



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JULIANA SALES DO NASCIMENTO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPOSTO $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ PARA
SIMULAÇÃO DOS COMPLEXOS FORMADOS ENTRE AS DROGAS ANTRACICLINAS
E OS ÍONS Fe^{III} PROVENIENTES DO ORGANISMO**

FORTALEZA

2022

JULIANA SALES DO NASCIMENTO

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPOSTO $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ PARA
SIMULAÇÃO DOS COMPLEXOS FORMADOS ENTRE AS DROGAS ANTRACICLINAS E
OS ÍONS Fe^{III} PROVENIENTES DO ORGANISMO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Alda Karine Medeiros Holanda.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N195s Nascimento, Juliana Sales do.

Síntese e caracterização do composto [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃ para simulação dos complexos formados entre as drogas antraciclínicas e os íons Fe^{III} provenientes do organismo / Juliana Sales do Nascimento. – 2022.

81 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2022.

Orientação: Profa. Dra. Alda Karine Medeiros Holanda.

1. Quinizarina. 2. ferro. 3. binuclear. 4. mössbauer. 5. DNA. I. Título.

CDD 540

JULIANA SALES DO NASCIMENTO

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPOSTO $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ PARA
SIMULAÇÃO DOS COMPLEXOS FORMADOS ENTRE AS DROGAS ANTRACICLINAS E
OS ÍONS Fe^{III} PROVENIENTES DO ORGANISMO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovada em: 30/09/2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Alda Karine Medeiros Holanda (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Idalina Maria Moreira de Carvalho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Myron Alves de Vasconcelos
Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG)

A Deus.

Aos meus pais, Juarez e Silvana.

AGRADECIMENTOS

À Deus por sua infinita bondade e misericórdia, pois nada realizei pelos meus méritos, tudo foi através de sua Graça.

À prof^ª. Dr^ª. Alda Karine Medeiros Holanda pela orientação. Agradeço por ter estado comigo desde a graduação e durante todo período do mestrado, sempre presente, sempre alegre e disposta. Agradeço por todo o ensinamento, pelo carinho e paciência.

Aos professores Idalina Maria Moreira e Myron Alves pelas valiosas contribuições para este trabalho.

Aos professores Eduardo Henrique, Luiz Gonzaga de França Lopes, Alzir Batista, Edson Teixeira, Igor Vasconcelos e Alejandro Ayala pela parceria e contribuições fornecidas para este trabalho, bem como a todos os professores do grupo de Bioinorgânica.

A todos os amigos do Laboratório de Bioinorgânica, em especial a Patrícia, Mayara, Geângela, Ricardo, Walysson, Allan, Wellinson e Caian, por todas as conversas científicas e pessoais que contribuíram tanto para o meu crescimento profissional como pessoal também.

Aos alunos de iniciação científica Mário Sérgio, Ismael Pinheiro e Lídia Melo por todo auxílio prestado.

A Auridéia Possidônio que sempre foi uma excelente parceira de trabalho, excelente amiga, alguém com quem eu sempre pude contar nas horas boas e difíceis. Agradeço por ser exemplo de força, dedicação e sempre ter sido minha referência de trabalho.

Aos meus amigos Lara, Davi e Cristine que me acompanham desde a graduação e permanecem até hoje, sempre me mostrando que a vida é melhor quando temos amigos de verdade com quem compartilhá-la.

Ao Emanuel, meu amigo querido, que sempre me escutou e me ajudou a seguir nos momentos difíceis.

À minha família, meus pais e irmão, por estarem sempre presentes, me apoiando e me dando forças para seguir.

Ao meu noivo, Antônio Matheus, por ser meu companheiro de vida, por estar comigo em todos os momentos, por tentar sempre me compreender. Agradeço por todas as vezes que enxugou minhas lágrimas, que perdeu horas de sono me ajudando, pelas vezes que me escutou falar por horas e horas sobre as mesmas coisas. Agradeço também por todas as vezes que se alegrou com as minhas conquistas, as grandes e as pequenas. Elas não seriam possíveis sem você.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“É justo que muito custe o que muito vale”
(ÁVILA, 1583)

RESUMO

O complexo cis-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl (cyclam = 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano) reage com quinizarina (1,4-dihidroxi-9,10-antraquinona, Qz), uma molécula biologicamente relevante, produzindo o complexo binuclear [(Fe(cyclama))₂(Qz)]Cl(PF₆)₃. Este novo composto foi caracterizado por meio de análise elementar, difração de raios-X, voltametria cíclica e técnicas espectroscópicas. Os dados cristalográficos e FTIR indicaram que o ligante em ponte, quinizarina, é coordenado ao cátion FeIII através dos átomos de oxigênio dos grupos carbonila presente nas quinonas. O efeito dos ligantes auxiliares (cyclam) e do ligante em ponte (Qz) nas propriedades do complexo é refletido pela estabilização da configuração FeIII–FeIII confirmada pela espectroscopia de Mössbauer. A eficiência de geração de espécies reativas de oxigênio e atividade de clivagem de DNA para este complexo binuclear, bem como para o ligante quinizarina livre, foram investigados. Este complexo metálico exibiu atividade fotoquímica muito baixa; no entanto revelou uma grande capacidade de clivar a molécula de DNA na presença de glutathione, que foi associada com a produção de espécies reativas de oxigênio. Em seguida, a atividade citotóxica desses compostos foi avaliada utilizando o ensaio MTS contra células tumorais humanas, nomeadamente adenocarcinoma do pulmão (A549) e carcinoma da próstata (clone LNCaP FGC), e contra fibroblastos normais (L929). Nossos achados indicaram baixa citotoxicidade, onde apenas uma ligeira redução na viabilidade das células A549 e L929 foi observada após a irradiação com luz azul. Apesar da falta de qualquer atividade biológica significativa, este composto binuclear valida in vitro o papel essencial da ligação do metal a uma porção semelhante à antraciclina na geração de espécies reativas de oxigênio. O último pode ser responsável por parte da cardiotoxicidade relatada para drogas à base de antraciclina

Palavras-chave: Quinizarina; ferro; binuclear; mössbauer; DNA.

ABSTRACT

The cis-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl (cyclam = 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane) complex reacts with quinizarin (1,4-dihydroxy-9,10-anthraquinone, Qz), a biologically relevant molecule, yielding the binuclear complex [(Fe(cyclam))₂(Qz)]Cl(PF₆)₃. This new compound was characterized by means of elemental analysis, X-ray diffraction, cyclic voltammetry and spectroscopic techniques. Crystallographic and FTIR data indicated that the bridging ligand, quinizarin, is coordinated to the Fe^{III} cation via the oxygen atoms of the carbonyl groups in the form of quinones. The effect of ancillary (cyclam) and bridging (Qz) ligands on the properties of the complex is reflected by the stabilization of the Fe^{III}–Fe^{III} configuration supported by Mössbauer spectroscopy. The efficiency of Oxygen-reactive species generation and DNA cleavage activity for this binuclear complex, as well as for the free quinizarin ligand, were investigated. This metal complex exhibited very low photochemical activity; however, it revealed a great ability to cleave the DNA molecule in the presence of glutathione, which was associated with the production of Oxygen-reactive species. Thereafter, the cytotoxic activity of these compounds was evaluated using the MTS assay against human tumor cells, namely lung adenocarcinoma (A549) and prostate carcinoma (LNCaP clone FGC), and against normal fibroblasts (L929). Our findings indicated low cytotoxic effects in general, where only a slight reduction in A549 and L929 cell viability was observed after light irradiation. Despite the lack of any significant biological activity, this binuclear compound validates in vitro the essential role of metal binding to an anthracycline-like moiety in the generation of Oxygen-reactive species. The latter may be responsible for some of the cardiotoxicity reported for anthracycline-based drug.

Keywords: Quinizarin; iron; binuclear complex; mössbauer; DNA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura: (a) Daunorrubicina e (b) Doxorubicina.....	15
Figura 2	– Estruturas: (a) 1,4 – benzoquinona, (b) 1,4 – naftaquinona e (c) antraceno – 9,10 – diona (antraquinona).....	16
Figura 3	– Formação de semiquinonas através do processo de redução de quinonas.....	17
Figura 4	– Esquema simplificado do processo de estresse oxidativo.....	17
Figura 5	– Reação de Fenton.....	18
Figura 6	– Transporte de íons Ferro no organismo.....	19
Figura 7	– Tautomerismo ceto-enólico da quinizarina (I, II e III e estrutura de ressonância dos anéis quase – aromáticos).....	20
Figura 8	– Estrutura do DNA.....	21
Figura 9	– Diferentes formas do DNA plasmidial.....	22
Figura 10	– Interação do DNA com complexos metálicos.....	23
Figura 11	– Esquema simplificado de terapia fotodinâmica (PDT).....	25
Figura 12	– Esquema ilustrativo da síntese do complexo binuclear.....	30
Figura 13	– Esquema da reação do DPBF com oxigênio.....	33
Figura 14	– Estrutura ORTEP do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$	36
Figura 15	– Estrutura do ligante Quinizarina na forma de base conjugada (a) e tautômero ceto – enólico (b).....	39
Figura 16	– Espectros vibracionais na região do infravermelho para a quinizarina (em preto) e para o complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ (em vermelho) em pastilhas de KBr.....	40
Figura 17	– Espectros eletrônicos na região do UV-Visível do complexo $(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ e do ligante quinizarina livre.....	41

Figura 18	– Voltamograma cíclico do ligante Quinizarina livre em acetonitrila.....	45
Figura 19	– Estados de oxidação da quinizarina.....	45
Figura 20	– Voltamograma cíclico do complexo [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃ em acetonitrila 0,1 mol L ⁻¹ PTBA.....	46
Figura 21	– Esquema de oxirredução de sistemas de Classe I, Classe II e Classe III.....	48
Figura 22	– Espectro eletrônico do composto [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃ em 0,1 mol L ⁻¹ PTBA em acetonitrila.....	49
Figura 23	– Espectroeletróquímica UV/Vis/Infravermelho do [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃ com aplicação de potencial positivo (+1.000 mV) em 0,1M PTBA em acetonitrila.....	50
Figura 24	– Espectroeletróquímica UV/Vis/Infravermelho do (Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃ com aplicação de potencial negativo (-1.000 mV) em acetonitrila 0,1mol L ⁻¹ PTBA.....	51
Figura 25	– Espectros de Mössbauer do (a) complexo precursor cis-[Fe(cyclam)Cl ₂]Cl (b) complexo binuclear [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃	52
Figura 26	– Decaimento na intensidade dos espectros de fluorescência de DPBF em função do tempo de irradiação na presença de 20μM de Ru(bpy) ₃ ²⁺ (a) [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃ , (b) Quinizarina livre e (c) cis – [Fe(cyclam)Cl ₂]Cl.....	55
Figura 27	– Curva cinética do consumo de DPBF em função do tempo de irradiação.....	55
Figura 28	– Interação com DNA após irradiação.....	58
Figura 29	– Interação com DNA na presença de GSH.....	59
Figura 30	– Interação com DNA na presença de inibidores seletivos de ROS.....	60
Figura 31	– Esquema de clivagem de DNA após reação do complexo com GSH.....	61

Figura 32 – Viabilidade de células tratadas com concentrações crescentes de cis-
[Fe(cyclam)Cl₂]Cl (a e b), quinizarina (c e d) e
[(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃ (e e f).....

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Procedência dos reagentes utilizados para a síntese e para os procedimentos experimentais.....	29
Tabela 2	– Dados cristalográficos de refinamento da estrutura do complexo de forma geral [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃	37
Tabela 3	– Comprimentos de ligação [Å] e valores de ângulos [°] selecionados para o complexo de fórmula geral [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃	38
Tabela 4	– Relação solvente e comprimento de onda da banda na região do visível do complexo binuclear.....	43
Tabela 5	– Dados do UV-Visível para o complexo [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃ em acetonitrila.....	44
Tabela 6	– Parâmetros hiperfinos para espectros de Mössbauer do complexo precursor cis- [Fe(cyclam)Cl ₂]Cl e complexo binuclear [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃ . Incertezas menores que 0,1 mm s ⁻¹ (δ, Δ, Γ) e 1% (área).....	53
Tabela 7	– Valores de rendimento quântico de geração de oxigênio singlete (ΦΔ).....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS	Organização Mundial da Saúde
DCNT	Doenças Não Transmissíveis
INCA	Instituto Nacional do Câncer
CMD	Cardiomiopatia Dilatada
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
RNA	Ácido Ribonucléico
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RTF 1	Receptor de Transferrina de Superfície Celular
Fe	Ferro
Qz	Quinizarina
Cyclam	1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano
GSH	Glutathiona
PDT	Terapia fotodinâmica
PTBA	Perclorato de TetrabutilAmônio
NH ₄ PF ₆	Hexafluorofosfato de amônio
DMSO	Dimetilsufóxido
DPBF	Difenilisobenzofurano
MTS	[3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfopenil)-2H-tetrazólio]
TBP	[Ru(bpy) ₃]Cl ₂
LMCT	Transferência de carga do ligante para o metal
IVCT	Transferência de carga de intervalência

LISTA DE SÍMBOLOS

λ	Comprimento de Onda
\AA	Distância de Ligação
$^{\circ}$	Ângulo de Ligação
$E_{1/2}$	Potencial de Meia Onda
E_a	Potencial Anódico
E_c	Potencial Catódico
k^a	Coefficiente Angular da Amostra
k^p	Coefficiente Angular do Padrão
$^p\Phi_{\Delta}$	Rendimento Quântico de Geração de Oxigênio Singlete para o Padrão
$^a\Phi_{\Delta}$	Rendimento Quântico de Geração de Oxigênio Singlete para a Amostra
K_c	Constante de Comproporcionamento
δ	Deslocamento Isomérico
Δ	Desdobramento Quadrupolar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Antraciclinas	14
1.2	Estresse oxidativo	16
1.3	Ferro no organismo	18
1.4	Interação entre as antraciclinas e íons Fe ³⁺ /Fe ²⁺ do organismo	19
1.5	Interação de complexos metálicos com DNA	21
1.6	Clivagem do DNA	24
1.7	Compostos de Ferro ativos na clivagem do DNA	25
1.8	Atividade antibacteriana de compostos de Fe	26
2	OJETIVOS	28
3	PARTE EXPERIMENTAL	29
3.1	Reagentes e soluções	29
3.2	Sínteses	29
3.2.1	<i>Síntese do complexo precursor cis- [Fe(cyclam)Cl₂]Cl</i>	29
3.2.2	<i>Síntese do complexo [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃</i>	30
3.3	Aparelhos e técnicas experimentais	30
3.3.1	<i>Difração de raios-X</i>	30
3.3.2	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	31
3.3.3	<i>Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível</i>	31
3.3.4	<i>Medidas eletroquímicas</i>	31
3.3.5	<i>Espectroeletroquímica</i>	32
3.3.6	<i>Mössbauer</i>	32
3.3.7	<i>Rendimento quântico de geração de oxigênio singlete (1O₂)</i>	32
3.3.8	<i>Lipofilicidade</i>	33
3.3.9	<i>Clivagem de DNA</i>	34
3.3.10	<i>Viabilidade Celular (Atividade Citotóxica)</i>	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1	Caracterização do complexo [(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃	36
4.1.1	<i>Difração de raios-X</i>	36
4.1.2	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	40

4.1.3	<i>Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível</i>	41
4.1.4	<i>Medidas eletroquímicas</i>	44
4.1.5	<i>Espectroeletroquímica</i>	49
4.1.6	<i>Mössbauer</i>	51
4.1.7	<i>Geração de oxigênio singlete</i>	54
4.1.8	<i>Lipofilicidade</i>	56
4.1.9	<i>Clivagem de DNA</i>	57
4.1.10	<i>Atividade anticâncer</i>	61
5	CONCLUSÃO	64
	REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) existem diversos tipos de doenças que acometem a população mundial, sendo as doenças não transmissíveis (DCNT) responsáveis por cerca de 41 milhões de óbitos, o equivalente a cerca de 71% de todas as mortes no mundo. Dentre as DCNTs, o câncer se encontra como a segunda doença mais letal, ocasionando cerca de 22% dos óbitos (OMS, 2018).

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) a designação ‘câncer’ reflete um conjunto de doenças que tem como característica comum o crescimento desordenado de células, as quais podem difundir-se por tecidos adjacentes ou até mesmo em órgãos distantes (INCA, 2020). Assim, tendo em vista a gravidade da doença, diversos tipos de fármacos têm sido desenvolvidos para auxiliar no tratamento de tais tumores malignos (MARTINS-TEIXEIRA; CARVALHO, 2020). Além disso, é importante frisar o aumento exponencial da incidência e mortalidade da doença. As razões para tal aumento são difíceis de elencar, porém, de forma indireta, refletem o envelhecimento da população mundial (BRAY et al., 2018), uma vez que o envelhecimento faz com que o organismo apresente dificuldades de desempenhar atividades básicas, tais como regulação da proliferação e apoptose celular (DA SILVA; DA SILVA, 2005).

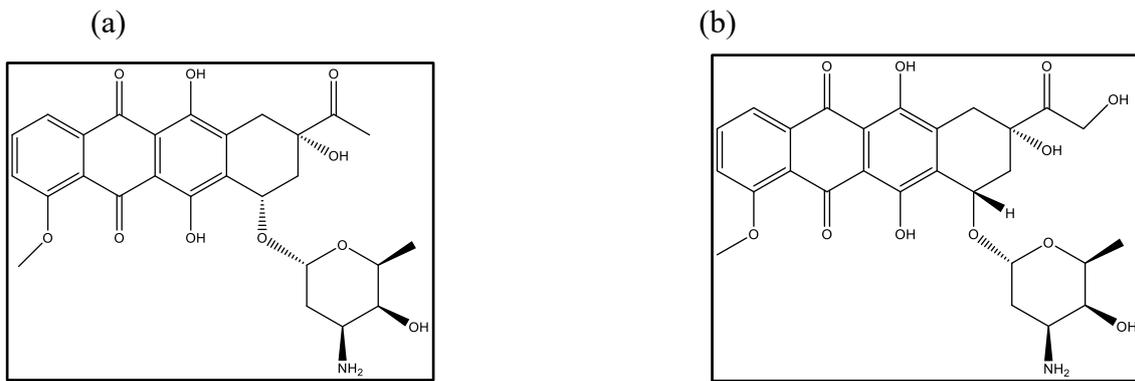
Em decorrência da gravidade dessa doença, a ciência passou a travar uma corrida na busca por medicamentos que fossem eficazes em seu tratamento. Ao longo dos anos foram desenvolvidos diversos tipos de fármacos, os quais atuam de diferentes maneiras, a exemplo dos agentes alquilantes que atuam danificando o DNA da célula impedindo-a de se reproduzir (MARTINS-TEIXEIRA; CARVALHO, 2020; FINCH, 2014). Existem também os antimetabólitos, que atuam interrompendo a síntese do ácido nucléico (SCHOLAR, 2007). Além dessas duas classes de fármacos, existe uma terceira classe chamada de antibióticos antitumorais, dos quais fazem parte uma classe de compostos denominada de antraciclina.

1.1 Antraciclina

De acordo com Martins-Teixeira e Carvalho (2020), as antraciclina são uma classe de antibióticos naturais utilizadas como agentes antitumorais antineoplásicos, sendo considerados bastante eficazes, haja vista que vários tipos de câncer têm respondido ao tratamento com essas drogas. As antraciclina são derivadas das bactérias *Streptomyces sp.*, e as primeiras antraciclina foram isoladas da bactéria *Streptomyces peucetius*, sendo chamadas de daunorrubicina e doxorubicina. Essas drogas vêm sendo utilizadas por cerca de cinco décadas no tratamento de

diversos tipos de câncer, dentre eles o de mama, ovário, pulmão e leucemia. Entre as drogas antraciclina, a doxorubicina aparece como a mais utilizada (AGUDELO et al., 2016; MA; MUMPER, 2013; CARVALHO, 2009; MINOTTI et al., 2004). A Figura 1 apresenta as estruturas das antraciclina daunorrubicina e da doxorubicina, respectivamente.

Figura 1 - Estrutura: (a) Daunorrubicina e (b) Doxorubicina.



Fonte: A autora.

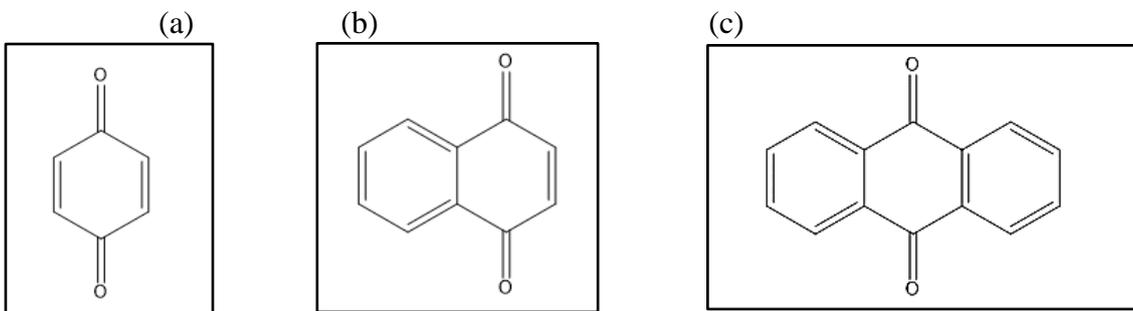
O mecanismo de ação da doxorubicina consiste na geração de danos ao DNA por intercalação e inibição da biossíntese macromolecular (TACAR; SRIAMORNSAK; DASS, 2013; YAO et al., 2015), levando a formação de radicais livres, também chamada de peroxidação lipídica (SZUCS; JONES, 2016). De acordo com Szucs e Jones (2016), a doxorubicina também pode atuar através da ligação ou alquilação do DNA, reticulação ou através da inibição da topoisomerase II, enzimas facilitadoras do desenrolamento da dupla fita, auxiliando no processo de replicação ou transcrição normal. Assim, a doxorubicina é responsável por estabilizar o complexo topoisomerase II depois de quebrar a cadeia de DNA para replicação, evitando que a dupla hélice seja selada novamente e, assim, parando o processo de replicação (TACAR; SRIAMORNSAK; DASS, 2013).

O uso das antraciclina, no entanto, tem sido reduzido pela geração de efeitos colaterais indesejáveis, como queda de cabelo, vômitos, supressão da medula óssea, erupções na pele e reações alérgicas (TACAR; SRIAMORNSAK; DASS, 2013). Entretanto, o efeito colateral mais perigoso oriundo do uso da doxorubicina é a cardiomiopatia dilatada (CMD), doença na qual ocorre a dilatação das câmaras cardíacas e, frequentemente, a diminuição progressiva da capacidade de contração cardíaca (GALVIN; RUSKIN, 2004). Segundo Chatterjee et al. (2010), a CMD pode acarretar a insuficiência cardíaca congestiva. Hoeger, Turissini e Asnani (2020) reportam que a cardiotoxicidade da doxorubicina pode ocorrer devido ao estresse oxidativo, danos ao DNA e sobrecarga de Ferro.

1.2 Estresse oxidativo

De maneira geral, as antraciclina apresentam em sua estrutura um grupo denominado quinona. As quinonas são metabólitos secundários isolados normalmente de plantas, e que apresentam um sistema aromático. As quinonas naturais podem ser classificadas majoritariamente como benzoquinonas, naftoquinonas e antraquinonas (EYONG; KUETE; EFFERTH, 2013). Na Figura 2 são apresentadas algumas estruturas de quinonas já conhecidas.

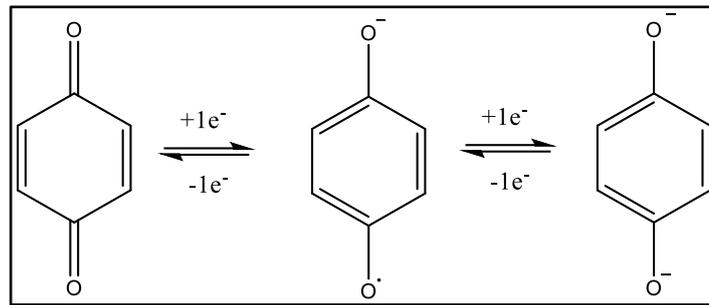
Figura 2 - Estruturas: (a) 1,4 – benzoquinona, (b) 1,4 – naftoquinona e (c) antraceno – 9,10 – diona (antraquinona).



Fonte: A autora.

De acordo com Hoeger, Turissini e Asnani (2020), o grupamento quinona é susceptível à redução, levando a formação de um grupo semiquinona. Normalmente, as semiquinonas formadas são tóxicas e podem participar de um ciclo redox, no qual reagem com o oxigênio molecular levando à formação de superóxidos e regenerando a quinona, a qual se apresentar novamente disponível para outra redução (SOUSA; LOPES; ANDRADE, 2016). A Figura 3 apresenta um esquema simplificado do processo de redução das quinonas.

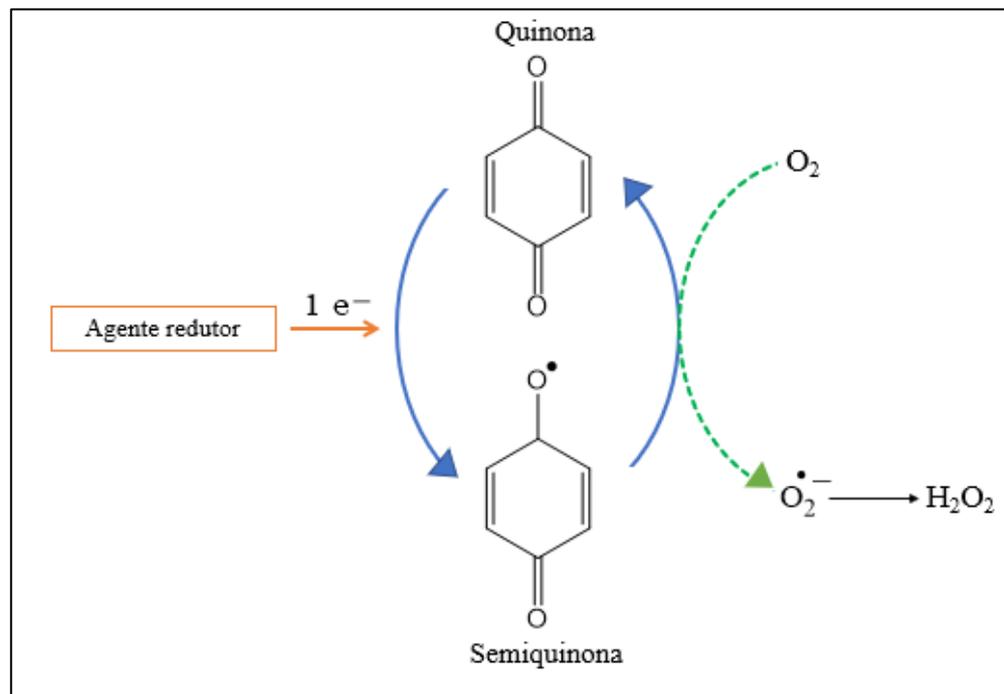
Figura 3 - Formação de semiquinonas através do processo de redução de quinonas.



Fonte: Adaptado de SOUSA; LOPES; ANDRADE, 2016.

Tal ciclo de reduções resulta em um processo conhecido como estresse oxidativo (Figura 4), pois acarreta o consumo de agentes redutores celulares e a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *Reactive Oxygen Species*) (SOUSA; LOPES; ANDRADE, 2016). As ROS geradas podem ser ânions superóxidos (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais hidroxilas (OH^-) e oxigênio singlete (1O_2) (SOUSA; LOPES; ANDRADE, 2016; ZHANG *et al.*, 2012; GEWIRTZ, 1999; XU; PERSSON; RICHARDSON, 2005).

Figura 4 - Esquema simplificado do processo de estresse oxidativo.



Fonte: Adaptado de ENSAFI *et al.*, 2016.

O estresse oxidativo, no entanto, pode ocorrer também com a participação de íons Ferro, pois as antraciclinas são capazes de gerar perturbações no processo de homeostase celular desse metal. Espécies reativas de oxigênio podem ser geradas através de reações que possuem o Ferro como catalisador, podendo-se citar a reação de Fenton (Figura 5). Na reação de Fenton, é possível perceber que o peróxido de hidrogênio, produto da respiração mitocondrial, é convertido em radical hidroxila, o qual é altamente reativo e prejudicial tanto às células cancerígenas quanto saudáveis (KAISEROVÁ et al., 2007; GUPTA; LAKES; DZIUBLA, 2016).

Figura 5 - Reação de Fenton.



Fonte: A autora, 2022.

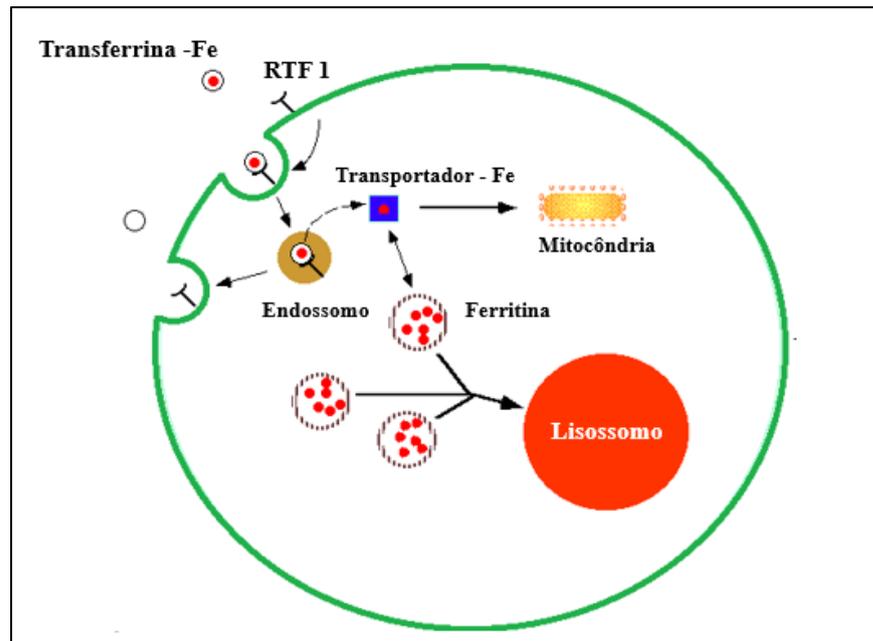
1.3 Ferro no organismo

O Ferro é um elemento químico de símbolo Fe, que possui número atômico 26. Esse elemento é um metal de transição e está entre os oito elementos químicos mais abundantes na crosta terrestre (DUARTE, 2019). Desde a antiguidade, o homem descobriu que o Ferro desempenhava um papel importante na preservação da saúde. De acordo com Abbaspour, Hurrell e Kelishadi (2014), os povos antigos (egípcios, romanos e gregos) já utilizavam o Ferro como medicamento, contudo, foi por volta do século XX que a participação do Ferro no processo de síntese da hemoglobina foi reconhecida, evidenciando um dos principais papéis desempenhados por esse metal no organismo humano.

No organismo, o Ferro está presente em diversos processos importantes para a manutenção da vida, tais como: o processo de transferência de oxigênio dos pulmões para os tecidos; na síntese da hemoglobina e na conversão da energia dos alimentos em trifosfato de adenosina (ATP). Além disso, existem evidências de que a deficiência desse metal pode acarretar alterações na resposta imune, bem como no desenvolvimento das funções cognitivas (UMBELINO; ROSSI, 2006).

Dentro do corpo humano, o Ferro percorre um longo caminho até ser absorvido e armazenado. A Figura 6 apresenta um esquema ilustrativo do transporte de íons Ferro dentro do organismo.

Figura 6 – Transporte de íons Ferro no organismo.



Fonte: Adaptado de IRON TRANSPORT AND CELLULAR UPTAKE, 2001.

A partir da Figura 6, tem-se que o Ferro no estado de oxidação +3, é transportado por uma proteína chamada transferrina, que é sintetizada principalmente pelo fígado. Após a ligação com a transferrina, o Ferro é carregado até um receptor de transferrina de superfície celular (RTF 1), onde ocorre o processo de endocitose, sendo então absorvido pela célula. Em seguida, o Ferro absorvido é transportado até a mitocôndria e participa da síntese do grupo HEME. O excesso de Ferro, contudo, é armazenado em uma outra proteína, a ferritina (ABBASPOUR; HURRELL; KELISHADI, 2014). Essa proteína é capaz de armazenar, aproximadamente, 4.500 átomos de Fe no estado de oxidação +2 (XU; PERSSON; RICHARDSON, 2005).

1.4 Interação entre as antraciclina e os íons Fe^{3+}/Fe^{2+} do organismo

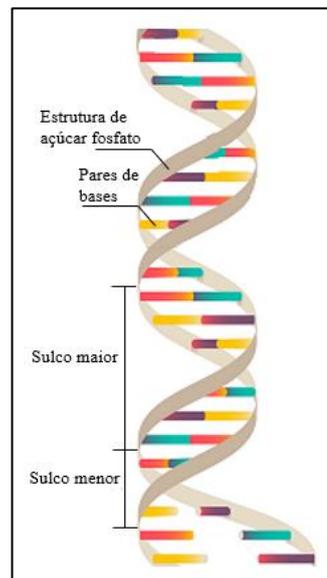
O grupo quinona, presente nas moléculas de antraciclina, apresenta extrema facilidade de se ligar a metais, sendo reconhecidos como bons agentes quelantes de Ferro. As quinonas são capazes de adquirir íons desse metal a partir da ferritina ou da transferrina em compartimentos intracelulares de pH ácido (DEMANT; NØRSKOV-LAURITSEN, 1986). Dessa forma, segundo Gammella et al. (2014), o uso da doxorubicina interfere no processo de homeostase do Ferro, pois desajusta a ação das proteínas reguladores do metal, bem como pode liberar íons Ferro, representando uma fonte alternativa desse íon, ao invés da ferritina, o que facilitaria a formação de radicais livres.

exemplo é possível citar os complexos binucleares de Ru (III), Os (II) e Co (III), nos quais a quinizarina atua como ligante ponte (CRLIKOVA et al., 2020; KUMBHAKAR et al., 2008; MANDAL et al., 2015; SCIORTINO et al., 2020). Em diversos casos, foram realizados estudos redox que revelaram um comportamento não-inocente do ligante quinizarina, bem como o discernimento de que tais complexos sofrem diversas etapas de redução e oxidação (SHIGA et al., 2018).

1.5 Interação de complexos metálicos com DNA

Os ácidos nucleicos são compostos de ocorrência natural que podem sofrer decomposição e formar outros compostos, como ácido fosfórico, açúcares, entre outros. Os ácidos nucleicos são as principais moléculas transportadoras de informações da célula, sendo capazes de dirigir o processo de síntese protéica e determinar as características herdadas de todos os seres vivos. Os ácidos nucleicos podem ser divididos em duas classes principais, o ácido desoxirribonucleico (DNA) e o ácido ribonucleico (RNA) (ROBERTS, 2020). A estrutura do DNA foi descoberta por James Watson e Francis Crick, que lhes rendeu o prêmio Nobel em 1962 (MOHIUDDIN; KUMAR; HAQUE, 2017). O DNA é formado por duas cadeias de polinucleotídios enoveladas em torno de um eixo na forma de dupla hélice (Figura 8).

Figura 8 - Estrutura do DNA.

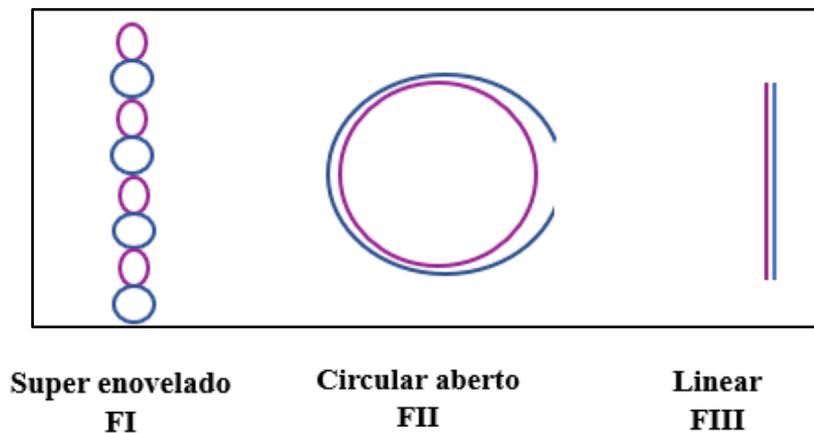


Fonte: Adaptado de Discovery of DNA Structure and Function: Watson and Crick (2008).

De acordo com Lehninger, Nelson e Cox (1995 apud BUSSI et al., 2010), além do DNA cromossômico, algumas bactérias e fungos podem apresentar uma ou mais moléculas de DNA circular com duplas fitas, contudo essas estruturas são menores que o DNA cromossômico. Essas moléculas de DNA encontram-se livres no citoplasma e são denominadas de plasmídeos. Os

plasmídeos, após sofrerem um processo de quebra, podem assumir diferentes estruturas. Antes da quebra, as fitas de DNA plasmidial encontram-se altamente tensionadas, formando uma estrutura super enovelada (FI). Se a estrutura FI sofrer uma ou mais quebras em uma de suas fitas, ocorre um relaxamento da estrutura super helicoidal e o plasmídeo passa a exibir forma circular aberta (FII). Além disso, se ocorrer uma quebra dupla ou duas quebras simples, o plasmídeo assume uma nova forma: a forma linear (FIII) (NAVARRO et al., 2003). A Figura 9 apresenta as diferentes formas do DNA plasmidial.

Figura 9 - Diferentes formas do DNA plasmidial.



Fonte: Adaptado de BUSSI et al., 2010.

Com os avanços da ciência foi possível descobrir que as moléculas de DNA apresentam capacidade de interação com alguns metais e, embora a utilização destes para fins terapêuticos ocorra há quase 5.000 anos (ZHANG; LIPPARD, 2003; NDAGI; MHLONGO; SOLIMA, 2017), esse mecanismo de interação passou a ser considerado um dos principais responsáveis pela atividade terapêutica apresentada por esses compostos metálicos, dentre elas é possível citar a atividade anticancerígena.

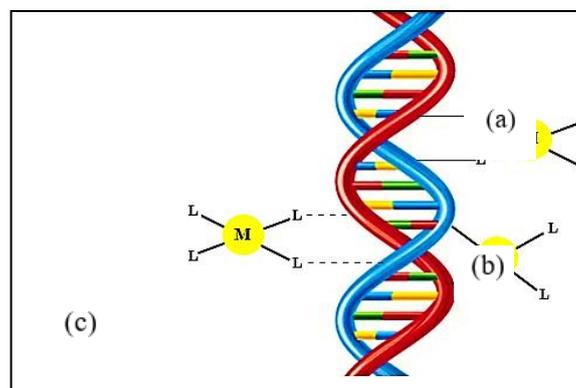
Os compostos de coordenação podem ser definidos como estruturas formadas por átomos de metais ligados a átomos ou grupos atômicos chamados de ligantes, os quais doam elétrons para o centro metálico (MIESSLER et al., 2014). A química dos compostos de coordenação começou a ganhar grande destaque a partir dos estudos de Alfred Werner, estudos esses que lhe renderam o prêmio Nobel em 1916 (RAMOS, 2011).

Os compostos metálicos apresentam algumas características interessantes, como o estado de oxidação variável e mudança de solubilidade de acordo com o ligante, o que os tornam alvos promissores para a terapia anticâncer. Além disso, de acordo com Zhang e Lippard (2003), os centros

metálicos que apresentam carga positiva são mais propícios a formarem ligações com biomoléculas carregadas negativamente, como os ácidos nucleicos e as proteínas.

De acordo com Hamilton e Arya (2012), as moléculas de DNA podem interagir com os centros metálicos através de ligações covalentes, ligações não covalentes ou ambas. As ligações covalentes podem ocorrer de duas formas distintas, a primeira ocorre através da coordenação direta entre o metal e o DNA, sendo chamada de ligação covalente de esfera interna. A segunda ocorre quando a coordenação se dá através da ligação entre o ligante do complexo e o DNA, sendo chamada de ligação covalente de esfera externa. As ligações não covalentes, por sua vez, ocorrem quando não há dependência do ataque nucleofílico, de modo que a interação pode ocorrer através da ligação de hidrogênio, sendo chamada de ligação não covalente de esfera externa (ANASTASSOPOULOU, 2003). Além disso, é importante destacar que as ligações covalentes resultam em transformações permanentes do local onde ocorre a ligação entre o complexo e o DNA, enquanto as ligações não covalentes constituem interações reversíveis (MELOTTI, 2019). A Figura 10 apresenta as ligações covalentes e não covalentes entre o DNA e complexos metálicos.

Figura 10 - Interação do DNA com complexos metálicos.



Legenda: (a) Ligação covalente de esfera externa, (b) ligação covalente de esfera interna e (c) ligação não covalente de esfera externa.

Fonte: A autora, 2022.

Devido a capacidade de ligação com o DNA, os compostos de coordenação se tornaram alvo de estudos intensos, principalmente após 1964, quando ocorreu a descoberta da cisplatina (*cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]), a qual atuava como agente supressor da divisão celular, sendo posteriormente utilizada no tratamento de diversos tipos de tumores (BARONE et al., 2013; DE ALMEIDA et al., 2014). Contudo, a utilização de compostos a base de platina, têm acarretado efeitos colaterais indesejados na quimioterapia como por exemplo, toxicidade gastrointestinal e neurotoxicidade

(MÁRMOL et al., 2020), bem como a possibilidade de resistência de certos tumores ao tratamento com compostos à base de platina (CRLIKOVA et al., 2020; MÁRMOL et al., 2020).

Por conta disso, diversos grupos de pesquisa têm buscado novas alternativas para o tratamento do câncer utilizando compostos que não sejam à base de platina, tais como compostos de rutênio, cobre, zinco, ouro, prata, entre outros (MÁRMOL et al., 2020; CRLIKOVA et al., 2020; BARONE et al., 2013; ALZHRANI et al., 2021). Dentre tais compostos alternativos, os complexos de Ferro têm apresentado diversas aplicações catalíticas e biológicas interessantes (ALZHRANI et al., 2021).

1.6 Clivagem do DNA

O processo de clivagem do DNA é essencial para o bom funcionamento do organismo. São dependentes desse processo a replicação, a transcrição e a recombinação genética. Por conta disso, moléculas capazes de promover a clivagem do DNA se tornaram um alvo bastante promissor para a terapia anticâncer (KATO et al., 2021). Tais moléculas são chamadas de nucleases sintéticas, sendo responsáveis por promoverem a quebra do DNA e, conseqüentemente, desencadeando a apoptose celular. Essa quebra pode ocorrer através de três mecanismos diferentes: hidrolítico, oxidativo ou fotoquímico (CHITRAPRIYA et al., 2015; KR et al., 2014). Além disso, é importante destacar que as reações de clivagem do DNA normalmente têm como alvo as bases nucleicas, a porção de açúcar desoxirribose e a ligação fosfodiéster (CHITRAPRIYA et al., 2015).

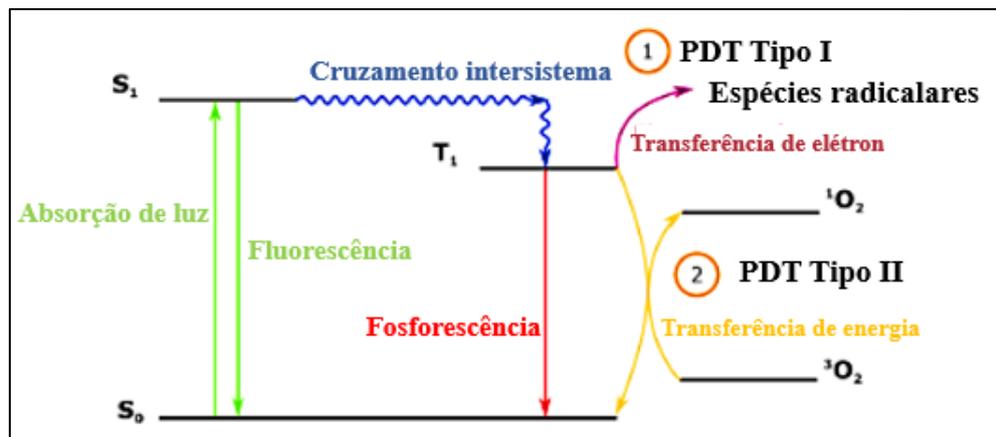
No mecanismo de clivagem hidrolítico, as ligações fosfodiéster são quebradas através da reação com complexos metálicos que possuem moléculas de água coordenadas na posição *cis*. Nesse processo de quebra, ocorre o ataque nucleofílico ao fósforo da ligação fosfodiéster (KREFT et al., 2014; RODRIGUES, 2016). O mecanismo de clivagem oxidativo, por sua vez, se dá através da formação de espécies reativas de oxigênio, como oxigênio singlete e radical hidroxila. Essas espécies podem reagir com as bases nitrogenadas, pentose ou com a ligação fosfodiéster, levando à quebra dessas estruturas e, desta forma, originando uma grande variedade de subprodutos (KREFT et al., 2014).

Já o mecanismo fotoquímico se dá por meio da ativação das nucleases através de estímulos luminosos, desencadeando a fotoclivagem das moléculas de DNA. Os danos ao DNA podem ocorrer através de diversos modos, sendo um dos principais o ataque à bases nitrogenadas, geralmente a guanina, ocasionado por espécies radiculares e por moléculas de oxigênio singlete gerados fotoquimicamente (CARVELHO, 2015). As nucleases ativadas pela luz se tornaram um alvo

bastante promissor para tratamentos que utilizem terapia fotodinâmica (PDT, do inglês *photodynamic therapy*).

A terapia fotodinâmica pode ser definida como uma reação fotoquímica que tem como objetivo ocasionar a destruição seletiva de um tecido. A PDT ocorre em duas etapas, sendo a primeira a utilização de uma molécula fotossensibilizadora seguida de aplicação de luz visível. Os fotossensibilizadores são ativados pela luz e reagem com o oxigênio molecular gerando espécies reativas de oxigênio, as quais são capazes de levar a morte celular (ISSA; MANELA-AZULAY, 2010). Essa terapia pode ocorrer através de dois mecanismos principais: o mecanismo do tipo I e do tipo II. Os processos do tipo I se dão através da transferência de elétrons fotoinduzida com participação de substratos biológicos, de modo que, após diversas etapas, espécies radicalares, como superóxido ou radical hidroxila, são formadas. A terapia fotodinâmica do tipo II, por sua vez, ocorre através da produção de oxigênio singlete, via transferência direta de energia (BEVERNAEGIE et al., 2019) (Figura 11).

Figura 11 - Esquema simplificado de terapia fotodinâmica (PDT).



Fonte: Adaptado de BEVERNAEGIE et al., 2019.

1.7 Compostos de Ferro ativos na clivagem do DNA

A bliomicina foi o primeiro produto natural descrito na literatura com capacidade de clivar o DNA através do mecanismo oxidativo, gerando espécies radicalares de oxigênio (CHITRAPRIYA et al., 2015; PITIÉ; PRATVIEL, 2010.). Esse composto apresenta capacidade de se ligar a um íon Fe (II) e o complexo resultante se liga ao O_2 . Em seguida, essa nova molécula recebe um elétron e H^+ , gerando um complexo de bliomicina ativado, bliomicina-Fe (III)-OOH (KATO et al., 2021). Contudo, a utilização do composto ativado tem acarretado efeitos citotóxicos indesejados (CHITRAPRIYA et al., 2015). Por conta disso, tornou-se necessária a busca por outros fármacos capazes de clivar o DNA que apresentem baixa citotoxicidade.

Nesse contexto, surge a terapia fotodinâmica, a qual por ser uma técnica menos invasiva do que as utilizadas atualmente no tratamento do câncer, bem como tem-se observado um interesse crescente no desenvolvimento de moléculas capazes de clivar o DNA através de tal processo (BEVERNAEGIE et al., 2019). Atualmente, os complexos à base de porfirina são bastante utilizados na PDT, contudo esses compostos apresentam toxicidade na ausência de luz e, além disso, as porfirinas podem sofrer conversão oxidativa, formando bilirrubina, espécie esta hepatotóxica. Com base nisso, surgiu o interesse em buscar novos compostos metálicos não porfirínicos que fossem capazes de formar ligações ao DNA de maneira eficiente (ROY et al., 2007).

De acordo com Roy et al., (2007), compostos de polipiridinas associados a metais de transição, como rutênio, cobre e ródio, já são bastante conhecidos na literatura por apresentarem atividade fotoclivativa do DNA. Contudo, compostos de Ferro têm surgido como mais uma alternativa, devido a sua baixa toxicidade celular e grande biodisponibilidade. Entretanto, sabe-se que os compostos de Fe são bastante emissivos e apresentam estados excitados com tempo de vida curtos, ainda que diversos estudos tenham demonstrado que a aplicação de compostos de Ferro nesse tipo de terapia seja promissora (KARGES; GASSER, 2020).

O primeiro composto à base de Ferro que apresentou capacidade de clivagem de DNA foi apresentado por Kraft e Zaleski (2001), no qual o Ferro se encontrava com estado de oxidação +3. É importante destacar que os complexos de Fe (III) foram estudados de maneira mais ampla que os compostos de Fe (II), embora alguns compostos com Ferro no estado de oxidação +2 tenham sido desenvolvidos, como o Fe(II) -N₄Py (KARGES; GASSER, 2020).

1.8 Atividade antibacteriana de compostos de Fe

A primeira descrição da existência de bactérias foi feita por Leeuwenhoek, no século XVII, o qual, fazendo uso de uma forma rudimentar de microscópio, foi capaz de descrever a existência de pequenos objetos que se moviam ativamente. Ele chamou esses pequenos objetos de “animálculos”. Hoje, no entanto, já é sabido que esses “animálculos” se tratavam, na verdade, de germes, micróbios e bactérias (SIMMONS, 1980). Contudo, as observações de Leeuwenhoek causaram diversas controvérsias, principalmente devido a existência da teoria da geração espontânea, muito aceita na época. Somente anos mais tarde, com estudos de diversos cientistas, como Pasteur e Koch, é que se passou a acreditar que as bactérias existiam e eram as responsáveis por ocasionar diversas doenças (SIMMONS, 1980).

Atualmente, acredita-se que as bactérias foram os primeiros organismos a aparecer na Terra, há quase 4 milhões de anos (BRAZIER, 2019). As bactérias não apresentam núcleo ligado à

membrana, nem outras estruturas internas, sendo assim classificadas como seres unicelulares procariotas. Esses seres apresentam capacidade metabólicas diferentes, de modo a serem capazes de utilizar compostos orgânicos e inorgânicos como fonte de alimento (ROGERS; KADNER, 2021). As bactérias podem ser classificadas, de acordo com diferentes parâmetros como: tipo; estrutura; alimentação; lugar onde habitam; entre outros (SIMMONS, 1980). Embora muitos desses organismos sejam benéficos, sendo utilizados em diversas áreas como na agricultura e no desenvolvimento de alimentos, algumas bactérias apresentam um grande risco à saúde de humanos, animais e plantas.

A necessidade de encontrar fármacos que fossem capazes de combater doenças causadas por bactérias, conduziu a ciência a uma de suas maiores descobertas, os antibióticos. O início da utilização dos antibióticos se deu em 1936, com a aplicação da sulfonamida. Contudo, o auge da terapia com antibióticos ocorreu em 1941 quando a penicilina, descoberta por Alexander Fleming em 1928, passou a ser produzida em larga escala (SOARES et al., 2012). A partir de então, os antibióticos passaram a ser usados de maneira desenfreada, de modo que as bactérias, que antes eram sensíveis a esses medicamentos, desenvolveram mecanismos de resistência. O mecanismo de combate à ação dos antibióticos, desenvolvido pelas bactérias, normalmente, envolve a produção de enzimas capazes de alterar a estrutura do fármaco, de modo a torná-lo inativo. Por conta disso, a ciência passou a buscar novas alternativas de fármacos que fossem capazes de atuar sobre essa classe de bactérias resistentes (ROGERS; KADNER, 2021).

Diante de tal contexto, diversas alternativas têm sido desenvolvidas na busca de novas drogas e terapias, incluindo o uso de compostos metálicos. Atualmente existem diversos estudos que utilizam compostos de rutênio, paládio e/ou cobre com intuito de desenvolver uma nova droga em potencial. Contudo, os complexos de Fe (III) têm surgido como alternativas vantajosas, pois os mesmos apresentam características específicas, a exemplo da capacidade de formar ligações com átomos doadores de elétrons (BEZERRA, 2016). Dessa forma, os complexos de Fe (III) passaram a ser alvo de estudo de diversos grupos de pesquisa, sendo possível encontrar na literatura trabalhos que apontam complexos de Fe (III) com atividade frente a bactérias como *E. coli*, *B. dysenteriae* e cepas de *Agrobacterium tumefaciens* (NAUREEN et al., 2021; ROCHA et al., 2011).

2 OBJETIVOS

Conhecendo-se a importância das drogas antraciclina no tratamento de pacientes com câncer e os efeitos colaterais causados pela interação desses compostos com íons Ferro presentes no organismo, é justificado o interesse em se investigar as características químicas dos complexos formados entre os grupos diidroxiquinona e os íons Fe^{3+} , com o intuito principal de entender o mecanismo de atuação dessas drogas e, buscar uma possível alternativa que não acarrete tantos efeitos colaterais.

Como objetivo principal da pesquisa tem-se a síntese de um composto de coordenação com centro metálico de Ferro e que contenha o ligante quinizarina como modelo dos grupos antraciclina. Como objetivos específicos, têm-se:

- Sintetizar o complexo binuclear $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$, onde cyclam = 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano e Qz = quinizarina);
- Caracterizar estruturalmente o complexo binuclear através das técnicas: Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), Espectroscopia vibracional na região do infravermelho, Voltametria cíclica, Mössbauer e Difração de Raios-X;
- Avaliar a capacidade de interação do complexo binuclear com DNA plasmidial, antes e após irradiação.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Os reagentes e solventes utilizados para a realização dos procedimentos experimentais estão listados na Tabela 1, bem como as suas respectivas procedências.

Tabela 1 - Procedência dos reagentes utilizados para a síntese e para os procedimentos experimentais.

Reagentes	Procedência
Acetona	Synth
Acetonitrila	Tedia
Metanol	Synth
Etanol	Synth
Hexafluorofosfato de amônio (NH ₄ PF ₆)	Sigma
Perclorato de tetrabutilamônio (PTBA)	Sigma
Dimetilsulfóxido (DMSO)	Synth
Octanol	Sigma
Difenilisobenzofurano (DPBF)	Sigma
Glutationa (GSH)	Sigma
[Ru(bpy) ₃]Cl ₂	Sigma

Fonte: A autora, 2022.

3.2 Sínteses

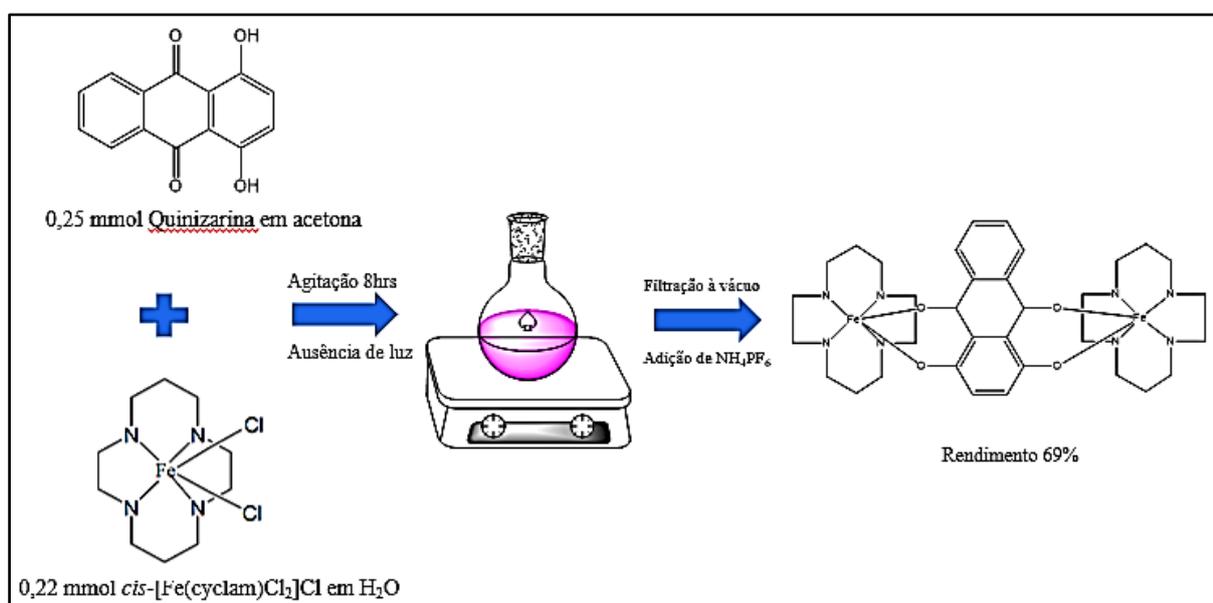
3.2.1 Síntese do complexo precursor *cis*- [Fe(cyclam)Cl₂]Cl

A síntese do complexo *cis*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl foi realizada a partir da dissolução de 300,0 mg (1,49 mmol) do ligante 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano (cyclam) em metanol seguida da adição de 200 mg (1,00 mmol) de FeCl₂· 4H₂O também dissolvido em metanol. Após 4 horas de aeração, adicionou-se 3 mL de HCl concentrado como agente precipitante. Após cerca de 30 minutos de agitação, recolheu-se um precipitado amarelo por meio de filtração à vácuo (HOLANDA et al., 2007).

3.2.2 Síntese do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$

O complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ foi sintetizado a partir da dissolução de 60 mg (0,25 mmol) de quinizarina em acetona. A mistura foi deixada sob agitação por cerca de 15 minutos. 80 mg (0,22 mmol) de *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ foram dissolvidos em H_2O e adicionados cuidadosamente à mistura sob agitação. O sistema foi deixado sob ausência de luz e agitação constante por, aproximadamente, 8 horas. Após esse período, realizou-se filtração à vácuo para a retirada do excesso de quinizarina presente na solução. Ao filtrado, adicionou-se uma solução aquosa concentrada de NH_4PF_6 como agente precipitante, sendo obtido um sólido de cor roxa que foi filtrado sob vácuo. Sendo obtido um rendimento de 69%.

Figura 12 - Esquema ilustrativo da síntese do complexo binuclear.



Fonte: A autora, 2022.

Análise Elementar: $[\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{ClF}_{18}\text{Fe}_2\text{N}_8\text{O}_4\text{P}_3]$: exp. (calc.) C, 33.50 (33.44); H, 4.41 (4.46); N, 9.26 (9.18)%.

3.3 Aparelhos e técnicas experimentais

3.3.1 Difração de raios-X

Os cristais do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ foram obtidos a partir de uma solução do mesmo em etanol/éter etílico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, à temperatura ambiente e na ausência de luz.

As análises estruturais dos compostos foram realizadas no Laboratório de Cristalografia Estrutural, do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará. O equipamento utilizado foi um difratômetro Bruker D8 VENTURE KAPPA, equipado com um detector de área PHOTON II CPAD, com radiação da linha $K\alpha$ do molibdênio (0,71073 Å) à temperatura de 25 °C. A estrutura foi resolvida por faseamento intrínseco usando SHELTX e refinada pelo método dos mínimos quadrados usando SHELXL no programa Olex2 (DOLOMANOV et al., 2009; SHELDRICK, 2015). Os programas MERCURY (versão 4.2) e ORTEP-3 foram usados para fornecer as representações e dados cristalográficos.

3.3.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros foram obtidos na forma de dispersão em pastilha de KBr, utilizando um espectrofotômetro de infravermelho com Transformada de Fourier FTIR da ABB Bomem FTLA 2000-102, com janela espectral de 4000 a 400 cm^{-1} .

3.3.3 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta e do visível foram obtidos através da utilização de espectrofotômetro Hewlett-Packard, modelo 8453 Diode-Array. As amostras foram analisadas utilizando cubeta de quartzo de caminho óptico 1,0 cm.

Os valores de absorvidade molar foram calculados através da aplicação da lei de Lambert-Beer, na qual foram realizadas medidas de absorbância das amostras em solução e em concentrações variadas, preparadas a partir de diferentes quantidades de amostra.

3.3.4 Medidas eletroquímicas

Os experimentos voltamétricos foram realizados utilizando-se um sistema eletroquímico potenciostato/galvanostato BAS EpsilonE2 818 à temperatura ambiente. Para a realização do experimento foi utilizada uma cela convencional de três eletrodos: platina, carbono vítreo e prata/cloreto de prata sendo estes, eletrodos auxiliar, de trabalho e de referência, respectivamente. As análises foram realizadas em meio orgânico e, para isso, utilizou-se como eletrólito suporte uma solução de perclorato de tetrabutylamônio (PTBA) 0,1 mol L^{-1} em acetonitrila. O padrão interno utilizado foi o Ferroceno, que apresenta $E_{1/2} = 0,42 \text{ V vs Ag/AgCl}$ (CONNELLY; GEIGER, 1996).

Para a determinação dos potenciais de meia onda ($E_{1/2}$), utilizou-se a Equação 1

Equação 1

$$E_{1/2} = \frac{E_a + E_c}{2},$$

em que E_a e E_c são os potenciais anódicos e catódicos, respectivamente.

3.3.5 Espectroeletróquímica

O complexo teve sua redução acompanhada através de espectros eletrônicos nas regiões do visível e infravermelho obtidos em um espectrofotômetro Varian, modelo Cary 5000 UV/Vis-NIR. Para a realização das análises utilizou-se um sistema composto por uma célula espectroeletróquímica, no caso específico foi usada uma cubeta do tipo OTTLE (*optically transparent thin-layer*), com caminho óptico de 0,1 cm. Os eletrodos utilizados foram:

- Eletrodo de trabalho: Malha fina de platina capaz de permitir a passagem do feixe luminoso;
- Eletrodo auxiliar: Platina;
- Eletrodo de referência: Prata/Cloreto de Prata.

As análises foram realizadas em meio orgânico e, para isso, utilizou-se como eletrólito suporte uma solução de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) 0,1 mol L⁻¹ em acetonitrila. A célula espectroeletróquímica foi acoplada ao Potenciostato 910 PSTAT mini (Metrohm Autolab), responsável pela aplicação do potencial no sistema.

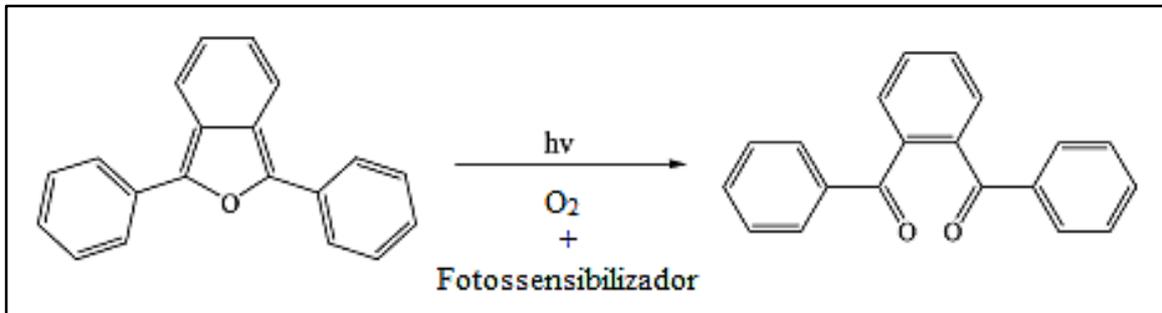
3.3.6 Mössbauer

Os espectros Mössbauer, analisados à temperatura ambiente, foram medidos no modo de transmissão usando uma fonte radioativa ⁵⁷Co (Rh), montada em um driver de velocidade, operando em modo senoidal. Os dados foram avaliados pelo ajuste de mínimos quadrados a uma série de subespectros discretos em forma de Lorentz por meio do pacote de *software* Normos.

3.3.7 Rendimento quântico de geração de oxigênio singlete (¹O₂)

Para a determinação do rendimento quântico de geração de oxigênio singlete foi utilizado um Fluorímetro Estacionário QM-40 (PTI). Essa determinação foi baseada na reação do difenilisobenzofurano (DPBF) com a espécie ¹O₂ (DING et al., 2006). A reação entre essas duas espécies se encontra representada na Figura 13.

Figura 13 - Esquema da reação do DPBF com oxigênio.



Fonte: Adaptado de DING et al., 2006.

No experimento em questão, foi utilizado o complexo $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ como padrão, cujo valor de rendimento quântico de geração de oxigênio singlete (1O_2) é igual a 0,87 em metanol (TANIELIAN; WOLFF; ESCH, 1996). Uma solução do complexo binuclear em metanol foi adicionada de uma solução de DPBF em metanol ($40\mu M$). O consumo de DPBF foi averiguado pela diminuição da banda de emissão ($\lambda_{exc} = 405\text{ nm}$, ${}^{ex}\lambda_{máx} = 475\text{ nm}$) em diversos tempos de irradiação. O valor de rendimento quântico de geração de 1O_2 foi determinado através da Equação 2:

$$\frac{k_a}{k_p} = \frac{a\Phi\Delta}{p\Phi\Delta}, \quad \text{Equação 2}$$

em que k^a e k^p são os valores dos coeficientes angulares das curvas cinéticas $\ln I/I_0$ vs tempo de irradiação da amostra e do padrão.

3.3.8 Lipofilicidade

A medida de lipofilicidade reflete a hidrofiliicidade/lipofilicidade de um composto. A lipofilicidade do composto binuclear foi analisada utilizando o procedimento descrito por Al Hageh, et al. (2018). Resumidamente, 1,5 mL de uma solução aquosa do complexo $[(Fe(cyclam))_2Qz]Cl(PF_6)_3$ ($2,0\text{ mol L}^{-1}$) foram adicionados a 1,5 mL de octanol e a mistura foi agitada durante 24 h em um termomisturador à temperatura ambiente e 1400 rpm. As amostras foram então submetidas a centrifugação a 4300 rpm durante 10 min para separar a fase aquosa da fase orgânica. A fase inferior (aquosa) foi aspirada por uma seringa de vidro. A desgaseificação através da fase de octanol foi feita para evitar a contaminação do octanol. A fase orgânica também foi coletada

e os espectros de absorção de UV-Vis em uma microcubeta foram usados para medir a concentração do composto em cada fase. Os valores de Log P foram calculados usando a seguinte Equação 3:

$$\text{Log P} = \text{Log} \frac{\text{Moctanol}}{\text{Mágua}}. \quad \text{Equação 3}$$

3.3.9 Clivagem de DNA

O estudo de clivagem de DNA foi realizado com o intuito de verificar a capacidade do complexo binuclear de Ferro de interagir/clivar o DNA. Esse procedimento foi realizado utilizando eletroforese com gel de agarose (0,8% p/v em tampão TAE, pH 8,0). O DNA utilizada foi o superenovelado plasmidial pBR322 (21 μ M pares de bases de nucleotídeos). Essa solução de DNA plasmidial foi combinada com o complexo [(Fe(cyclam))₂(Qz)](Cl)(PF₆)₃, com o precursor *cis*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl e com a quinizarina livre.

As amostras foram expostas à luz azul por 1 h, mantidas no escuro por 1 h, bem como algumas amostras foram misturadas com glutathione (10 mmol L⁻¹). Além disso, uma escada linear de DNA (1 kbp) foi aplicada na primeira pista de todos os géis. Controles de DNA plasmidial também foram usados sem qualquer tratamento (escuro), irradiados com luz azul ou misturados com glutathione. O complexo [Ru(bpy)₃]²⁺ (TBP) (30 μ mol L⁻¹) foi usado como controle para fotoclivagem do DNA, nas mesmas condições. Após a corrida das amostras em gel de agarose, estas foram coradas com GelRed (1 mg mL⁻¹, Biotium) por 30 min, e as imagens foram coletadas com o sistema Gel Doc XR+ (Biorad). Todas as irradiações de luz foram realizadas usando um LED azul Basetech Conrand, 1,7 W ($\lambda_{\text{max}} = 463$ nm).

3.3.10 Viabilidade Celular (Atividade Citotóxica)

Os estudos de citotoxicidade foram realizados utilizando células de adenocarcinoma de pulmão humano (A549; CCL-185s), carcinoma de próstata humano (LNCaP clone FGC; CRL-1740t) e fibroblastos normais (L929; CCL-1) linhas celulares de ATCCs (American Type Culture Collection, EUA adquiridas da Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ).

As células foram mantidas em frascos T-25 contendo meio DMEM (L929 e A549) ou meio RPMI (LNCaP), ambos suplementados com 10% de soro fetal bovino (FBS), 1% de L-glutamina, 100 U mL⁻¹ de penicilina e 100 mg mL⁻¹ de estreptomicina, a 37 °C, em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. O meio de cultura foi trocado rotineiramente a cada 3 dias ou quando a confluência atingiu ca. 85%, e então as células foram tratadas com tripsina (0,025%

tripsina/0,1% EDTA) e subcultivadas ou usadas para o ensaio de citotoxicidade (OLIVEIRA, *et al.*, 2020).

A fim de investigar o efeito da quinizarina, *cis*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl e [(Fe(cyclam))₂(Qz)]Cl(PF₆)₃ na viabilidade celular, o ensaio MTS foi realizado como anteriormente descrito na literatura (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Após tripsinização de frascos T-25, as células (1,0 x 10⁴/200 µL por poço) foram semeadas em placas de fundo plano de 96 poços. Diferentes concentrações dos compostos testados (100 – 1,58 µg mL⁻¹) foram dissolvidas em DMSO e então adicionadas aos poços. Em seguida, essas placas foram submetidas à irradiação com LED azul por 1 h e, em seguida, incubadas a 37 °C por 48 h em incubadora de CO₂ a 5%. Placas controle ou placas escuras foram preparadas e incubadas nas mesmas condições, mas não foram irradiadas com o LED azul. Após 48 h, todo o meio de cultura foi removido e substituído por meio de cultura não suplementado (DMEM ou RPMI) contendo o sal [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio] (MTS). Um ensaio MTS foi realizado em todas as linhagens celulares em que a densidade óptica foi medida a 490 nm em um leitor de microplacas (SpectraMax i3 Multi-Mode Microplate Reader). Todos os ensaios foram realizados de forma independente e em triplicata, sendo a viabilidade celular calculada usando a equação 4:

$$\text{Viabilidade Celular (\%)} = \frac{\overline{\text{DO}}_{490 \text{ nm}}(\text{Composto})}{\overline{\text{DO}}_{490 \text{ nm}}(\text{Controle})} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

em que $\overline{\text{DO}}$ é a densidade óptica média do composto e do controle medidas a 490 nm.

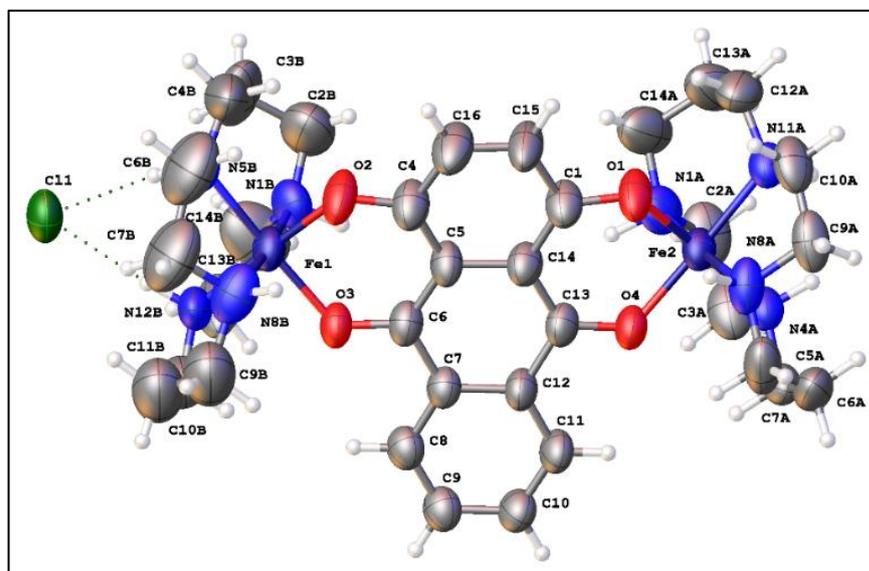
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$

4.1.1. Difração de raios-X

Cristais foram obtidos através da evaporação lenta de uma solução de metanol/éter etílico do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$. A estrutura cristalina do composto foi então elucidada através da difração de raios X de um monocristal. A estrutura ORTEP é apresentada na Figura 14. Os parâmetros cristalográficos de refinamento e os principais valores de distâncias [Å] e ângulos [°] encontram-se listados nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Figura 14 - Estrutura ORTEP do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3^*$.



* Os contra íons (PF_6^-) foram omitidos para melhor visualização da estrutura.

Fonte: A autora, 2022.

A partir da estrutura cristalográfica (Figura 14) é possível observar que a reação entre o precursor *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ e o ligante quinizarina levou à formação de um complexo binuclear de Ferro. Ambos os centros metálicos apresentam geometria octaédrica distorcida, tendo as posições equatoriais ocupadas pelos átomos de oxigênio do ligante quinizarina e pelos átomos de nitrogênio pertencentes ao grupo cyclam. Além disso, observa-se que as geometrias dos dois átomos de Ferro são bastante semelhantes. A coordenação do centro metálico com o ligante quinizarina faz com que o cyclam passe a ter uma configuração não plana.

Tabela 2 - Dados cristalográficos de refinamento da estrutura do complexo de forma geral [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃.

Fórmula empírica	C₃₄H₅₁ClF₁₈Fe₂N₈O₄P₃
Peso molecular	1220,91
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c
Temperatura/K	150
Tamanho do cristal/mm³	0,10 x 0,13 x 0,16
a/Å	16,0603(5)
b/Å	16,6212(6)
c/Å	17,6984(7)
α/°	90°
β/°	92,069(2)°
γ/°	90°
Volume/ Å³	4721.4(3)
Z	4
Coefficiente de absorção/ mm⁻¹	7,501
F(000)	2488
Reflexões coletadas	63999
Reflexões independentes	8661 [<i>R</i> _{int} = 0,1206, <i>R</i> _{sigma} =
	0,0701]
Qualidade de ajuste em F²	1,053
Índices R final [<i>I</i> ≥ 2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0,0856, <i>wR</i> ₂ = 0,2747
Índices R (todos os dados)	0,1316
CCDC	2005420

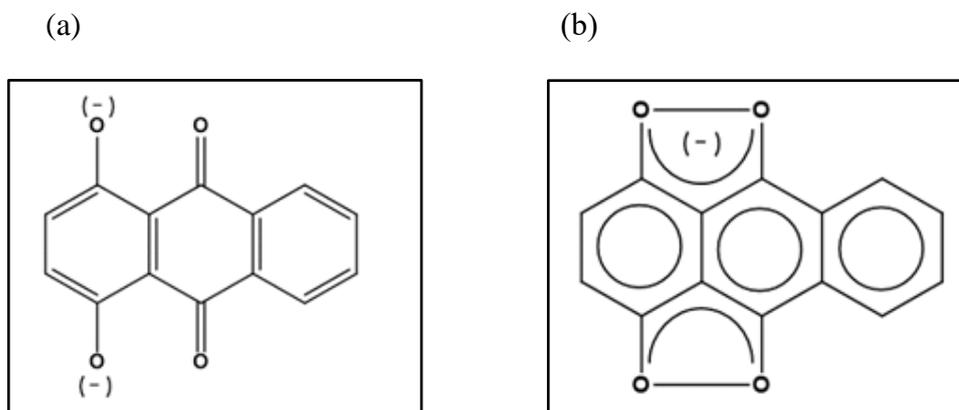
Fonte: A autora, 2022.

Tabela 3 - Comprimentos de ligação [Å] e valores de ângulos [°] selecionados para o complexo de fórmula geral [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃.

Comprimento de ligação (Å)		Ângulo de ligação (°)		Fonte: A autora, 2022.
Fe1-O2	1,858(5)	O2 Fe1 O3	90,8(2)	
Fe1-O3	1,905(4)	O2 Fe1 N1B	94,5(3)	
Fe2-O1	1,859(5)	O2 Fe1 N5B	85,6(3)	
Fe2-O4	1,910(5)	O2 Fe1 N8B	90,3(3)	
Fe1 - N1B	1,986(7)	O2 Fe1 N12B	177,4(3)	
Fe1-N5B	2,009(7)	O3 Fe1 N1B	95,9(3)	
Fe1-N8B	2,007(7)	O3 Fe1 N5B	176,1(3)	
Fe1-N12B	2,005(7)	O3 Fe1 N8B	92,5(3)	
Fe2-N1A	1,999(7)	O3 Fe1 N12B	86,7(2)	
Fe2-N4A	2,004(6)	O1 Fe2 O4	91,2(2)	
Fe2-N8A	1,972(6)	O1 Fe2 N1A	93,3(3)	
Fe2-N11A	2,010(6)	O1 Fe2 N4A	177,5(2)	
O2-C4	1,317(8)	O1 Fe2 N8A	90,0(3)	
O1-C1	1,320(8)	O1 Fe2 N11A	85,3(2)	
O3-C6	1,285(7)	O4 Fe2 N1A	89,9(2)	
O4-C13	1,281(7)	O4 Fe2 N4A	87,1(2)	
		O4 Fe2 N8A	93,9(2)	

Da Tabela 3, tem-se que os comprimentos de ligação O2 – C4 e O3 – C6 são, respectivamente, 1,317 e 1,285 Å. Para O1 – C1 e O4 – C13 temos, respectivamente, os comprimentos de ligação 1,320 e 1,281 Å. Esses resultados indicam que a diidroquinona se liga ao centro metálico na forma de tautômero ceto-enólico (estrutura apresentada na Figura 15b), pois embora os valores dos comprimentos de ligação C-O não sejam exatamente iguais, a diferença entre eles é pequena, podendo, assim, admitir que as ligações apresentam mesmo comprimento.

Figura 15 - Estrutura do ligante Quinizarina na forma de base conjugada (a) e tautômero ceto – enólico (b).



Fonte: Adaptado de ROBINSON; EARLEY, 1993.

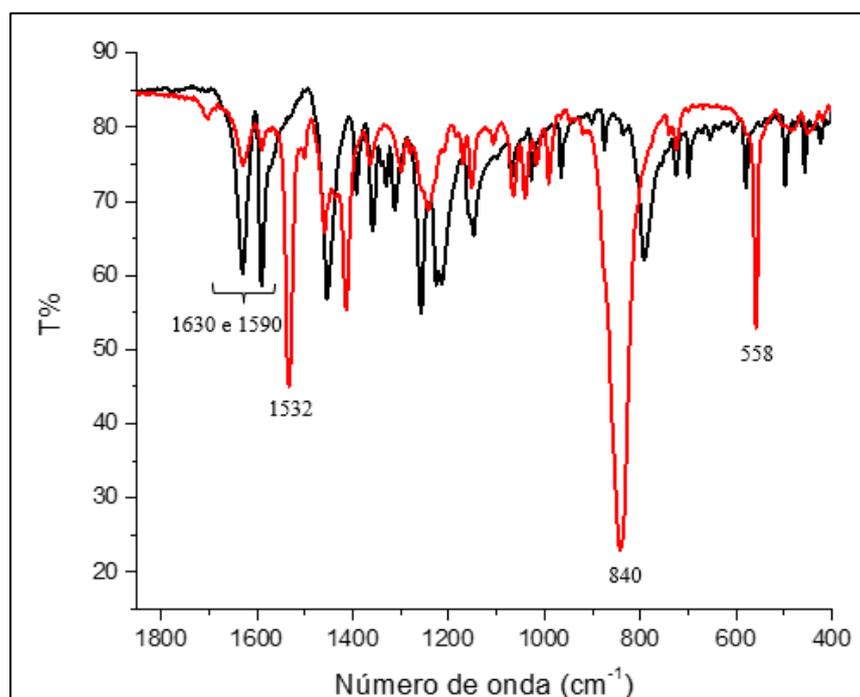
De maneira similar, Ghumaan et al. (2006) reportam que em complexos binucleares de rutênio com os ligantes ponte 2,3-dicloro-5,8-dioxido-1,4-naftoquinona e 1,4-dioxido-9,10-antraquinona, as duas distâncias C-O são similares nos ligantes em ponte, indicando a coordenação desses ligantes na forma ceto-enólica, como mostrado na Figura 15b. Resultados semelhantes foram, também, obtidos para outros compostos contendo como ligante em ponte diferentes tipos de diidroxiquinonas (KAR et al., 2005; KAMATCHI et al., 2017; MAJI et al., 2008).

Qin et al (2017) reportam, ainda, que a similaridade das distâncias FeIII-O encontradas para o composto $[\text{Fe}(\text{6-hydroxyloxoisoaporphine})_2\text{CH}_3\text{OH}]\text{Cl}$ são consistentes com a interação do ligante ponte na forma ceto-enólica. Resultados similares foram encontrados também na descrição da estrutura cristalina do composto binuclear $[\text{Fe}(\text{salen})_2\text{Qz}]$ (MARONEY et al., 1989). A presença de um contra íon Cl^- e três PF_6^- (omitidos na Figura 14, mas mostrados na Tabela 3) dão o correto balanço de cargas para a estrutura do composto. Consequentemente, ambos os centros metálicos devem estar presentes no estado oxidado (Fe^{3+}).

4.1.2. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A análise do espectro vibracional na região do infravermelho contribui para a sustentação da teoria sobre a forma de ligação da quinizarina ao metal. Os espectros obtidos para o ligante livre e para o complexo binuclear estão evidenciados a seguir (Figura 16).

Figura 16 - Espectros vibracionais na região do infravermelho para a quinizarina (em preto) e para o complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ (em vermelho) em pastilhas de KBr.



Fonte: A autora, 2022.

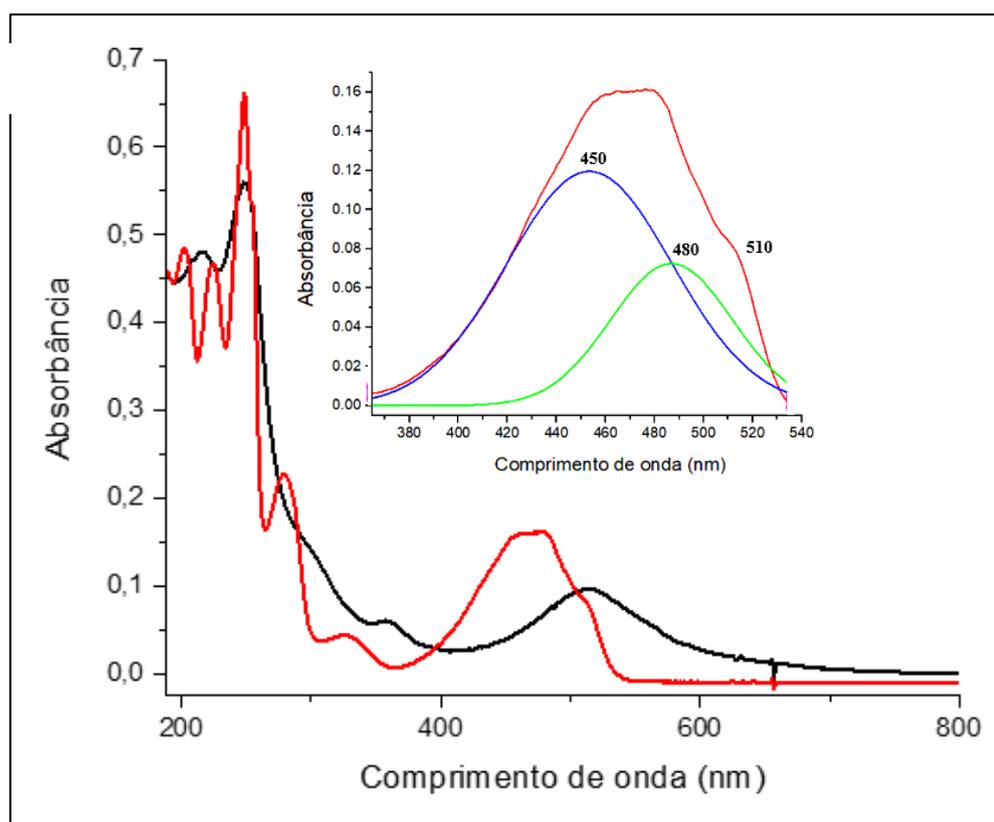
Através do espectro obtido (Figura 16) é possível observar a presença de duas bandas de absorção referente ao $\nu(\text{C}=\text{O})$, no espectro da quinizarina livre, localizadas em 1590 e 1630 cm^{-1} . Essas bandas sofreram um pequeno deslocamento no espectro do complexo bimetálico. Esse deslocamento para frequências mais baixas é típico de quinonas complexadas (SALMONSEN et al., 1984; MERRELL, 1979).

Analisando o espectro do complexo binuclear é possível observar a existência de uma banda localizada em 1532 cm^{-1} que foi atribuída ao processo de respiração do anel aromático, oriundo da presença do ligante quinizarina. Observou-se ainda que não há existência de banda larga em 3354 cm^{-1} , banda essa atribuída à vibração $\nu(\text{OH})$, indicando a desprotonação deste grupo e apoiando a ideia de que a quinizarina encontra-se ligada ao Ferro através dos átomos de oxigênio do grupo carbonila. Além disso, verificou-se a presença de bandas na região de 1460 – 1410 cm^{-1} , que são características do ligante cyclam, sendo atribuídas a νCH e νCN (HOLANDA et al., 2007; CARVALHO, 2015). Foram observadas também bandas em 840 e 558 cm^{-1} atribuídas ao PF_6^- , de modo a confirmar a presença desse contra íon (LOGACHEVA et al., 2009; DE SOUSA et al., 2020).

4.1.3. Espectroscopia eletrônica na região UV-visível

Os espectros eletrônicos na região do UV-Visível para o complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ e para o ligante quinizarina obtidos em acetonitrila são mostrados na Figura 17.

Figura 17 – Espectros eletrônicos na região do UV-Visível do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ e do ligante quinizarina livre.



Legenda: Figura (a) – Linha preta corresponde ao espectro eletrônico do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$; linha vermelha corresponde ao espectro eletrônico da quinizarina livre. Figura (b) - Linha azul corresponde ao espectro eletrônico do tautômero I; Linha verde corresponde ao espectro eletrônico do tautômero III; Linha vermelha corresponde ao espectro eletrônico do tautômero II.

Fonte: A autora, 2022.

Analisando, inicialmente, o espectro da quinizarina livre (Figura 17a, linha vermelha) observa-se a presença de bandas de absorção intensa na região de 248 nm e 278 nm que podem ser atribuídas a transições intraligantes $\pi^* \leftarrow \pi$ do ligante quinizarina (BARRETO et al., 2006; ROBINSON; EARLEY, 1993). A banda localizada em 248 nm permaneceu, essencialmente, inalterada após a complexação, sendo possível observá-la no espectro do binuclear (Figura 17a, linha preta). O espectro da quinizarina apresenta, ainda, uma banda localizada em 326 nm, que também foi

atribuída a transições do tipo intraligantes (ROBINSON; EARLEY, 1993). Essa banda, sofreu um pequeno deslocamento após a complexação, sendo observada na região de 360 nm no espectro do $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$.

O espectro do ligante livre apresenta, ainda, uma banda larga na região do visível que se estende de 400 a 530 nm. Na realidade, podemos observar claramente que essa banda é o resultado de 3 transições com máximos em 450, 480 e 510 nm. De acordo com Fain, Zaitsev e Ryabov (2003) essas bandas podem ser atribuídas aos tautômeros relacionados na Figura 16b. Cada tautômero é caracterizado por transições π - π^* com diferentes energias. A banda em 450 nm é atribuído ao tautômero I, a banda em 480 nm ao tautômero III e a banda em 510 nm ao tautômero II (as estruturas dos tautômeros previamente apresentadas na Figura 7).

Fain, Zaitsev e Ryabov (2003) citam que essas bandas aparecem no espectro eletrônico da quinizarina dissolvida em etanol em 480, 498 e 512 nm. Porém, eles também mencionam que a energia dessas transições depende da natureza do solvente e da temperatura do experimento, justificando os diferentes valores obtidos neste estudo com a quinizarina dissolvida em acetonitrila. É importante mencionar que essas bandas não aparecem no espectro eletrônico do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ (Figura 16a, linha preta).

O espectro do complexo binuclear apresenta, na região do visível, uma nova transição em 517 nm atribuída à transferência de carga do ligante para o metal (LMCT, do inglês *Ligand-to-Metal Charge Transfer*) do tipo $d\pi\text{Fe}^{\text{III}} \leftarrow \pi^*$ (Qz) (SAFAEI, *et al.*, 2018). Estudos de solvatocromismo, resumidamente apresentados na Tabela 4, foram realizados com intuito de se certificar se essa banda na região do visível trata-se, realmente, de uma transferência de carga. O solvatocromismo é um processo que ocorre em virtude da mudança na posição, ocasionalmente na intensidade, de uma banda de absorção, em função de mudanças na polaridade do solvente (MOREIRA, 1990) e a dependência da energia dessa transição com a natureza do solvente permite atribuí-la como uma banda de transferência de carga.

Tabela 4 - Relação solvente e comprimento de onda da banda na região do visível do complexo binuclear.

Solvatocromismo	
Solvente	Banda (nm)
Acetonitrila	514,02
Água	515,57
Metanol	509,05
DMSO	512,00
Acetona	513,91
Clorofórmio	485,04
Diclorometano	484,65

Fonte: A autora, 2022.

A Tabela 5 apresenta os valores de Coeficiente de extinção molar (ϵ) para as bandas do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ e para o ligante quinizarina em acetonitrila, bem como as atribuições de cada banda. Na Tabela 5 são apresentados os valores de $\lambda_{\text{máximo}}$ em diferentes solventes para a banda atribuída como LMCT ($d\pi\text{Fe}^{\text{III}} \leftarrow \pi^*(\text{Qz})$). Observa-se, claramente, a ocorrência de um deslocamento solvatocrômico confirmando, portanto, a atribuição da banda na região do visível como uma banda de transferência de carga ligante-metal.

Tabela 5 - Dados do UV-Visível para o complexo [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃ em acetonitrila.

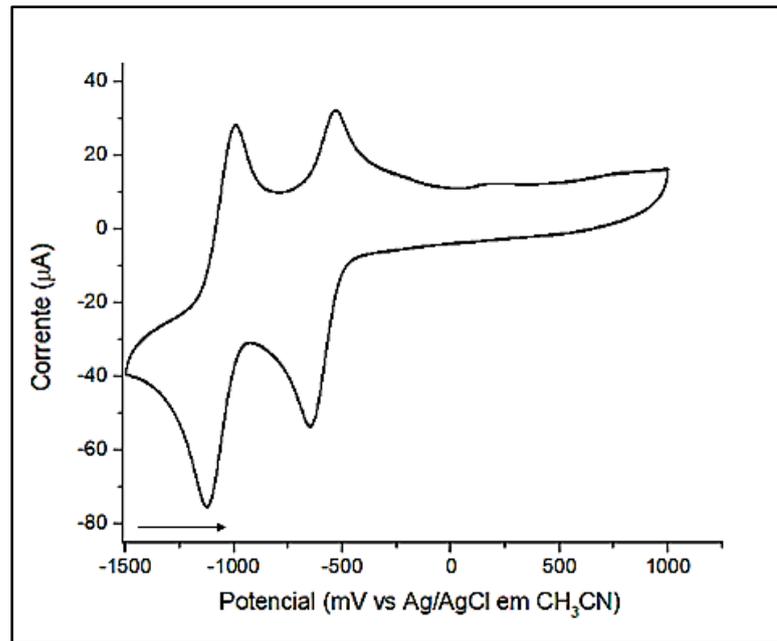
Complexo	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ L cm ⁻¹)	Atribuição
[(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃	214	4,3 x 10 ⁴	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)
	248	4,9 x 10 ⁴	IL(π^* (QZ) \leftarrow π)
	360	8,0 x 10 ³	IL(π^* (QZ) \leftarrow π)
	517	7,8 x 10 ³	LMCT (d π Fe ^{III} \leftarrow π^* (Qz))
Quinizarina	201	2,5 x 10 ⁴	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)
	222	2,7 x 10 ⁴	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)
	248	3,5 x 10 ⁴	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)
	278	1,2 x 10 ⁴	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)
	326	2,5 x 10 ³	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)
	450	9,3 x 10 ³	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)
	480	9,7 x 10 ³	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)
	510	5,4 x 10 ³	IL (π^* (QZ) \leftarrow π)

Fonte: A autora, 2022.

4.1.4. Medidas eletroquímicas

O voltamograma cíclico para o ligante quinizarina livre está evidenciado na Figura 18.

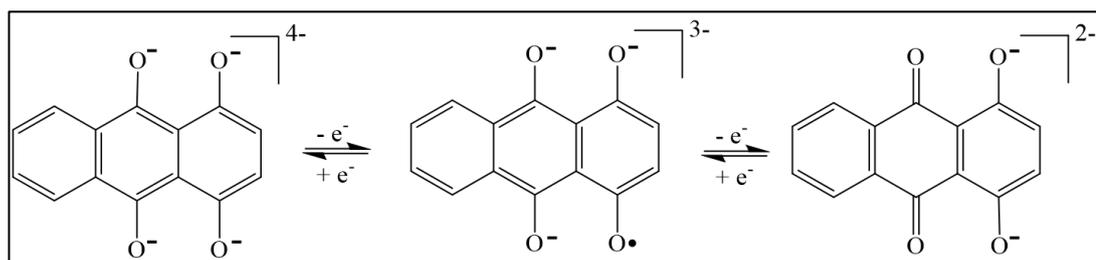
Figura 18 - Voltamograma cíclico do ligante Quinizarina livre em acetonitrila.



Fonte: A autora, 2022.

Analisando a Figura 17, é possível observar a existência de dois processos redox com valores de $E_{1/2} = -590$ e -1.059 mV. Esses valores de potenciais são compatíveis com os relatados na literatura para os processos reversíveis de conversão quinona (Qz^{2-}) / semiquinona (Qz^{3-}) e semiquinona (Qz^{3-}) / catecol (Qz^{4-}) do ligante quinizarina, respectivamente (SADLER; GORDON, 1991; ASHNAGAR et al., 1984). A Figura 19 mostra esses diferentes estados de oxidação para o ligante quinizarina.

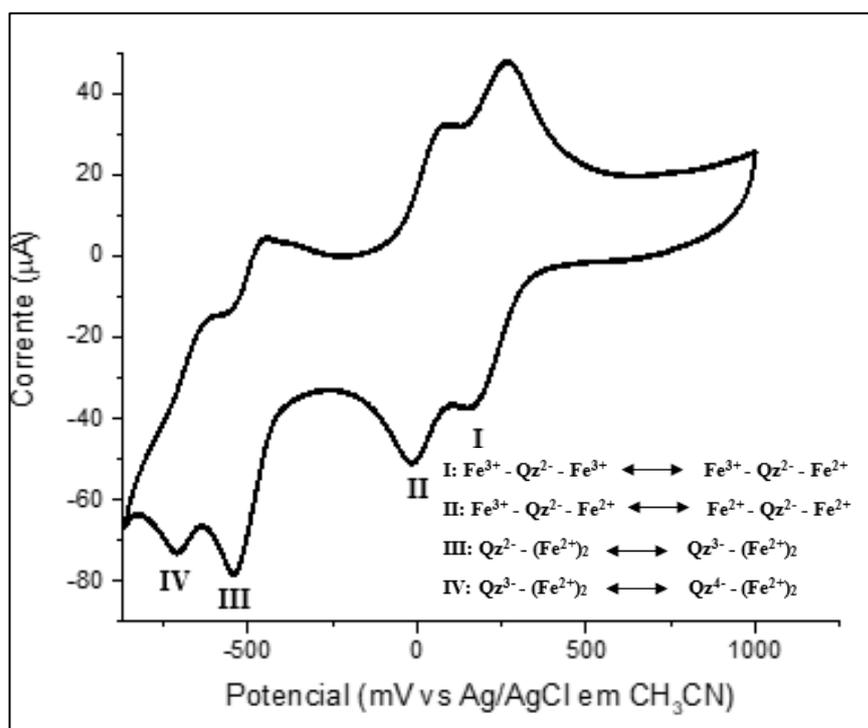
Figura 19 - Estados de oxidação da quinizarina.



Fonte: A autora, 2022.

A Figura 20, por sua vez, apresenta o voltamograma cíclico do complexo $[(Fe(cyclam))_2Qz]Cl(PF_6)_3$. Nesta imagem é possível observar a presença de dois processos de redução localizados em regiões positivas (entre 0 e 1.000 mV), além de dois processos na região negativa (entre -1.000 e 0 mV).

Figura 20 - Voltamograma cíclico do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ em acetonitrila $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PTBA.



Fonte: A autora, 2022.

A presença de quatro pares de processos redox explica-se por ambas as espécies (íons metálicos e o ligante quinizarina) apresentarem processos de oxirredução em diferentes valores de potenciais. Assim, os processos observados na região do voltamograma entre 0 e -1.000 mV podem ser relacionados a reduções da quinizarina coordenada, já que os valores se encontram na mesma região dos processos observados para quinizarina livre, porém deslocados. Vale ressaltar que esses processos também são reversíveis. Assim, teremos, primeiramente, com o $E_{\text{red}} = -538 \text{ mV}$ representando a redução do ligante coordenado da forma de quinona ($\text{Qz}^{2-}\text{-(Fe}^{2+})_2$) para semi-quinona ($\text{Qz}^{3-}\text{-(Fe}^{2+})_2$) e depois uma segunda redução ($E_{\text{red}} = -728 \text{ mV}$) do ligante da forma semi-quinona ($\text{Qz}^{3-}\text{-(Fe}^{2+})_2$) para catecol ($\text{Qz}^{4-}\text{-(Fe}^{2+})_2$). Podemos observar um deslocamento anódico dos valores de E_{red} para os processos da quinizarina coordenada em relação à quinizarina livre ($E_{\text{red}} = -646 \text{ mV}$ e -1.123 mV), indicando uma maior facilidade do ligante coordenado ser reduzido. Isso pode ser explicado pelo fato de, com a coordenação, a quinizarina passar a doar elétrons para o Ferro, ficando mais deficiente em elétrons e com maior propensão a ser reduzida. É importante mencionar que, nesse potencial, ambos os centros metálicos se encontram na forma reduzida (Fe^{2+}).

No voltamograma cíclico do complexo (Figura 20) também é possível observar dois outros processos reversíveis em regiões mais positivas (entre 0 e 1.000 mV), que não são evidenciados

no voltamograma do ligante Qz livre. Essas ondas em maior potencial são, portanto, atribuídas às reduções sucessivas dos centros metálicos. O primeiro processo de redução em 159 mV ($E_{1/2} = 156$ mV) leva à formação da espécie de valência mista $Fe^{3+}-Qz^{2-}-Fe^{2+}$. Em seguida, uma outra redução em -17 mV ($E_{1/2} = -23,78$ mV) leva à formação da espécie $Fe^{2+}-Qz^{2-}-Fe^{2+}$.

A ocorrência de dois processos distintos de oxidação/redução para os centros metálicos é um indicativo da ocorrência de comunicação eletrônica entre os dois átomos de Ferro. Se a comunicação eletrônica não existisse, seria visualizado apenas um único processo eletroquímico para Fe^{3+}/Fe^{2+} . Os dois processos redox dos metais foram utilizados para calcular a constante de comproporcionamento (K_c). Para o sistema binuclear em questão, o valor de K_c foi calculado a partir da seguinte Equação 5:

$$\text{Log } K_c = 16,9 (E_{1/2}^1 - E_{1/2}^2), \quad \text{Equação 5}$$

em que, $E_{1/2}^1$ é referente ao primeiro processo de oxirredução que ocorre em valores mais altos de potencial e $E_{1/2}^2$ é referente ao segundo processo de oxirredução que ocorre em valores mais baixos de potencial. Ambos os valores são obtidos a 25°C e calculados em Volts (RICHARDSON; TAUBE, 1981; ROCHA; TOMA, 2002).

A partir da equação 5, obteve-se um valor de $\log K_c$ igual a 3,02, e, conseqüentemente, um valor de comproporcionamento de aproximadamente 1.000. Tal valor indica que o sistema estudado apresenta comunicação eletrônica, ou seja, os dois centros metálicos de Ferro são capazes de se comunicar através do ligante ponte (ROCHA; TOMA, 2002; CREUTZ, 1983).

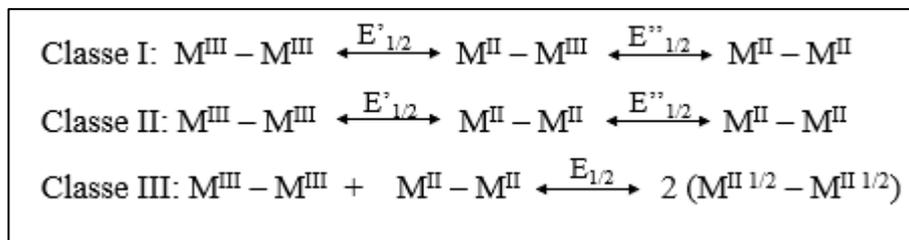
Robin e Day (1968) propuseram um sistema de classificação para compostos binucleares de valência mista. De acordo com os autores, acima citados, os sistemas de valência mista podem ser agrupados em três grupos distintos. São eles: Sistemas de Classe I; Sistemas de Classe II e Sistemas de Classe III. Esses sistemas podem ser definidos da seguinte maneira:

- Classe I: Essa classe de compostos apresenta fraca interação entre os centros metálicos, de modo que, o sistema de valência mista exibe, apenas, propriedades individuais de cada um dos seus componentes isolados. Compostos que apresentam cadeias carbônicas saturadas como ligante ponte ou longas distâncias entre os sítios metálicos são exemplos de sistemas de Classe I;
- Classe II: Os compostos de classe II apresentam acoplamento eletrônico fraco, isso faz com que ocorra alterações nas características originais dos centros redox, assim, o sistema de valência mista tende a apresentar propriedades diferentes das espécies isoladas.

- Classe III: Os compostos de classe III apresentam interação eletrônica bastante intensa, de modo que, o sistema passa a apresentar propriedades completamente diferentes daquelas exibidas por seus componentes isolados. O sistema de classe III difere da classe II, principalmente, pelo fato de que, no sistema de classe II, as características dos componentes isolados são levemente modificados, enquanto no sistema de classe III, essas características são completamente modificadas.

A Figura 21, a seguir, traz um esquema de representação dos processos de oxirredução das três classes de sistemas.

Figura 21 - Esquema de oxirredução de sistemas de Classe I, Classe II e Classe III.



Fonte: Adaptado de SANTIAGO, 1998.

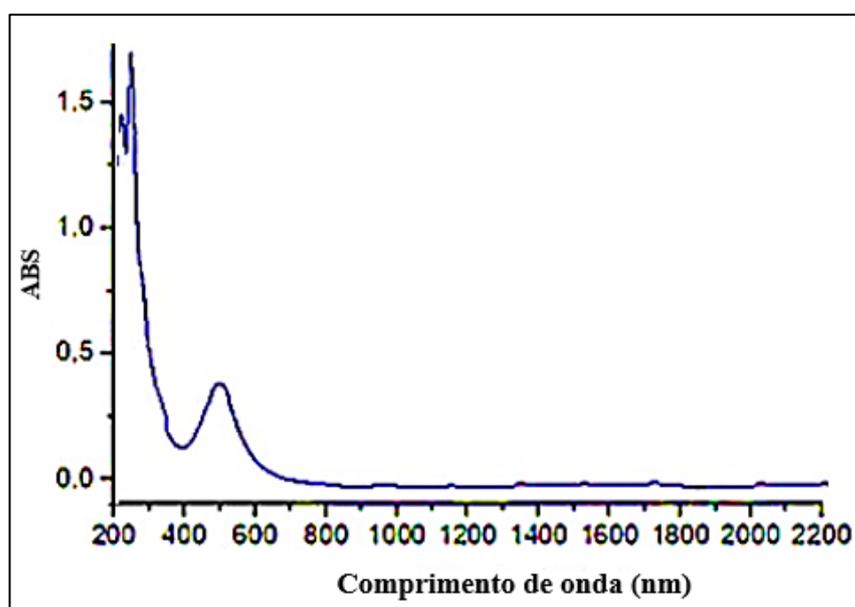
O complexo $[(Fe(cyclam))_2Qz]Cl(PF_6)_3$ apresentou valor de K_c na ordem de 10^3 . Os valores da constante de comproporcionamento estão diretamente ligados ao grau de comunicação eletrônica, de modo que, quanto maior o K_c , maior a comunicação existente entre os centros metálicos. Os compostos de classe II, normalmente, apresentam valores de K_c relativamente baixos e pequenos valores de ΔE . Contudo, existem sistemas de classe III que apresentam valores de ΔE pequenos (ROCHA; TOMA, 2002). Os valores de K_c podem variar da seguinte maneira: $K_c = 4$ para sistema fracamente acoplados (classe II) até $K_c > 10^{13}$ (CREUTZ, 1983). Dembinski et al.(2000) menciona, ainda, uma dependência do K_c com o tamanho da cadeia carbônica presente no ligante ponte, de modo que, quanto maior a cadeia carbônica, menor será o valor de K_c .

O valor da constante de comproporcionamento encontrada para o sistema em questão pode ser classificado como um valor intermediário. Fazendo a análise do voltamograma esquematizado na Figura 20, se observa a presença de dois processos referentes aos centros metálicos de Ferro, atribuídos aos processos redox sofrido por cada centro metálico. Além disso, em análise conjunta com o esquema apresentado na Figura 21, acredita-se que o complexo $[(Fe(cyclam))_2Qz]Cl(PF_6)_3$ possa ser classificado como sistema de Classe II.

4.1.5 Espectroeletróquímica

Com o intuito de promover uma melhor verificação dos processos redox envolvidos no sistema binuclear proposto, realizou-se o experimento de espectroeletróquímica em acetonitrila com acompanhamento na região UV/Vis/Infravermelho próximo. Primeiramente, realizou-se a leitura do espectro eletrônico em acetonitrila do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$, na região de 200 a 2.000 nm (Figura 22).

Figura 22 - Espectro eletrônico do composto $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PTBA em acetonitrila.



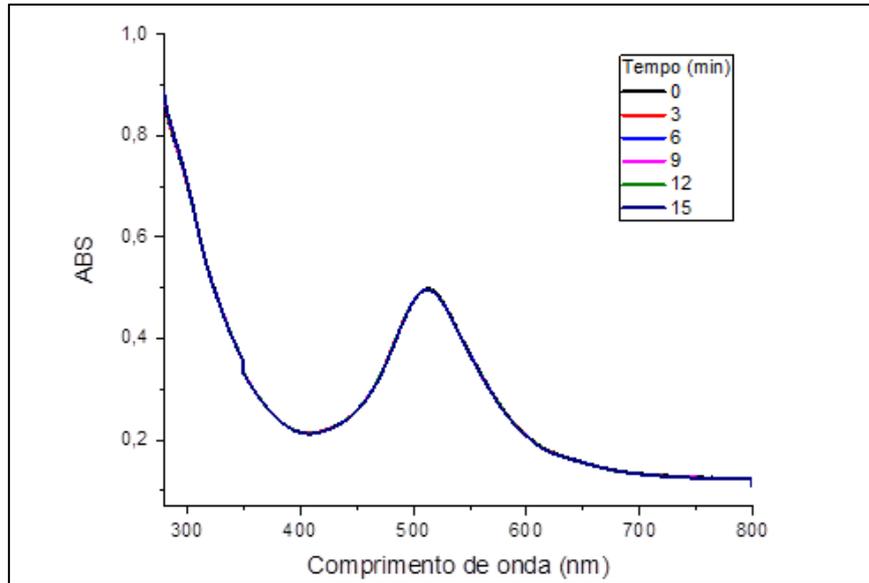
Fonte: A autora, 2022.

Compostos de valência mista, os quais apresentam centros metálicos em estados de oxidação diferentes, normalmente exibem uma banda de transferência de carga de intervalência (IVCT, do inglês *Interval Charge Transfer*) (ROCHA; TOMA, 2002). Segundo Rocha e Toma (2002), os complexos de valência mista simétrico apresentam IVCT localizada na região do infravermelho próximo (de 1.000 a 2.000 nm). Analisando a Figura 22, observa-se a presença de uma única banda, na região de 500 nm. A ausência da banda de intervalência corrobora com o resultado obtido através da difração de raios-X que apontava os dois centros metálicos com o mesmo estado de oxidação, +3.

Realizou-se também uma espectroeletróquímica, com aplicação de potencial positivo (+1.000 mV), com o intuito de verificar uma possível modificação no espectro eletrônico (Figura 23). Contudo, após 15 minutos de aplicação de potencial, não foi observada nenhuma mudança espectral. Tal fato, também serviu como mais um indicativo que os dois centros metálicos de Ferro se

encontravam no estado mais oxidado, bem como o ligante quinizarina também se encontra na forma totalmente oxidada.

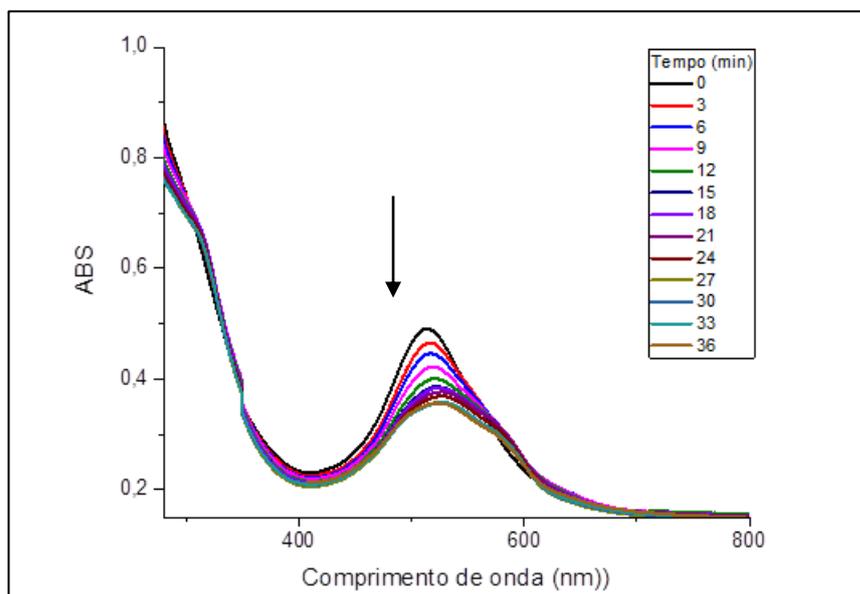
Figura 23 - Espectroeletróquímica UV/Vis/Infravermelho do $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ com aplicação de potencial positivo (+1.000 mV) em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ PTBA em acetonitrila.



Fonte: A autora, 2022.

Além da aplicação de potencial positivo, também foi realizada a aplicação de potencial negativo (-1.000 mV) por um período de 36 minutos, nas mesmas condições mencionadas anteriormente. A Figura 24 apresenta o resultado obtido.

Figura 24 - Espectroeletróquímica UV/Vis/Infravermelho do $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ com aplicação de potencial negativo (-1.000 mV) em acetonitrila 0,1 mol L⁻¹ PTBA.



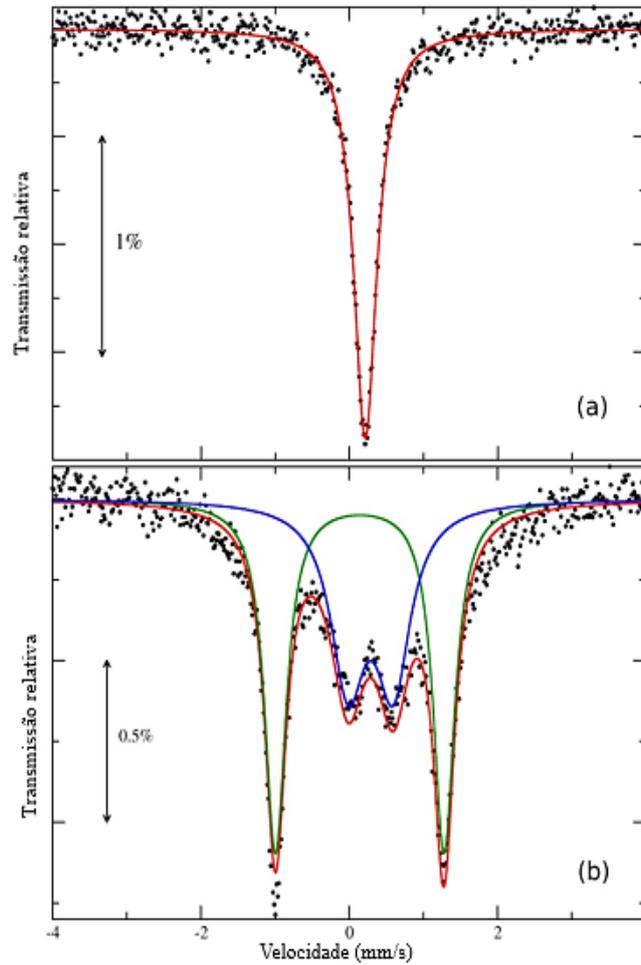
Fonte: A autora, 2022.

Analisando a Figura 24, observa-se que à medida que o potencial de -1.000 mV é aplicado, ocorre uma diminuição da banda localizada em 500 nm. Essa banda havia sido atribuída como LMCT através do estudo de solvatocromismo, mostrado na Tabela 5. De acordo com Santiago (1998), a energia da banda LMCT diminui à medida que o ligante é oxidado e o centro metálico é reduzido. Desse modo, o resultado obtido na espectroeletróquímica com aplicação de potencial negativo (Figura 24), se mostra coerente com a atribuição dessa banda como transferência de carga do ligante para o metal.

4.1.6 Mössbauer

O composto binuclear foi analisado por espectroscopia Mössbauer e comparado com o complexo precursor *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$. A Figura 25 mostra os espectros de Mössbauer do complexo precursor *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ e do complexo binuclear $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$.

Figura 25 - Espectros de Mössbauer do (a) complexo precursor *cis*- [Fe(cyclam)Cl₂]Cl (b) complexo binuclear [(Fe(cyclam))₂QZ]Cl(PF₆)₃.



Legenda: espectro a: pontos pretos: dados experimentais; linha vermelha: melhor ajuste dos dados. espectro b: pontos pretos: dados experimentais; linhas verdes e azuis: subspectro de Fe³⁺ em sítios octaédricos; linha vermelha: melhor ajuste aos dados, soma das linhas verdes e azuis.

Fonte: A autora, 2022.

Os parâmetros hiperfinos são mostrados na Tabela 6, onde o deslocamento isomérico (δ) pode ser usado para determinar os estados de valência, enquanto o desdobramento quadrupolar (Δ) é uma medida aproximada da distribuição de carga em torno do sítio de Fe.

Tabela 6 - Parâmetros hiperfinos para espectros de Mössbauer do complexo precursor *cis*- [Fe(cyclam)Cl₂]Cl e complexo binuclear [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃. Incertezas menores que 0,1 mm s⁻¹ (δ , Δ , Γ) e 1% (área).

Amostra	Subespectro	δ / mm s ⁻¹	Δ / mm s ⁻¹	Γ / mm s ⁻¹	Área / %
<i>cis</i> -[Fe(cyclam)Cl ₂]Cl	Singleto	0,32	-	0,38	100
<i>trans</i> - [Fe(cyclam)Cl ₂]Cl	Dubleto	0,25	2,50	-	100
[(Fe(cyclam)) ₂ Qz]Cl(PF ₆) ₃	Dubleto 1 (azul)	0,40	0,61	0,56	45
	Dubleto 2 (verde)	0,25	2,28	0,35	55

Fonte: A autora, 2022.

O espectro de Mössbauer do complexo precursor (Figura 25a) mostrou apenas um singleto com um deslocamento isomérico de 0,32 mm s⁻¹ (Tabela 6). De acordo com os experimentos de susceptibilidade magnética e EPR (do inglês *Electron Paramagnetic Resonance*) realizados por Chan e Poon (1976) e Nurco et al. (1997), o complexo *cis*- [Fe(cyclam)Cl₂]Cl apresenta uma configuração de spin alto, que em uma simetria octaédrica, dá origem à distribuição (t_{2g})³ (e_g)², onde os elétrons estão uniformemente distribuídos nos orbitais, originando assim o singleto visto no espectro de Mössbauer. Esses elétrons são distribuídos, uniformemente, nos orbitais, originando, assim, o sinal singleto observado no espectro de Mössbauer (Figura 25a). É importante ressaltar que o composto *trans*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl apresentou um sinal duplo com desdobramento quadrupolar de 2,50 mm s⁻¹ (Tabela 6), o que pode ser explicado por sua configuração de baixo spin (t_{2g})⁵ com distribuição assimétrica de cargas nos orbitais. A literatura reporta que, de fato, o *trans*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl é um complexo de spin baixo (CHAN; POON, 1976; NURCO et al., 1997).

Por outro lado, o melhor ajuste para o espectro de Mössbauer do complexo [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃ (Figura 25b) foi alcançado usando dois dubletos, típicos para dois tipos de centros de Ferro. Os valores de deslocamento isomérico e desdobramento quadrupolar são consistentes com Fe³⁺ em sítios octaédricos. Os dados de desdobramento quadrupolar foram bastante distintos para esses locais, sugerindo assimetria do núcleo de Ferro. Além disso, as áreas relativas sob o subespectro sugerem uma distribuição quase igual de íons de Ferro em cada ambiente. O valor do

desdobramento quadrupolar do dubleto 1 (linha azul) é consistente com um sítio octaédrico regular com 6 primeiros vizinhos. O desdobramento quadrupolar maior do dubleto 2 (linha verde) indica um ambiente altamente distorcido ou um octaedro defeituoso (VAN KONINGSBRUGGEN; MAEDA; OSHIO, 2004; HARDING; HARDING; PHONSRI, 2016). Isso pode ser explicado usando a estrutura de raios-X resolvida para o composto, onde é perceptível uma assimetria provavelmente devido aos contra-íons, PF_6^- , no cristal. As análises foram realizadas a 298 K, o que pode permitir a formação de mistura dessas configurações. Em temperaturas mais baixas, ocorre o favorecimento das espécies de spin baixo, fato este que corrobora com as medições de raios-X que foram realizada a 150 K (COLLET et al., 2009).

Os autores Chan e Poon (1976) mostraram através da técnica de EPR que o composto *trans*-[Fe(cyclam)Br₂]ClO₄ exibiu um spin dependente da temperatura apresentando uma transição da configuração de baixo para alto spin (MERRELL, 1979). Mais recentemente, outros complexos de Ferro à base de cyclam também apresentaram esse comportamento chamado de spin crossover, cuja transição pode ocorrer até mesmo à temperatura ambiente (VAN KONINGSBRUGGEN; MAEDA; OSHIO, 2004; DRAHOŠ; TRÁVNÍČEK, 2018).

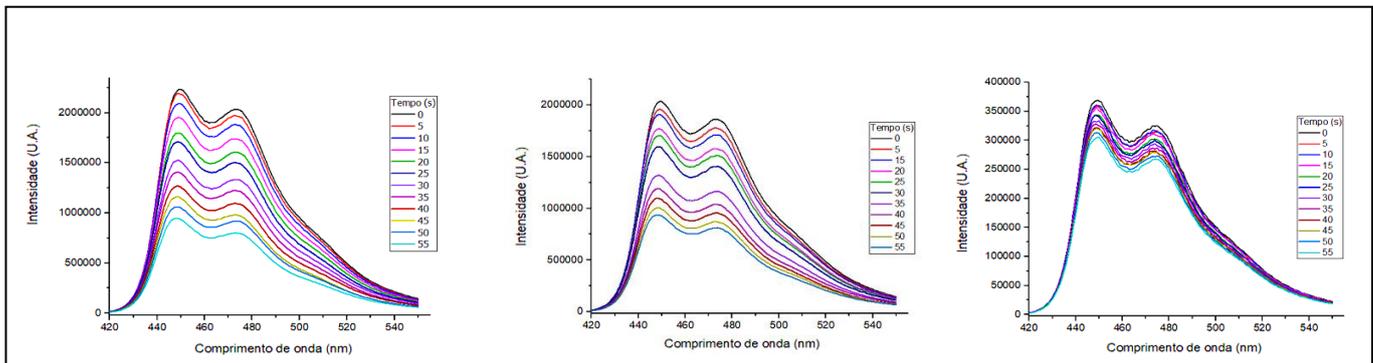
Esse fenômeno interessante foi amplamente relatado em muitos complexos metálicos, incluindo os baseados em catecolatos, onde uma configuração de spin baixo pode ser alterada para alto através de modificações na temperatura, pressão e, mais raramente, por luz (HARDING; HARDING; PHONSRI, 2016). O processo de mudança de configuração de complexos pode encontrar muitas aplicações interessantes, como por exemplo na modificação de dispositivos moleculares (sensores, dispositivos de exibição de memória, etc.).

Os resultados de Mössbauer obtidos para o complexo [(Fe(cyclam))₂(Qz)]Cl(PF₆)₃ indicam ocorrência de características consistentes com um processo de spin crossover. Por outro lado, as distâncias de ligação obtidas através da difração de raios-X (Tabela 3), realizadas em baixa temperatura, são consistentes com uma configuração baixo spin. Esses resultados poderiam gerar questionamentos acerca do estado de oxidação dos centros metálicos, contudo, com base nos resultados obtidos a partir da técnica de difração de raios-X (*Seção 4.1.1*), da técnica de medidas eletroquímicas (*Seção 4.1.4*) e da espectroeletróquímica (*Seção 4.1.5*), admitiu-se ser coerente afirmar que o complexo binuclear apresenta dois centros metálicos com estado de oxidação semelhante, Fe³⁺.

4.1.7 Geração de oxigênio singlete

Os rendimentos quânticos para a geração de $^1\text{O}_2$ ($\Phi\Delta$) pelos complexos $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$, *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ e ligante de quinizarina foram medidos a partir da reação de $^1\text{O}_2$ com DPBF, um eliminador de $^1\text{O}_2$ altamente eficiente (ABREU et al., 2017; DING et al., 2006). O consumo de DPBF em solução de metanol foi monitorado pela diminuição da intensidade de sua emissão a 449 nm. Conforme mostrado na Figura 26.

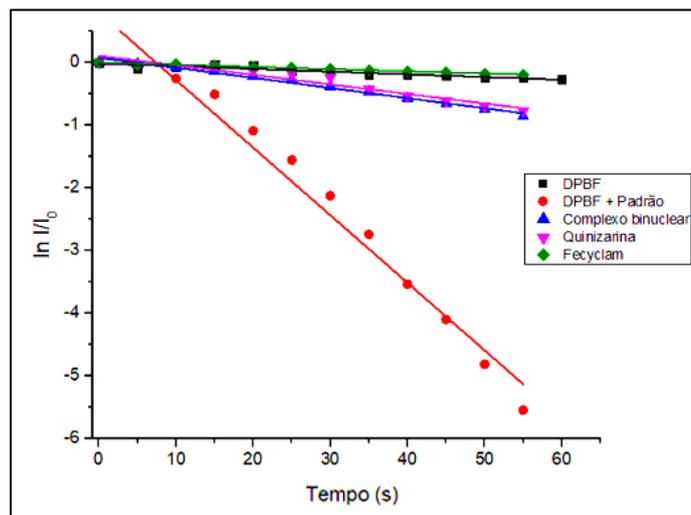
Figura 16 - Decaimento na intensidade dos espectros de fluorescência de DPBF em função do tempo de irradiação na presença de $20\mu\text{M}$ de $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ (a) $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$, (b) Quinizarina livre e (c) *cis* - $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$.



Fonte: A autora, 2022.

Tendo posse dos dados obtidos na Figura 26, foi possível construir os gráficos de $\ln(I_t / I_0)$ em função do tempo de irradiação (Figura 27).

Figura 27 - Curva cinética do consumo de DPBF em função do tempo de irradiação.



Fonte: A autora, 2022.

Os gráficos são lineares para todos os fotossensibilizadores testados (I_0 e I_t são as intensidades de fluorescência do DPBF antes e após a irradiação, respectivamente). Para fins

comparativos, o $\Phi\Delta$ do fotogerador de oxigênio singlete clássico $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ nas mesmas condições foi medido. Os valores de $\Phi\Delta$ foram calculados usando os dados de regressão linear da Figura 26 e da equação 2, empregando $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ como o padrão ($\Phi\Delta = 0,87$) (TANIELIAN; WOLFF; ESCH, 1996).

O rendimento quântico de $^1\text{O}_2$ para o complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ foi calculado e o valor obtido foi de 0,130. Esse valor foi muito maior do que o valor observado para o complexo precursor *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ (0,028), contudo apresentou pouca diferença do valor encontrado para o ligante quinizarina (0,122). Os valores obtidos para as amostras de mostraram inferiores ao complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ (0,87) (Tabela 7). Esse resultado mostra que o complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ tem maior capacidade de geração de $^1\text{O}_2$, quando comparado à quinizarina livre, que pode levar, mais facilmente, a ocorrência de processos importantes como a fotoclivagem do DNA.

Tabela 7 - Valores de rendimento quântico de geração de oxigênio singlete ($\Phi\Delta$).

Composto	$\Phi\Delta$
<i>cis</i> - $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$	0,028
Quinizarina	0,122
$[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$	0,130

Fonte: A autora, 2022.

Este estudo também foi realizado sem irradiação de luz, onde não houve alteração na fluorescência de DPBF descartando também qualquer extinção de fluorescência. Além disso, também não houve decomposição do complexo de metal binuclear por irradiação de luz azul, conforme indicado pela falta de alterações no espectro UV-Vis nessas condições. Esses resultados mostram que o complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2(\text{Qz})]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ tem uma capacidade aparente de geração de $^1\text{O}_2$. Esse processo pode ser importante, pois pode promover mais facilmente a fotoclivagem do DNA e causar outros efeitos biológicos.

4.1.8 Lipofilicidade

O destino de uma droga no organismo é muito complexo, mas algumas propriedades iniciais podem indicar melhores chances de sucesso. Entre essas propriedades, a partição solvente de um composto medida pelo LogP é um dos parâmetros fundamentais que pode influenciar em alguns processos biológicos. Este valor pode refletir a hidrofiliabilidade/lipofiliabilidade de um composto e pode sugerir sua capacidade de atravessar as membranas celulares.

O valor de LogP para o complexo binuclear $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ e para o precursor *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ foram calculados de acordo com a Equação 3 sendo obtidos os valores de 0,42 e -0,27, respectivamente. O resultado obtido indica que tanto o precursor quanto o binuclear apresentam comportamento pouco lipofílico, contudo, o composto $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ mostrou mais lipofilicidade do que o precursor isolado. De acordo com Oliveira (2018), a complexação de íons metálicos pode acarretar um melhoramento da lipofilicidade de compostos à base de cyclam, fato este observado no experimento relatado.

4.1.9 Clivagem do DNA

Com o objetivo de verificar a ocorrência de danos ao DNA promovidos pela geração de espécies reativas de oxigênio, realizou-se experimentos de eletroforese em gel de agarose com DNA de pBR322 adicionado a soluções do complexo binuclear $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{Qz}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$, do precursor *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ e do ligante quinizarina livre. Além da investigação da atividade térmica de clivagem do DNA, foram realizados também experimentos de interação com DNA após irradiação com LED azul ($\lambda_{\text{irr}} = 453 \text{ nm}$). Além disso, realizou-se a investigação da capacidade de interação do complexo binuclear com o DNA frente a presença de agente redutor biológico, no caso específico desse estudo, o agente utilizado foi a glutatona (GSH).

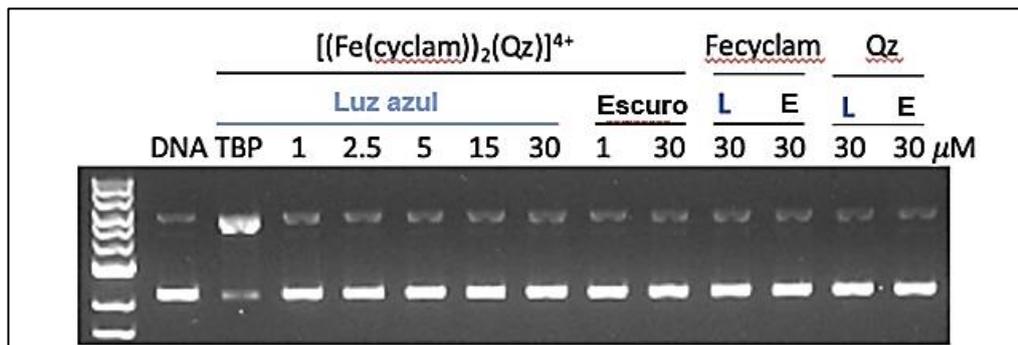
Como explicado no início desse trabalho, as ROS podem ser responsáveis pela cardiotoxicidade e efeitos citotóxicos das drogas envolvendo danos ao DNA, proteínas e membranas celulares. Alguns compostos à base de quinona também mostraram a capacidade de gerar superóxido ou peróxido de hidrogênio mediante a ação de um agente redutor (por exemplo, glutatona), que também pode atuar danificando as células (KIM et al., 2021). A glutatona é um composto à base de tiol encontrado em concentrações significativamente altas nas células (até 10 mmol L^{-1}) funcionando como um agente de tamponamento redox (JONES, 2002).

Apesar do fato de que a glutatona funciona como um agente antioxidante, ela também pode funcionar paradoxalmente como gerador de espécies mais reativas através de reação com compostos metálicos. Atualmente, existem muitos metalocompostos que podem consumir oxigênio e reduzir a glutatona (ou ácido ascórbico) para gerar ROS. Essa classe de compostos é conhecido como metalofármacos catalíticos. Por conta dessas características, a GSH foi escolhida como agente redutor para ser utilizada neste trabalho.

Inicialmente, decidiu-se investigar se poderia ocorrer dano ao DNA como consequência da irradiação da luz azul, uma vez que foi observado uma produção modesta de oxigênio singlete.

Para a realização desse experimento foram utilizadas soluções dos complexos $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2(\text{Qz})]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$, do precursor *cis*- $[\text{Fe}(\text{cyclam})\text{Cl}_2]\text{Cl}$ e ligante quinizarina, que foram incubados com DNA plasmidial pBR322, e mantidos por 1 h no escuro ou irradiado com luz azul, antes de correr em gel de agarose. O complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ (TBP), conhecido fotogerador de oxigênio singlete, foi utilizado como controle positivo para fotoclivagem de DNA, nas mesmas condições (Figura 28).

Figura 28 - Interação com DNA após irradiação.

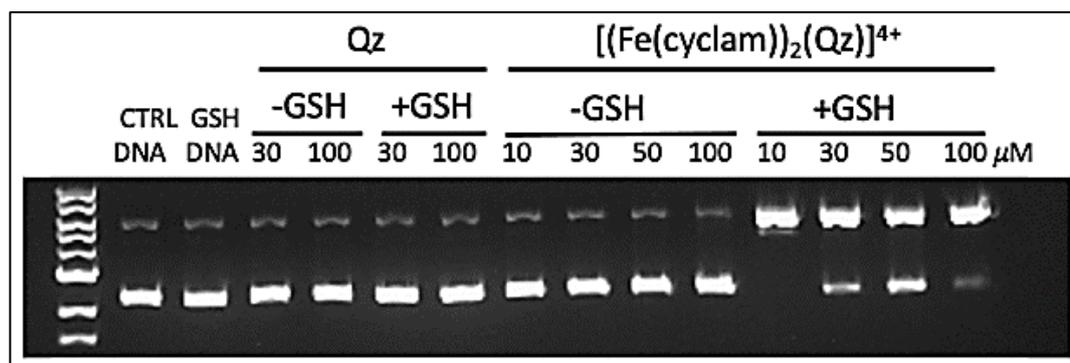


Fonte: A autora, 2022.

Analisando os resultados apresentados na Figura 28 é possível observar que não ocorreu evidência significativa de clivagem de DNA. As amostras que foram submetidas a luz azul, bem como as que ficaram no escuro, somente sob ação térmica, apresentaram resultados similares. Além disso, observa-se que tanto o complexo binuclear, quanto o precursor e o ligante livre, não foram capazes de promover a clivagem do DNA, mesmo ocorrendo variações de concentração.

Posteriormente, foi realizado o experimento de clivagem de DNA na presença de glutathione. Para a realização desse experimento adicionou-se uma solução de GSH ao complexo binuclear e ao ligante quinizarina livre na presença de DNA. Em seguida, essas soluções foram deixadas no escuro por um período de uma hora em repouso. A Figura 29 apresenta o resultado obtido para o experimento descrito.

Figura 29 - Interação com DNA na presença de GSH.



Fonte: A autora, 2022.

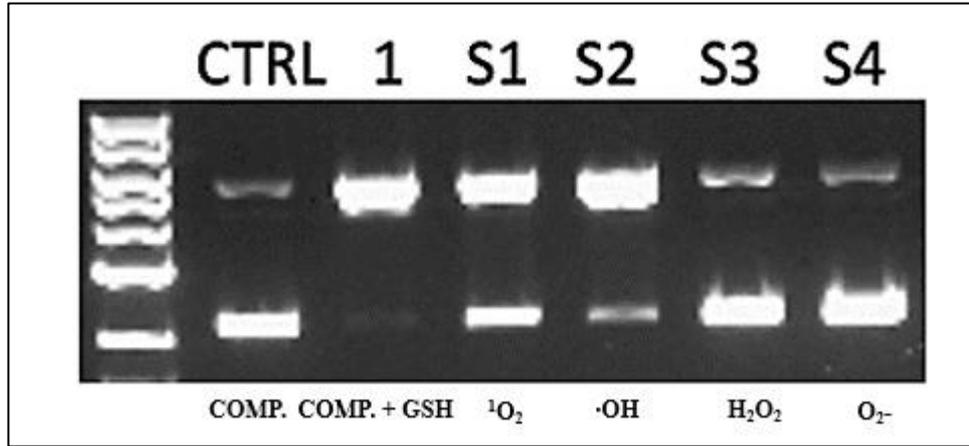
Analisando a Figura 29 observou-se, inicialmente, que a quinizarina não foi capaz de promover alterações significativas ao DNA. Esse resultado não era esperado dado o fato de que o comportamento redox dessa espécie (mudança de quinona à catecol) promove, eventualmente, a geração de espécies reativas de oxigênio. Este comportamento pode ser explicado considerando o potencial redox da glutathiona em -504 mV (em tampão aquoso pH 8,0), que pode não ser capaz de reduzir a quinizarina livre ($E_{1/2} = -646$ mV, em acetonitrila).

Por outro lado, o complexo binuclear $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2(\text{Qz})]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ apresentou uma considerável capacidade de clivar o DNA na presença de glutathiona. É possível observar que mesmo em concentrações baixas do composto binuclear, cerca de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, ocorre grande conversão do DNA superenovelado (Forma I) em DNA circular relaxado (Forma II), indicando que ocorreu clivagem de DNA. Diferentemente do que ocorre com a quinizarina livre, com o complexo binuclear, a GSH é capaz de reduzir, completamente, os dois centros metálicos de Ferro ($E_{1/2} = 156$ mV e -23 mV, em acetonitrila) e, além disso, a GSH também é capaz de promover a conversão da quinizarina ligada ao centro metálico, de quinona para semiquinona ($E_{1/2} = -538$ mV, em acetonitrila). Esse processo de redução química e eventual reoxidação promovida pelo oxigênio pode gerar espécies de ROS que possibilitam danos ao DNA. Este tipo de processo foi relatado para outros compostos à base de quinona-catecol e complexos de Ferro ou de Cobre (KIM et al., 2021; DE MEDEIROS et al., 2018; LIU et al., 2018; MANS et al., 1992; JOYNER; COWAN, 2013).

Com o intuito de verificar a provável identidade das espécies envolvidas no processo de clivagem de DNA, realizou-se um novo experimento no qual uma solução do complexo binuclear $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2(\text{Qz})]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$, foi adicionada de DNA, de GSH e também de agentes inibidores seletivos de ROS. Os agentes utilizados foram: azida de sódio (inibidor de $^1\text{O}_2$); manitol (inibidor de $\cdot\text{OH}$); piruvato de sódio (inibidor de H_2O_2) e ácido 4,5-dihidroxi-1,3-benzenodissulfônico – tiron

(inibidor de O_2^-) (FANTONI et al., 2021; LEICHNITZ; HEINRICH; KULAK, 2018). A Figura 30 apresenta o resultado obtido para este experimento.

Figura 30 - Interação com DNA na presença de inibidores seletivos de ROS.



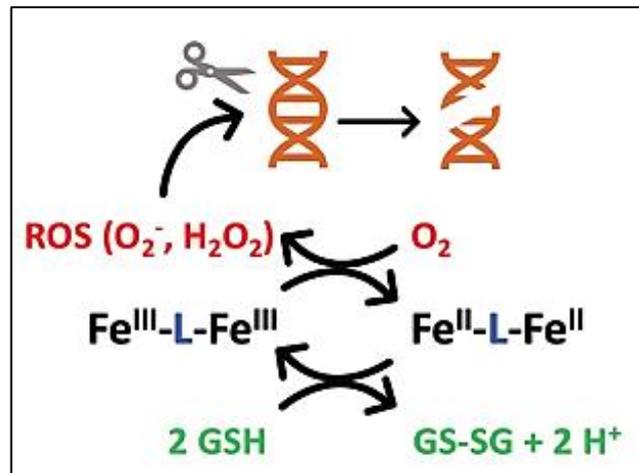
Legenda: O poço CTRL contém o complexo $[(Fe(cyclam))_2Qz]Cl(PF_6)_3$ (COMP); o poço 1 contém o complexo $[(Fe(cyclam))_2Qz]Cl(PF_6)_3$ com Glutathiona (COMP. + GSH); todos os outros poços contém a mistura do complexo e glutathiona além de um inibidor específico. O poço S1 contém azida de sódio (inibidor de 1O_2); o poço S2 contém manitol (inibidor de $\cdot OH$); o poço S3 contém piruvato de sódio (inibidor de H_2O_2); o poço S4 contém tiron (inibidor de O_2^-).

Fonte: A autora, 2022.

Na Figura 30 é possível observar a presença do grupo controle identificado na figura como CTRL, no poço 1 encontra-se apenas o complexo binuclear ($50 \mu\text{Mol L}^{-1}$) adicionado de glutathiona (10mMol L^{-1}). Em todos os outros poços foram adicionadas as mesmas concentrações do complexo e de GSH, contudo, em cada poço adicionou-se também um inibidor específico. Assim, temos que no poço S1 foi adicionado azida de sódio (30mMol L^{-1}), no poço S2 foi adicionado manitol (30mMol L^{-1}), no poço S3 foi adicionado piruvato de sódio (30mMol L^{-1}) e, por fim, no poço S4 adicionou tiron (30mMol L^{-1}).

Uma análise mais criteriosa da Figura 30 também permite observar que o complexo binuclear (1) apresentou clivagem de DNA bastante intensa na presença de GSH. Essa clivagem foi fortemente suprimida após a adição de piruvato de sódio (S3) e de tiron (S4). Esse resultado indica que o complexo $[(Fe(cyclam))_2Qz]Cl(PF_6)_3$ ao reagir com glutathiona pode gerar superóxido e peróxido de hidrogênio, de modo que essas espécies seriam as principais responsáveis pela clivagem do DNA. Assim, de posse desses resultados foi proposto um esquema reacional para a clivagem do DNA a partir da reação do complexo com GSH (Figura 31).

Figura 31 - Esquema de clivagem de DNA após reação do complexo com GSH.



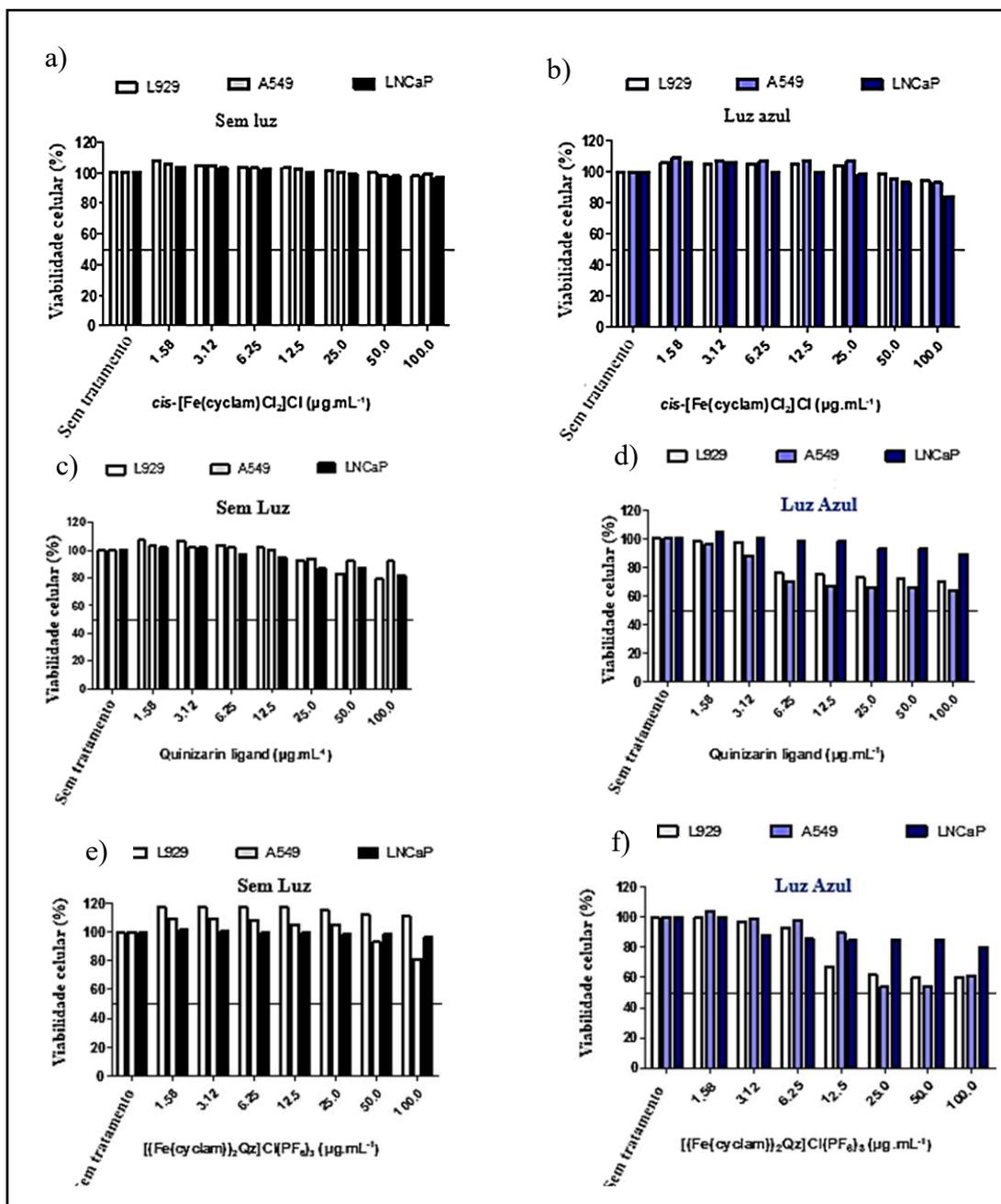
Fonte: A autora, 2022.

A Figura 31 mostra que ao ocorrer a reação do complexo binuclear de Ferro com a GSH, o complexo sofre um processo de redução. Ao se encontrar na forma reduzida, o complexo reage com o oxigênio disponível no meio celular e leva a formação de superóxido e peróxido de hidrogênio. Esse resultado interessante está de acordo com o que a literatura reporta acerca do comportamento das ROS geradas nas células, que são capazes de promover o comprometimento da função fisiológica através de danos celular ao DNA, as proteínas, aos lipídios ou a outras macromoléculas. A presença de espécies reativas de oxigênio também pode acarretar o surgimento de diversas patologias humanas, incluindo câncer e doenças cardiovasculares (ROWE; DEGTYAREVA; DOETSCH, 2008). Desse modo, é necessário que haja um equilíbrio entre a ação prejudicial e a ação benéfica das ROS.

4.1.10 Atividade anticâncer

Com o objetivo de avaliar a possível atividade potencial do complexo binuclear frente a células cancerígenas e células normais, o efeito do $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2\text{QZ}]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$ na viabilidade de duas linhagens de células cancerosas, LNCaP (câncer de próstata) e A549 (câncer de pulmão) e uma linha celular normal L929 (fibroblasto de camundongo) foi determinada usando um ensaio de MTS (Figura 32).

Figura 32 - Viabilidade de células tratadas com concentrações crescentes de *cis*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl (a e b), quinizarina (c e d) e [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃ (e e f).



Fonte: A autora, 2022.

Para a realização do experimento evidenciado na Figura 32, foram utilizadas concentrações diferentes de cada composto (1,58; 3,12; 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100,0 µg / mL). As células foram tratadas por 48h na ausência e na presença de luz azul ($\lambda_{irr} = 453$ nm). Os dados obtidos

foram normalizados utilizando a absorbância medida em cada caso sobre as do seu respectivo controle não tratado (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Os gráficos de barras representam as médias (\pm DP) de triplicados de três medições independentes.

No caso do complexo *cis*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl, não houve inibição efetiva da viabilidade celular, mesmo em altas concentrações e após irradiação de luz (Figura 32 a e b). No entanto, houve uma redução leve na viabilidade celular das células A549 e L929 começando em 6,25 $\mu\text{g} / \text{mL}$ e 12,5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ para o ligante de quinizarina (Figura 32 c e d) e para o complexo binuclear [(Fe(cyclam))₂Qz]Cl(PF₆)₃, se comparado com o grupo controle, que só foi percebido com a irradiação de luz (Figura 32 e e f).

O efeito citotóxico foi mais eficaz para o composto binuclear em concentrações mais elevadas. Além disso, é importante ressaltar que o complexo binuclear e a quinizarina afetaram minimamente as células malignas e também as normais após irradiação de luz, indicando baixa seletividade para células tumorais. No entanto, vale ressaltar que a baixa citotoxicidade do complexo binuclear foi uma surpresa, visto que, esse composto apresentou expressiva capacidade de clivar DNA. Contudo, devem ser consideradas outras questões em um meio celular complexo, incluindo a captação celular (ALVES et al., 2016.). Este composto pode ter alvos intracelulares (como o DNA); portanto, deve penetrar na bicamada lipídica das membranas celulares. Dessa forma, sua baixa lipofilicidade indicada pelo LogP e sua captação desconhecida podem prejudicar sua atividade citotóxica.

5 CONCLUSÃO

A constante de proporcionalidade encontrada para o complexo binuclear Fe^{3+} , contendo a quinizarina como ligante em ponte, é alta, apresentando forte deslocalização eletrônica entre os centros de Ferro (RICHARDSON; TAUBE, 1984; RICHARDSON; TAUBE, 1981). O complexo binuclear apresentou alta capacidade de promover danos ao DNA na presença de um agente redutor biológico, uma propriedade que não é observada para o ligante quinizarina livre. A mudança de potencial redox da quinizarina após a ligação ao Ferro pode ser responsável por esse processo, no qual superóxido e peróxido de hidrogênio podem ser produzidos causando clivagem do DNA. Embora o composto binuclear apresente uma alta capacidade de danificar o DNA, ficou evidente que esse composto não apresentou capacidade relevante de promover a morte de células cancerígenas. Isso pode ser devido a uma baixa lipofilicidade do complexo $[(\text{Fe}(\text{cyclam}))_2(\text{Qz})]\text{Cl}(\text{PF}_6)_3$, fato esse que impede uma melhor captação. No entanto, as propriedades químicas promissoras deste composto como gerador de ROS ainda podem ser exploradas como uma droga potencial, projetando modificações para melhorar a lipofilicidade ou usando uma plataforma de entrega para atingir alvos celulares (OLIVEIRA et al., 2020; DE FRANÇA LOPES et al., 2021; KHALID et al., 2017).

REFERÊNCIAS

ABBASPOUR, Nazanin; HURRELL, Richard; KELISHADI, Roya. Review on iron and its importance for human health. **Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences**, v. 19, n. 2, p. 164, 2014.

ABREU, Felipe Diógenes *et al.* Aryl-substituted ruthenium (II) complexes: a strategy for enhanced photocleavage and efficient DNA binding. **Inorganic chemistry**, v. 56, n. 15, p. 9084-9096, 2017.

ABREU, Felipe Diógenes. Síntese e caracterização de novos fotossensibilizadores de complexos polipiridínicos de rutênio. 2013.

AGUDELO, D. *et al.* Review on the binding of anticancer drug doxorubicin with DNA and tRNA: Structural models and antitumor activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 158, p. 274-279, 2016.

AL HAGEH, Cynthia *et al.* A long-lived cuprous bis-phenanthroline complex for the photodynamic therapy of cancer. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 14, p. 4959-4967, 2018.

ALVES, Ana Catarina *et al.* Biophysics in cancer: The relevance of drug-membrane interaction studies. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1858, n. 9, p. 2231-2244, 2016.

ALZHRANI, Seraj Omar *et al.* Synthesis and structural elucidation for new pyrano thiazole complexes: Biological screening and effects on DNA through in-vitro and in-silico approaches. **Journal of Molecular Liquids**, p. 115844, 2021.

ANASTASSOPOULOU, J. Metal-DNA interactions. **Journal of Molecular Structure**, v.651–653, p. 19–26, 2003.

ASHNAGAR, Alamdar *et al.* One-and two-electron reduction of hydroxy-1, 4-naphthoquinones and hydroxy-9, 10-anthraquinones: The role of internal hydrogen bonding and its bearing on the redox chemistry of the anthracycline antitumour quinones. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 801, n. 3, p. 351-359, 1984.

BARONE, Giampaolo *et al.* DNA-binding of nickel (II), copper (II) and zinc (II) complexes: Structure–affinity relationships. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, n. 19-20, p. 2848-2862, 2013.

BARRETO, Wagner José *et al.* Iron oxide and pyrocatechol: a spectroscopy study of the reaction products. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1255-1258, 2006.

BEVERNAEGIE, Robin *et al.* Exploring the phototoxicity of hypoxic active iridium (III)-based sensitizers in 3D tumor spheroids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 141, n. 46, p. 18486-18491, 2019.

BEZERRA, Giselle Barbosa. Síntese, caracterização, e potencial antimicrobiano de complexo de vanádio e ferro, tendo como ligantes produtos naturais. 2016.

BRAY, Freddie *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.

BRAZIER, Yvette. What are bacteria and what do they do? **Medical News Today**. 2019. Disponível em: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/157973>. Acesso em: 13/04/2021.

BUSSI, Giselle Giovana Azzolini *et al.* Clivagem e interação de um novo complexo de Ferro (II) com DNA plasmidial e proteínas. 2010.

CARVALHO, Cristina *et al.* Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. **Current medicinal chemistry**, v. 16, n. 25, p. 3267-3285, 2009.

CARVALHO, Edinilton Muniz. Reatividade do Nitrosilo Complexo de Ferro trans-[Fe (cyclam)(NO) Cl] Cl₂. 2015.

CHAN, Pui-Ki; POON, Chung-Kwong. Structural and mechanistic studies of co-ordination compounds. Part XII. Syntheses and characterization of some dianion (1, 4, 8, 11-tetra-azacyclotetradecane)-manganese (III), -iron (III), and -nickel (III) salts. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 10, p. 858-862, 1976.

CHATTERJEE, Kanu *et al.* Doxorubicin cardiomyopathy. **Cardiology**, v. 115, n. 2, p. 155-162, 2010.

CHITRAPRIYA, Nataraj *et al.* Synthesis, DNA binding profile and DNA cleavage pathway of divalent metal complexes. **RSC advances**, v. 5, n. 83, p. 68067-68075, 2015.

COLLET, Eric *et al.* Polymorphism in the spin-crossover ferric complexes [(TPA) Fe^{III} (TCC)] PF₆. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science**, v. 65, n. 4, p. 474-480, 2009.

CONNELLY, Neil G.; GEIGER, William E. Chemical redox agents for organometallic chemistry. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 2, p. 877-910, 1996.

CREUTZ, Carol. Mixed Valence Complexes of d 5-d 6 Metal Centers. **Progress in Inorganic Chemistry: An Appreciation of Henry Taube**, p. 1-73, 1983.

CRLIKOVA, Hana *et al.* Antiproliferative, DNA binding, and cleavage properties of dinuclear Co (III) complexes containing the bioactive quinizarin ligand. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, p. 1-12, 2020.

DA SILVA, Marcos Mendes; DA SILVA, Valquíria Helena. Envelhecimento: importante fator de risco para o câncer. **Arquivos médicos do ABC**, v. 30, n. 1, 2005.

DE ALMEIDA, Sinara Mônica Vitalino *et al.* Compostos coordenados híbridos de platina no tratamento do câncer. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 3, 2014.

DE FRANÇA LOPES, Luiz Gonzaga *et al.* Bioinorganic systems responsive to the diatomic gases O₂, NO, and CO: From biological sensors to therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 445, p. 214096, 2021.

DE MEDEIROS, Wendy MTQ *et al.* A vanillin-based copper (II) metal complex with a DNA-mediated apoptotic activity. **RSC advances**, v. 8, n. 30, p. 16873-16886, 2018.

DE SOUSA, Aurideia P. *et al.* An unusual bidentate methionine ruthenium (II) complex: photo-uncaging and antimicrobial activity. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, p. 1-10, 2020.

DEMANT, Erland JF; NØRSKOV-LAURITSEN, Niels. Binding of transferrin-iron by adriamycin at acidic pH. **FEBS letters**, v. 196, n. 2, p. 321-324, 1986.

DEMBINSKI, Roman *et al.* Toward metal-capped one-dimensional carbon allotropes: Wirelike C₆–C₂₀ polyynediyl chains that span two redox-active (η^5 -C₅Me₅) Re (NO)(PPh₃) endgroups. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 5, p. 810-822, 2000.

DING, Hui-Ying *et al.* Aryl-modified ruthenium bis (terpyridine) complexes: Quantum yield of ¹O₂ generation and photocleavage on DNA. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 177, n. 2-3, p. 286-294, 2006.

DISCOVERY OF DNA STRUCTURE AND FUNCTION: WATSON AND CRICK. 2008.
Disponível em: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/discovery-of-dna-structure-and-function-watson-397/>. Acesso em: 01/04/2021.

DOLOMANOV, O. V. *et al.* OLEX2: A complete structure solution, refinement and analysis program. **Journal of Applied Crystallography**, v. 42, n. 2, p. 339–341, 2009.

DRAHOŠ, Bohuslav; TRÁVNÍČEK, Zdeněk. Spin crossover Fe (II) complexes of a cross-bridged cyclam derivative. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 17, p. 6134-6145, 2018.

DUARTE, Hélio A. FERRO-UM ELEMENTO QUÍMICO ESTRATÉGICO QUE PERMEIA HISTÓRIA, ECONOMIA E SOCIEDADE. **Química Nova**, v. 42, n. 10, p. 1146-1153, 2019.

ENSAFI, Ali A. *et al.* Electrochemical study of quinone redox cycling: a novel application of DNA-based biosensors for monitoring biochemical reactions. **Bioelectrochemistry**, v. 111, p. 15-22, 2016.

EYONG, Kenneth O.; KUETE, Victor; EFFERTH, Thomas. Quinones and benzophenones from the medicinal plants of Africa. In: **Medicinal Plant Research in Africa**. Elsevier, 2013. p. 351-391.

FAIN, V. Ya; ZAITSEV, B. E.; RYABOV, M. A. Electronic absorption spectra and tautomerism of quinizarin and its substituted derivatives. **Russian journal of general chemistry**, v. 73, n. 10, p. 1595-1602, 2003.

FANTONI, Nicoló Zuin *et al.* Polypyridyl-Based Copper Phenanthrene Complexes: Combining Stability with Enhanced DNA Recognition. **Chemistry—A European Journal**, v. 27, n. 3, p. 971-983, 2021.

FINCH, G. L., & Burns-Naas, L. A. (2014). Cancer Chemotherapeutic Agents. *Encyclopedia of Toxicology*, 630–641.

GALVIN, J. M.; RUSKIN, J. N. Ventricular tachycardia in patients with dilated cardiomyopathy. **Cardiac Electrophysiology: From Cell to Bedside**. 4th ed. Philadelphia, Pa: Saunders, p. 575-587, 2004.

GAMMELLA, Elena *et al.* The role of iron in anthracycline cardiotoxicity. **Frontiers in pharmacology**, v. 5, p. 25, 2014.

GEWIRTZ, David A. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. **Biochemical pharmacology**, v. 57, n. 7, p. 727-741, 1999.

GHUMAAN, Sandeep *et al.* An Experimental and Density Functional Theory Approach Towards the Establishment of Preferential Metal-or Ligand-Based Electron-Transfer Processes in Large Quinonoid-Bridged Diruthenium Complexes $[(\text{aap})_2\text{Ru}]_2(\mu\text{-BL}_2\text{-})_n^+$ (aap= 2-Arylazopyridine). **European journal of inorganic chemistry**, v. 2006, n. 21, p. 4426-4441, 2006.

GUPTA, Prachi; LAKES, Andrew; DZIUBLA, Thomas. A Free Radical Primer. In: **Oxidative Stress and Biomaterials**. Academic Press, 2016. p. 1-33.

HAMILTON, Paris L.; ARYA, Dev P. Natural product DNA major groove binders. **Natural product reports**, v. 29, n. 2, p. 134-143, 2012.

HARDING, David J.; HARDING, Phimpaka; PHONSRI, Wasinee. Spin crossover in iron (III) complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 313, p. 38-61, 2016.

HOEGER, Christopher W.; TURISSINI, Cole; ASNANI, Aarti. Doxorubicin Cardiotoxicity: Pathophysiology Updates. **Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine**, v. 22, n. 11, p. 1-17, 2020.

HOLANDA, Alda KM *et al.* Crystal structure, electrochemical and photochemical studies of the trans-[Fe (cyclam)(NO) Cl] Cl₂ complex (cyclam= 1, 4, 8, 11-tetraazacyclotetradecane). **Polyhedron**, v. 26, n. 16, p. 4653-4658, 2007.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Disponível em <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em 20/01/2020;

IRON TRANSPORT AND CELLULAR UPTAKE, 2001. Disponível em: https://sickle.bwh.harvard.edu/iron_transport.html. Acesso em: 13/03/2021.

ISSA, Maria Cláudia Almeida; MANELA-AZULAY, Mônica. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 4, p. 501-511, 2010.

JONES, Dean P. [11] Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 2002. p. 93-112.

JOYNER, J. C.; COWAN, James Allan. Target-directed catalytic metallodrugs. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 46, p. 465-485, 2013.

KAISEROVÁ, Helena *et al.* New iron chelators in anthracycline-induced cardiotoxicity. **Cardiovascular toxicology**, v. 7, n. 2, p. 145-150, 2007.

KAMATCHI, Thangavel Sathiya *et al.* Near-Infrared-Absorbing Organometallic Diruthenium Complex Intermediates: Evidence for Bridging Anthrasemiquinone Formation and against Mixed Valency. **Chemistry—A European Journal**, v. 23, n. 70, p. 17810-17816, 2017.

KAR, Sanjib *et al.* Unusual Monodentate Binding Mode of 2, 2 '-Dipyridylamine (L) in Isomeric trans-(acac) 2RuII (L) 2, trans-[(acac) 2RuIII (L) 2] ClO4, and cis-(acac) 2RuII (L) 2 (acac= Acetylacetonate). Synthesis, Structures, and Spectroscopic, Electrochemical, and Magnetic Aspects. **Inorganic chemistry**, v. 44, n. 5, p. 1571-1579, 2005.

KARGES, Johannes; GASSER, Gilles. Synthesis, Characterisation and Biological Evaluation of π -Extended Fe (II) Bipyridine Complexes as Potential Photosensitizers for Photodynamic Therapy. **Inorganica Chimica Acta**, v. 499, p. 119196, 2020.

KATO, Koichi *et al.* DNA-cleavage activity of the iron (II) complex with optically active ligands, meta-and para-xylyl-linked N', N'-dipyridylmethyl-cyclohexane-1, 2-diamine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 36, p. 127834, 2021.

KHALID, Ayesha *et al.* Strategies for improving drug delivery: nanocarriers and microenvironmental priming. **Expert opinion on drug delivery**, v. 14, n. 7, p. 865-877, 2017.

KIM, Sungyun *et al.* Fenton-like reaction, glutathione reduction, and photothermal ablation-built-in hydrogels crosslinked by cupric sulfate for loco-regional cancer therapy. **Biomaterials Science**, v. 9, n. 3, p. 847-860, 2021.

KIRALY, Robert; MARTIN, R. Bruce. Metal ion binding to daunorubicin and quinizarin. **Inorganica Chimica Acta**, v. 67, p. 13-18, 1982.

KR, Sangeetha Gowda *et al.* Mechanism of DNA binding and cleavage. **J. Biomed. Biotechnol**, v. 2, p. 1-9, 2014.

KRAFT, Brian J.; ZALESKI, Jeffrey M. Photoinduced diradical formation and decay in uncomplexed and metal-bound benzotriazine systems: mechanistic implications to chemically and biologically relevant photochemistry. **New Journal of Chemistry**, v. 25, n. 10, p. 1281-1289, 2001.

KREFT, Gabriel Luiz *et al.* Interação e clivagem de DNA por complexos de Co^{2+} com ligantes tripodais n-doadores. 2014.

KUMBHAKAR, Doyel *et al.* Intramolecular Valence and Spin Interaction in meso and rac Diastereomers of ap-Quinonoid-Bridged Diruthenium Complex. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 51, p. 17575-17583, 2008.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier Editora de Livros Médicos. 1995.

LEICHNITZ, S.; HEINRICH, J.; KULAK, N. A fluorescence assay for the detection of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals generated by metallonucleases. **Chemical Communications**, v. 54, n. 95, p. 13411-13414, 2018.

LIU, Huan *et al.* Bio-inspired redox-cycling antimicrobial film for sustained generation of reactive oxygen species. **Biomaterials**, v. 162, p. 109-122, 2018.

LOGACHEVA, Nadezhda M. et al. Ni (II), Co (II), Cu (II), Zn (II) and Na (I) complexes of a hybrid ligand 4'-(4''-benzo-15-crown-5)-methoxy-2, 2': 6', 2''-terpyridine. **Dalton Transactions**, n. 14, p. 2482-2489, 2009.

MA, Ping; MUMPER, Russell J. Anthracycline nano-delivery systems to overcome multiple drug resistance: a comprehensive review. **Nano today**, v. 8, n. 3, p. 313-331, 2013.

MAJI, Somnath *et al.* Valence-State Alternatives in Diastereoisomeric Complexes [(acac) 2Ru (μ -QL) Ru (acac) 2] n (QL²⁻ = 1, 4-Dioxido-9, 10-anthraquinone, n = + 2, + 1, 0, - 1, - 2). **Inorganic chemistry**, v. 47, n. 12, p. 5204-5211, 2008.

MANDAL, Abhishek *et al.* Varying electronic structures of diosmium complexes from noninnocently behaving anthraquinone-derived bis-chelate ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 54, n. 16, p. 7936-7944, 2015.

MANS, D. R. A. *et al.* Reactions of glutathione with the catechol, the ortho-quinone and the semi-quinone free radical of etoposide Consequences for DNA inactivation. **Biochemical pharmacology**, v. 43, n. 8, p. 1761-1768, 1992.

MÁRMOL, Inés *et al.* Gold (I) and Silver (I) Complexes with 2-Anilinopyridine-Based Heterocycles as Multitarget Drugs against Colon Cancer. **Inorganic Chemistry**, v. 59, n. 23, p. 17732-17745, 2020.

MARONEY, Michael J. *et al.* Structural model for the binding of iron by anthracycline drugs. **Inorganic Chemistry**, v. 28, n. 2, p. 173-175, 1989.

MARTINS-TEIXEIRA, Maristela B.; CARVALHO, Ivone. Antitumour anthracyclines: progress and perspectives. **ChemMedChem**, v. 15, n. 11, p. 933-948, 2020.

MELOTTI, Marcelo. Atividade biológica, antitumoral e estudos de interação com o dna de complexos de ferro contendo cadeias alquílicas longas. 2019.

MERRELL, Philip H. Synthesis and characterization of some metal complexes of a novel binucleating ligand (IV): quinizarin. **Inorganica Chimica Acta**, v. 32, p. 99-102, 1979.

MISSLER, Gary L. *et al.* **Química Inorgânica**. 5ª Edição. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2014.

MINOTTI, Giorgio *et al.* Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. **Pharmacological reviews**, v. 56, n. 2, p. 185-229, 2004.

MOHIUDDIN, M.; KUMAR, B.; HAQUE, S. Biopolymer composites in photovoltaics and photodetectors. **Biopolymer Composites in Electronics**, p. 459-486, 2017.

MOREIRA, I. S.; Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, 1990

NAUREEN, Bushra *et al.* Iron (III) and zinc (II) monodentate Schiff base metal complexes: Synthesis, characterization and biological activities. **Journal of Molecular Structure**, v. 1231, p. 129946, 2021.

NAVARRO, Maribel *et al.* Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against *Leishmania mexicana* of [Cu (dppz) 2] BF₄. **Journal of inorganic biochemistry**, v. 97, n. 4, p. 364-369, 2003.

NDAGI, Umar; MHLONGO, Ndumiso; SOLIMAN, Mahmoud E. Metal complexes in cancer therapy—an update from drug design perspective. **Drug design, development and therapy**, v. 11, p. 599, 2017.

NURCO, DanieláJ *et al.* One-pot synthesis, physicochemical characterization and crystal structures of cis-and trans-(1, 4, 8, 11-tetraazacyclotetradecane)-dichloroiron (III) complexes. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, n. 19, p. 3459-3463, 1997.

OLIVEIRA, Geângela de Fátima Sousa *et al.* An anthracene-pendant ruthenium (ii) complex conjugated to a biotin anchor, an essential handle for photo-induced anti-cancer activity. **New Journal of Chemistry**, v. 44, n. 16, p. 6610-6622, 2020.

OLIVEIRA, Verônica da Silva. Estudo do sistema Fe-cyclam com ligantes carboxilatos e avaliação do efeito spin crossover e atividade antibacteriana do complexo (Fe (cyclam) ox) PF6. 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Saúde global Observatório. Genebra: Saúde Mundial Organização; 2018. Acesso em janeiro de 2020;

PITIÉ, Marguerite; PRATVIEL, Genevieve. Activation of DNA carbon–hydrogen bonds by metal complexes. **Chemical reviews**, v. 110, n. 2, p. 1018-1059, 2010.

QIN, Qi-Pin *et al.* Synthesis, crystal structure, cytotoxicity, and mechanism of action of ZnII, MnII, and FeIII complexes with 6-hydroxyoxoisoaporphine. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2017, n. 12, p. 1824-1834, 2017.

RAMOS, P. H. Complexos metálicos (ferro, níquel e cobalto) em sistemas de oxidação do tipo Fenton: reações e mecanismos. 2011. 114 p. Tese (Doutorado em Agroquímica)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

RICHARDSON, David E.; TAUBE, Henry. Determination of E20-E10 in multistep charge transfer by stationary-electrode pulse and cyclic voltammetry: application to binuclear ruthenium ammines. **Inorganic Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1278-1285, 1981.

RICHARDSON, David E.; TAUBE, Henry. Mixed-valence molecules: electronic delocalization and stabilization. **Coordination chemistry reviews**, v. 60, p. 107-129, 1984.

ROBERTS, Richard J. Nucleic acid. 2020. Disponível em:
<https://www.britannica.com/science/nucleic-acid>. Acesso em: 01/04/2021.

ROBIN, Melvin B.; DAY, Peter. Mixed valence chemistry-a survey and classification. In: **Advances in inorganic chemistry and radiochemistry**. Academic Press, 1968. p. 247-422.

ROBINSON, Edward A.; EARLEY, Joseph E. Metal-ligand electronic interactions in mononuclear and dinuclear triethylenetetraminecobalt (III) complexes containing the anion of quinizarin (1, 4-dihydroxy-9, 10-anthraquinone). **Collection of Czechoslovak chemical communications**, v. 58, n. 1, p. 62-70, 1993.

ROCHA, Diego Pessoa *et al.* Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 111-118, 2011.

ROCHA, Reginaldo C.; TOMA, Henrique E. Transferência de elétrons em sistemas inorgânicos de valência mista. **Química Nova**, v. 25, p. 624-638, 2002.

RODRIGUES, Janise Giselle Caetano. Compostos de cobre como clivadores de DNA—Uma ferramenta para fins biotecnológicos. 2016.

ROGERS, Kara and KADNER, Robert J.. "Bacteria". *Encyclopedia Britannica*, Invalid Date. Disponível em: < <https://www.britannica.com/science/bacteria>>. Acesso em 13/04/2021.

ROWE, Lori A.; DEGTYAREVA, Natalya; DOETSCH, Paul W. DNA damage-induced reactive oxygen species (ROS) stress response in *Saccharomyces cerevisiae*. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 45, n. 8, p. 1167-1177, 2008.

ROY, Mithun *et al.* Ternary iron (III) complex showing photocleavage of DNA in the photodynamic therapy window. **Inorganic chemistry**, v. 46, n. 11, p. 4368-4370, 2007.

SADLER, Garfield G.; GORDON, Nancy Rowan. Properties of ruthenium bipyridyl dimers bridged by disubstituted anthraquinones. **Inorganica chimica acta**, v. 180, n. 2, p. 271-276, 1991.

SAFAEI, Elham *et al.* Synthesis and characterization of a novel oxo-bridged binuclear iron (III) complex: its catalytic application in the synthesis of benzoxazoles using benzyl alcohol in water. **New Journal of Chemistry**, v. 42, n. 9, p. 7230-7236, 2018.

SALMONSEN, R. B. *et al.* Induced electron transfer in ammineruthenium catechol and quinone complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 23, n. 4, p. 385-387, 1984.

SANTIAGO, Marcelo Oliveira. Síntese e caracterização de compostos mono e binucleares de rutênio e ferro com o LIGANTE 1, 3-BIS (3-PIRIDILMETIL) 2-TIOURÉIA (BPMT). 1998.

SCHOLAR, E. (2007). Antimetabolites. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, 1–4.

SCIORTINO, Giuseppe *et al.* Quantitative prediction of electronic absorption spectra of copper (II)–bioligand systems: Validation and applications. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 204, p. 110953, 2020.

SHELDRICK, G. M. SHELXT - Integrated space-group and crystal-structure determination. **Acta Crystallographica Section A: Foundations of Crystallography**, v. 71, n. 1, p. 3–8, 2015.

SHIGA, Takuya *et al.* Cobalt complexes with redox-active anthraquinone-type ligands. **Dalton Transactions**, v. 47, n. 23, p. 7804-7811, 2018.

SIMMONS, N. A. *An Introduction to Microbiology for Nurses (Third Edition)*. Chapter One - A BRIEF HISTORY OF BACTERIOLOGY. Butterworth-Heinemann. 1980.

SOARES, Geisla Mary Silva *et al.* Mechanisms of action of systemic antibiotics used in periodontal treatment and mechanisms of bacterial resistance to these drugs. **Journal of applied oral science**, v. 20, n. 3, p. 295-309, 2012.

SOUSA, Eliane Teixeira; LOPES, Wilson A.; ANDRADE, Jailson B. de. Fontes, formação, reatividade e determinação de quinonas na atmosfera. **Química Nova**, v. 39, n. 4, p. 486-495, 2016.

SZUCS, Zoltan; JONES, Robin L. Introduction to Systemic Antineoplastic Treatments for Cardiologists. In: **Clinical Cardio-Oncology**. Elsevier, 2016. p. 15-38.

TACAR, Oktay; SRIAMORNSAK, Pornsak; DASS, Crispin R. Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 65, n. 2, p. 157-170, 2013.

TANIELIAN, Charles; WOLFF, Christian; ESCH, Marc. Singlet oxygen production in water: aggregation and charge-transfer effects. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 16, p. 6555-6560, 1996.

UMBELINO, D. C.; ROSSI, Elizeu Antonio. Deficiência de ferro: conseqüências biológicas e propostas de prevenção. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, p. 103-112, 2006.

VAN KONINGSBRUGGEN, Petra J.; MAEDA, Yonezo; OSHIO, Hiroki. Iron (III) spin crossover compounds. **Topics in current chemistry**, p. 259-324, 2004.

XU, X.; PERSSON, H. L.; RICHARDSON, D. R. Molecular pharmacology of the interaction of anthracyclines with iron. **Molecular pharmacology**, v. 68, n. 2, p. 261-271, 2005.

YAO, Fujun *et al.* Nanopore single-molecule analysis of DNA–doxorubicin interactions. **Analytical chemistry**, v. 87, n. 1, p. 338-342, 2015.

ZHANG, Christiana Xin; LIPPARD, Stephen J. New metal complexes as potential therapeutics. **Current opinion in chemical biology**, v. 7, n. 4, p. 481-489, 2003.

ZHANG, Sui *et al.* Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Nature medicine**, v. 18, n. 11, p. 1639-1642, 2012.