
Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  para os complexos 1-ain (Figura 30), 2-ain (Figura 31) e 3-ain (Figura 32) apesar da presença de ligantes quelantes diferentes apresentaram desdobramentos bastante similares para o ligante 7-azaindol coordenado. Similarmente ao que foi observado com o ligante indazol, a coordenação do ligante 7-azaindol não provocou perda de simetria dos ligantes quelantes.

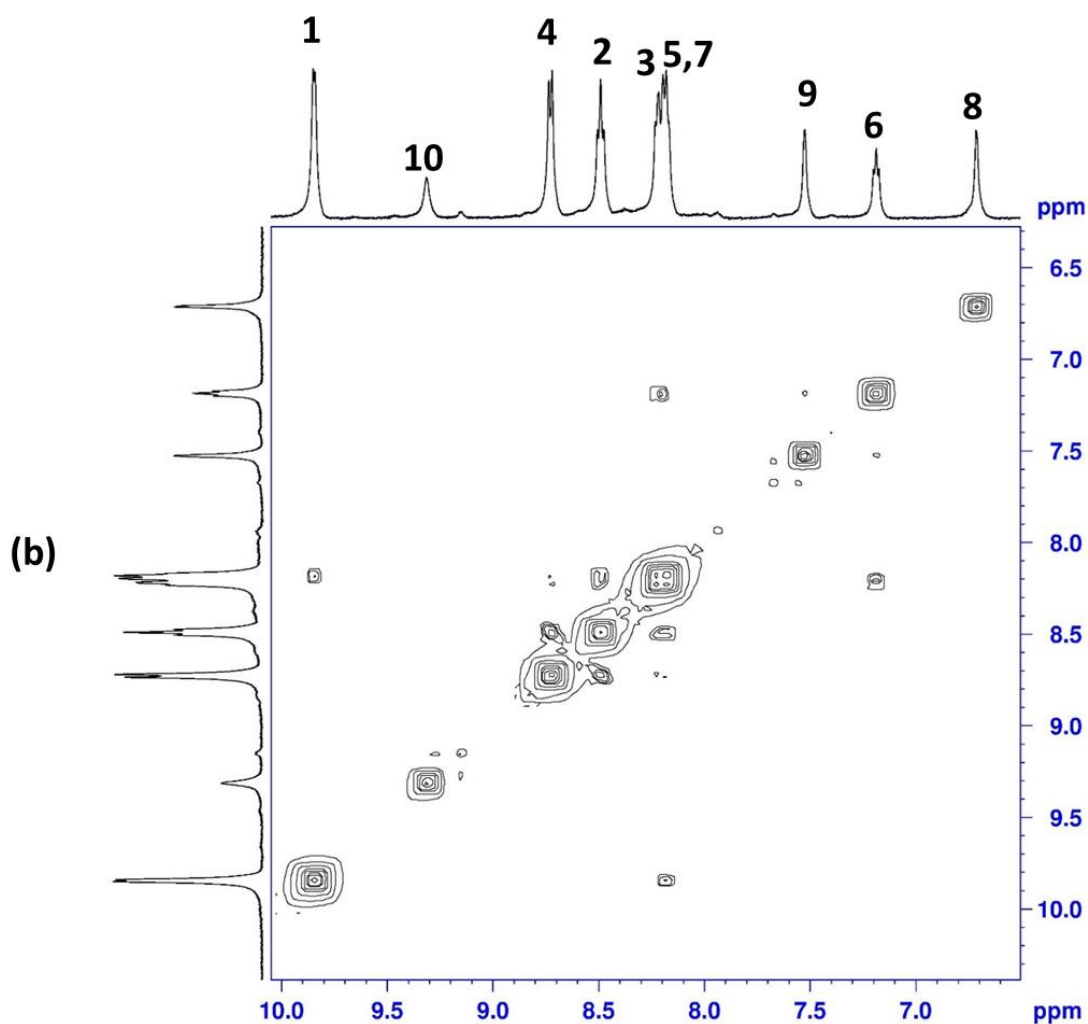
O espectro de RMN de hidrogênio para o complexo 1-ain, apresentou um sinal de hidrogênio em 9,85 ppm que foi atribuído ao hidrogênio H1, enquanto o sinal em 8,73 ppm foi atribuído ao hidrogênio H4. O sinal do hidrogênio H3 foi observado em 8,50 ppm e o do hidrogênio H2 em 8,22ppm (Figura 30). Considerando que cada hidrogênio marcado na bipyridina corresponde a integração de dois hidrogênios por causa da simetria dos hidrogênios do ligante, observou-se número consistente de hidrogênios na integração dos sinais. Os sinais do ligante 7-azaindol foram atribuídos com auxílio do espectro COSY (Figura 30). O sinal de singleto em 9,30 ppm foi atribuído ao hidrogênio H10 do ligante 7-azaindol, cuja integração destoou do valor observado para os outros hidrogênios, possivelmente devido a ser um hidrogênio de troca química, além disso apresentou-se como hidrogênio mais protegido do que esperado. Os sinais esperados para os hidrogênios H5 e H7 parecem ter se sobrepostos na forma de um único dubleto em 8,19 ppm de acordo com a integração para dois hidrogênios. O espectro de RMN novamente apresentou uma aparente anomalia, sendo que dois dubletos esperados para os hidrogênios H8 e H9 surgiram como dois singletos em 6,72 e 7,53ppm, respectivamente. Entretanto, esses mesmos hidrogênios no complexo 2-ain surgem como dois dubletos, o que sustenta que tais singletos possam resultar em pequeno desdobramento com



maior tempo de pulso no equipamento. Na verdade, observa-se uma pequena tentativa de desdobramento de sinal para o singlete em 6,72ppm. O sinal de tripleto observado em 7,19 ppm foi atribuído ao hidrogênio H6. Por fim, em 1,82ppm observa-se o singlete com integração para 15 hidrogênios, referente ao Cp\*.

**Figura 30.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 1-ain, em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  (a) Espectro de RMN COSY para o complexo 1-ain(b).



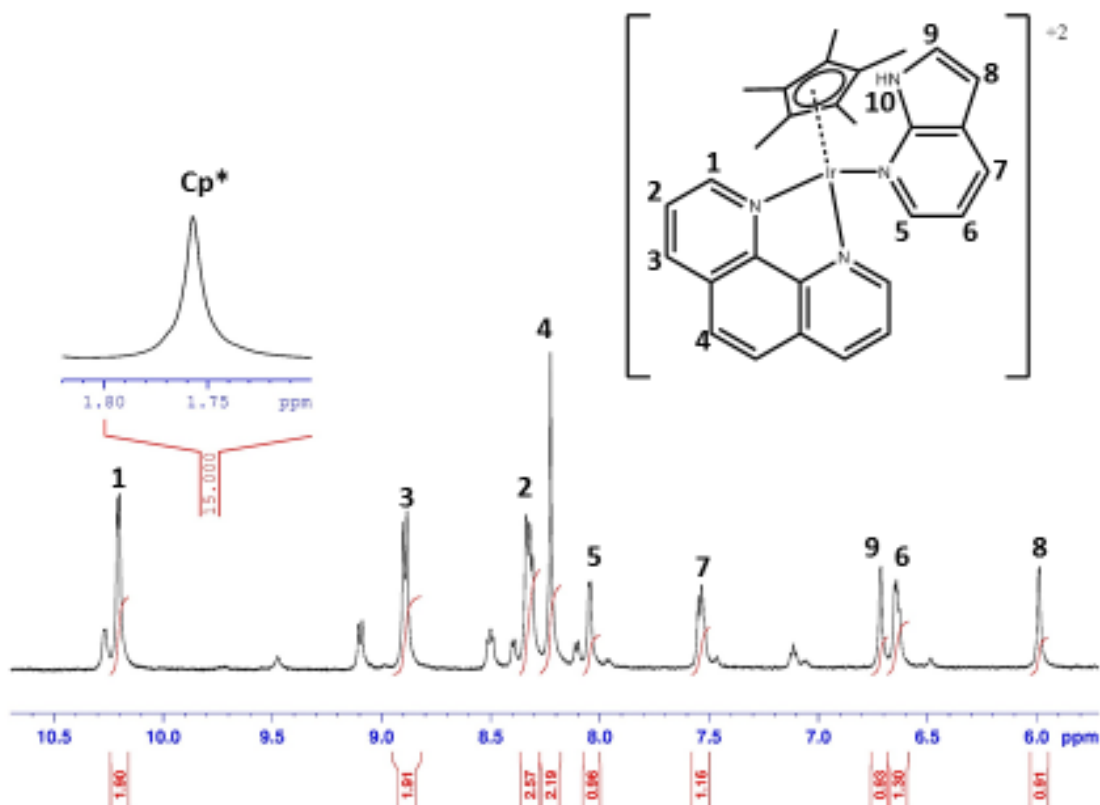


Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro de RMN do complexo 2-ain apresentou 9 sinais principais, numerados de 1-9, apesar de ser possível realizar sua atribuição observa-se pequenas impurezas que não puderam ser removidas em processo de recristalização (Figura 31). O sinal em 10,20 ppm é referente a um dubleto atribuído ao hidrogênio H1, o sinal de dubleto em 8,89 ppm é atribuído ao hidrogênio H3, e o sinal de dubleto de dubleto em 8,32 ppm referente ao hidrogênio H2 e o singlete em 8,22 ppm ao hidrogênio H4. No caso do complexo 2-ain os dubletos dos hidrogênios H5 e H7 não se sobrepuseram, observa-se o dubleto em 8,05 ppm atribuído ao hidrogênio H5 que experimenta um maior efeito de desblindagem devido à alta eletronegatividade do nitrogênio piridínico. O sinal de dubleto em 7,54 foi atribuído ao hidrogênio H7 que acopla com o hidrogênio H6. O hidrogênio H6 acopla com H5 e H7 e foi apontado como o tripleto em 6,64 ppm. Nesse complexo observa-se os dois sinais de dubletos

em 6,71 e 5,99 ppm atribuídos aos hidrogênios H9 e H8, respectivamente. O sinal em 1,75 ppm encontra-se como um singleto referente aos 15 hidrogênios do ligante Cp\*.

**Figura 31.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 2-ain, em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .

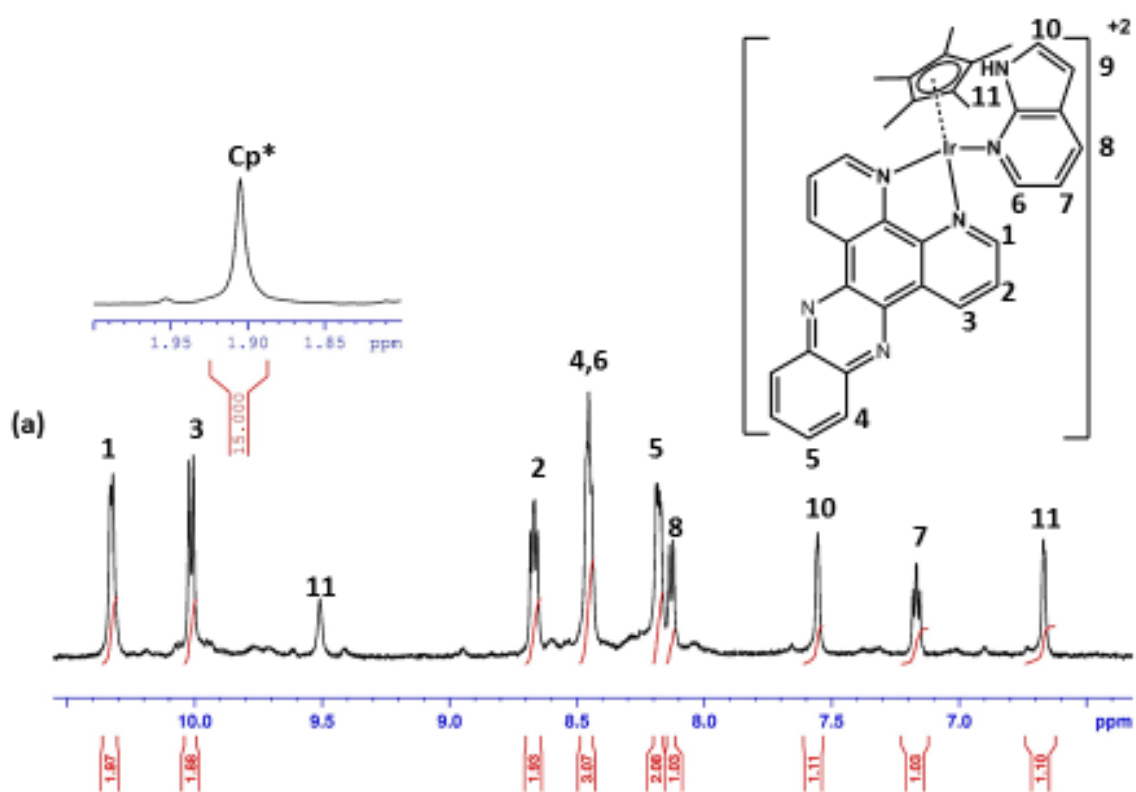


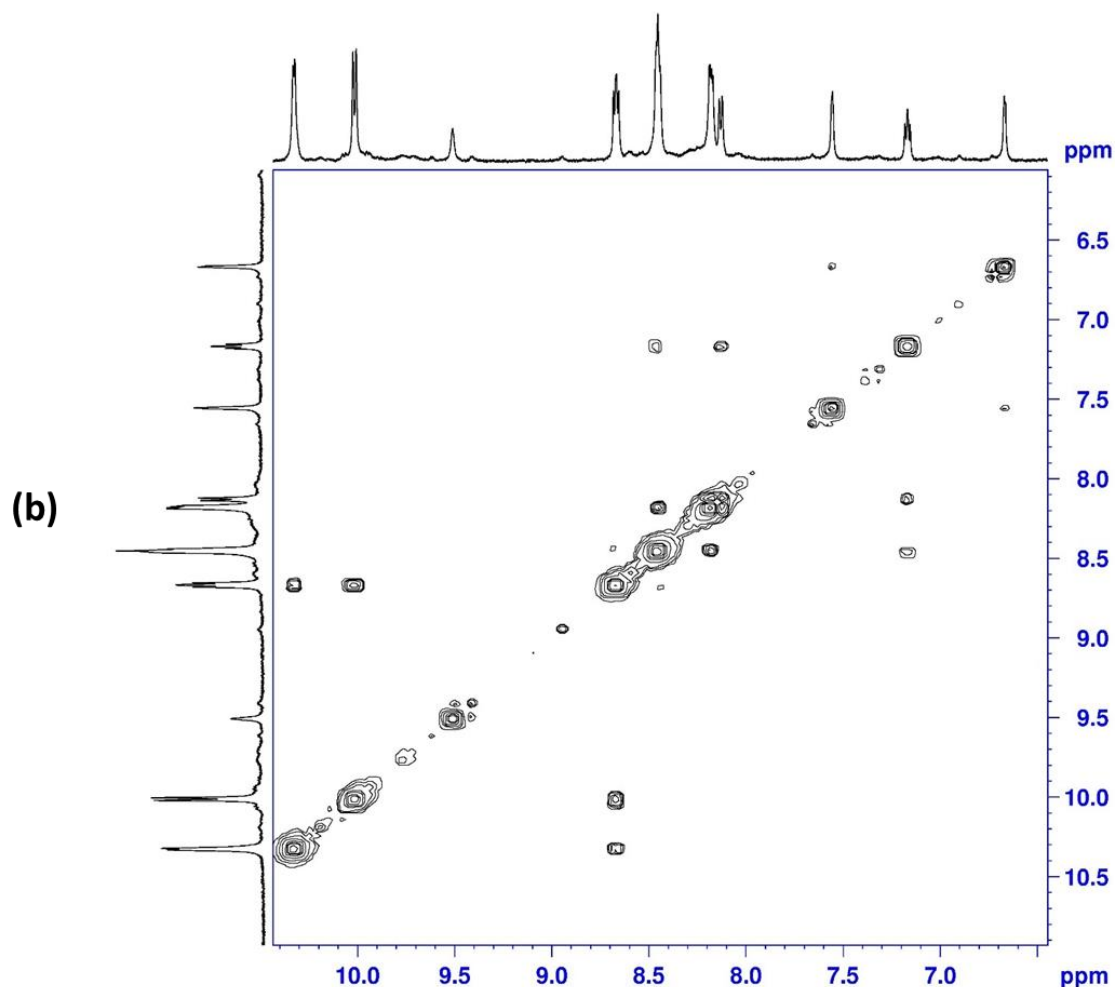
Fonte: Elaborado pelo autor.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 3-ain apresentou 11 sinais principais na região aromática (Figura 32), cujos sinais foram atribuídos com auxílio do espectro COSY (Figura 32). O sinal de dubleto em 10,35ppm foi atribuído ao hidrogênio H1 do ligante dppz, que acopla apenas com o hidrogênio H2, este H2 foi atribuído ao sinal de dubleto de dubleto em 8,66 ppm. O hidrogênio H2 também acopla com o hidrogênio H3, este origina um sinal atribuído ao dubleto em 10,02 ppm. O sinal aparentemente de tripleto para 3 hidrogênios em 8,46ppm foi atribuído a uma sobreposição do hidrogênio H4 do dppz, que seria um dubleto, e do hidrogênio H6 do 7-azaindol que também seria um dubleto. O hidrogênio H4 acopla somente com o hidrogênio H5, que apareceu como um dubleto de dubleto em 8,17 ppm. O hidrogênio H6 acopla com o hidrogênio H7, que foi atribuído ao tripleto em 7,17 ppm, sendo

que o hidrogênio H7 também acopla com o hidrogênio H8 que foi atribuído ao dubleto em 8,13ppm. Os hidrogênios H9 e H10 só acoplam entre si, logo foram atribuídos aos dubletos em 6,66 e 7,55 ppm respectivamente. Novamente o hidrogênio H11 se apresentou bastante protegido em 9,50ppm. Em campo alto, o sinal de singlete para 15 hidrogênios do ligante Cp\* foi observado em 1,90 ppm.

**Figura 32.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 3-ain, em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  (a) Espectro de RMN COSY para o complexo 3-ain (b).





Fonte: Elaborado pela autora.

Na tabela 15, pode-se comparar os sinais atribuídos ao ligante livre 7-azaindol e coordenado nos três complexos. Índícios de coordenação do ligante 7-azaindol foram observados devido ao deslocamento químico diferentes promovidos pelos diferentes complexos em relação ao ligante livre. O hidrogênio H5 foi aquele que mais sofreu deslocamento químico quando se alterou o tipo de ligante quelante, o que é esperado por ser o hidrogênio do carbono ligado ao nitrogênio por onde o ligante sofre coordenação. Não foi observado um padrão de deslocamento químico com a coordenação, além de uma desproteção da maioria dos hidrogênios do ligante quando comparado ao ligante livre para os complexos 1-ain e 3-ain, com exceção do hidrogênio do NH. O complexo 2-ain parece ter um comportamento oposto aos dois outros complexos. Adicionalmente em todos os complexos descritos os sinais de hidrogênio atribuídos aos ligantes apresentaram integração condizente

com uma proporção de 1:1 ligante monodentado/quelante, consistente com a formulação proposta.

Tabela 15.  $^1\text{H}$ -RMN para os hidrogênios do ligante 7-azaindol nos complexos 1-ain, 2-ain, 3-ain e 7-azaindol livre, em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .

Hidrogênios 7-azaindol	1-ain (ppm)	2-ain (ppm)	3-ain (ppm)	7-azaindol(ppm)
5 (6*)	8,19	8,05	8,45	8,27
6 (7*)	7,19	6,64	7,16	7,06
7 (8*)	8,19	7,54	8,13	7,96
8 (9*)	6,72	5,99	6,67	6,48
9 (10*)	7,53	6,71	7,55	7,49
10 (11*)	9,30	-	9,50	11,16

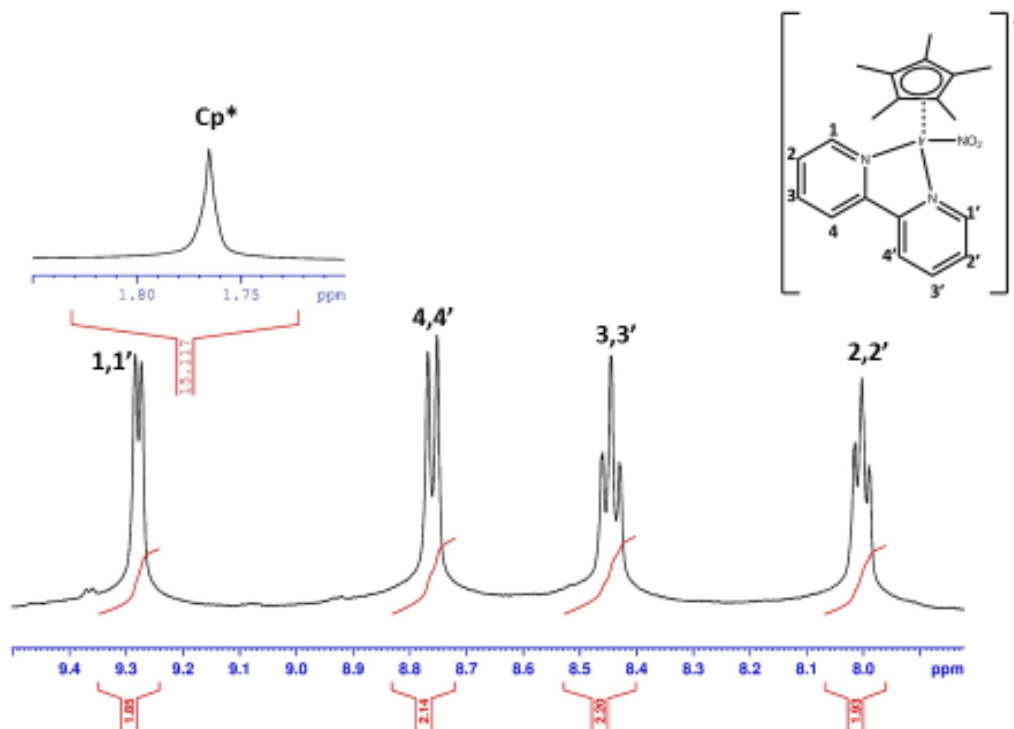
\*Para o complexo 3-ain

#### 4.2.3.3. Complexos com o ligante $\text{NO}_2^-$

O ligante  $\text{NO}_2^-$  não apresenta sinais nos espectros de  $^1\text{H}$  RMN, logo, as atribuições dos espectros de RMN para esses complexos são relativas aos ligantes quelantes e areno, os quais sofrem mudanças nos seus sinais quando há formação do complexo coordenado ao nitrito.

No espectro de RMN do complexo 1- $\text{NO}_2$  observa-se 4 sinais na região aromática (Figura 33). Um sinal de dubleto em 9,29 ppm atribuído ao hidrogênio H1, um sinal de dubleto em 8,78 ppm atribuído ao hidrogênio H4, um sinal de tripleto em 8,46 ppm atribuído ao hidrogênio H3 e um sinal de tripleto em 8,02 ppm atribuído ao hidrogênio H2. O sinal de singleto em 1,76ppm com integração consistente com 15 hidrogênios é atribuído ao ligante Cp\*. Apesar dos sinais do complexo 1- $\text{NO}_2$  serem os mesmos presentes no precursor observa-se um deslocamento químico desses sinais quando comparados no mesmo solvente, sustentando a formação do complexo contendo nitrito ao invés do cloreto.

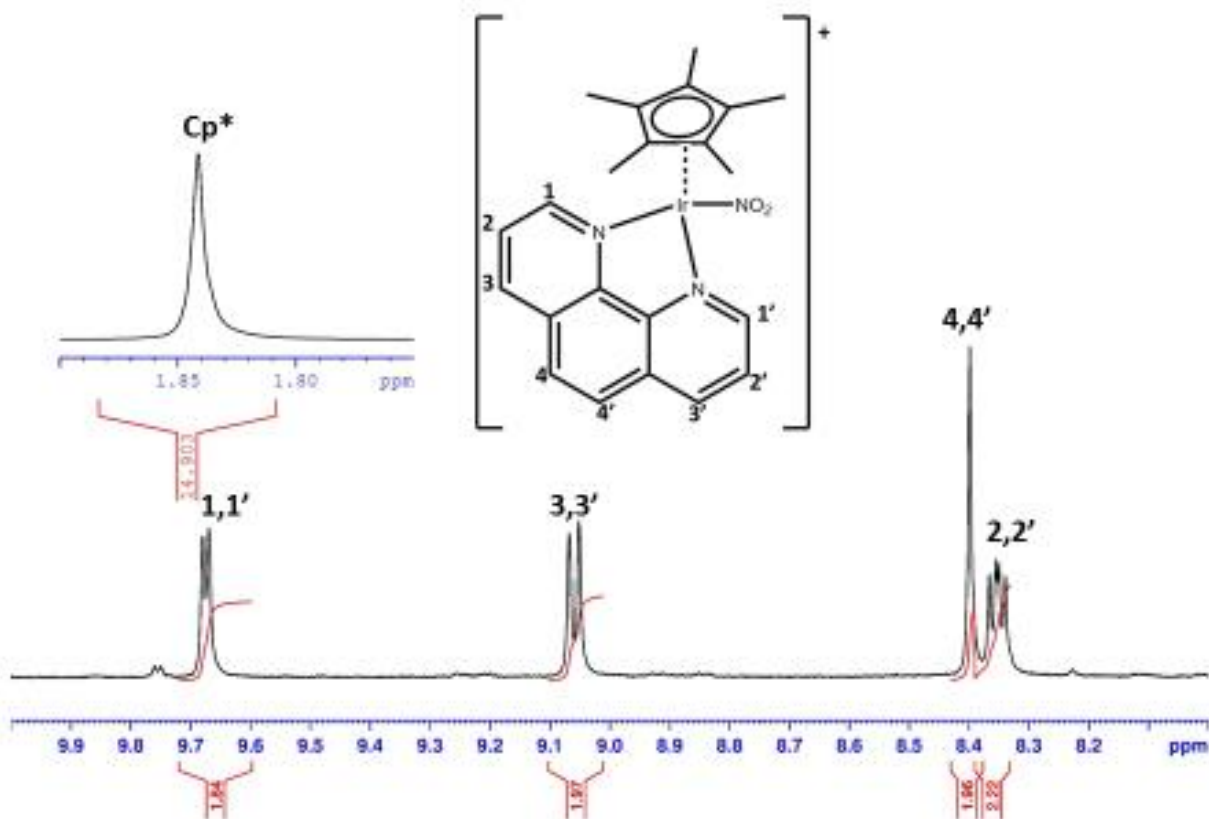
**Figura 33.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 1- $\text{NO}_2$ , em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$



Fonte: Elaborado pela autora.

No espectro de RMN do complexo 2- $\text{NO}_2$  observa-se 4 sinais na região aromática (Figura 34). O sinal de dupletto em 9,68 ppm foi atribuído ao hidrogênio H1, o sinal de dupletto em 9,07 ppm atribuído ao hidrogênio H3, o singletto em 8,40 ppm atribuído ao hidrogênio H4 e o sinal de dupletto de dupletto em 8,36 ppm ao hidrogênio H2. O sinal em 1,84 ppm de singletto para 15 hidrogênios foi atribuído ao ligante Cp\*. Similarmente ao complexo 1- $\text{NO}_2$ , também se observou um deslocamento químico dos sinais da fenantrolina quando comparada ao espectro do complexo precursor 2 no mesmo solvente.

**Figura 34.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 2- $\text{NO}_2$ , em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .



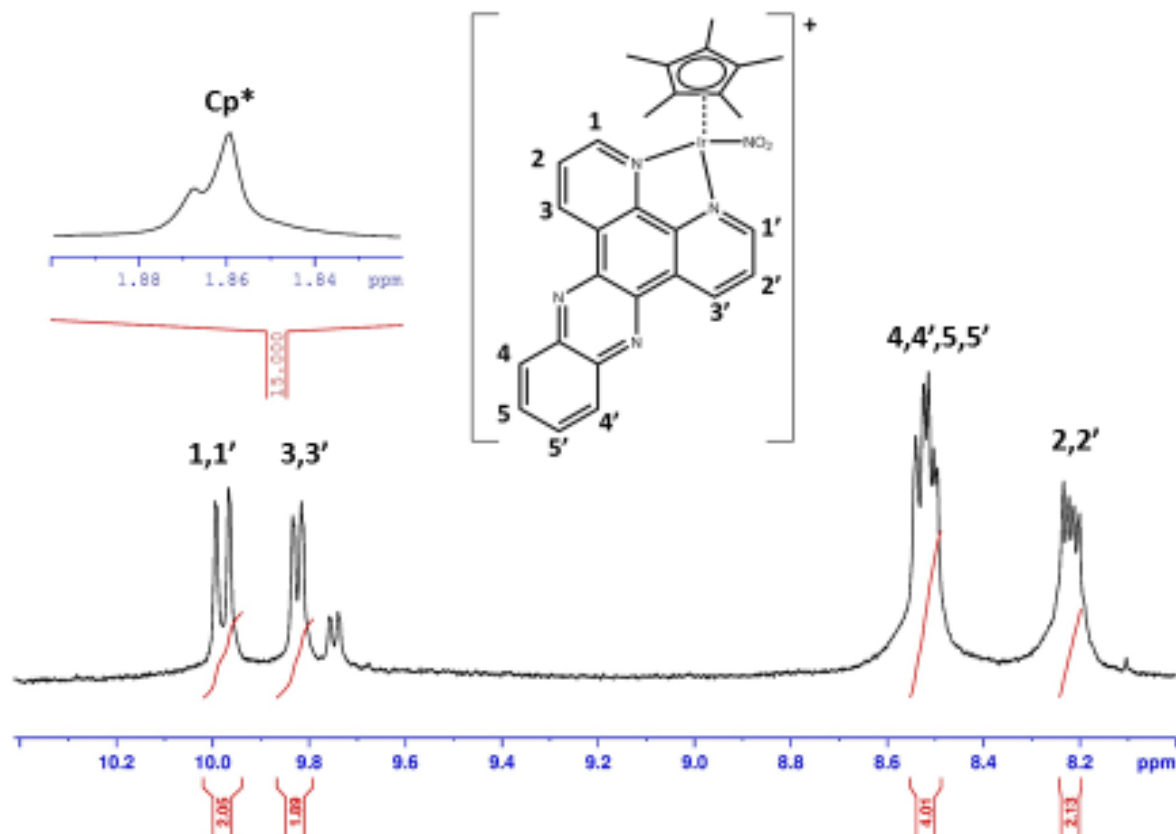
Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro de RMN para o complexo 3- $\text{NO}_2$  apresentou um pequeno deslocamento dos sinais atribuídos ao ligante dppz (Figura 35), correspondendo ao sinal de 5 hidrogênios na região aromática com integração consistente com 10 hidrogênios do ligante dppz, uma vez que o ligante é simétrico foram numerados apenas de 1 a 5. O sinal de dubleto em 9,98 ppm foi atribuído ao hidrogênio H1 que acopla somente com o hidrogênio H2. O segundo dubleto em 9,82 ppm foi atribuído ao hidrogênio H3 que também acopla com o hidrogênio H2. O multipletto, não muito bem definido, foi observado em 8,52 ppm, que possivelmente foi resultado de uma combinação de dois dubletos, apresentou integração para 4 hidrogênios. A coordenação do nitrito deve ter provocado o deslocamento dos sinais de forma que os aproximou levando ao aparente multipletto, sendo atribuído aos hidrogênios H4 e H5 que acoplam entre si, cujas as vizinhanças químicas não provocariam diferenças significativas. O último sinal de hidrogênio tratou-se de um dubleto de dubleto em 8,21 ppm, foi atribuído ao hidrogênio H2 o qual acopla com os hidrogênios H1 e H3. Também foi observado um dubleto em 9,74 ppm que a princípio foi tratado como uma impureza, mas quando feito em DMSO o espectro de RMN para o complexo (APÊNDICE E) não apresenta esse dubleto, nem o ombro



no singlete em 1,85 ppm correspondente aos 15 hidrogênios do ligante Cp\*, o que sugere uma interação com o solvente acetona.

**Figura 35.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 3-NO<sub>2</sub>, em (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO.

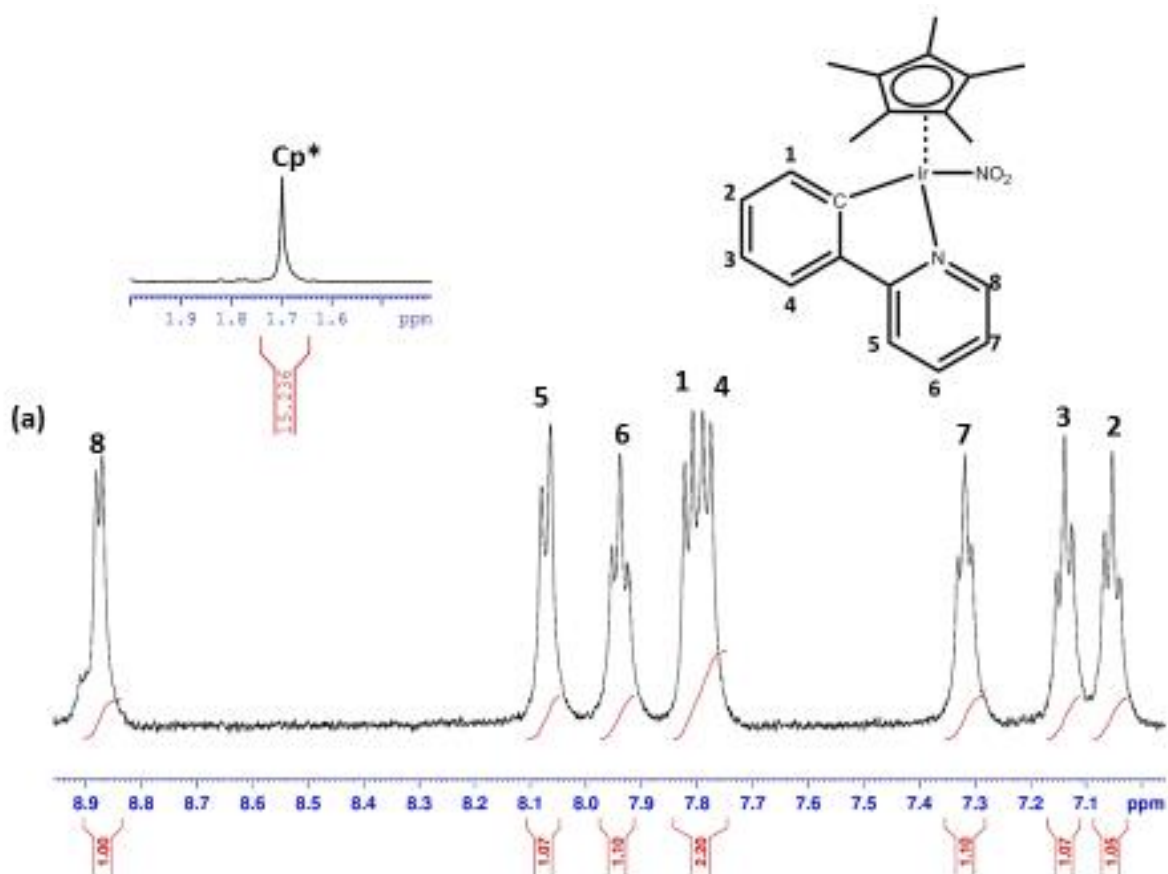


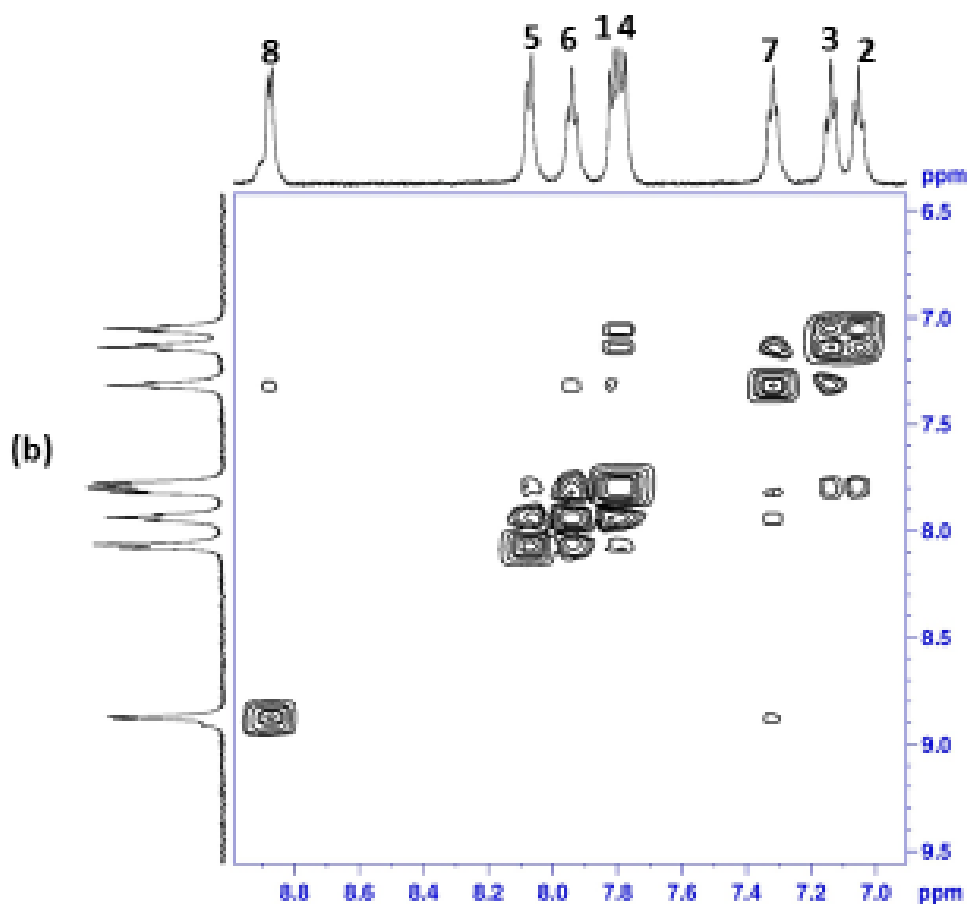
Fonte: Elaborado pela autora.

O espectro de  $^1\text{H}$  RMN para o complexo 4-NO<sub>2</sub> também apresentou deslocamento dos sinais da fenilpiridina quando comparado ao precursor, similarmente aos complexos anteriormente descritos. O espectro para o complexo 4-NO<sub>2</sub> apresentou 8 sinais na região aromática referente aos 8 hidrogênios do ligante fenilpiridina (Figura 36). Com auxílio do espectro COSY (Figura 36) foi possível fazer uma tentativa de atribuição mais exata. O sinal de duplete em 8,78 ppm foi atribuído ao hidrogênio 5, que acopla com o hidrogênio 6. O sinal de duplete em 8,07 ppm foi atribuído ao hidrogênio 8 que acopla com o hidrogênio 7. O sinal de triplete em 7,94 ppm foi atribuído ao hidrogênio 7 que acopla com 8 e 6. Os dois sinais de dupletos em 7,81 e 7,78 foram atribuídos aos hidrogênios 1 e 4, respectivamente. O sinal de triplete em 7,32 ppm foi atribuído ao hidrogênio 6, que é o único acoplamento que pode ser observado no COSY para o hidrogênio 5. Infelizmente, devido aos sinais estarem muito

próximos não é muito claro, mesmo no COSY, se o sinal de tripleto em 7,13 ppm está acoplando com o hidrogênio 1 ou 4. Todavia, devido ao padrão observado para os hidrogênios 6 e 7, considerou-se o hidrogênio 3 como sendo o mais desprotegido. O sinal de tripleto em 7,05 ppm foi atribuído ao hidrogênio 2. O sinal em 1,70 ppm se refere a um singlete com integração para 15 hidrogênios atribuído ao ligante Cp\*.

**Figura 36.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  para o complexo 4- $\text{NO}_2$ , em  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  (a) Espectro de RMN COSY para o complexo 4- $\text{NO}_2$  (b).





Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.2.3.4. Efeito do ligante monodentado no quelante

Os complexos 1-indz, 1-ain e 1-NO<sub>2</sub> possuem o mesmo ligante quelante bipyridina, a tabela 16 apresenta os valores observados para os sinais da bipyridina e do ligante Cp\* nos diferentes complexos preparados e seu precursor. Observa-se que os hidrogênios 1 e 2 que estão mais próximos da ligação Ir-N (bpy) são os mais afetados pela substituição dos ligantes monodentados, tal como esperado, enquanto os valores para os hidrogênios 3 e 4 não sofreram mudanças significativas. A ligação com o centro metálico protege os hidrogênios diretamente ligados ao metal e muitas vezes os hidrogênios dos ligantes coordenados,<sup>20</sup> uma ligação mais efetiva com o metal por parte do ligante monodentado deve desproteger mais os hidrogênios do quelante, pois uma ligação mais forte com o ligante monodentado enfraquece a ligação com o quelante, isso já foi observado nesse tipo de complexo quando há substituição do ligante Cl<sup>-</sup> pelo ligante I.<sup>74</sup> Os hidrogênios metálicos do ligante Cp\* parecem ser menos

sensíveis a essa substituição. Através do deslocamento químico dos complexos o complexo contendo o ligante 7-azaindol parece haver uma ligação química mais forte com o Ir(III), pois sua coordenação desprotegeu bem mais os hidrogênios da bipyridina que os outros ligantes empregados. Convém mencionar, que o ligante indazol apresentou resultados semelhantes como era esperado devido a sua semelhança estrutural, e por último o nitrito.

Tabela 16. <sup>1</sup>H-RMN dos hidrogênios da bipyridina e do ligante pentametilciclopentadienil nos complexos 1-indz, 1-ain e 1-NO<sub>2</sub> e seu precursor em (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO.

Hidrogênios	1	1-indz	1-ain	1-NO <sub>2</sub>
1	9,15 ppm	9,66 ppm	9,84 ppm	9,28 ppm
2	7,94 ppm	8,18 ppm	8,21 ppm	8,01 ppm
3	8,37 ppm	8,50 ppm	8,48ppm	8,45 ppm
4	8,89 ppm	8,76 ppm	8,77 ppm	8,72 ppm
Cp*	1,79 ppm	1,85 ppm	1,81ppm	1,76 ppm

Resultados foram coletados para os complexos 2-indz, 2-ain e 2-NO<sub>2</sub>, e seu precursor, que podem ser observados na tabela 15. O hidrogênio 1 do ligante fenantrolina mostrou a mesma sensibilidade com relação a força do ligante, sendo ilustrada pelo efeito de desproteção, em analogia ao observado com o ligante bipyridina. Entretanto, para a fenantrolina os hidrogênios mais distantes 3 e 4 sofreram um efeito contrário, enquanto o hidrogênio 2 sofreu pouca alteração. Os hidrogênios metálicos do ligante Cp\* não seguiram um padrão esperado, mas isso pode ser devido a efeitos espaciais (estéricos) ainda não claramente elucidados.

Tabela 17. <sup>1</sup>H-RMN dos hidrogênios da fenantrolina e do ligante pentametilciclopentadienil nos complexos 2-indz, 2-ain e 2-NO<sub>2</sub> e seu precursor em (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO.

Hidrogênios	2	2-indz	2-ain	2-NO <sub>2</sub>
1	9,56 ppm	10,03 ppm	10,20 ppm	9,67 ppm
2	8,30 ppm	8,48 ppm	8,32 ppm	8,35 ppm
3	9,00 ppm	9,06 ppm	8,89ppm	9,07 ppm
4	8,39 ppm	8,33 ppm	8,22 ppm	8,39ppm
Cp*	1,86 ppm	1,89 ppm	1,75ppm	1,84 ppm

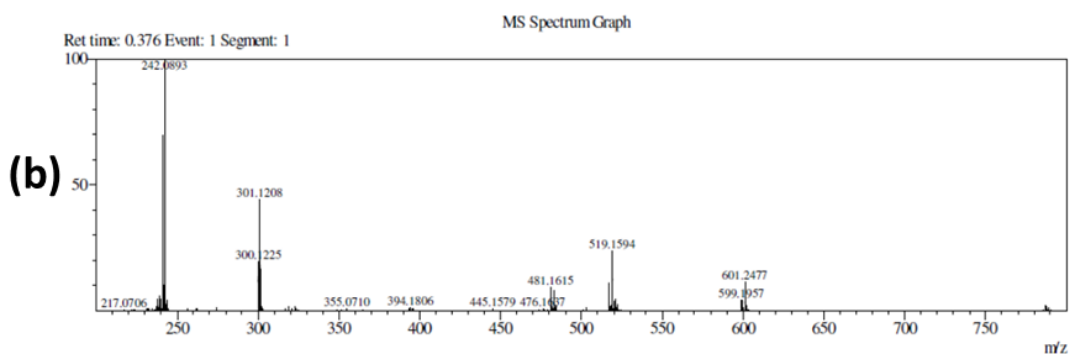
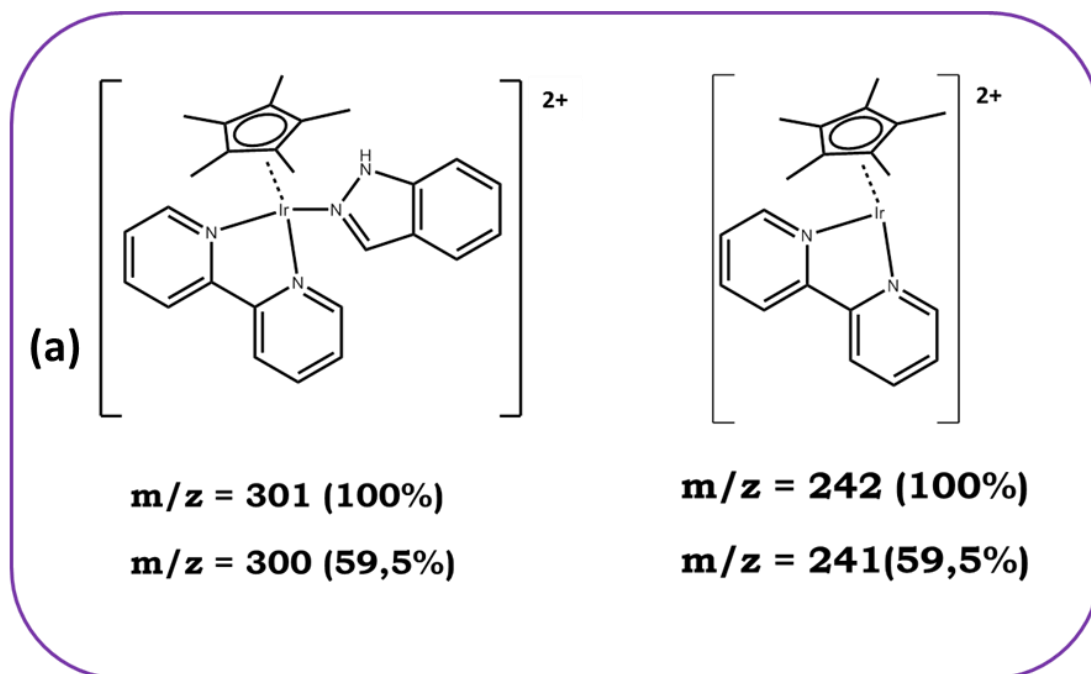
#### 4.2.4. Espectroscopia de Massa

Espectrometria de massa consiste, de maneira simplificada, na ionização de uma molécula, sendo em seguida seus íons separados em função da sua razão massa/carga ( $m/z$ ). Então o instrumento consiste, basicamente, de uma fonte de íons, um separador ou filtro e um detector.<sup>73</sup>

O processo de ionização do composto pode ser realizado por diferentes fontes de íons, neste estudo a fonte de íon utilizada foi *electrospray* modo positivo. A ionização com *electrospray* é empregada para geração de íons de espécies pouco voláteis em fase aquosa, foi o tipo de ionização utilizado nesse estudo.

O Irídio possui dois isótopos  $\text{Ir}^{191}$  e  $\text{Ir}^{193}$ , com abundâncias de 37% e 63%, respectivamente. No espectro de massa para os complexos deste elemento é possível observar os dois isótopos consistentes com a presença do metal. Na figura 37, estão os dois cátions observados no espectro de massa para o complexo 1-indz (Figura 37). A presença do cátion com  $m/z=301$  é um forte indicativo de coordenação do ligante, já que o cátion com  $m/z=242$  aparece nos espectros de massa para o precursor, essa diferença é consistente com a massa do ligante indazol.

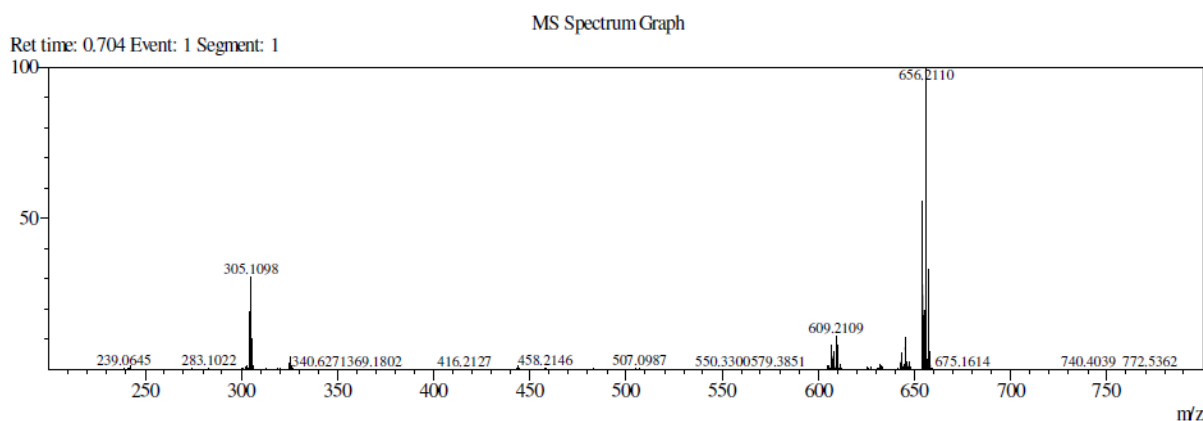
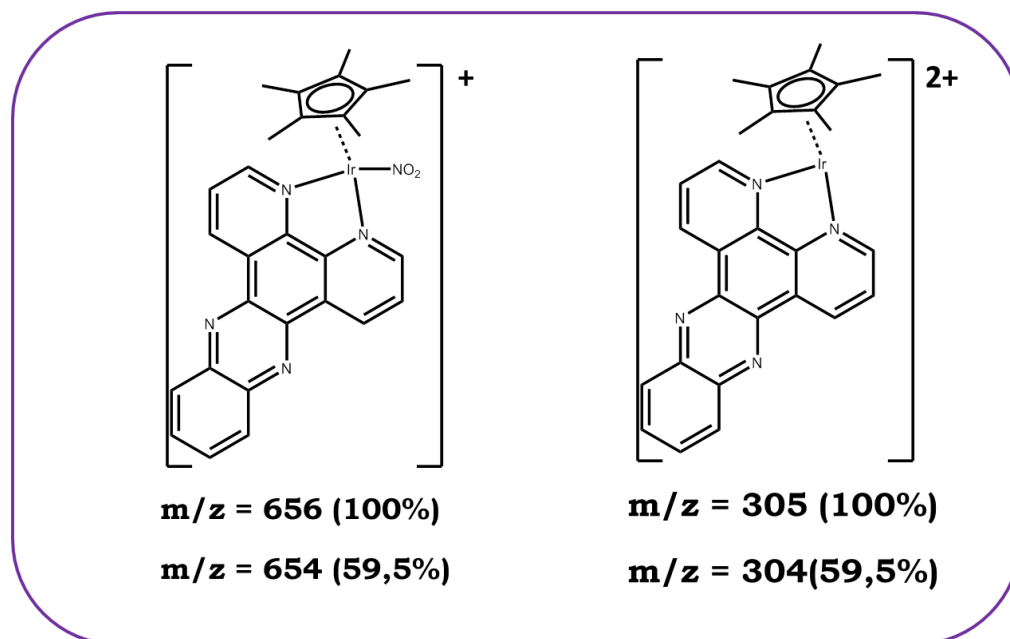
**Figura 37.** Cátions observados no espectro de massa para o complexo 1-indz (a) Espectro de massa para o complexo 1-indz em metanol (b).



Fonte: Elaborado pela autora.

O complexo 3-NO<sub>2</sub> apresentou em seu espectro de massa (Figura 38) cátions correspondentes com sua estrutura e a presença do cátion [Cp\*Ir(dppz)NO<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (m/z=656(100%), 654(59.5%)) foi um forte indicativo da coordenação do nitrito pois o segundo sinal apresentado o que foi atribuído ao cátion [Cp\*Ir(dppz)]<sup>2+</sup> (m/z=305(100%), 304(59.5%)) é o mesmo cátion formado no precursor com perda de cloreto (Figura 38).

**Figura 38.** Cátions observados no espectro de massa para o complexo 3-NO<sub>2</sub> (a) Espectro de massa para o complexo 3-NO<sub>2</sub> em metanol (b).



Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.2.5. Condutividade Molar

A condutividade elétrica de uma solução corresponde a capacidade das espécies no meio conduzirem a corrente elétrica e isto é dependente da concentração do soluto e do número de cargas presentes. Caso seja medida a concentração das espécies no meio e usando a condutividade molar, é possível determinar o número de cargas existentes em um complexo, as quais podem ser deduzidas por comparação com dados tabelados.<sup>75</sup>

A condutividade elétrica de uma solução é dependente do solvente utilizado e a escolha do solvente envolve alguns aspectos, tais como: constante dielétrica, viscosidade e condutividade específica. Os solventes mais adequados são aqueles que apresentam alta

constante dielétrica e baixa viscosidade, a exemplo da acetonitrila, nitrometano e metanol. Assim, em um dado solvente, a condutividade elétrica varia linearmente com a raiz quadrada da concentração.

Com o objetivo de confirmar a proporção entre cátion e ânion nos compostos sintetizados, determinou-se a condutividade molar dos complexos, na concentração de 1 mmol L<sup>-1</sup>, em metanol. Os dados obtidos estão apresentados na tabela 18, cujos valores foram consistentes com as formulações propostas para os 8 complexos sintetizados, indicando inclusive que não há excesso de contra-íon usado na precipitação dos compostos.

**Tabela 18.** Dados de condutividade para os complexos, 1mmolL<sup>-1</sup>, em metanol.

Complexo	Faixa esperada <sup>75</sup>	Condutividade Molar (S cm <sup>2</sup> mol <sup>-1</sup> )
[Cp*Ir(bpy)NO <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> ( <b>1-NO<sub>2</sub></b> )	80-115	98
[Cp*Ir(bpy)ain](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>1-ain</b> )	160-220	182
[Cp*Ir(bpy)indz](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>1-indz</b> )	160-220	178
[Cp*Ir(phen)indz](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>2-indz</b> )	160-220	156
[Cp*Ir(phen)NO <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> ( <b>2-NO<sub>2</sub></b> )	80-115	77
[Cp*Ir(bpy)NO <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> ( <b>3-NO<sub>2</sub></b> )	80-115	101
[Cp*Ir(dppz)ain](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>3-ain</b> )	160-220	159
[Cp*Ir(bpy)NO <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> ( <b>4-NO<sub>2</sub></b> )	80-115	102

### 4.3. Ensaios de Clivagem e Modificação do DNA Plasmidial

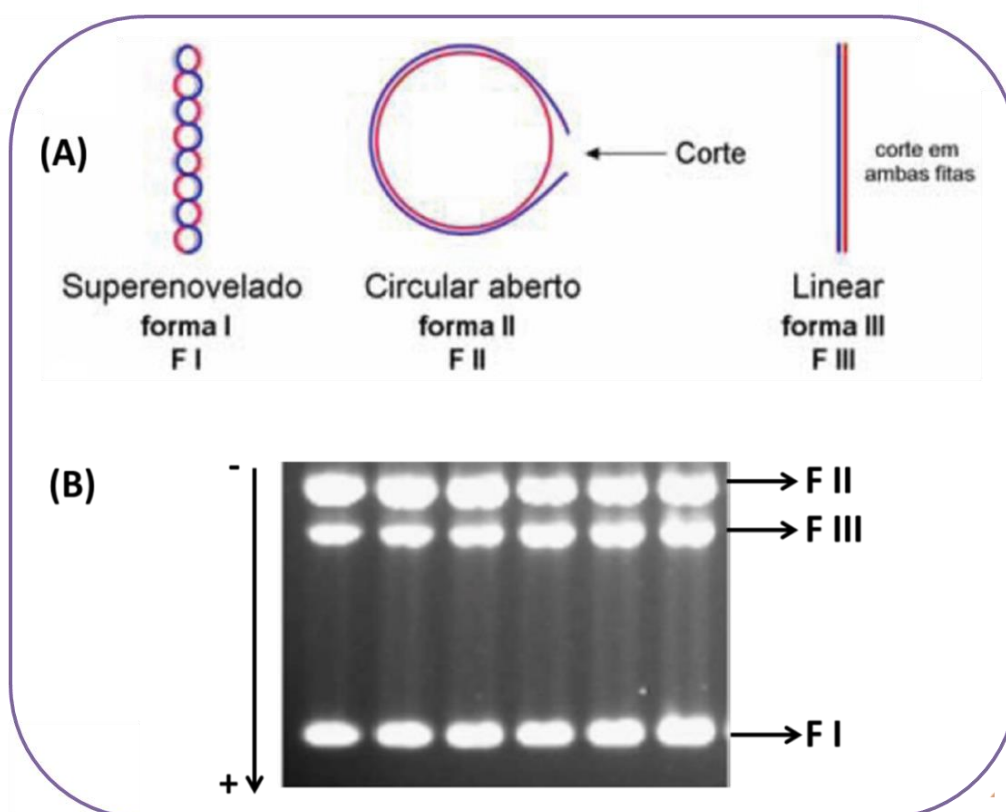
Na busca de se desenvolver novos complexos anticâncer e elucidar seu possível mecanismo de ação, faz-se necessário investigar possíveis alvos biológicos. A investigação de possível interação com o DNA foi realizada, nesse estudo, por eletroforese em gel de agarose.

As fitas do DNA plasmidial utilizado encontram-se altamente tensionada, mantendo-se na forma de fita dupla superenovelada (FI) (Figura 39-A). Todavia, quando o plasmídeo superenovelado sofre uma ou mais quebras em uma das fitas há um relaxamento em sua estrutura “super helicoidal” convertendo o plasmídeo para sua forma circular relaxada (FII). No entanto, caso ocorra uma quebra dupla ou duas quebras simples nas duas fitas o plasmídeo assume uma forma linear (FIII) (Figura 39-A).<sup>76</sup> A identificação dessas formas pode ser feita através da aplicação da técnica de eletroforese em gel conforme apresentado na figura abaixo



(Figura 39-B), devido apresentar diferente mobilidade eletroforética. Adicionalmente, a interação de compostos ao DNA pode provocar mudanças de migração eletroforética mesmo sem que ocorra clivagem, tal como observado para interação do complexo cis-platina com DNA.

**Figura 39.** Ilustração das três formas do DNA plasmidial (A) e suas diferenças após eletroforese em gel de agarose (B).



Fonte: Adaptada da referência<sup>77</sup>.

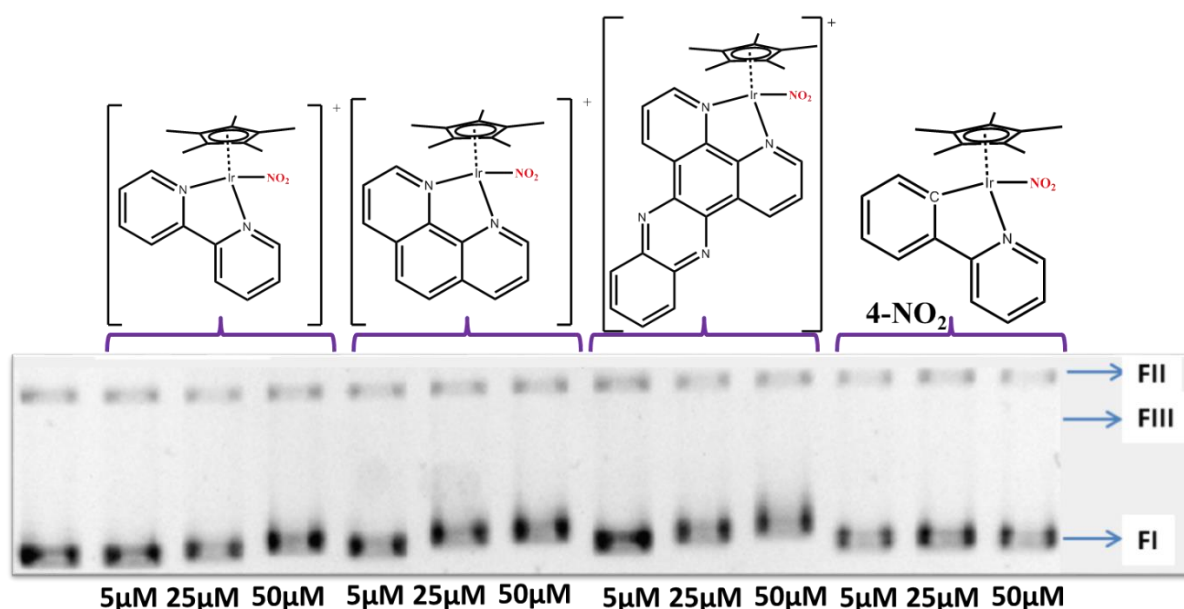
#### 4.3.1 Efeito da concentração

Para verificar os efeitos frente ao DNA dos complexos coordenados ao nitrito em diferentes concentrações, foram preparadas misturas do DNA plasmidial com concentrações crescentes dos complexos 1-NO<sub>2</sub>, 2-NO<sub>2</sub>, 3-NO<sub>2</sub> e 4-NO<sub>2</sub>, que variaram de 5, 25 e 50 μM, em incubação por 90 minutos com DNA sem irradiação de luz (Figura 40).

Nessas condições foi observado que o DNA controle apresentava a forma I (FI) convertida na forma II (FII) em cerca de 18%, logo esse valor foi usado como referência de

conversão zero, e qualquer valor acima deste será considerado a ação do complexo. Na ausência de luz, não houve indícios de clivagem, mas pode-se observar interessantes alterações nos padrões migratório que sugerem possível interação com o DNA. Esse comportamento é particularmente observado nos complexos 2-NO<sub>2</sub> e 3-NO<sub>2</sub>, empregando-se pelo menos 25μM, o que é sugerido pelo retardamento migracional do DNA a fita I, na forma superovelada teve um retardamento consistente com redução de sua carga ao se associar ao complexo positivamente carregado.

**Figura 40.** Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se DNA plasmidial (3,5 ng/μL) e os complexos 1-NO<sub>2</sub>, 2-NO<sub>2</sub>, 3-NO<sub>2</sub> e 4-NO<sub>2</sub> em diferentes concentrações (5, 25 e 50μM) no escuro incubados por 90min.

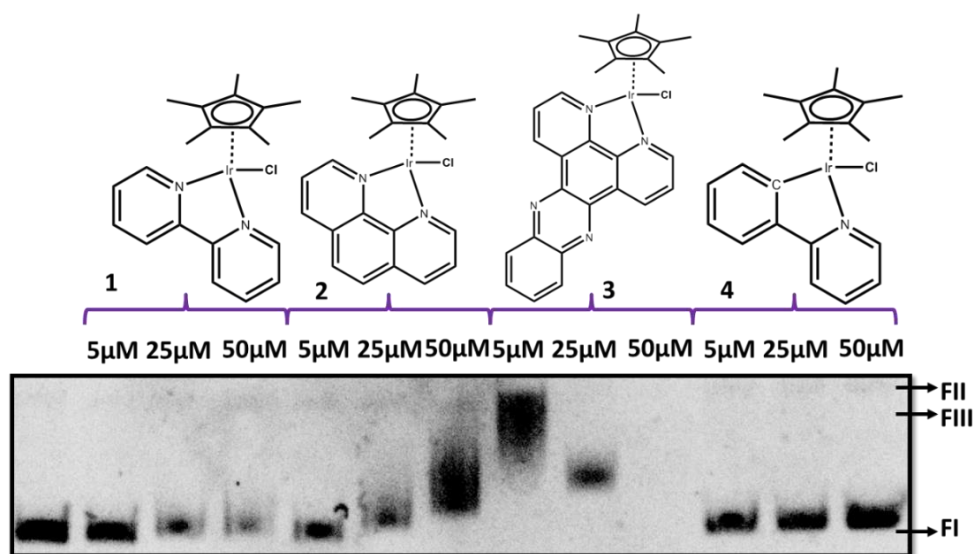


Fonte: Elaborado pela autora.

Para efeito de comparação, foi feito o mesmo experimento com os complexos precursores (Figura 41). Na figura 41, pode-se observar os precursores de 1 a 4 nas mesmas concentrações usadas anteriormente para os complexos em estudo, sendo que não há evidências significativas de que os precursores 1 e 4 clivam ou interagem diretamente com o DNA, sendo observado apenas um pequeno deslocamento no perfil migratório e descoloração que foi atribuído a uma interferência com o corante, enquanto os precursores 2 e 3 apresentam evidência de atividade frente ao DNA. O precursor 2 contendo fenantrolina aparentemente segue um perfil de modificação do DNA, provocando retardamento de sua migração, com perfil consistente com a concentração, tendo certa similaridade com o complexo formado com o nitrito. Aparentemente o precursor causou maior retardo migracional, talvez devido a

hidrólise mais facilitada do precursor que provocaria o aumento de carga do complexo e sua disponibilidade para interação, inclusive por coordenação às bases nitrogenadas do DNA. Com relação ao precursor 3 com dppz, o comportamento em baixas concentrações parece ser inicialmente de interação seguida de degradação, todavia não podemos excluir a possibilidade do complexo ligado ao DNA provocar certa supressão no sinal do brometo de etídio usado como agente de detecção. O resultado do gel sugere que a 50 $\mu$ M não se observa mais DNA, o que pode ter sido completamente degradado, mas que requer confirmação com outras técnicas. Curiosamente, o complexo com nitrito apresenta um comportamento bem mais moderado, aparentemente pequena interação com DNA, mesmo a 50 $\mu$ M, evidenciado pelo retardamento da migração do DNA. Pode-se sugerir que a hidrólise deste precursor facilite sua interação e inclusive possível atividade nucleas.

**Figura 41.** Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se DNA plasmidial (3,5 ng/ $\mu$ L) e os complexos 1, 2, 3 e 4 em diferentes concentrações (5, 25 e 50 $\mu$ M) no escuro incubados por 90min.



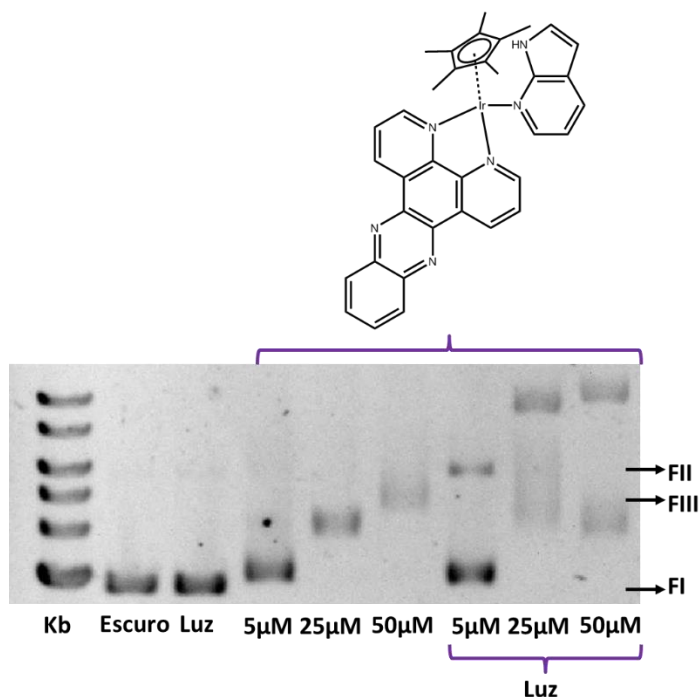
Fonte: Elaborada pela autora.

#### 4.3.2 Influência da Irradiação de Luz.

Foram realizados estudos a fim de investigar a influência da irradiação de luz na interação e possível degradação de DNA. Para isso, utilizou-se uma placa de 96 poços contendo LEDs de 3W com comprimento de onda de 390 nm em cada poço. Nesse experimento, empregaram-se amostras controle apropriadas, inclusive de DNA sem complexo

submetido a 30 minutos de irradiação. No comprimento de onda utilizado, o DNA controle se mostrou inalterado e semelhante ao controle no escuro (Figura 42). Para o complexo 3-ain, observou-se evidentes diferenças entre amostras irradiadas e as mantidas no escuro (Figura 42). Analisando o gel na figura 42 se observa ainda sem irradiação houve uma expressiva alteração na migração da fita I sem que fosse possível identificar surgimento de fita II, descartando clivagem de DNA, comportamento esse similar ao observado anteriormente para o complexo de dppz coordenado ao nitrito, sugerindo modificação direta do DNA. Convém reforçar que nesse caso a presença do ligante 7-azaindol proporcionou uma mais intensa alteração na migração do DNA, o que poderia também ser devido ao aumento de carga do complexo, que com nitrito tinha carga +1 e com 7-azaindol carga +2, apesar de que menor efeito do que o precursor. Curiosamente, sob irradiação houve a evidente formação de fita II do DNA plasmidial promovido pelo complexo na concentração de 5 $\mu$ M, que sob crescentes concentrações causaram ainda maiores distorções do padrão migracional do DNA, sugerindo a possível degradação e modificação do DNA. Não podemos eliminar a possibilidade que tais fitas sob retardamento sejam derivados de DNA linearizado ou mesmo em maior estágio de degradação hidrolítica. Quando comparado com os complexos análogos, precursor 3 e 3-NO<sub>2</sub> na mesma faixa de concentração, observa-se para o complexo 3-ain uma atividade frente ao DNA bem mais intensa do que o complexo 3-NO<sub>2</sub>, o que pode ser atribuído ao fato do complexo 3-ain possuir carga +2, o que fortalece a interação eletrostática com o DNA como previamente mencionado. Em relação ao precursor, 3, o complexo 3-ain apresentou semelhanças, ambos os complexos parecem interagir bem por intercalação, como esperado para compostos de dppz, apesar das diferenças de carga, todavia o complexo 3-ain promove claramente clivagem, enquanto o precursor não mostra tais indícios.

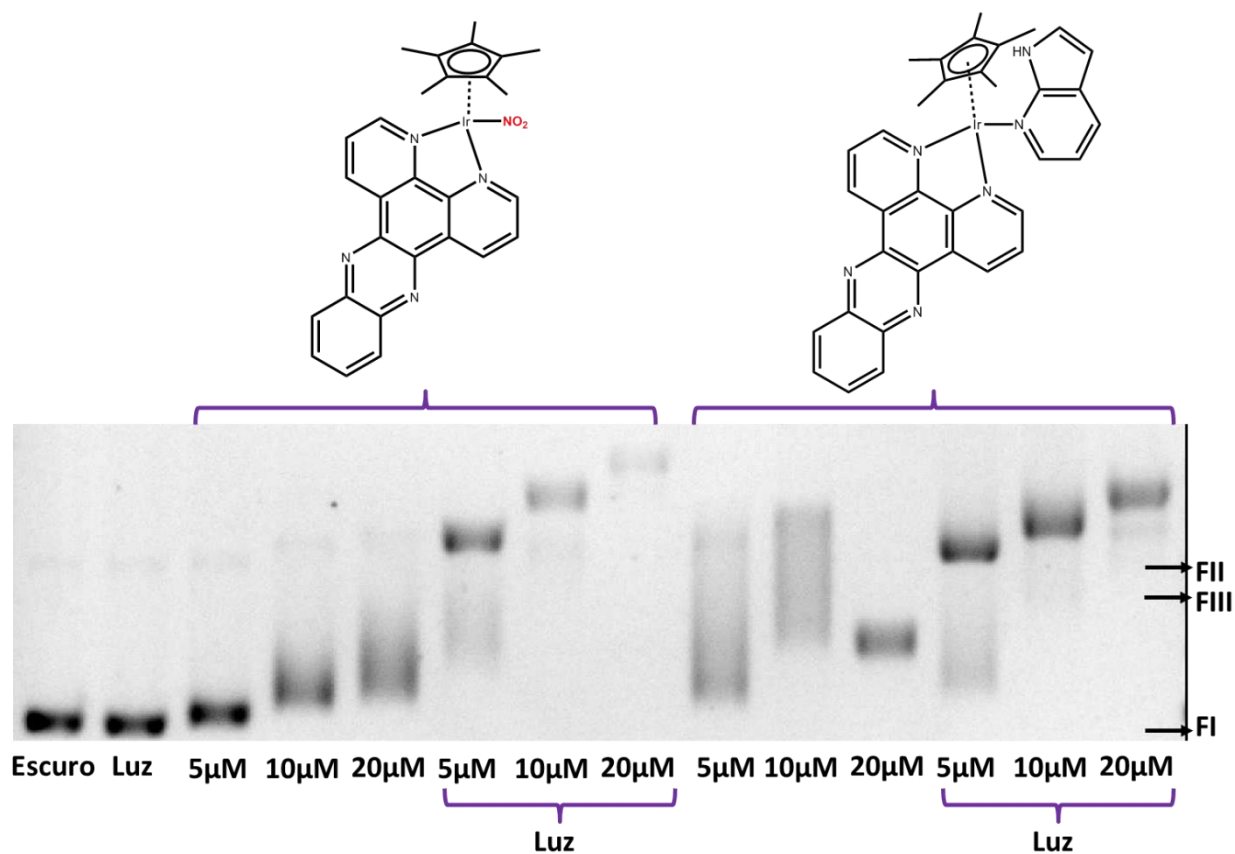
**Figura 42.** Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se DNA plasmidial (3,5 ng/ $\mu$ L) e o complexo 3-ain em diferentes concentrações (5, 25 e 50 $\mu$ M) no escuro 30min e sob irradiação de luz (390nm) também por 30min.



Fonte: Elaborado pela autora.

A influência da luz foi também investigada com o complexo 3-NO<sub>2</sub>, utilizando-se uma menor faixa de concentração (5, 10 e 20 $\mu$ M) comparativamente com o complexo 3-ain (Figura 43). Para ambos os complexos é notável que o efeito de irradiação seja favorável para interação dos complexos com o DNA, mesmo para a menor concentração empregada (5 $\mu$ M). Esta reatividade pode ser atribuída aos dois complexos contendo o ligante dppz possuírem bandas intraligantes no comprimento de onda próximo ao de irradiação, o que favoreceria fotolabilização, geração de radicais e fotoassociação ao DNA, o que não se observa nos dois complexos contendo bipyridina, 1-indz e 1-ain, que não apresentaram modificações quando irradiados nas mesmas condições (Figura 44).

**Figura 43.** Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se DNA plasmidial (3,5 ng/ $\mu$ L) e os complexos 3-NO<sub>2</sub> e 3-ain em diferentes concentrações (5, 10 e 15  $\mu$ M) no escuro 30min e sob irradiação de luz (390nm) também por 30min.



Fonte: Elaborado pela autora.

**Figura 44.** Estudo de interação e clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se DNA plasmidial (3,5 ng/ $\mu$ L) e os complexos 1-indz e 1-ain em diferentes concentrações (5, 25 e 50 $\mu$ M) sob irradiação de luz (390nm) por 30min e no escuro por 30min.



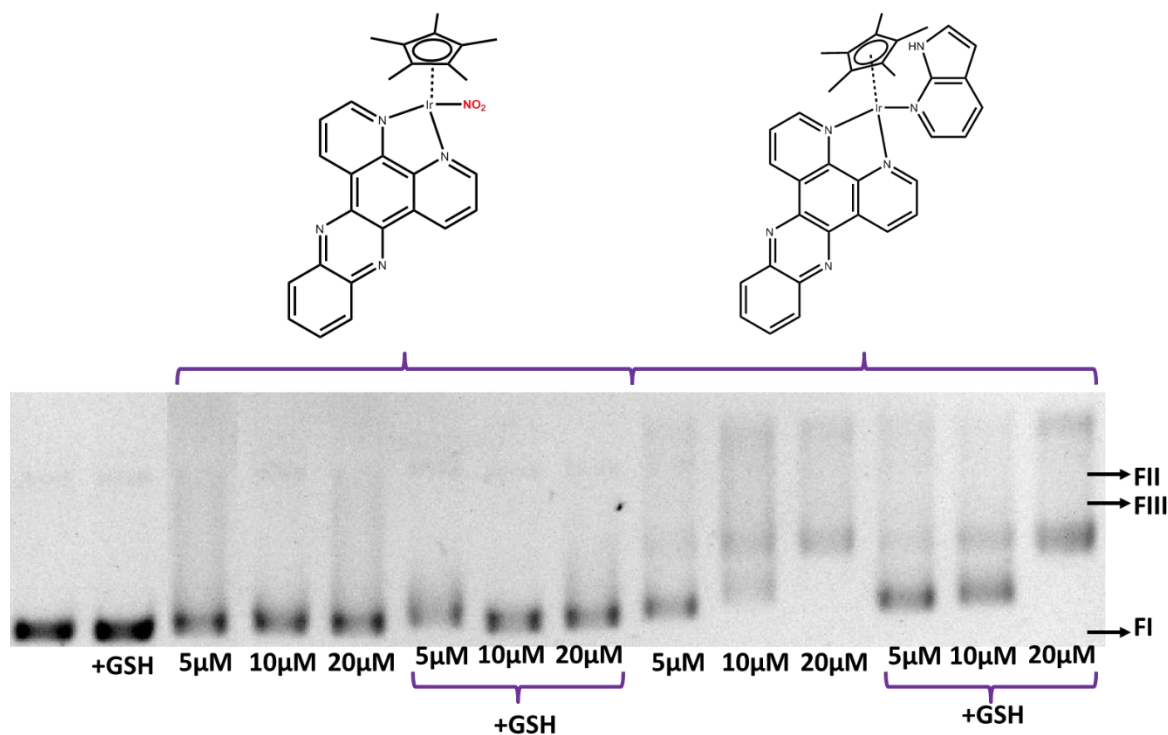
Fonte: Elaborada pela autora.

#### 4.3.3 Influência da Glutathiona

A glutathiona (GSH) está presente no citosol das células numa faixa de concentração de 0,1 - 10mM. O seu papel biológico é de auxiliar a proteção das células dos intermediários reativos de oxigênio, danos causados pela radiação UV, e metais pesados com características tóxicas, isso devido a sua facilidade em ser oxidada gerando a espécie dissulfeto (GSSH,  $E^0 = -0,246$  V vs NHE em tampão fosfato pH 7,4) e de se coordenar a metais *soft*, foi reportado que a glutathiona se mostrou fundamental na regulação de toxicidade da cisplatina.<sup>78,79</sup> Uma vez que todo fármaco, inevitavelmente ao entrar no citosol deverá estar exposto a glutathiona, buscou-se avaliar o comportamento do complexos frente a esse biotiol. Selecionou-se os complexos 3-NO<sub>2</sub> e 3-ain para tais estudos, pois são os complexos que apresentaram maior interação com o DNA.

Na figura 45, observa-se o perfil migracional do DNA empregado os complexos 3-ain e 3-NO<sub>2</sub>, na ausência e presença de 5mM de glutathiona previamente incubada por 30 minutos. Observa-se pouca (ou nenhuma) modificação no gel, para o complexo 3-ain há um aparente efeito, ainda que modesto.

**Figura 45.** Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se DNA plasmidial (3,5 ng/ $\mu$ L) e os complexos 3-NO<sub>2</sub> e 3-ain em diferentes concentrações (5, 10 e 20 $\mu$ M) na ausência e presença de GSH(5mM) durante 30min.



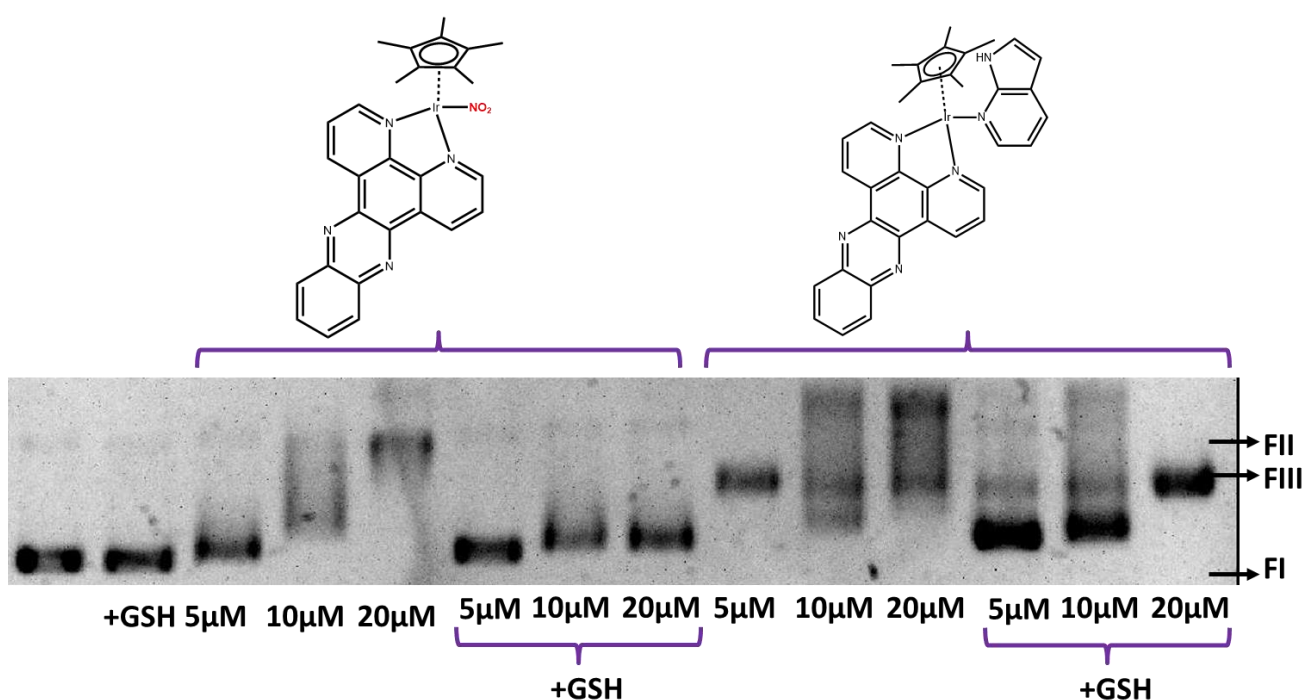
Fonte: Elaborado pelo autor.

Para não se descartar de imediato a ação da glutatona na atividade dos complexos repetiu-se o experimento com um maior tempo de incubação (2h). Pode-se observar que após as duas horas a presença da glutatona parece bloquear o efeito dos complexos no DNA (Figura 46). Complexos similares aos em estudo reportaram formação de adutos bastante estáveis com a glutatona o que poderia representar queda na atividade anticâncer como se é observado no caso da cisplatina, entretanto, esses adutos na presença da coenzima NADH causam oxidação da mesma para NAD<sup>+</sup>, logo, a queda de atividade nuclease observada pode não indicar uma queda em atividade anticancerígena pois há estudos sugerindo um mecanismo de ação com esses complexos desregulando o potencial redox da célula, não necessariamente envolvendo o DNA.<sup>80</sup> Não menos relevante, observa-se que com um adicional de 30 minutos quando comparado ao experimento retratado na figura 40, o complexo 3-NO<sub>2</sub> apresentou um aumento significativo em atividade nuclease, inclusive quase total conversão a fita II na concentração de 20 $\mu$ M o que sugere que a cinética de ligação com o DNA seja mais lenta para esse complexo, mas que a ligação ocorre. A cinética de reação também foi associada aos problemas encontrados na reprodutibilidade dos géis,



como a interação se mostrou sensível ao tempo faz-se necessário um tempo maior de incubação o que mostraria interações mais reprodutíveis e mais eficientes para efeito de comparação.

**Figura 46.** Estudo de Interação e Clivagem de DNA (F(I e II)) empregando-se DNA plasmidial (3,5 ng/μL) e os complexos 3-NO<sub>2</sub> e 3-ain em diferentes concentrações (5, 10 e 20μM) na ausência e presença de GSH(5mM) durante 120min.



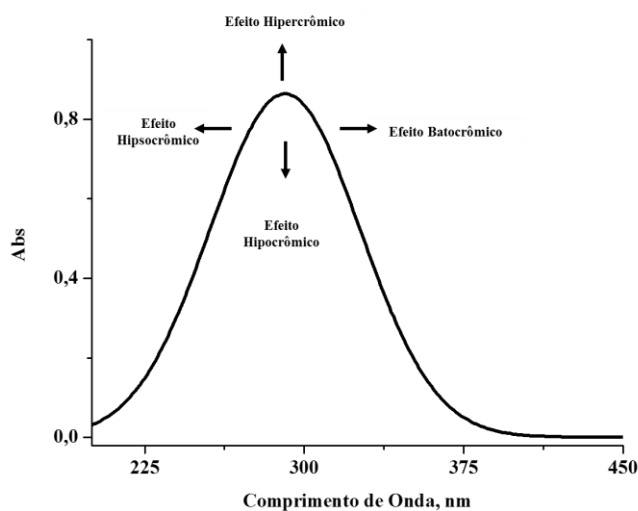
Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.4. Interação com DNA Genômico de Timo de Bezerro (*Calf thymus*)

##### 4.4.1 Titulação Espectrofotométrica no UV-Visível

Um método comum aplicado para investigar a interação com o DNA se baseia em avaliar as modificações observadas no espectro eletrônico na região do UV-vis para o complexo livre em solução e quando ligado ao DNA. As bandas de absorção do complexo geralmente sofrem efeito batocrômico ou hipocrômico quando ligados a dupla helix do DNA (Figura 47). Enquanto a origem do efeito hipocrômico é complexo, o efeito batocrômico (deslocamento para o vermelho) ocorre devido um acoplamento entre o sistema  $\pi$  das bases nitrogenadas e os ligantes aromáticos do complexo.<sup>81</sup>

**Figura 47.** Efeitos possíveis para absorção após ligação entre o complexo e o DNA.



Fonte: Elaborada pela autora.

Os dados da titulação evidenciaram efeito hipocrômico quando da adição de DNA, desta forma foi empregada a equação 1, descrita no método de Bard e Thorp<sup>82,83</sup> para calcular as constantes de ligação com o DNA ( $K_b$ ) para os complexos 3, 3-NO<sub>2</sub> e 3-ain.

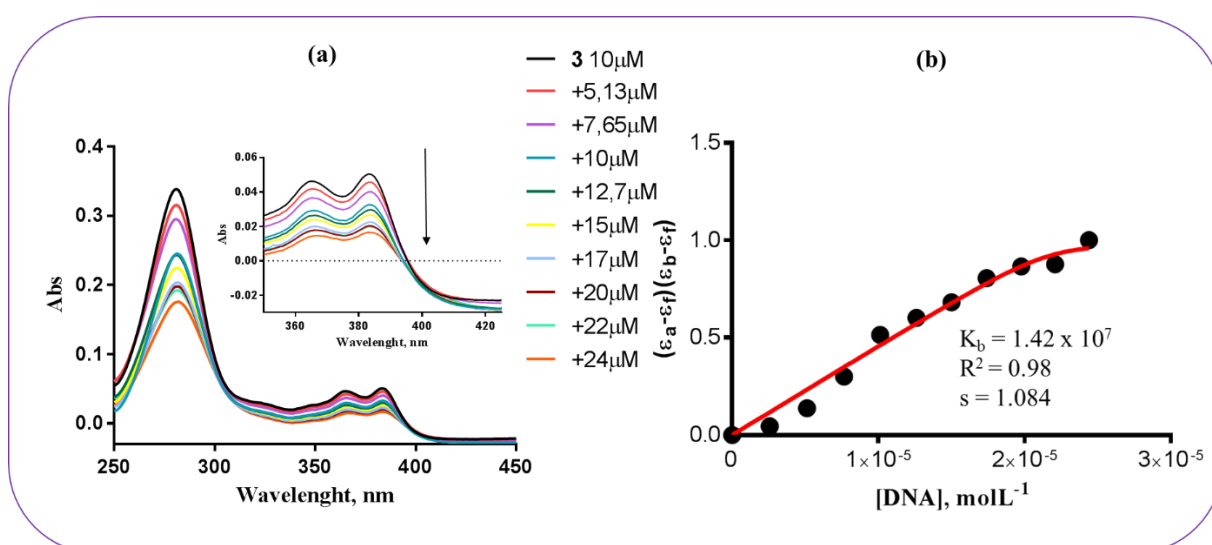
$$(1) \quad (\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f) = (b - \{b^2 - K_b^2 C_t [DNA] / s\}^{1/2}) / 2K_b C_t$$

Sendo que  $\epsilon_a$ ,  $\epsilon_f$  e  $\epsilon_b$  são os coeficientes de extinção para o complexo com uma quantidade aparente de DNA, sem DNA e totalmente ligado ao DNA respectivamente.  $C_t$  é a concentração total de complexo,  $s$  é o tamanho do sítio de ligação e  $b = 1 + K_b C_t + K_b [DNA] / 2s$ .

A figura 48 apresenta os espectros eletrônicos durante a titulação com DNA, bem como o tratamento de dados na forma do gráfico de  $(\epsilon_a - \epsilon_f) / (\epsilon_b - \epsilon_f)$  versus  $[DNA]$ , de forma a fazer ajuste por mínimos quadrados, calculando o valor de  $K_b$  de  $1,42 \times 10^7 M^{-1}$  para o complexo 3. Estudo similar foi realizado para o complexo 3-NO<sub>2</sub> cujo valor encontrado para a constante de ligação ao DNA foi de  $3,13 \times 10^8 M^{-1}$  (Figura 49), ou seja, quase 30 vezes maior que o do precursor. A substituição do ligante cloro pelo ligante nitrito parece formar um aduto mais estável com o DNA o que foi atribuído ao uso de um tampão contendo 100mM de NaCl o que seria suficiente para suprimir a hidrólise do complexo 3, sugerindo que a etapa de hidrólise é bastante importante para ligação com o DNA e o complexo 3-NO<sub>2</sub> mostrou com

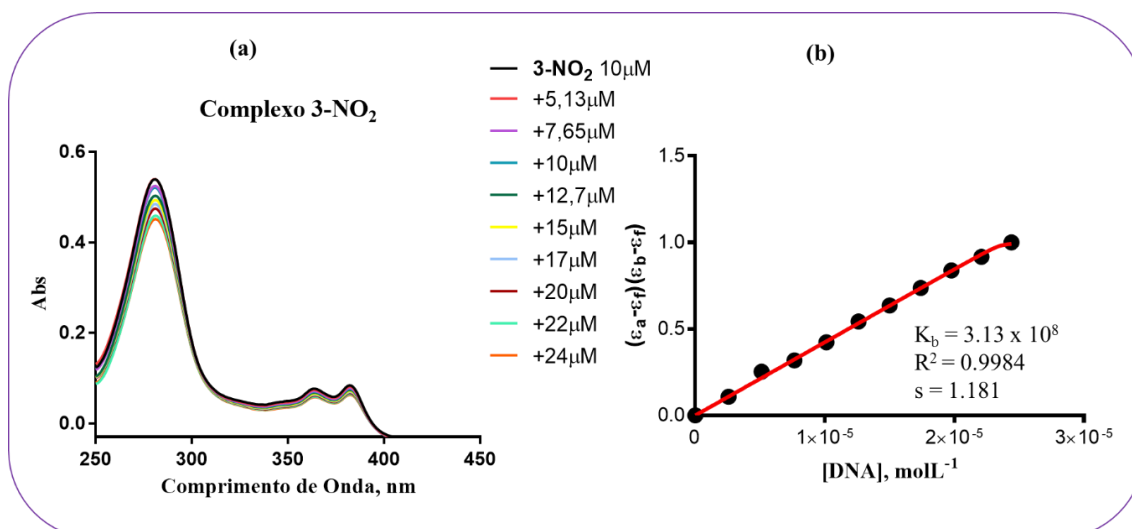
incubação em maior tempo uma maior atividade nucleasse nos experimentos de eletroforese (Figura 46). Entretanto, a substituição com o ligante 7-azaindol diminuiu a constante de ligação,  $K_b = 5,48 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$  (Figura 50), o que pode ser atribuído ao complexo 3-ain ser estericamente blindado quando comparado aos outros dois complexos.

**Figura 48.** Medição da interação com DNA por espectroscopia eletrônica (a) Titulação para o complexo 3, com sucessivas adições de CT DNA em tampão TRIS-HCl 50mM + NaCl 100mM pH8. (b) Gráfico com ajuste dos dados experimentais a equação 1 para medição da constante de associação para o complexo 3.



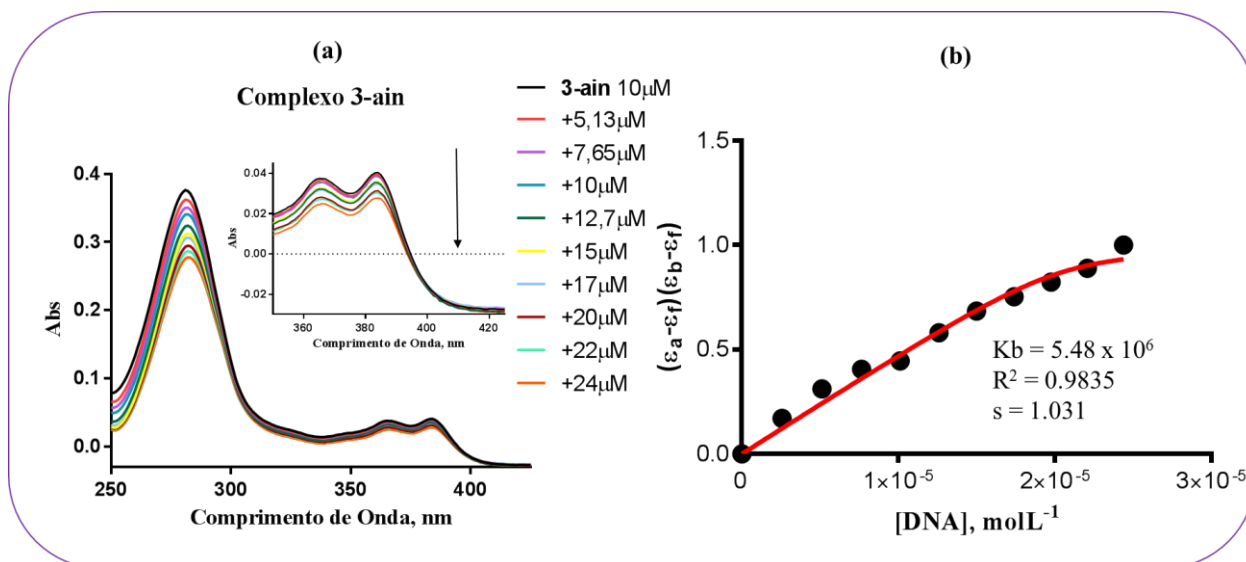
Fonte: Elaborado pela autora.

**Figura 49.** Medição da interação com DNA por espectroscopia eletrônica (a) Titulação para o complexo 3-NO<sub>2</sub>, com sucessivas adições de CT DNA em tampão TRIS-HCl 50mM + NaCl 100mM pH8. (b) Gráfico com ajuste dos dados experimentais a equação 1 para medição da constante de associação para o complexo 3-NO<sub>2</sub>.



Fonte: Elaborado pela autora.

**Figura 50.** Medição da interação com DNA por espectroscopia eletrônica (a) Titulação para o complexo 3-ain, com sucessivas adições de CT DNA em tampão TRIS-HCl 50mM + NaCl 100mM pH8. (b) Gráfico com ajuste dos dados experimentais a equação 1 para medição da constante de associação para o complexo 3-ain.



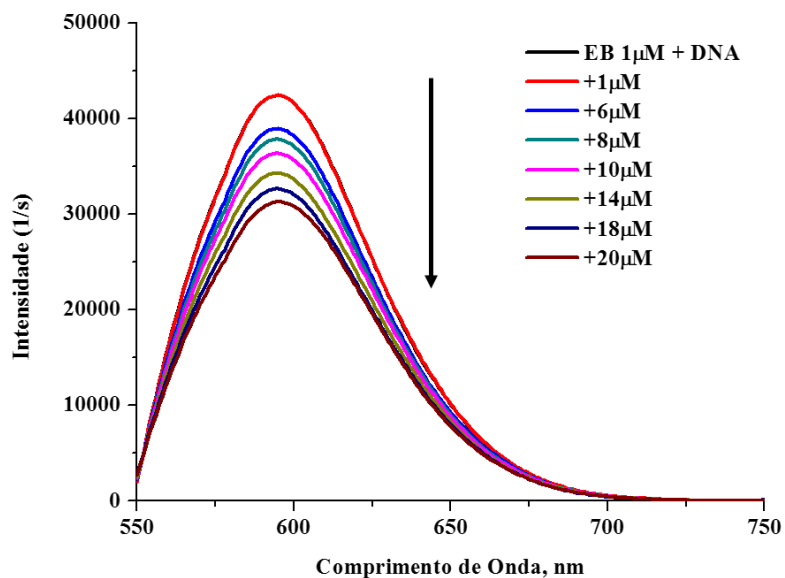
Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.4.2 Titulação Fluorimétrica em Competição com Brometo de Etídio

O brometo de etídio (EB) é uma molécula conhecida por ser capaz de interagir com o DNA por intercalação, ou seja, se dispor entre os pares de bases nitrogenadas do DNA.<sup>84</sup> Além disso essa molécula possui uma propriedade de *light switch*, pois, normalmente em solução aquosa, não possui fluorescência significativa mas quando ligado ao DNA apresenta forte fluorescência, tornando-o um excelente *probe* para DNA. Esse fenômeno ocorre devido ao microambiente do DNA ser significativamente hidrofóbico e não permitir que, uma vez que tenha havido intercalação, moléculas de solvente interfiram nos estados excitados da molécula, evitando rotas de desativação radiativas.<sup>81</sup>

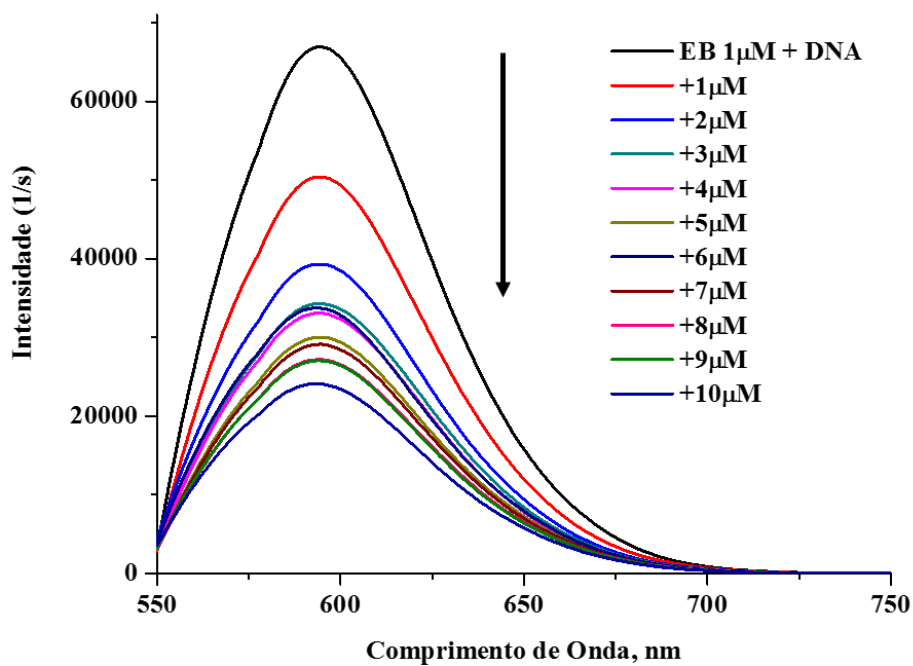
Caso se disponha de um complexo também intercalante, esse complexo poderá competir com o brometo de etídio (EB) pela interação com o DNA, assim diminuindo a intensidade da fluorescência do brometo de etídio ao passo que mais do composto seja adicionado. Esse comportamento foi observado com a adição do complexo 3-NO<sub>2</sub> (Figura 51) e 3-ain (Figura 52) a uma mistura contendo EB/DNA.

**Figura 51.** Titulação espectrofluorimétrica de brometo de etídio 1  $\mu\text{M}$  associado ao DNA 20  $\mu\text{M}$  com sucessivas adições do complexo 3-NO<sub>2</sub> em tampão TRIS-HCl 50mM + 150mM NaCl pH8.  $\lambda_{\text{excitação}} = 540\text{nm}$ . Fenda: 1mm.



Fonte: Elaborado pela autora.

**Figura 52.** Titulação espectrofluorimétrica de brometo de etídio 1  $\mu\text{M}$  associado ao DNA 20  $\mu\text{M}$  com sucessivas adições do complexo 3-ain em tampão TRIS-HCl 50mM + 150mM NaCl pH8.  $\lambda_{\text{excitação}} = 540\text{nm}$ . Fenda: 1mm.



Fonte: Elaborado pela autora.

A supressão da fluorescência do brometo de etídio ligado ao DNA pelos complexos foram analisadas empregando-se a equação linear de Stern-Volmer<sup>85</sup> (equação 2) (Figura 53)

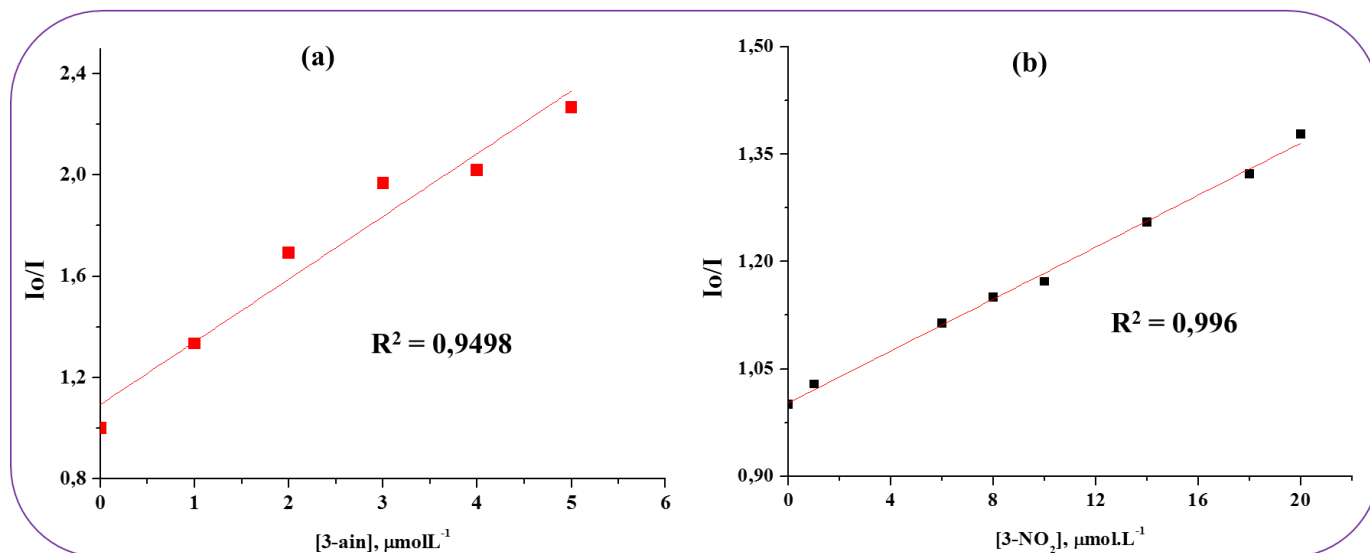
$$(2) I_0 / I = 1+k[Q]$$

Sendo que  $I_0$  e  $I$  são a intensidade de emissão sem e com supressor, respectivamente,  $k$  é a constante de supressão de Stern-Volmer, e  $[Q]$  é a concentração do supressor. Os valores de  $k = 0,247 \pm 0,02$  e  $0,0181 \pm 0,0004$  para os complexos 3-ain e 3-NO<sub>2</sub>, respectivamente, apontam uma elevada capacidade intercalante para o complexo 3-ain.<sup>86</sup> A constante aparente de ligação também foi calculada pela equação 3.

$$(3) K_{EB}[EB] = K_{app}[\text{Complexo}]$$

Sendo que  $K_{EB} = 1,0 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ,<sup>87</sup>  $[EB]=1 \mu\text{M}$  e  $[\text{complexo}]$  foi a concentração que causou 50% de supressão da fluorescência inicial do brometo de etídio.  $K_{app} = 2,85 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$  foi calculado para o complexo 3-ain, todavia, não foi possível calcular para o complexo 3-NO<sub>2</sub>, uma vez que mesmo com excesso de 20 vezes não se alcançou 50% de supressão, sugerindo que o complexo 3-NO<sub>2</sub> tenha menor ligação ao DNA, em consistência com os dados de eletroforese em agarose. Esse resultado também não exclui a possibilidade deste complexo formar um aduto forte com o CT DNA e que sua interação não seja exclusivamente por intercalação.

**Figura 53.** Análise da competição dos complexos 3-ain e 3-NO<sub>2</sub> frente ao brometo de etídio intercalado ao DNA empregando tratamento Stern-Volmer.



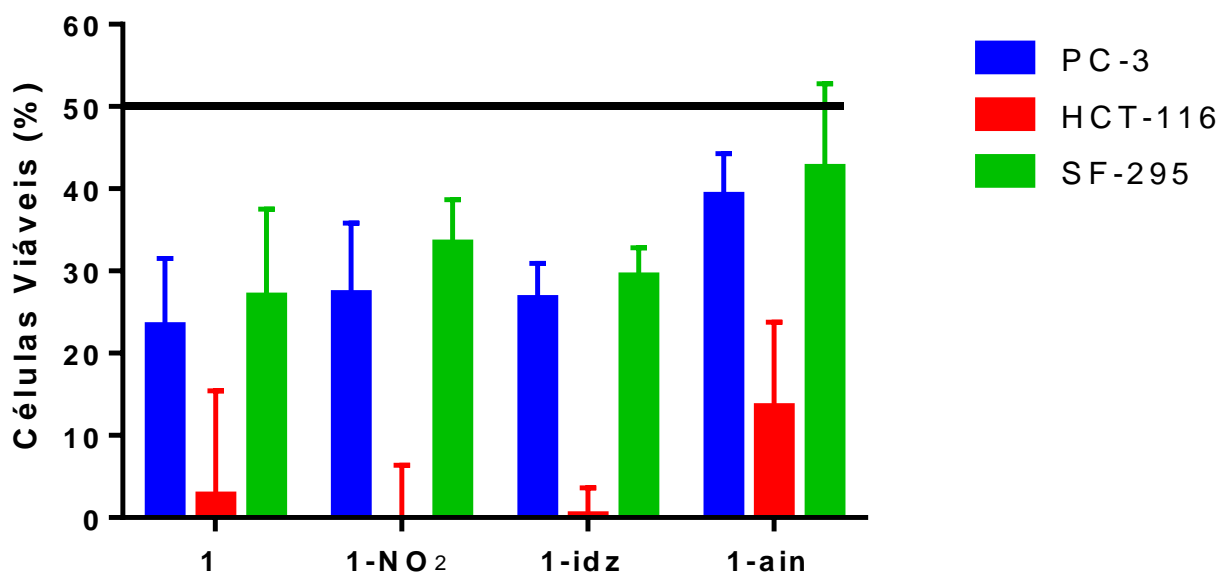
Fonte: Elaborado pela autora.

#### 4.5 Screening Anticâncer

Com o objetivo de avaliar a possível aplicação dos complexos sintetizados como agentes anticancerígenos foi feito um *screening* inicial para verificar o nível de citotoxicidade *in vitro* usando 3 linhagens cancerígenas, HCT-116 (côlon), PC-3 (próstata) e SF-295 (glioblastoma). O screening foi realizado inicialmente em concentração única de 5 μg/mL para a maioria dos complexos e seus precursores. Na figura 59, encontra-se o gráfico do percentual de inibição de crescimento celular dos complexos com bipyridina (1, 1-NO<sub>2</sub>, 1-indz e 1-ain) frente às linhagens celulares. Com exceção do complexo 1-ain que foi o melhor da série, nenhum dos outros complexos parecem apresentar uma atividade citotóxica melhorada quando comparados ao complexo precursor 1 na concentração de 9,0 μM, todavia, deve-se lembrar que o ensaio em concentração única é realizado usando valor fixo de massa e não de mol, e que os complexos modificados possuem massas molares superiores ao precursor logo, a concentração em mol, será menor. Assim os complexos 1-indz e 1-ain estão em uma concentração de 5,6 μM e o complexo 1-NO<sub>2</sub> está em uma concentração de 7,4 μM. Estruturalmente, os complexos 1-indz e 1-ain são bastante similares, e as interações com DNA plasmidial acompanhado por eletroforese também mostraram poucas diferenças, o que

sugere que o complexo 1-ain possua um outro alvo molecular assim tornando-o significativamente mais ativo que o 1-indz.

**Figura 54.** Percentual de inibição do crescimento celular (potencial antiploriferativo) para os complexos 1 (9,0 $\mu$ M), 1-NO<sub>2</sub> (7,4 $\mu$ M), 1-indz (5,6 $\mu$ M) e 1-ain (5,6 $\mu$ M) frente às linhagens SF-295, PC-3 e HCT-116.

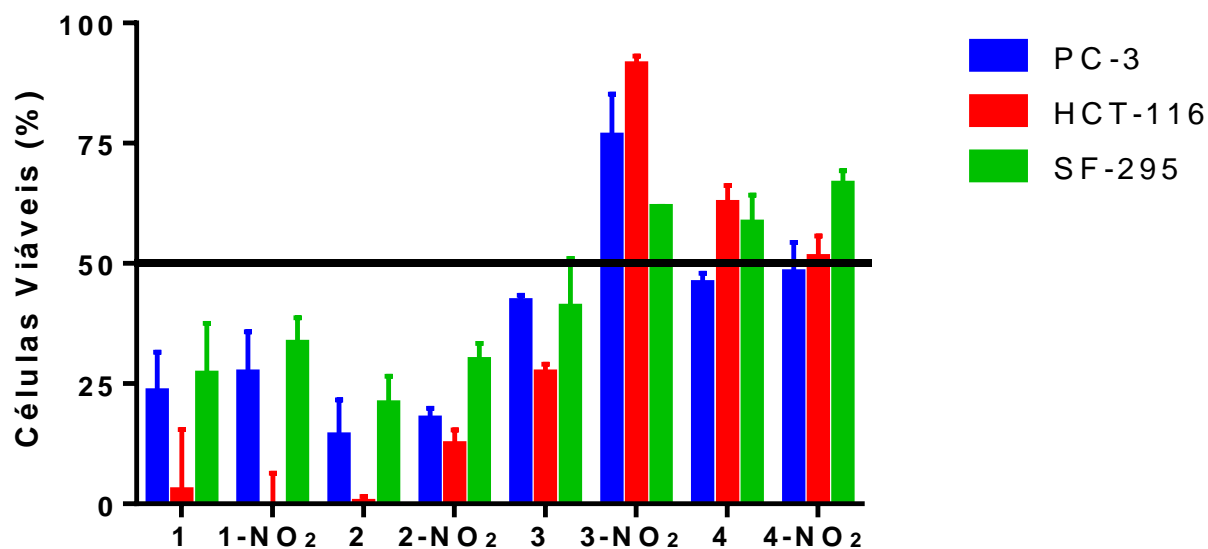


Fonte: Elaborado pela autora.

A figura 60 apresenta um gráfico de barras comparando atividade citotóxica entre os complexos coordenados ao ligante nitrito e seus precursores nas três linhagens. O complexo 3-NO<sub>2</sub> apresentou a maior atividade antiploriferativa em todas as linhagens celulares e quase o dobro de atividade quando comparado ao seu, já ativo, precursor o que poderia ser atribuído a sua elevada constante de ligação com o DNA por apresentar o intercalador dppz. Não menos relevante observa-se que o complexo 3-NO<sub>2</sub> apresentou significativo incremento de atividade comparativamente com o precursor 3, em todas as linhagens e essa atividade ainda pode oferecer maior seletividade com aplicação de irradiação de luz, ainda não investigado em ensaios com células. Na verdade, a maioria dos complexos de nitrito descritos ou tiveram suas citotoxicidades inalteradas ou reduzidas quando comparados ao precursor com cloreto.



**Figura 55.** Percentual de inibição do crescimento celular (potencial antiploriferativo) para os complexos 1, 1-NO<sub>2</sub>, 2, 2-NO<sub>2</sub>, 3, 3-NO<sub>2</sub>, 4 e 4-NO<sub>2</sub>, frente às linhagens SF-295, PC-3 e HCT-116.



Fonte: Elaborado pela autora.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Os resultados de caracterização por infravermelho, UV-visível, espectrometria de massa e ressonância magnética nuclear de hidrogênio, apontam para a formação dos 9 complexos propostos, apesar do complexo 2-ain não ter sido obtido na pureza desejada para testes farmacológicos. Os ensaios de clivagem e interação com o DNA se mostraram promissores principalmente para o complexo 3-ain que mostrou maior indício de interação, o que pode ser atribuído a presença do ligante dppz que se trata de um intercalador bem descrito na literatura. Apesar do complexo 3-NO<sub>2</sub> ter apresentado a melhor atividade antiploriferativa a coordenação do nitrito se mostrou interessante apenas para o complexo com dppz, não sendo satisfatória para os outros quelante, provocando redução de citotoxicidade. A coordenação do ligante 7-azaindol parece aumentar a citotoxicidade de forma mais satisfatória apesar de não ter sido possível identificar o alvo molecular, possivelmente não seria o DNA. Desta forma, dentre os 9 complexos descritos, o que se mostrou mais promissor seria o complexo 3-ain com atividade nuclease comparável ao seu já ativo precursor 3. A introdução do ligante 7-azaindol pode permitir uma atividade sinérgica com um segundo alvo molecular. Não menos relevante seria a atividade nuclease dos complexos com dppz, que podem ser intensificadas com irradiação de luz ultravioleta branda (390nm).

Estudo posterior da cinética dessa interação com DNA por eletroforese merecem ser explorados, uma vez que todos os complexos mostraram indícios de interação quando incubados por um tempo mais longo, indicando que se está longe do equilíbrio durante as medidas feitas por eletroforese. Convém realizar uma investigação com intervalos mais longos de tempo de incubação, que poderia revelar quanto esse valor pode ser otimizado. Existem outros fatores fisiológicos que podem interferir com a interação dos complexos com o DNA, como é o caso da concentração de íons tais como Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>, por exemplo, que pareceu dificultar a interação do precursor 3 com o DNA. Tendo sido preliminarmente investigado o efeito da glutatona, que nas condições de estudo mostraram inibir interações com o DNA, provavelmente por formação do aduto com GSH.

Investigar a seletividade e atividade destes compostos frente a outras linhagens de células cancerígenas e realizar comparação com linhagens de células sadias para verificar se os compostos são citotóxicos em células cancerígenas seletivamente. A investigação do alvo molecular para os complexos coordenados ao ligante 7-azaindol também é de bastante importância para dar passos na investigação do mecanismo de atividade.

## REFERÊNCIAS

- 1 KOSTOVA, I. Ruthenium Complexes as Anticancer Agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 9, p. 1085-1107, 2006.
- 2 VINAY KUMAR, A. K. A., NELSON FAUSTO, JON ASTER. **Robbins & Contran Pathologic Basis of Disease**. 8. Elsevier Health Sciences, 2009. ISBN 978-1-4160-3121-5.
- 3 OMS. Cancer: Fact sheet N°297. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>, 2015. Acesso em: 04/01/2016.
- 4 (INCA), I. N. D. C. J. A. G. D. S. Estimativa 2016. <http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2015/estimativa-2016.asp>, 2015. Acesso em: 21/01/2016.
- 5 P.W. ATKINS, T. L. O., J.P. ROURKE, M.T. WELLER,; ARMSTRONG, F. A. **Inorganic Chemistry**. 5. Great Britain: Oxford University Press, 2010. ISBN 978-1-42-921820-7.
- 6 FRICKER, S. P. Metal based drugs: from serendipity to design. **Dalton Trans**, n. 43, p. 4903-17, 2007.
- 7 MEGGERS, E. Exploring biologically relevant chemical space with metal complexes. **Curr Opin Chem Biol**, v. 11, n. 3, p. 287-92, 2007.
- 8 NOFFKE, A. L. et al. Designing organometallic compounds for catalysis and therapy. **Chem Commun (Camb)**, v. 48, n. 43, p. 5219-46, 2012.
- 9 COHEN, S. M. New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry. **Curr Opin Chem Biol**, v. 11, n. 2, p. 115-20, 2007.
- 10 REEDIJK, J. Metal-Ligand Exchange Kinetics in Platinum and Ruthenium Complexes. **Platinum Metals Review**, v. 52, n. 1, p. 2-11, 2008.
- 11 ENZO ALESSIO, B. S. P. et al. Ruthenium Antimetastatic Agents. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 4, n. 15, p. 1525-1535, 2004.
- 12 SAVA, G. et al. Na[trans-RuCl<sub>4</sub>(DMSO)Im], a metal complex of ruthenium with antimetastatic properties. **Clinical & Experimental Metastasis**, v. 10, n. 4, 1992.
- 13 BERGAMO, A. et al. Approaching tumour therapy beyond platinum drugs: status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. **J Inorg Biochem**, v. 106, n. 1, p. 90-9, 2012.
- 14 HARTINGER, C. G. et al. From bench to bedside--preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-

- indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A). **J Inorg Biochem**, v. 100, n. 5-6, p. 891-904, 2006.
- 15 DICKSON, N. R. et al. A phase I dose-escalation study of NKP-1339 in patients with advanced solid tumors refractory to treatment. **Journal of Clinical Oncology**, v. 29, n. no. suppl, p. 2607, 2011.
- 16 CLARKE, M. J.; ZHU, F.; FRASCA, D. R. Non-Platinum Chemotherapeutic Metallopharmaceuticals. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 9, p. 2511-2534, 1999.
- 17 BERNERS-PRICE, S. J. et al. Structural and solution chemistry of gold(I) and silver(I) complexes of bidentate pyridyl phosphines: selective antitumour agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 185-186, p. 823-836, 1999.
- 18 MICHAEL A. JAKUPEC, B. S. P.; BERNHARD K. KEPPLER, B. S. P. Gallium in Cancer Treatment. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 4, n. 15, p. 1575-1583, 2004.
- 19 HALPERN, J. Organometallic chemistry at the threshold of a new millennium. Retrospect and prospect. **Pure and Applied Chemistry**, v. 73, n. 2, 2001.
- 20 MIESSLER, G. L.; TARR, D. A. **Inorganic Chemistry**. 4th. Glenview: Pearson Prentice Hall, 2010. ISBN 978-0136128663.
- 21 MEGGERS, E. Targeting proteins with metal complexes. **Chem Commun (Camb)**, n. 9, p. 1001-10, 2009.
- 22 AIRD, R. E. et al. In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer. **Br J Cancer**, v. 86, n. 10, p. 1652-7, 2002.
- 23 MORRIS, R. E. et al. Inhibition of Cancer Cell Growth by Ruthenium(II) Arene Complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 22, p. 3616-3621, 2001.
- 24 PEACOCK, A. F. et al. Tuning the reactivity of osmium(II) and ruthenium(II) arene complexes under physiological conditions. **J Am Chem Soc**, v. 128, n. 5, p. 1739-48, 2006.
- 25 LIU, Z.; SADLER, P. J. Organoiridium complexes: anticancer agents and catalysts. **Acc Chem Res**, v. 47, n. 4, p. 1174-85, 2014.
- 26 BREWSTER, T. P. et al. An Iridium(IV) Species, [Cp\*Ir(NHC)Cl]<sup>+</sup>, Related to a Water-Oxidation Catalyst. **Organometallics**, v. 30, n. 5, p. 965-973, 2011.
- 27 HULL, J. F. et al. Reversible hydrogen storage using CO<sub>2</sub> and a proton-switchable iridium catalyst in aqueous media under mild temperatures and pressures. **Nat Chem**, v. 4, n. 5, p. 383-8, 2012.

- 28 LO, K. K.-W.; LI, S. P.-Y.; ZHANG, K. Y. Development of luminescent iridium(III) polypyridine complexes as chemical and biological probes. **New J. Chem.**, v. 35, n. 2, p. 265-287, 2011.
- 29 LEUNG, C.-H. et al. Bioactive iridium and rhodium complexes as therapeutic agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 11-12, p. 1764-1776, 2013.
- 30 GELDMACHER, Y.; OLESZAK, M.; SHELDRIK, W. S. Rhodium(III) and iridium(III) complexes as anticancer agents. **Inorganica Chimica Acta**, v. 393, p. 84-102, 2012.
- 31 LIGHTFOOT, A.; SCHNIDER, P.; PFALTZ, A. Enantioselective Hydrogenation of Olefins with Iridium-Phosphanodihydrooxazole Catalysts. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 37, n. 20, p. 2897-2899, 1998.
- 32 SAVINI, A. et al. Iridium(III) molecular catalysts for water oxidation: the simpler the faster. **Chem Commun (Camb)**, v. 46, n. 48, p. 9218-9, 2010.
- 33 BLAKEMORE, J. D. et al. Anodic deposition of a robust iridium-based water-oxidation catalyst from organometallic precursors. **Chem. Sci.**, v. 2, n. 1, p. 94-98, 2011.
- 34 GIRALDI, T. et al. Antitumour action of rhodium (I) and iridium (I) complexes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 22, n. 2-3, p. 231-238, 1978.
- 35 SAVA, G. et al. Coordination metal complexes of Rh(I), Ir(I) and Ru(II): recent advances on antimetastatic activity on solid mouse tumors. **Inorganica Chimica Acta**, v. 137, n. 1-2, p. 69-71, 1987.
- 36 SCHÄFER, S.; SHELDRIK, W. S. Coligand tuning of the DNA binding properties of half-sandwich organometallic intercalators: Influence of polypyridyl (pp) and monodentate ligands (L=Cl, (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CS, (NMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CS) on the intercalation of (η<sup>5</sup>-pentamethylcyclopentadienyl)-iridium(III)-dipyridoquinoxaline and -dipyridophenazine complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 692, n. 6, p. 1300-1309, 2007.
- 37 SCHÄFER, S. et al. Influence of the Polypyridyl (pp) Ligand Size on the DNA Binding Properties, Cytotoxicity and Cellular Uptake of Organoruthenium(II) Complexes of the Type [(η<sup>6</sup>-C<sub>6</sub>Me<sub>6</sub>)Ru(L)(pp)]<sup>n+</sup> [L = Cl, n = 1; L = (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CS, n = 2]. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2007, n. 19, p. 3034-3046, 2007.
- 38 SARTORIUS, J.; SCHNEIDER, H.-J. Intercalation mechanisms with ds-DNA: binding modes and energy contributions with benzene, naphthalene, quinoline and indole derivatives including some antimalarials†. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n. 11, p. 2319-2328, 1997.
- 39 LIU, Z. et al. Organometallic Half-Sandwich Iridium Anticancer Complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 8, p. 3011-3026, 2011.

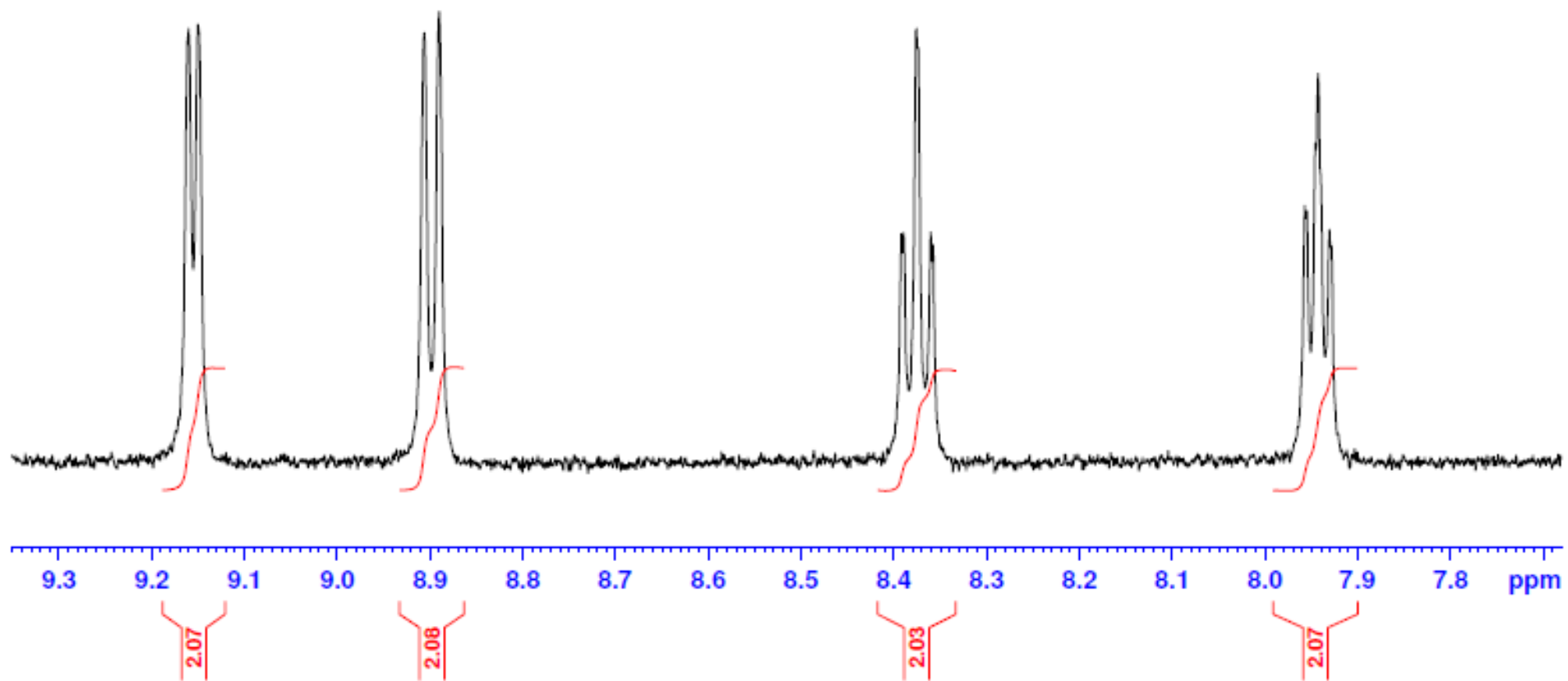
- 40 LIU, Z. et al. Contrasting reactivity and cancer cell cytotoxicity of isoelectronic organometallic iridium(III) complexes. **Inorg Chem**, v. 50, n. 12, p. 5777-83, 2011.
- 41 LIU, Z. et al. Organometallic Iridium(III) Cyclopentadienyl Anticancer Complexes Containing C,N-Chelating Ligands. **Organometallics**, v. 30, n. 17, p. 4702-4710, 2011.
- 42 RUIZ, J. et al. Novel C,N-chelate rhodium(III) and iridium(III) antitumor complexes incorporating a lipophilic steroidal conjugate and their interaction with DNA. **Dalton Trans**, v. 41, n. 41, p. 12847-56, 2012.
- 43 MILLETT, A. J. et al. Contrasting Anticancer Activity of Half-Sandwich Iridium(III) Complexes Bearing Functionally Diverse 2-Phenylpyridine Ligands. **Organometallics**, v. 34, n. 11, p. 2683-2694, 2015.
- 44 LIU, Z. et al. Potent Half-Sandwich Iridium(III) Anticancer Complexes Containing CN-Chelated and Pyridine Ligands. **Organometallics**, v. 33, n. 19, p. 5324-5333, 2014.
- 45 ALMODARES, Z. et al. Rhodium, iridium, and ruthenium half-sandwich picolinamide complexes as anticancer agents. **Inorg Chem**, v. 53, n. 2, p. 727-36, 2014.
- 46 ROMERO-CANELON, I.; SALASSA, L.; SADLER, P. J. The contrasting activity of iodido versus chlorido ruthenium and osmium arene azo- and imino-pyridine anticancer complexes: control of cell selectivity, cross-resistance, p53 dependence, and apoptosis pathway. **J Med Chem**, v. 56, n. 3, p. 1291-300, 2013.
- 47 HOSSEINI, S. M. et al. Radiation sensitization with sodium nitrite in patients with brain metastases: a pilot randomized controlled trial. **Med Oncol**, v. 32, n. 3, p. 46, 2015.
- 48 HAMELIN-MORRISSETTE, J. et al. Identification of an anti-inflammatory derivative with anti-cancer potential: The impact of each of its structural components on inflammatory responses in macrophages and bladder cancer cells. **Eur J Med Chem**, v. 96, p. 259-68, 2015.
- 49 MAIA, L. B.; MOURA, J. J. How biology handles nitrite. **Chem Rev**, v. 114, n. 10, p. 5273-357, 2014.
- 50 TEIXEIRA, F. C. et al. Synthesis and structural characterization of 1- and 2-substituted indazoles: ester and carboxylic acid derivatives. **Molecules**, v. 11, n. 11, p. 867-89, 2006.
- 51 WALKER, S. R. et al. Variolins and related alkaloids. **Chem Rev**, v. 109, n. 7, p. 3080-98, 2009.

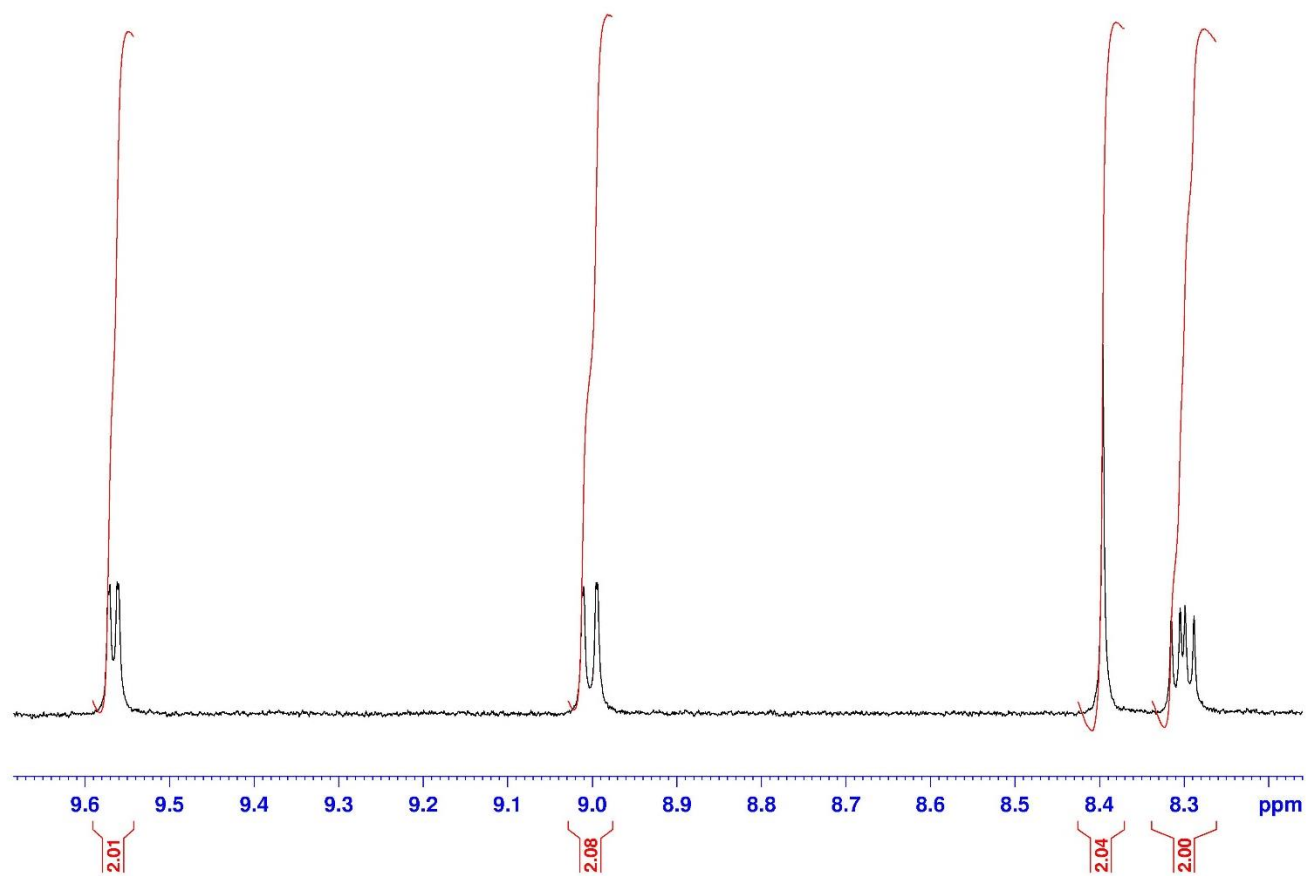
- 52 BALL, R. G. et al. Synthesis and structure of dicarbonylbis( $\eta^5$ -pentamethylcyclopentadienyl)diiridium. **Inorganic Chemistry**, v. 29, n. 10, p. 2023-2025, 1990.
- 53 KANG, J. W.; MOSELEY, K.; MAITLIS, P. M. Pentamethylcyclopentadienylrhodium and -iridium halides. I. Synthesis and properties. **Journal of the American Chemical Society**, v. 91, n. 22, p. 5970-5977, 1969.
- 54 YOUINOU, M.-T.; ZIESSEL, R. Synthesis and molecular structure of a new family of iridium(III) and rhodium(III) complexes:  $[(\eta^5\text{-Me}_5\text{C}_5)\text{Ir}(\text{LL})\text{X}]^+$  and  $[(\eta^5\text{-Me}_5\text{C}_5)\text{Rh}(\text{LL})\text{Cl}]^+$ ; LL = 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline; X = Cl or H. Single crystal structures of  $[(\eta^5\text{-Me}_5\text{C}_5)\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$  and  $[(\eta^5\text{-Me}_5\text{C}_5)\text{Rh}(\text{phen})\text{Cl}]\text{ClO}_4$ . **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 363, n. 1-2, p. 197-208, 1989.
- 55 LI, L.; BRENNESSEL, W. W.; JONES, W. D. An efficient low-temperature route to polycyclic isoquinoline salt synthesis via C-H activation with  $[\text{Cp}^*\text{MCl}_2]_2$  (M = Rh, Ir). **J Am Chem Soc**, v. 130, n. 37, p. 12414-9, 2008.
- 56 FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 09**. Wallingford, CT, USA: Gaussian, Inc. 2009.
- 57 LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785-789, 1988.
- 58 BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648, 1993.
- 59 STEPHENS, P. J. et al. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623-11627, 1994.
- 60 YANG, Y.; WEAVER, M. N.; MERZ, K. M. Assessment of the "6-31+G\*\* + LANL2DZ" Mixed Basis Set Coupled with Density Functional Theory Methods and the Effective Core Potential: Prediction of Heats of Formation and Ionization Potentials for First-Row-Transition-Metal Complexes. . n. 113, p. 9843-9851, 2009.
- 61 TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum mechanical continuum solvation models. **Chem Rev**, v. 105, n. 8, p. 2999-3093, 2005.
- 62 O'BOYLE, N. M.; TENDERHOLT, A. L.; LANGNER, K. M. cclib: a library for package-independent computational chemistry algorithms. **J Comput Chem**, v. 29, n. 5, p. 839-45, 2008.
- 63 LU, T.; CHEN, F. Multiwfn: a multifunctional wavefunction analyzer. **J Comput Chem**, v. 33, n. 5, p. 580-92, 2012.
- 64 SKEHAN, P. et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. **J Natl Cancer Inst**, v. 82, n. 13, p. 1107-12, 1990.

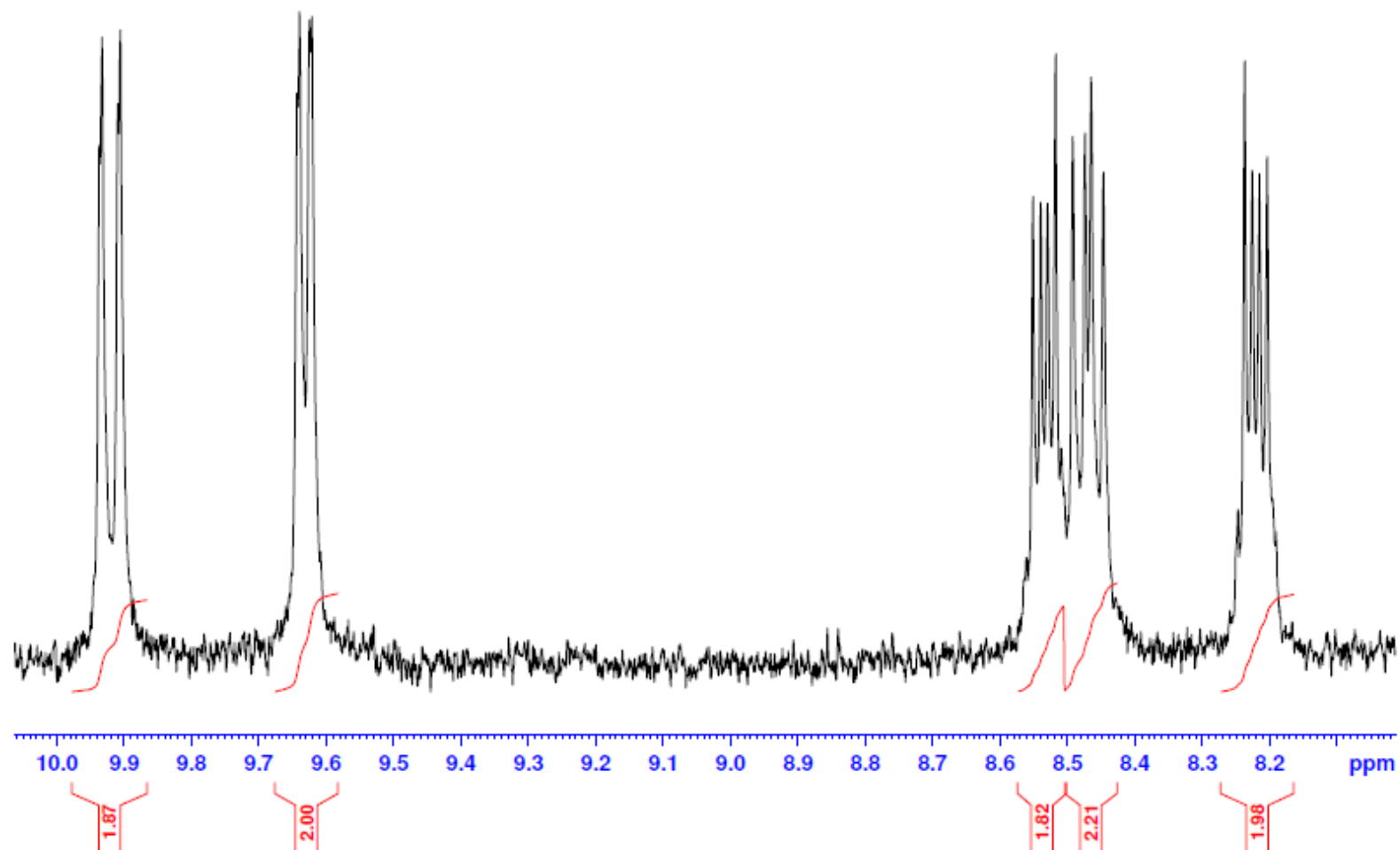
- 65 MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.
- 66 BERRIDGE, M. V. et al. The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica**, v. 4, p. 14-19, 1996.
- 67 SCHEEREN, C. et al. Stereoselective "Electrophilic" Cyclometalation of Planar-Prochiral ( $\eta^6$ -Arene)tricarbonylchromium Complexes with Asymmetric Metal Centers: pseudo-T-4 [Cp\*RhCl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> and [Cp\*IrCl<sub>2</sub>]<sub>2</sub>. **Organometallics**, v. 26, n. 14, p. 3336-3345, 2007.
- 68 SOUSA, E. H. S. D. **Estudos de Reatividade dos Ligantes Tionicotinamida e Isoniazida com Cianoferratos** 2000. 226 Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará
- 69 PAVIA, D. L. L., G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introduction to Spectroscopy**. 4th. Belmont: Brooks Cole, 2008. 745
- 70 NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry**. 6th. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2009. 416 ISBN 978-0-471-74493-1.
- 71 WOJDYR, M. Fityk: a general-purpose peak fitting program. **Journal of Applied Crystallography**, v. 43, n. 5, p. 1126-1128, 2010.
- 72 WATTS, R. J.; HARRINGTON, J. S.; VAN HOUTEN, J. A stable monodentate 2,2'-bipyridine complex of iridium(III): a model for reactive intermediates in ligand displacement reactions of tris-2,2'-bipyridine metal complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 7, p. 2179-2187, 1977.
- 73 ROBERT M. SILVERSTEIN, F. X. W., DAVID J. KIEMLE, DAVID L. BRYCE. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 8. New Jersey: John Willey & Sons Inc., 2014.
- 74 TELES, C. M. **Complexos Organometálicos de Irídio como Possíveis Agentes Anticâncer**. 2013. 51 Monografia (Bacharelado). Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- 75 GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 81-122, 1971.
- 76 NAVARRO, M. Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against *Leishmania mexicana* of [Cu(dppz)<sub>2</sub>]BF<sub>4</sub>. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 97, n. 4, p. 364-369, 2003.



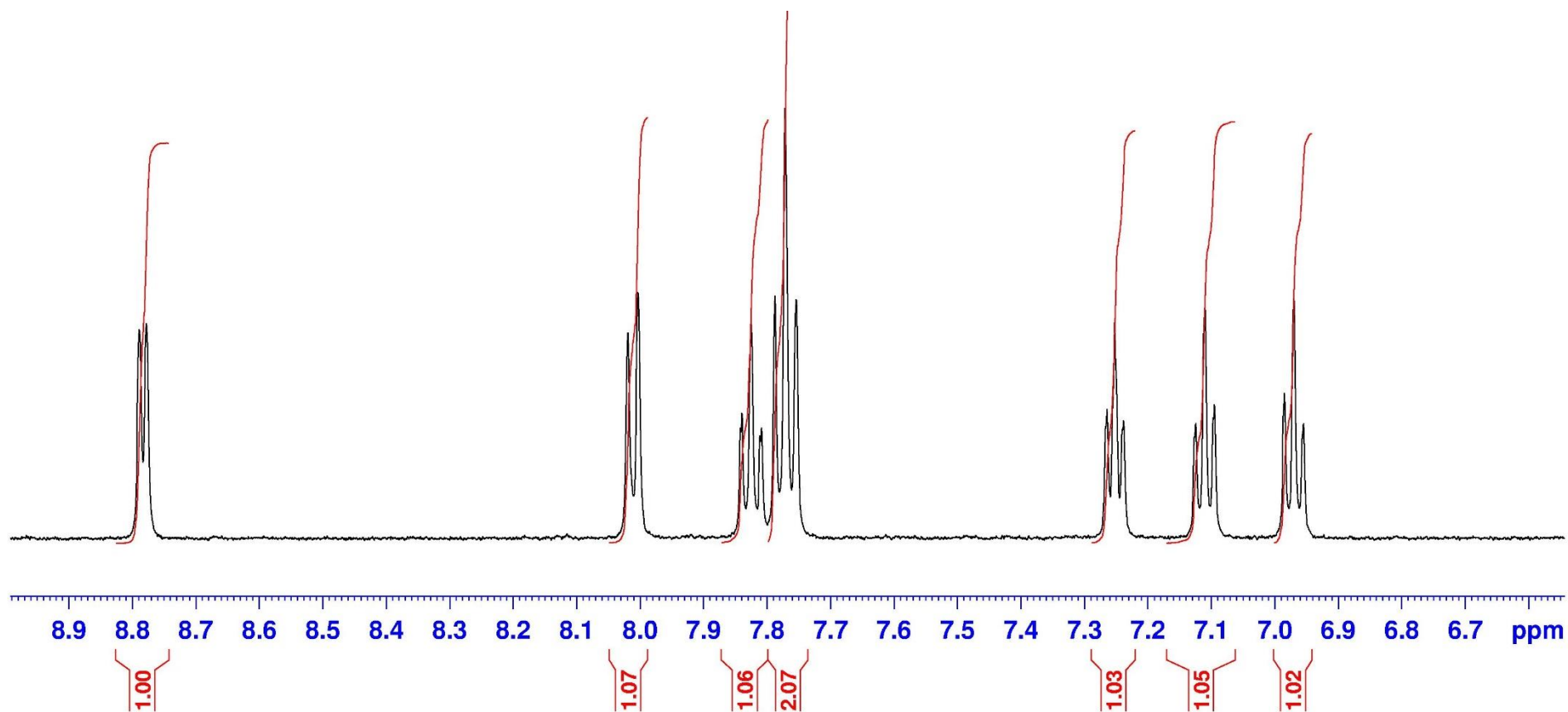
- 77 MADEIRA, R. A. **Avaliação da Atividade Tóxica, Genotóxica e Nucleasica de Efluentes dos Lavadores de Gases de Olaris Utilizando *Artemia sp.*, *allium cepa l.* E Plasmídio PBSKII.** 2009. 42 (Bacharelado). Departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma.
- 78 CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, n. 1-2, p. 69-93, 2002.
- 79 CHEN, H. H.; KUO, M. T. Role of glutathione in the regulation of Cisplatin resistance in cancer chemotherapy. **Met Based Drugs**, v. 2010, 2010.
- 80 LIU, Z.; SADLER, P. J. Formation of glutathione sulfenate and sulfinate complexes by an organoiridium(III) anticancer complex. **Inorg. Chem. Front.**, v. 1, n. 9, p. 668-672, 2014.
- 81 METZLER-NOLTE, N.; SCHATZSCHNEIDER, U. **Bioinorganic Chemistry: A Practical Course.** Berlin: Walter de Gruyter GmbH & Co. KG., 2009. 148 ISBN 978-3-11-020954-9.
- 82 CARTER, M. T.; RODRIGUEZ, M.; BARD, A. J. Voltammetric studies of the interaction of metal chelates with DNA. 2. Tris-chelated complexes of cobalt(III) and iron(II) with 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine. **Journal of the American Chemical Society**, v. 111, n. 24, p. 8901-8911, 1989.
- 83 SMITH, S. R. N., G. A.; KALSBECK, W. A.; THORP, H. HOLDEN. Electronic properties of aquapolypyridyl ruthenium complexes bound to DNA. **New Journal of Chemistry**, v. 18, p. 397-406, 1994.
- 84 TUIE, E. et al. Effects of Minor and Major Groove-Binding Drugs and Intercalators on the DNA Association of Minor Groove-Binding Proteins RecA and Deoxyribonuclease I Detected by Flow Linear Dichroism. **European Journal of Biochemistry**, v. 243, n. 1-2, p. 482-492, 1997.
- 85 EFTINK, M. R.; GHIRON, C. A. Fluorescence quenching studies with proteins. **Analytical Biochemistry**, v. 114, n. 2, p. 199-227, 1981.
- 86 MATHUR, S.; TABASSUM, S. Template synthesis of novel carboxamide dinuclear copper (II) complex: spectral characterization and reactivity towards calf-thymus DNA. **Biometals**, v. 21, n. 3, p. 299-310, 2008.
- 87 LEE, M. et al. GC base sequence recognition by oligoimidazolecarboxamide and C-terminus-modified analogs of distamycin deduced from circular dichroism, proton nuclear magnetic resonance, and methidiumpropylethylenediaminetetraacetate-iron(II) footprinting studies. **Biochemistry**, v. 32, n. 16, p. 4237-4245, 1993.

APÊNDICE A – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR PARA O COMPLEXO  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$  (1)

**APÊNDICE B – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR PARA O COMPLEXO [Cp\*Ir(phen)Cl]Cl (2)**

APÊNDICE C – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR PARA O COMPLEXO  $[\text{Cp}^*\text{Ir}(\text{dppz})\text{Cl}]\text{Cl}$  (3)

## APÊNDICE D – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR COSY PARA O COMPLEXO [Cp\*Ir(ppy)Cl] (4)



APÊNDICE E – ESPECTRO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR PARA O COMPLEXO 3-NO<sub>2</sub>, em DMSO