

Universidade Federal de Juiz de Fora

Pós-Graduação em Química

Doutorado em Química

Tatiane Teixeira Tavares

**COMPLEXOS DE PLATINA(II), PALÁDIO(II) E OURO(I) COM ARIL-
TIOSEMICARBAZONAS: INVESTIGAÇÕES EM QUÍMICA DE
COORDENAÇÃO E QUÍMICA MEDICINAL**

Juiz de Fora

2014

Universidade Federal de Juiz de Fora

Pós-Graduação em Química

Doutorado em Química



**COMPLEXOS DE PLATINA(II), PALÁDIO(II) E OURO(I) COM ARIL-
TIOSEMICARBAZONAS: INVESTIGAÇÕES EM QUÍMICA DE
COORDENAÇÃO E QUÍMICA MEDICINAL**

Tatiane Teixeira Tavares

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Soares Fontes

Co-Orientador: Prof. Dr. Richard Michael Grazul

Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Química.

Juiz de Fora

2014

Dedico esta tese àqueles que indiscutivelmente foram, são e sempre serão meus maiores mestres, se não na ciência certamente na vida, meus pais Cleuza e Osvaldo. A vocês o meu eterno amor e agradecimento.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem a vitória, nem a derrota”.

Theodore Roosevelt

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, pois sem Ele essa jornada não seria cumprida.

À minha orientadora professora doutora Ana Paula Soares Fontes, pelos ensinamentos, paciência e incentivo, me proporcionando grandes oportunidades. Ressalto minha satisfação pela orientação, fruto da qual, adquiri conhecimentos que levarei por toda vida.

Ao meu co-orientador Richard Michael Grazul, pela paciência, ensinamentos e por sempre ajudar nos momentos difíceis.

Aos meus pais Cleuza e Osvaldo, exemplos de vida, pelo apoio em todas as decisões da minha vida, pelo amor incondicional e principalmente grande paciência nos momentos mais difíceis, vocês são meus alicerces. Amo vocês!

Ao meu querido irmão Beto pela sua amizade sincera, pelas conversas francas e principalmente conselhos, te amo!

À minha madrinha Marcilene, minha segunda mãe, pelo amor, incentivo, amizade e companheirismo em todos os momentos da minha vida.

Ao meu noivo Wagner, que mostrou que ter paciência e esperar a hora certa é sempre a melhor escolha. Agradeço pelo respeito, pelas palavras indispensáveis de otimismo e confiança, e, sobretudo, por seu amor.

À minha amiga irmã e agora madrinha de casamento Renatinha, que sempre me proporcionou bons momentos, pelo companheirismo e paciência debaixo do mesmo teto. Quantas vezes já choramos e rimos juntas, sem você essa caminhada não seria a mesma. Te adoro! Obrigada por estar sempre presente!

À professora Heveline Silva por sempre estar disposta a ajudar, pelos ensinamentos e até mesmo pelas broncas que me fizeram crescer.

Aos amigos do Lab 2 (Carol, Camila, Paola, Pâmela, Jeferson, Moyra, Juliana, Caroline), que ao longo desses 10 anos de jornada se tornaram uma família para mim, principalmente nos momentos em que mais precisei. Ao Gabriel, em especial pela ajuda na síntese e caracterização dos compostos.

A todos os colegas do NUPEQ e do NEQC, que de alguma forma, fizeram parte destes anos de trabalho, foi muito bom ter conhecido e convivido com vocês, sentirei saudades.

As amigas sinceras que conquistei aqui (Elgite, Bianca, Taís, Bruna) das quais sentirei muita saudade, pois cada uma seguirá seu caminho, trilhando uma bela estrada, se Deus quiser.

Aos professores e funcionários do departamento de química da UFJF em especial aos professores Renato e Hélio pela ajuda na realização dos trabalhos, cada um na sua área. E à Simone pela competência e disposição.

Aos colegas Gustavo, Diego, Arthur e Adriana que colaboraram para o enriquecimento do trabalho com a análise eletroquímica, cálculos teóricos, MALDI e interação dos compostos com a enzima TRx.

A todos os tios, primos e familiares da minha querida cidade, que torceram por mim e comemoraram cada conquista, agradeço o carinho de todos.

A todos os meus amigos queridos (Poly, Vanessinha, Cris, Marinez, Gláucia, Camila, Didinha, Nathália, Juninho, Léo, Diego, Lucas, Celso) que, de uma forma ou outra, me ajudaram nessa caminhada, sem vocês eu não teria conseguido.

Aos meus ex-alunos da UEMG-Ubá que me mostraram que ser professora é mais do que repassar conhecimento, agradeço de coração a todos vocês por terem me ensinado a amar a profissão que eu escolhi!

À Universidade Federal de Juiz de Fora.

À CAPES pela bolsa concedida.

Por fim, a todos que de uma forma direta ou indireta contribuíram para realização desse trabalho.

MUITO OBRIGADA!!!

RESUMO

O câncer é considerado uma das principais causas de óbito no mundo todo, sendo que seu tratamento pode ser realizado através da radioterapia, cirurgia e quimioterapia. A partir da descoberta da atividade anticancerígena da cisplatina, a investigação a respeito do uso de complexos metálicos como fármacos cresceu de forma expressiva. No intuito de melhorar o espectro de atividade antitumoral, diminuir os efeitos colaterais e a resistência celular, o desenvolvimento de novos complexos metálicos têm sido de grande interesse em pesquisas científicas.

A química de coordenação das tiossemicarbazonas tem se destacado devido à sua capacidade quelante, diversidade estrutural e aplicações biológicas. Além da atividade antitumoral, algumas tiossemicarbazonas vêm sendo utilizadas no desenvolvimento de drogas antibacterianas, tendo também apresentado boa atividade antiviral.

As interações das tiossemicarbazonas com íons metálicos têm sido muito estudadas devido ao interesse em suas propriedades biológicas e químicas, além do estudo da atividade biológica de seus complexos metálicos. Tais estudos têm sido direcionados principalmente para a identificação de grupos diretamente ligados ao metal e no estabelecimento da estrutura formada por estes compostos de coordenação.

Visando obter novos compostos de platina(II), paládio(II) e ouro(I) que apresentem atividade biológica, este trabalho promove a síntese de vinte e quatro complexos utilizando seis ligantes do grupo das tiossemicarbazonas. Os complexos obtidos foram caracterizados por análise elementar, Raman, IV, UV-vis, espectroscopia de RMN, espectrometria de massa, TG/DTA e voltametria cíclica.

Os efeitos citotóxicos dos complexos foram investigados frente a células de carcinoma de cólon de camundongo (CT26.WT) e melanoma (B16-F10) e células sadias de rim (BHK-21). Alguns dos complexos estudados apresentaram citotoxicidade comparável ou melhor do que a da cisplatina, principalmente os complexos de ouro e trifenilfosfina.

A atividade antibacteriana dos compostos foi também avaliada contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium* e *Escherichia coli*. A coordenação ao íon metálico fez aumentar a atividade antibacteriana, principalmente para os complexos de ouro(I).

Todos os ligantes tiossemicarbazonas e seus respectivos complexos de ouro, com e sem o grupo fosfina, foram avaliados quanto à capacidade em inibir a atividade da enzima

tiorredoxina redutase (TrxR). Os complexos de ouro não fosfínicos demonstraram ser inibidores mais eficazes da TrxR na menor concentração testada (5 μM) do que seus respectivos complexos fosfínicos. Entretanto, ambos os grupos de complexos (ouro com fosfina e ouro sem o grupo fosfina) foram inibidores da enzima TrxR mais eficientes do que seus respectivos ligantes livres.

Palavras-chave: tiossemicarbazonas, complexos metálicos, atividade antibacteriana, atividade antitumoral

ABSTRACT

Cancer is considered one of the main causes of death around the world. This disease can be treated using radiotherapy, surgery, and chemotherapy. The development of novel compounds which are more active and less toxic and which could eventually become antitumor drugs constitutes a research area of great relevance. Since the discovery of the anticancer activity of cisplatin, studies involving the use of metal complexes as drugs have grown substantially. Aiming to improve the spectrum of antitumor activity, decrease side effects and cellular resistance, the development of new metallic complexes is considered of great importance.

The coordination chemistry of thiosemicarbazones has great interest considering their variable donor ability, structural diversity and biological applications. Besides anticancer activity, some thiosemicarbazones have been used in the development of antibacterial drugs, and others have demonstrated antiviral activity.

Aiming to obtain novel platinum(II), palladium(II) and gold(I) complexes that exhibit biological activity, we have synthesized twenty four complexes using thiosemicarbazones as six ligands. The interactions between thiosemicarbazones and metal ions have been investigated due to the interest in their biological and chemical properties. Investigations have been conducted to identify the groups directly bound to the metal and the structure of the coordination compounds formed.

The novel complexes that were developed have been characterized by elemental analyses, Raman, IR, NMR spectroscopy, mass spectrometry, TG/DTA and Cyclic Voltammetry.

The cytotoxicities of the compounds have been investigated against tumor cell lines (B16-F10 and CT26.WT) and non-tumor cell line (BHK-21). Some of the studied complexes have shown cytotoxicity comparable to or better than that of cisplatin, mainly gold complexes with triphenylphosphine.

The antibacterial activities of the compounds have been assayed against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium* e *Escherichia coli*. Coordination to metallic ion has proven to be a good strategy for improving the antibacterial activity, especially for the gold(I) complexes.

All thiosemicarbazone and their respective gold(I) complexes were evaluated for their ability to inhibit the activity of the thioredoxin reductase (TrxR) enzyme. The non-substituted phosphines turned out to be effective inhibitors of TrxR at the lower concentration tested

(5 μ M) when compared to the gold phosphine complexes. Both complexes, in most of the cases, were more efficient TrxR inhibitors than the ligands.

Keywords: *thiosemicarbazones, metal complexes, antibacterial activity, antitumor activity*

LISTA DE SIGLAS ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BHI = Brain Heart Infusion
B16-F10 = célula de melanoma murino
BHK-21 = célula normal de rim de hamster
Calc = calculado
CIM = Concentração Inibitória Mínima
CT26.WT = carcinoma de cólon de camundongo
DMSO = dimetilssulfóxido
DMSO-*d*₆ = dimetilssulfóxido deuterado
DMEM = Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DNA = Ácido desoxirribonucleico
DTNB = Ácido 5,5-ditiobis(2-nitrobenzóico)
d = duplete
 ϵ = Absortividade molar
EDTA = ácido etilenodiamino tetraacético
ELISA = Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EtOH = etanol
HEPES = 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinoetanossulfonico
Hz = Hertz
IV = Infravermelho
m = múltiplo
MTT = (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium
MHz = Megahertz
mmol = milimol
MM = Massa Molar
NADPH = fosfato dinucleótido de nicotinamida adenina
NEt₃ = trietilamina
PBS = Phosphate Buffer Solution
ppm = partes por milhão
RDR = Ribonucleosídeo difosfato redutase
RMN de ¹³C = Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
RMN de ¹⁹⁵Pt = Ressonância Magnética Nuclear de Platina

RMN de ^1H = Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

RNA = Ácido ribonucleico

RPMI = Meio de cultura “Roswell Park Memorial Institute”

s = Simpleto

t = Tripleto

THF = Tetrahydrofurano

TMS = Tetrametilsilano

TNB = Ácido 5-tio-2-nitrobenzóico

TrxR = Tiorredoxina redutase

UV = Ultravioleta

δ = deslocamento químico

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Exemplos de complexos diaminaados de platina(II) investigados pelo nosso grupo de pesquisa.....	26
Figura 1.2. Complexos de paládio(II) e platina(II) derivados de fluorquinolonas com boa atividade antibacteriana.....	27
Figura 1.1.1. Equação da reação genérica de obtenção das tiossemicarbazonas.....	28
Figura 1.1.2. Equilíbrio tautomérico das tiossemicarbazonas.....	29
Figura 1.1.3. Estrutura de tiossemicarbazonas α (N)-heterocíclicas.....	29
Figura 1.1.4. Exemplos de complexos metálicos derivados tiossemicarbazonas de grande relevância farmacológica.....	30
Figura 1.2.1. Cisplatina.....	31
Figura 1.2.2. Estrutura dos análogos da cisplatina.....	32
Figura 1.2.3. Caminho citotóxico da cisplatina na célula.....	33
Figura 1.2.4. Complexos de platina(IV).....	34
Figura 1.2.5. Complexos polinucleares de platina.....	36
Figura 1.3.1. Complexo de paládio(II) com atividade antibacteriana <i>in vitro</i>	38
Figura 1.4.1. Compostos de ouro utilizados clinicamente para o tratamento de artrite reumatoide.....	40
Figura 1.4.2. Compostos de ouro(I) contendo derivados fosfínicos que possuem atividade antitumoral.....	41
Figura 1.4.3. Complexos de ouro(III) com promissoras atividades antitumorais.....	41
Figura 4.1.1. Representação esquemática da síntese dos ligantes aril-tiossemicarbazonas.....	83
Figura 4.1.2. Mecanismo de formação de tiossemicarbazonas	84

Figura 4.1.3. Espectro de RMN de ^1H do <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	86
Figura 4.1.4. Espectro de RMN de ^{13}C do <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona (DMSO- d_6 , MHz).....	86
Figura 4.1.5. Espectro no UV-visível em solução metanólica do <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona.....	87
Figura 4.2.1. Complexo de platina com o ligante 2-acetiltiofenotiossemicarbazona e de paládio com o derivado <i>p</i> -hidroxifenil-tiossemicarbazona que apresentam estruturas diferentes das propostas para os obtidos neste trabalho.....	88
Figura 4.2.2. Representação esquemática da síntese dos complexos de platina(II) e paládio(II) com derivados aril-tiossemicarbazonas.....	90
Figura 4.2.3. Espectros no infravermelho do ligante e dos complexos de platina(II) e paládio(II) com <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona.....	91
Figura 4.2.4. Espectro de RMN de ^1H do complexo de platina(II) com <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	92
Figura 4.2.5. Espectro de RMN de ^1H do complexo de paládio(II) com <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	93
Figura 4.2.6. Espectro de RMN de ^{13}C do complexo de platina(II) com o <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	93
Figura 4.2.7. Espectro de RMN de ^{13}C do complexo de paládio(II) com o <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	94
Figura 4.2.8. Espectro de RMN de ^{195}Pt do complexos de platina(II) com <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona (DMSO- d_6 , 64 MHz).....	96
Figura 4.2.9. Espectro no UV-visível em solução metanólica do complexo de platina(II) com <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona.....	97
Figura 4.2.10. Espectro no UV-visível em solução metanólica do complexo de paládio(II) com <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona.....	98

Figura 4.2.11. Espectro de massas em solução de acetonitrila do complexo de platina(II) com <i>p</i> -metoxifenil-tiossemicarbazona.....	99
Figura 4.2.12. Estrutura proposta para os complexos de platina e paládio sintetizados.....	103
Figura 4.3.1. Complexos de ouro(I) com atividade citotóxica.....	104
Figura 4.3.2. Representação esquemática da síntese dos complexos de ouro com derivados aril-tiossemicarbazonas.....	105
Figura 4.3.3. Espectros de infravermelho do ligante fenil-tiossemicarbazona e do seu complexo de ouro.....	106
Figura 4.3.4. Espectro Raman do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona.....	107
Figura 4.3.5. Espectro de RMN de ¹ H do complexos de ouro com fenil-tiossemicarbazona (DMSO- <i>d</i> ₆ , 300 MHz).....	108
Figura 4.3.6. Espectro de RMN de ¹³ C do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona (DMSO- <i>d</i> ₆ , 75 MHz).....	109
Figura 4.3.7. Espectro no UV-visível em solução metanólica do complexo de ouro com feniltiossemicarbazona.....	109
Figura 4.3.8. Voltamogramas cíclicos de K[AuCl ₄] (a), complexos de ouro 19 (b), 20 (c) e 21 (d). Condições experimentais: eletrodo de trabalho de carbono vítreo, 100 mmol L ⁻¹ NaClO ₄ , eletrodo de referência Ag/AgCl _(s) , KCl _(sat) e velocidade de varredura de 50 mV s ⁻¹	111
Figura 4.3.9. Curva termogravimétrica para o complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona.....	112
Figura 4.3.10. Espectro de massas do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona em acetonitrila.....	113
Figura 4.3.11. Estrutura proposta para os complexos de ouro sintetizados.....	114
Figura 4.4.1. Reações envolvidas na formação de cloro(trifenilfosfina)ouro(I).....	115
Figura 4.4.2. Representação esquemática da síntese dos complexos de ouro com trifenilfosfina e ligantes aril-tiossemicarbazonas.....	116

Figura 4.4.3. Espectros de infravermelho do ligante e do complexo de ouro com feniltiossemicarbazona e trifenilfosfina.....	117
Figura 4.4.4. Espectro Raman do complexo de ouro com trifenilfosfina e feniltiossemicarbazona.....	117
Figura 4.4.5. Espectro de RMN de ^1H do complexo de ouro com trifenilfosfina e feniltiossemicarbazona (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	118
Figura 4.4.6. Espectro de RMN de ^{13}C do complexo de ouro trifenilfosfina e feniltiossemicarbazona (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	119
Figura 4.4.7. Espectro no UV-visível em solução metanólica do complexo de ouro com trifenilfosfina e feniltiossemicarbazona.....	120
Figura 4.4.8. Voltamograma cíclico do sal de ouro $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ (a), dos complexos 25 (b), 26 (c) e 27 (d). Condições experimentais: eletrodo de trabalho de carbono vítreo, $100 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaClO}_4$, eletrodo de referência $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(s)}$, $\text{KCl}_{(\text{sat})}$ e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1}	121
Figura 4.4.9. Curva termogravimétrica para o complexo de ouro com feniltiossemicarbazona e trifenilfosfina.....	122
Figura 4.4.10. Estrutura proposta para os complexos de ouro e trifenilfosfina sintetizado...	123
Figura 5.2.1. Redução do MTT ao composto formazan.....	128
Figura 5.2.2. Perfil citotóxico representativo dos complexos testados. Esse gráfico se refere à determinação do IC_{50} do complexo 14 sobre a linhagem B16-F10, em quadruplicata.....	131
Figura 5.3.1. Percentual de inibição enzimática após exposição da enzima alvo TrxR aos complexos de ouro testados, usando ensaio de redução DTNB, concentração dos complexos testados $5 \mu\text{M}$. A TrxR foi incubada como descrito na Seção Experimental. A redução do DTNB foi medida espectrofotometricamente a 412.....	135
Figura A1. Espectro do IV do composto 1 , (KBr).....	152
Figura A2. Espectro do IV do composto 2 , (KBr).....	152
Figura A3. Espectro do IV do composto 3 , (KBr).....	153

Figura A4. Espectro do IV do composto 4 , (KBr).....	153
Figura A5. - Espectro do IV do composto 5 , (KBr).....	154
Figura A6. Espectro do IV do composto 6 , (KBr).....	154
Figura A7. Espectro do IV do composto 7 , (KBr).....	155
Figura A8. Espectro do IV do composto 8 , (KBr).....	155
Figura A9. Espectro do IV do composto 9 , (KBr).....	156
Figura A10. Espectro do IV do composto 10 , (KBr).....	156
Figura A11. Espectro do IV do composto 11 , (KBr).....	157
Figura A12. Espectro do IV do composto 12 , (KBr).....	157
Figura A13. Espectro do IV do composto 13 , (KBr).....	158
Figura A14. Espectro do IV do composto 14 , (KBr).....	158
Figura A15. Espectro do IV do composto 15 , (KBr).....	159
Figura A16. Espectro do IV do composto 16 , (KBr).....	159
Figura A17. Espectro do IV do composto 17 , (KBr).....	160
Figura A18. Espectro do IV do composto 18 , (KBr).....	160
Figura A19. Espectro do IV do composto 19 , (KBr).....	161
Figura A20. Espectro do IV do composto 20 , (KBr).....	161
Figura A21. Espectro do IV do composto 21 , (KBr).....	162
Figura A22. Espectro do IV do composto 22 , (KBr).....	162
Figura A23. Espectro do IV do composto 23 , (KBr).....	163
Figura A24. Espectro do IV do composto 24 , (KBr).....	163
Figura A25. Espectro do IV do composto 25 , (KBr).....	164
Figura A26. Espectro do IV do composto 26 , (KBr).....	164
Figura A27. Espectro do IV do composto 27 , (KBr).....	165
Figura A28. Espectro do IV do composto 28 , (KBr).....	165
Figura A29. Espectro do IV do composto 29 , (KBr).....	166
Figura A30. Espectro do IV do composto 30 , (KBr).....	166

Figura A31. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>1</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	167
Figura A32. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>1</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	167
Figura A33. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>2</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	168
Figura A34. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>2</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	168
Figura A35. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>3</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	169
Figura A36. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>3</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	169
Figura A37. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>4</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	170
Figura A38. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>4</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	170
Figura A39. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>5</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	171
Figura A40. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>5</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	171
Figura A41. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>6</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	172
Figura A42. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>6</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	172
Figura A43. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>7</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	173
Figura A44. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>7</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	173
Figura A45. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>8</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	174
Figura A46. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>8</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	174
Figura A47. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>9</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	175
Figura A48. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>9</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	175
Figura A49. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>10</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	176
Figura A50. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>10</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	176
Figura A51. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>11</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	177
Figura A52. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>11</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	177
Figura A53. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>12</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	178
Figura A54. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>12</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	178
Figura A55. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>13</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	179

Figura A56. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>13</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	179
Figura A57. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>14</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	180
Figura A58. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>14</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	180
Figura A59. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>15</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	181
Figura A60. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>15</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	181
Figura A61. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>16</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	182
Figura A62. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>16</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	182
Figura A63. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>17</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	183
Figura A64. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>17</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	183
Figura A65. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>18</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	184
Figura A66. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>18</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	184
Figura A67. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>19</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	185
Figura A68. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>19</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	185
Figura A69. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>20</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	186
Figura A70. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>20</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	186
Figura A71. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>21</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	187
Figura A72. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>21</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	187
Figura A73. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>22</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	188
Figura A74. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>22</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	188
Figura A75. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>23</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	189
Figura A76. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>23</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	189
Figura A77. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>24</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	190
Figura A78. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>24</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	190
Figura A79. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>25</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	191
Figura A80. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>25</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	191

Figura A81. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>26</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	192
Figura A82. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>26</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	192
Figura A83. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>27</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	193
Figura A84. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>27</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	193
Figura A85. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>28</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	194
Figura A86. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>28</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	194
Figura A87. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>29</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	195
Figura A88. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>29</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	195
Figura A89. Espectro de RMN de ^1H do composto <u>30</u> , (DMSO- d_6 , 300 MHz).....	196
Figura A90. Espectro de RMN de ^{13}C do composto <u>30</u> , (DMSO- d_6 , 75 MHz).....	196

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.2.1. Deslocamentos químicos em RMN de ^1H ligante <i>p</i> -metoxifeniltiossemicarbazona e seus respectivos complexos de platina e paládio.....	95
Tabela 4.2.2. Deslocamentos químicos em RMN de ^{13}C ligante <i>p</i> -metoxifeniltiossemicarbazona e seus respectivos complexos de platina e paládio.....	95
Tabela 4.2.3. Deslocamentos químicos em RMN de ^{195}Pt dos complexos de platina(II) em DMSO.....	96
Tabela 4.2.4. Resultados de análise elementar para os complexos de platina (7-12) e paládio (13-18).....	100
Tabela 4.2.5. Parâmetros estruturais calculados para os complexos de Pt(II) e Pd(II) em geometria <i>trans</i> (valores entre colchetes são para os complexos <i>cis</i>). Os comprimentos de ligação (<i>r</i>) são dados em Å e os ângulos de ligação (<i>a</i>) em graus.....	102
Tabela 4.3.1. Dados obtidos através dos voltamogramas cíclicos dos complexos de ouro com ligantes aril-tiossemicarbazonas.....	111
Tabela 4.3.2. Resultados de análise elementar para os complexos de ouro (19-24).....	114
Tabela 4.4.1. Dados obtidos através dos voltamogramas cíclicos dos complexos de ouro com ligantes aril-tiossemicarbazonas e trifenilfosfina.....	121
Tabela 4.4.2. Resultados de análise elementar para os complexos de ouro com trifenilfosfina (25-30).....	123
Tabela 5.1.1. Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) dos ligantes e complexos de platina e paládio contra cepas padrão de bactérias.....	125
Tabela 5.1.2. Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) dos ligantes e complexos de ouro contra cepas padrão de bactérias.....	127
Tabela 5.2.1. Avaliação <i>in vitro</i> da atividade citotóxica (IC_{50}) em linhagens celulares B16-F10, CT26.WT e BHK-21 dos complexos 1-18.....	130
Tabela 5.2.2. Avaliação <i>in vitro</i> da atividade citotóxica (IC_{50}) em linhagens celulares B16-F10, CT26.WT e BHK-21 dos complexos 19-30.....	132

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	25
1.1. Tiossemicarbazonas.....	28
1.2. Complexos de platina.....	31
1.3. Complexos de paládio.....	37
1.4. Complexos de ouro.....	39
2. OBJETIVOS.....	43
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	44
3.1. Reagentes.....	44
3.2. Espectros de absorção na região do infravermelho.....	45
3.3. Espectros Raman.....	45
3.4. Espectros de RMN de ^1H , ^{13}C e ^{195}Pt	45
3.5. Faixa de fusão e decomposição.....	45
3.6. Espectros de UV-visível.....	46
3.7. Análise Elementar.....	46
3.8. Análise Térmica.....	46
3.9. Voltametria Cíclica.....	46
3.10. Espectrometria de massas.....	46
3.11. Cálculos de Mecânica Quântica.....	47
3.12. Síntese dos ligantes aril-tiossemicarbazonas.....	48
3.13. Síntese dos complexos de platina.....	48
3.14. Síntese dos complexos de paládio.....	48
3.15. Síntese dos complexos de ouro.....	49
3.16. Síntese dos complexos de ouro com trifenilfosfina.....	49
3.17. Dados de caracterização dos compostos.....	50
3.18. Avaliação da atividade antibacteriana dos complexos de platina, paládio e ouro.....	80
3.19. Avaliação da atividade citotóxica dos complexos de platina, paládio e ouro.....	81
3.20. Estudos de inibição da enzima tiorredoxina redutase (TrxR).....	82

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
4.1. Ligantes aril-tiossemicarbazonas.....	83
4.2. Complexos de platina e paládio.....	88
4.3. Complexos de ouro.....	104
4.4. Complexos de ouro com trifenilfosfina.....	115
5. ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	124
5.1 Testes de atividade antibacteriana.....	124
5.2 Testes de atividade antitumoral.....	128
5.3 Inibição da atividade enzimática da Tiorredoxina redutase (TrxR).....	134
6. CONCLUSÕES.....	136
REFERÊNCIAS.....	138
ANEXOS:.....	151
SEÇÃO DE ESPECTROS.....	151
ARTIGO PUBLICADO.....	197
Espectros de Infravermelho, RMN de ¹H e ¹³C de todos os compostos sintetizados no presente trabalho.....	152

1. INTRODUÇÃO

A química inorgânica medicinal se baseia na introdução de íons metálicos em sistemas biológicos, na manipulação e redistribuição desses íons.

Muitos metais exercem funções importantes em sistemas vivos, tais como a função estrutural, de carreador e transportador de elétrons e oxigênio, catalizador em reações redox, dentre outras. Tal fato ocorre devido à possibilidade dos metais interagirem com biomoléculas, como proteínas e DNA, além de apresentarem alta afinidade por moléculas cruciais à vida, como oxigênio e óxido nítrico (Beraldo, 2005). Essa afinidade ocorre devido aos metais possuírem a capacidade de perder elétrons facilmente formando íons com cargas positivas que, de forma geral, são solúveis em fluidos biológicos. Por sua vez, as biomoléculas são ricas em elétrons, gerando assim uma forte atração entre as cargas opostas levando a uma interação entre eles.

Apesar da relevância dos íons metálicos como agentes quimioterápicos, somente nos últimos cem anos, após Alfred Werner, o primeiro químico inorgânico a receber o prêmio Nobel, as propriedades medicinais dos compostos inorgânicos começaram a ser investigadas de forma sistemática (Beraldo, 2011).

A literatura apresenta uma ampla variedade de compostos metálicos que apresentam perfil farmacológico, tais como antitumoral, antibacteriano, antimicrobiano, antiviral, antiparasitário, entre outros (Silva *et al.*, 2010; Maia *et al.*, 2012; Henderson & Rickard, 2001; Hernández *et al.*, 2008; Demertzi *et al.*, 2009; Cuin *et al.*, 2007). Nos parágrafos a seguir são descritos resumidamente alguns trabalhos publicados na literatura com o objetivo de ilustrar esta observação.

Por exemplo, nosso grupo de pesquisa tem investigado complexos de platina(II) contendo ligantes diaminados de cadeia longa que demonstraram atividade igual ou superior quando comparados à cisplatina e à carboplatina em linhagens celulares tumorais, tais como de câncer de colo, melanoma e adenocarcinoma de mama (Tavares *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2008), Figura 1.1.

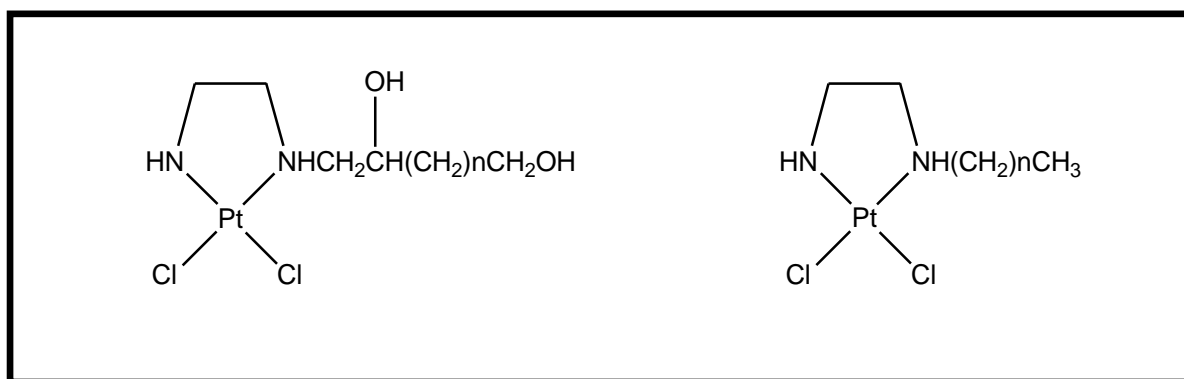


Figura 1.1. Exemplos de complexos diaminados de platina(II) investigados pelo nosso grupo de pesquisa

Um outro estudo (Quiroga *et al.*, 1998) relata que complexos de paládio(II) e platina(II) derivados de tiossemicarbazonas se mostraram ativos em células tumorais resistentes à cisplatina, como os complexos de fenilacetaldéido tiossemicarbazona, os quais são citotóxicos frente a uma variedade de linhagens tumorais, com um bom índice terapêutico e valores de concentrações inibitórias (IC_{50}) muito menores para células resistentes à cisplatina do que para células normais.

Alguns complexos de ouro(I) com derivados acetil-piridina tiossemicarbazonas foram investigados por Lessa e colaboradores (Lessa *et al.*, 2012) e apresentaram-se mais citotóxicos do que a auranofina frente às células de leucemia promielocítica aguda (HL60) e menos tóxicos frente a células mononucleares do sangue periférico (PBMC).

Em termos de complexos que apresentam atividade antibacteriana, podemos citar outro trabalho do nosso próprio grupo de pesquisa (Vieira *et al.*, 2009) que mostrou a preparação de complexos de paládio(II) e platina(II) com derivados de fluorquinolonas (gatifloxacina, sparfloxacina e ofloxacina), Figura 1.2. Estes compostos apresentaram boa atividade antituberculose, sendo a maioria deles mais ativos que a rifampicina.

Demertzi (Kovala-Demertzi *et al.*, 2001) estudou o efeito antibacteriano e antifúngico de alguns compostos de platina e paládio com derivados de tiossemicarbazonas *in vitro*. Tais compostos demonstraram um efeito letal em cepas de bactérias *Staphylococcus aureus* e também mostraram uma efetiva atividade antifúngica em *Candida albicans*.

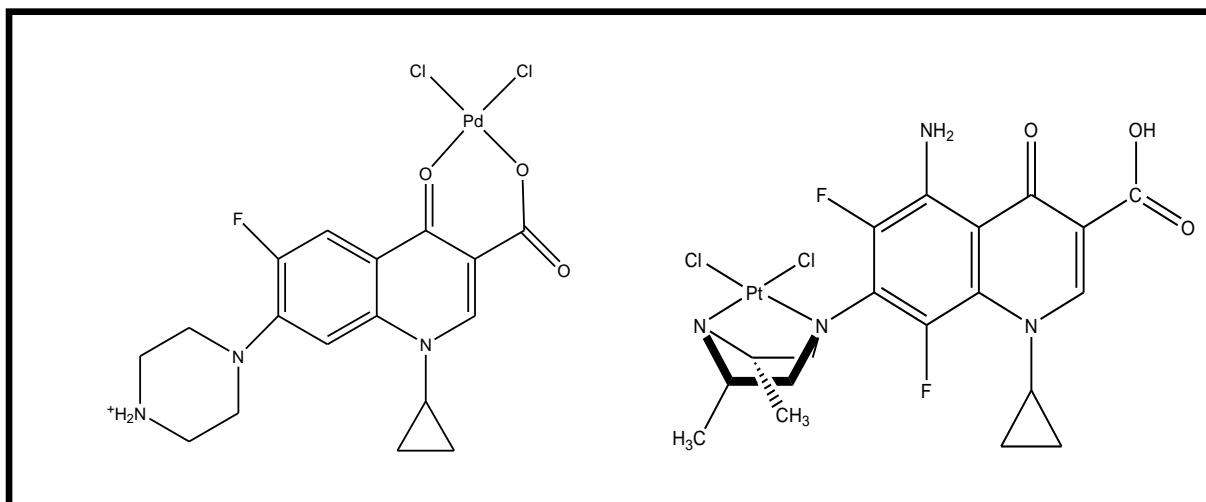


Figura 1.2. Complexos de paládio(II) e platina(II) derivados de fluorquinolonas com boa atividade antibacteriana

A coordenação de compostos orgânicos a íons metálicos pode acarretar em mudanças significativas no perfil farmacológico do ligante, provavelmente devido à modificação na lipofilicidade, na redução dos efeitos colaterais gerados pelo ligante livre ou até mesmo pela redução da resistência celular. Dentro desse contexto, torna-se relevante o estudo de compostos metálicos na terapia medicinal.

1.1. TIOSSEMICARBAZONAS

As tiossemicarbazonas apresentam um amplo perfil farmacológico e constituem uma importante classe de compostos cujas propriedades têm sido extensivamente estudadas na química medicinal e, particularmente, na química medicinal inorgânica, em razão de sua capacidade quelante e do papel da coordenação a íons metálicos no seu mecanismo de ação (Beraldo e Gambino, 2004; Beraldo, 2004).

Estes compostos são de considerável interesse científico por apresentarem, entre outras, atividades como agente antitumoral (Feun *et al.*, 2002), antibacteriano (Kasuga *et al.*, 2003), antiviral (Teitz *et al.*, 1994), antiprotozoária (Bharti *et al.*, 2002) e citotóxica (Karali, 2002).

A equação da reação de obtenção, a estrutura química genérica segundo a IUPAC (Panico, Powell & Richer, 1993) estão representadas na Figura 1.1.1.

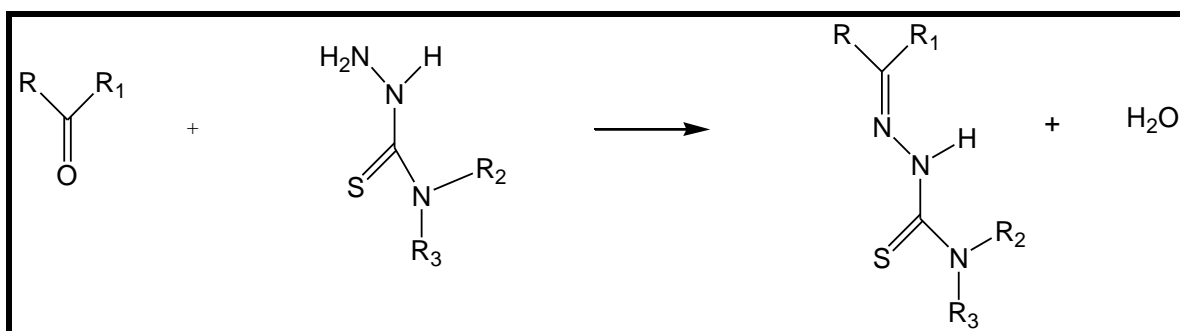


Figura 1.1.1. Equação da reação genérica de obtenção das tiossemicarbazonas (R, R₁, R₂, R₃= H, grupos arila ou grupos alquila)

Em solução aquosa, as tiossemicarbazonas podem existir em duas formas tautoméricas: tiona e tiol (Figura 1.1.2). As tiossemicarbazonas neutras encontram-se na forma de tiona, ou seja, protonadas em N(2). Pela desprotonação, as espécies contendo um enxofre de tiolato são formadas.

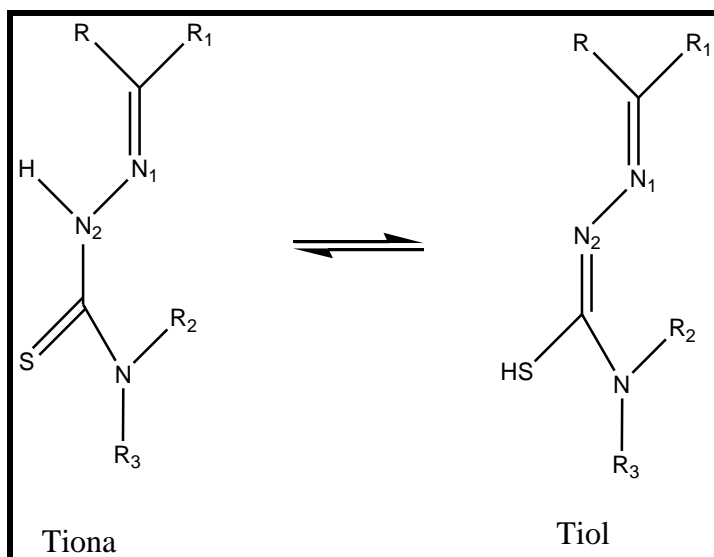


Figura 1.1.2. Equilíbrio tautomérico das tiossemicarbazonas

Tiossemicarbazonas $\alpha(N)$ -heterocíclicas (Figura 1.1.3) são muito estudadas em razão de sua comprovada ação antitumoral (West, Padhye & Sonawane, 1991). A atividade antileucêmica da 2-formilpiridina tiossemicarbazona foi demonstrada no ano de 1956 por Brockman e colaboradores (Brockman *et al.*, 1956).

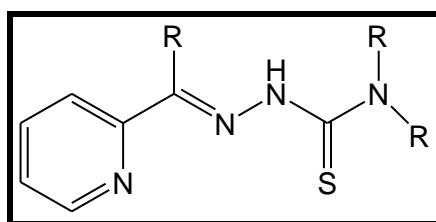


Figura 1.1.3. Estrutura de tiossemicarbazonas $\alpha(N)$ -heterocíclicas (R, R₁, R₂ = H, grupos arila ou grupos alquila)

Variações na estrutura das tiossemicarbazonas podem conduzir a modificações significativas na atividade biológica e alguns estudos de relação estrutura-atividade são encontrados na literatura (West, Padhye & Sonawane, 1991).

As tiossemicarbazonas são consideradas poderosas inibidoras da enzima ribonucleosídeo difosfato redutase (RDR). Alterações na atividade da RDR podem modificar a velocidade de

mutação espontânea das células. Um aumento na atividade da enzima pode estar associado a doenças e, em particular ao câncer, tornando-as um alvo atraente para a quimioterapia (Beraldo & Fantini, 1990).

O mecanismo de ação biológica das tiossemicarbazonas, em muitos casos, envolve seus complexos metálicos, o que torna o estudo destes tão ou mais importante que o estudo dos ligantes livres. Além disso, em alguns casos o complexo é mais ativo do que o ligante ou o complexo pode ativar o ligante como agente citotóxico e fazer decrescer a resistência celular à droga (Liberta & West, 1992). Alguns efeitos colaterais causados pelos ligantes podem também ser diminuídos pela complexação (West, Padhye & Sonawane, 1991).

Há vários relatos na literatura de complexos metálicos de tiossemicarbazonas de grande importância farmacológica, envolvendo íons dos metais paládio, platina e ouro (Quiroga *et al.*, 1998; Matesanz & Souza, 2007; Da Silva *et al.*, 2010; Khanye *et al.*, 2010, Lessa *et al.*, 2012), Figura 1.1.4. Diante deste cenário fica clara a necessidade da continuidade em investimentos no desenvolvimento e estudo de complexos derivados de tiossemicarbazonas com tais íons metálicos.

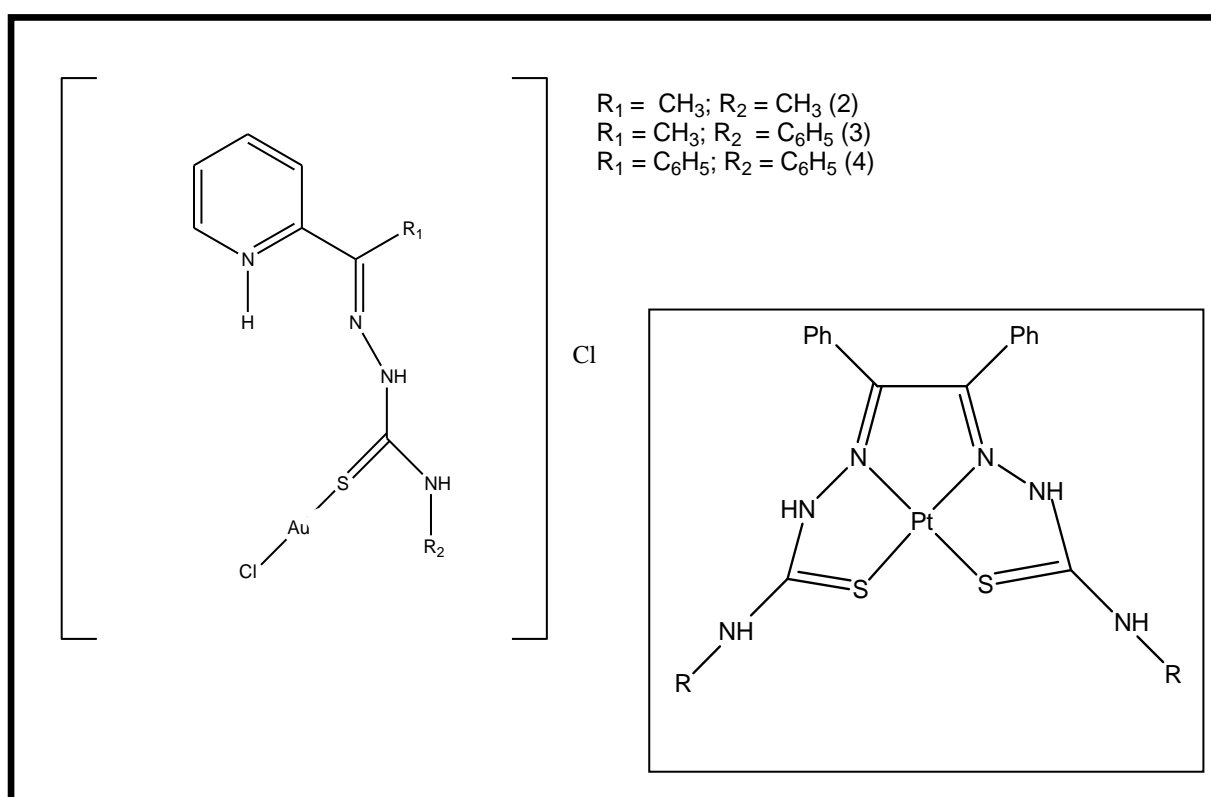


Figura 1.1.4. Exemplos de complexos metálicos derivados tiossemicarbazonas de grande relevância farmacológica

1.1 COMPLEXOS DE PLATINA

A química inorgânica medicinal teve suas origens com os estudos de Paul Ehrlich, que fez uso de compostos inorgânicos, mais especificamente de compostos de arsênio, no tratamento da sífilis (Beraldo *et al.*, 2005). Entretanto, a investigação a respeito do uso de complexos metálicos como fármacos teve maior impulso após a descoberta feita pelo biofísico Barnett Rosenberg (Rosenberg, Van Camp & Krigs, 1965; Rosenberg *et al.*, 1969) da atividade antitumoral do composto *cis*-diaminodicloroplatina(II), mais conhecido como cisplatina (Figura 1.2.1).

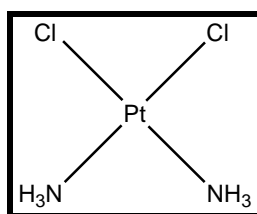


Figura 1.2.1. Cisplatina

A cisplatina é usada no tratamento de vários tipos de neoplasias, como o câncer testicular, de ovário, vesícula, pulmão, cabeça, esôfago, estômago, linfomas, melanoma, osteossarcoma, de mama e cervical, sobretudo em associação com outras drogas, em vários esquemas terapêuticos (Squibb & Matthey, 1990; Fiorentino & Ghiotto, 1987). Apesar de sua eficácia, a cisplatina apresenta severos efeitos colaterais, como elevação da pressão sanguínea, nefrotoxicidade, náuseas, vômitos, ototoxicidade, neurotoxicidade entre outros (Barnard, Cleare & Hydes, 1986; Pasini & Zinino, 1987). Estes efeitos adversos surgem principalmente devido à interação da cisplatina com proteínas e peptídeos, como a glutatona, o que leva ao seu acúmulo no organismo gerando toxicidade (Appleton *et al.*, 1989; Van der Veer & Reedijk, 1988).

Durante as últimas décadas, intensas pesquisas têm sido desenvolvidas focando na diminuição dos efeitos colaterais causados pela cisplatina, sem afetar o potencial citotóxico da mesma. Uma grande atenção foi dada à busca para melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Por exemplo, amplas investigações tem sido feitas com o objetivo de que quimioterápicos orais possam vir a substituir os intravenosos (Desoize & Madoulet, 2002).

Nesse sentido, novos compostos de platina foram propostos, porém poucos têm chegado até os testes clínicos (Jung & Lippard, 2007).

Outros compostos de platina que estão disponíveis para uso em clínica médica estão apresentados na Figura 1.2.2.

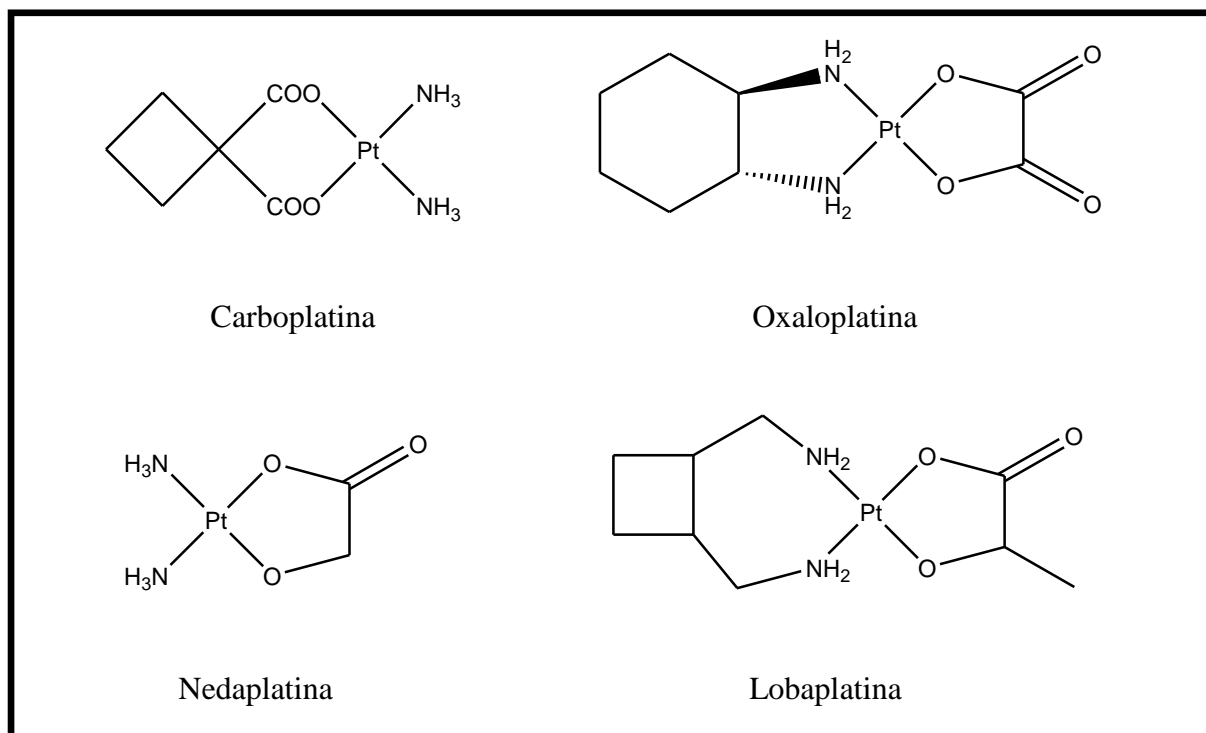


Figura 1.2.2. Estrutura de compostos análogos da cisplatina

O mecanismo de ação da cisplatina está relacionado com a inibição da síntese do DNA, que é constituído por duas fitas compostas por uma sequência de nucleotídeos, estes por sua vez são formados por três diferentes tipos de moléculas: um açúcar, um grupo fosfato e uma base nitrogenada. Essas bases nitrogenadas podem ser purínicas (guanina e adenina) ou pirimídicas (citosina e timina) (Pérez, 1998). O alvo principal de ligação da platina na fita de DNA é o nitrogênio da guanina ou adenina (Fontes, De Almeida & Nader, 1997).

Acredita-se que os efeitos citotóxicos de muitos compostos são atribuídos à capacidade em formar ligações cruzadas com o DNA, seja por ligações interfitas ou intrafitas. Essas ligações mudam a conformação do DNA, inibindo assim a sua síntese e acarretando a morte celular. Acredita-se que a forma mais citotóxica é aquela que apresenta a ligação

intrafitas (Liang, Shen & Gottesman, 2004), o que sugere que a formação deste aduto é o maior responsável pela atividade anticancerígena desses compostos.

Estudos sobre o mecanismo de ação da cisplatina apontam que, ao entrar na célula, esta droga sofre sucessivas reações de hidrólise para formar as espécies ativas como $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$, que reagem mais rapidamente com os alvos celulares. Fora da célula, a alta concentração dos íons cloreto impede a hidrólise e mantém a cisplatina em sua forma neutra, $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, enquanto a baixa concentração de cloreto no meio intracelular favorece a formação das espécies hidrolisadas, como pode ser observado através da Figura 1.2.3 (Desoize & Madoulet, 2002) (Green, Garner & Orton, 1992) (Fontes, De Almeida & Nader, 1997).

Dentro da célula, as espécies hidrolisadas podem reagir com diferentes nucleófilos: DNA, RNA, proteínas, e mitocôndrias (Jamieson & Lippard, 1999). Sabe-se que a ação citotóxica dos complexos de platina envolve interação destes com moléculas de DNA no núcleo da célula formando adutos Pt-DNA. A formação dos adutos interfitas e intrafitas com a platina provoca significativas distorções na dupla hélice do DNA, causando desenovelamento e torção da sua estrutura, que por sua vez são responsáveis pela indução da apoptose (morte celular programada) e necrose (Liang, Shen & Gottesman, 2004; Takahara *et al.*, 1995).

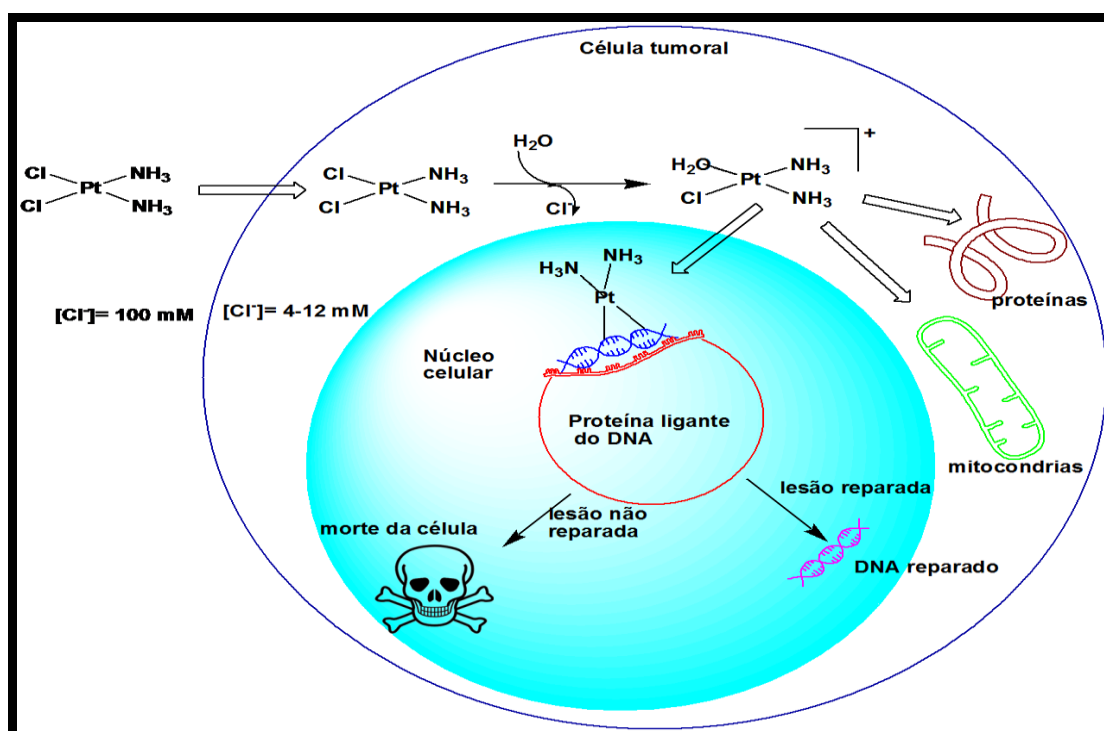


Figura 1.2.3. Caminho citotóxico da cisplatina na célula

Além dos complexos de platina(II) mencionados anteriormente, outros compostos de platina têm se mostrado bastante promissores no que tange a compostos com atividade antineoplásica. Dentre eles, podemos destacar os complexos de platina(IV) e os complexos multinucleares de platina(II).

Rosenberg e colaboradores (Rosenberg *et al.*, 1969) haviam identificado em seus experimentos que ambos os complexos de Pt(II) e Pt(IV) possuíam atividade antitumoral. Características como maior solubilidade e a possibilidade de administração via oral, assim como também a menor toxicidade dos complexos de Pt(IV) têm estimulado as pesquisas nessa área (Jung e Lippard, 2007).

Os complexos de platina(IV) são mais inertes e são considerados como pró-drogas, uma vez que no organismo devem ser reduzidos a platina(II), e agindo a partir daí por um mecanismo análogo ao da cisplatina. Vários complexos de platina(IV) têm se mostrado suficientemente promissores para a triagem clínica, dentre os quais temos, a Satraplatina também conhecida como JM216 (Jung & Lippard, 2007), a Iproplatina (Gordon & Hollander, 1993) e a Tetraplatina (Christian, 1995) (Figura 1.2.4).

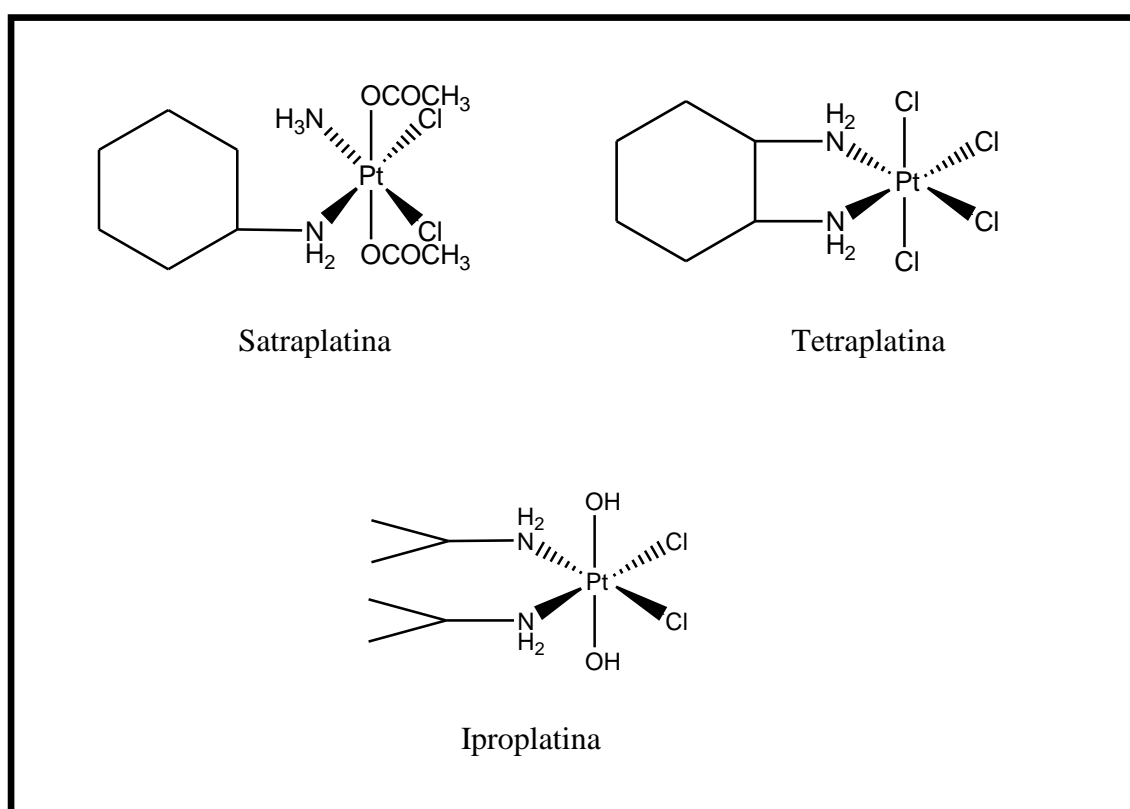


Figura 1.2.4. Complexos de platina(IV)

Outro grupo de moléculas que vem sendo amplamente estudado, visando, sobretudo, uma maior afinidade ao DNA, é constituído pelos compostos multinucleares de platina (Roberts *et al.*, 1989). Esses compostos possuem a capacidade de formarem ligações cruzadas intrafitas e interfitas com o DNA, utilizando os diferentes átomos de platina. Outra característica importante é a possibilidade de desenhar moléculas com distintos grupos ligando os centros metálicos, chamados de espaçadores. Dentre os diversos compostos já propostos, alguns estudos mostram um alto potencial clínico de complexos multinucleares de platina contendo poliaminas como grupo espaçador, representando uma nova e promissora classe de agentes antitumorais (Qu *et al.*, 1993; Jung & Lippard, 2007).

Os primeiros compostos sintetizados dessa classe foram os binucleares, denominados de bis(platina). Estes consistem de duas unidades de platina ligadas através de uma diamina com cadeia carbônica de comprimento variável (Farrel, 1993). Podemos citar também outros compostos que se destacam nessa classe, que são complexos trinucleares de platina. O BBR-3464, sintetizado por Farrel e colaboradores (Farrel *et al.*, 2004) mostrou-se mais ativo que a cisplatina e seus análogos em todas as linhas de células testadas e também o complexo AH78 (Harris *et al.*, 2005), que é um análogo do BBR-3464, se diferenciando deste pela substituição dos cloretos por uma hexanodiamina (Figura 1.2.5).

Segundo Farrel e colaboradores (Farrel *et al.*, 2004) o complexo BBR-3464, por ser catiônico, apresenta alta afinidade pelo DNA, que é aniônico, tendo menor afinidade por outras substâncias presentes no organismo, como, por exemplo, as proteínas. Este é um dos grandes problemas no uso da cisplatina, que é desativada quando se liga a tais substâncias. Os compostos polinucleares catiônicos, como o Triplatin, (Komeda *et al.*, 2006) podem atuar por um mecanismo diferente. O Triplatin, assim como outros compostos multinucleares diaminaados carregados interagem com o DNA de forma distinta dos compostos clássicos, que ligam-se covalentemente a esta biomolécula. Esta interação entre os compostos de platina com alta carga positiva e o grupo fosfato negativo do DNA é denominada “phosphate clamp”. (Komeda *et al.*, 2011).

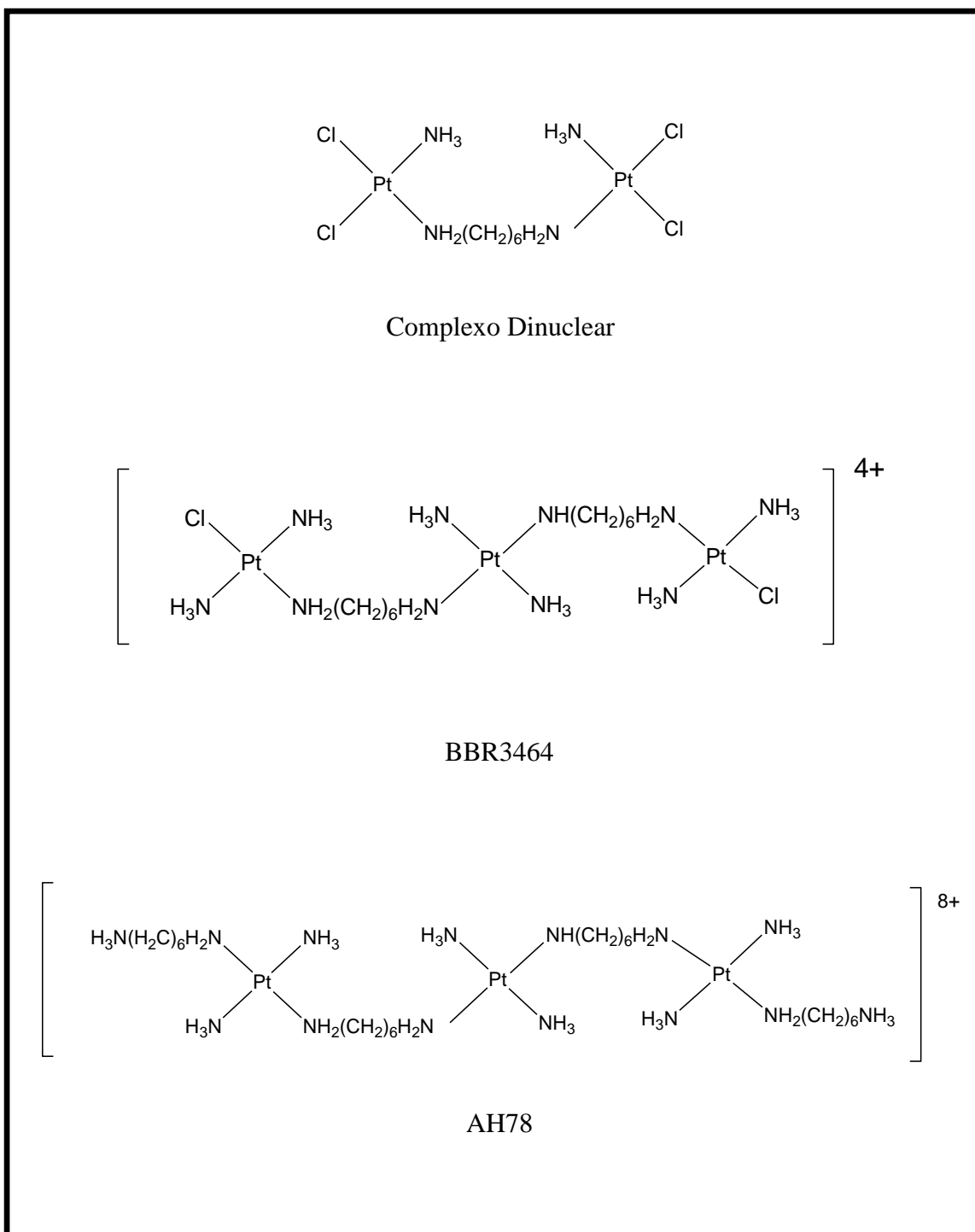


Figura 1.2.5. Complexos polinucleares de platina

1.3. COMPLEXOS DE PALÁDIO

Depois da descoberta da cisplatina como droga anticancerígena, o interesse no estudo de outros compostos envolvendo íons metálicos aumentou bastante. A investigação na síntese de compostos envolvendo paládio(II) como íon metálico deve-se principalmente ao fato dele ter uma química muito semelhante à platina(II). Ambos formam complexos quadrado planares e mais raramente trigonal bipiramidal, são ácidos de Lewis moles e formam ligações fortes com átomos doadores, como nitrogênio e enxofre (bases moles).

Comparando-se complexos de paládio(II) e de platina(II) estruturalmente análogos, contendo somente ligantes amônia e cloretos, os complexos de paládio são mais lábeis, reagindo aproximadamente 10^5 vezes mais rápido (Farrel, 1989), o que pode prejudicar a atividade biológica destes.

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos no intuito de sintetizar compostos de paládio que apresentem atividade biológica, como antitumorais (Quiroga *et al.*, 1998; Padhye *et al.*, 2005) e antibacterianos (Chartoni-Souza *et al.*, 2005; Kovala-Demertzi *et al.*, 2001). Alguns complexos de paládio com ligantes orgânicos, como tiossemicarbazonas, têm se mostrado ativos em células tumorais resistentes à cisplatina. Investigações a respeito do mecanismo de ação sugerem que esses compostos se ligam ao DNA através de coordenação interfitas, ao contrário da cisplatina, que se liga predominantemente à duas guaninas na mesma fita, ou seja, através de coordenação intrafita (Fontes *et al.*, 2005).

Estudos relatados na literatura sobre um complexo de paládio(II) derivado da benzil bis(tiossemicarbazona) demonstram que tal complexo poderia ter propriedades antitumorais importantes, já que apresenta valores de concentração inibitória (IC_{50}) similares ao da cisplatina e mostra citotoxicidade significativa contra células resistentes à esta droga (Matesanz *et al.*, 1999).

Outro trabalho reportado na literatura envolvendo complexos de paládio com derivados de tiossemicarbazona mostrou que estes exibiram notável atividade antitumoral em células mamárias cancerosas, sendo relativamente não tóxicos para as células normais (Afrasiabi *et al.*, 2003). Estes complexos foram mais ativos do que complexos análogos de outros íons metálicos estudados anteriormente (Cu^{2+} , Ni^{2+} e Co^{2+}).

Além da atividade antitumoral já discutida, alguns complexos de paládio têm também exibido atividade antimicrobiana. Para exemplificar essa afirmação, discutiremos brevemente alguns compostos reportados na literatura.

Asiri e colaboradores relatam que complexos de paládio(II) e derivados tiossemicarbazonas apresentam notável atividade antibacteriana (*in vitro*), em comparação com a amoxicilina. Esses complexos foram testados contra dois tipos de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Asiri & Khan, 2010), Figura 1.3.1.

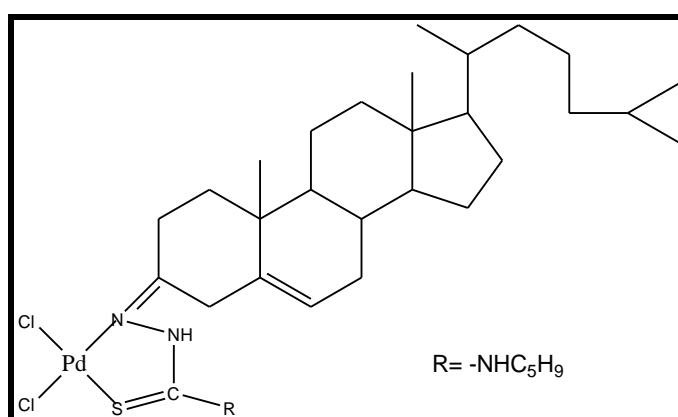


Figura 1.3.1. Complexo de paládio(II) com atividade antibacteriana *in vitro*

Como já mencionado (Kovala-Demertzi, 2001), complexos de paládio(II) com derivados tiossemicarbazonas apresentaram boa atividade antibacteriana e antifúngica, *in vitro*.

A atividade antibacteriana de compostos de paládio(II) com tetraciclina, que por si só é um importante agente microbiano, foi reportada por Guerra *et al.*, 2006. O complexo de paládio(II) sintetizado é praticamente tão eficiente quanto a tetraciclina na inibição do crescimento de duas cepas de bactérias *E. coli* (*E. coli* HB101 e ATCC25922) e dezesseis vezes mais potente contra a cepa de bactérias resistentes HB101/pBR322.

Maia e colaboradores (Maia *et al.*, 2010) estudaram a atividade antimicrobiana, *in vitro*, de três ligantes tiossemicarbazonas e seus respectivos complexos de paládio(II). Todos os complexos de paládio(II) foram eficazes contra as linhas de células tumorais estudadas, apresentando elevado efeito antiproliferativo, com valores de IC₅₀ cerca de 5 mmolL⁻¹, enquanto o composto precursor [PdCl₂(PPh₃)₂] foi ineficaz.

1.3. COMPLEXOS DE OURO

Compostos de ouro têm uma longa e importante tradição na medicina, que floresceu durante o Renascimento. Estes compostos foram amplamente utilizados nos primeiros tempos da farmacologia moderna, para o tratamento de diversas doenças, especialmente como anti-infecciosos e antituberculosos. Acredita-se que a primeira menção à aplicação terapêutica de compostos de ouro tenha ocorrido em 2500 a.C na China, onde o ouro foi usado para tratar a varíola, úlceras da pele e sarampo (Fricker, 1996).

Embora os complexos de ouro tenham sido historicamente utilizados para o tratamento de uma vasta gama de doenças, o uso racional de ouro na medicina começou na década de 1920, quando estes foram clinicamente testados como bacteriostáticos, *in vitro*. Segundo Kean e colaboradores (Kean *et al.*, 1997), o primeiro complexo de ouro utilizado para esse fim foi o cianeto de ouro, o qual foi introduzido por Robert Koch, com objetivo de agir contra a tuberculose.

Por muitas décadas, tiolatos de ouro(I) foram considerados drogas de escolha para o tratamento da artrite reumatóide. No entanto, os efeitos colaterais tóxicos observados no uso desses compostos (Srinivasan *et al.*, 1979), motivaram a busca de novos complexos de ouro com melhor perfil farmacológico e menor toxicidade.

Como resultado de intenso trabalho de síntese e avaliação de vários novos compostos de ouro, temos hoje presentes no mercado complexos de ouro com ótima atividade farmacológica. A auranofina [(2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- β -D-glicopirranose-S)(trietilfosfina)ouro(I)] (Messori & Marcon, 2004; Shaw, 1999), o solganol [2S,3SA,4R,5S)-3,4,5-triidroxi-6-(hidroximetil)-oxano-2-tiolatoouro(I)] (aurotioglicose) e a miocrisina (aurotiomalato de sódio) são medicamentos utilizados no tratamento de artrite reumatoide (Figura 1.4.1).

Acredita-se que a química do ouro pode ainda ser melhor explorada e ser utilizada para diferentes fins farmacológicos, especialmente no campo da medicina anticancerígena e antibacteriana, o que torna ainda mais interessante o estudo desses compostos.

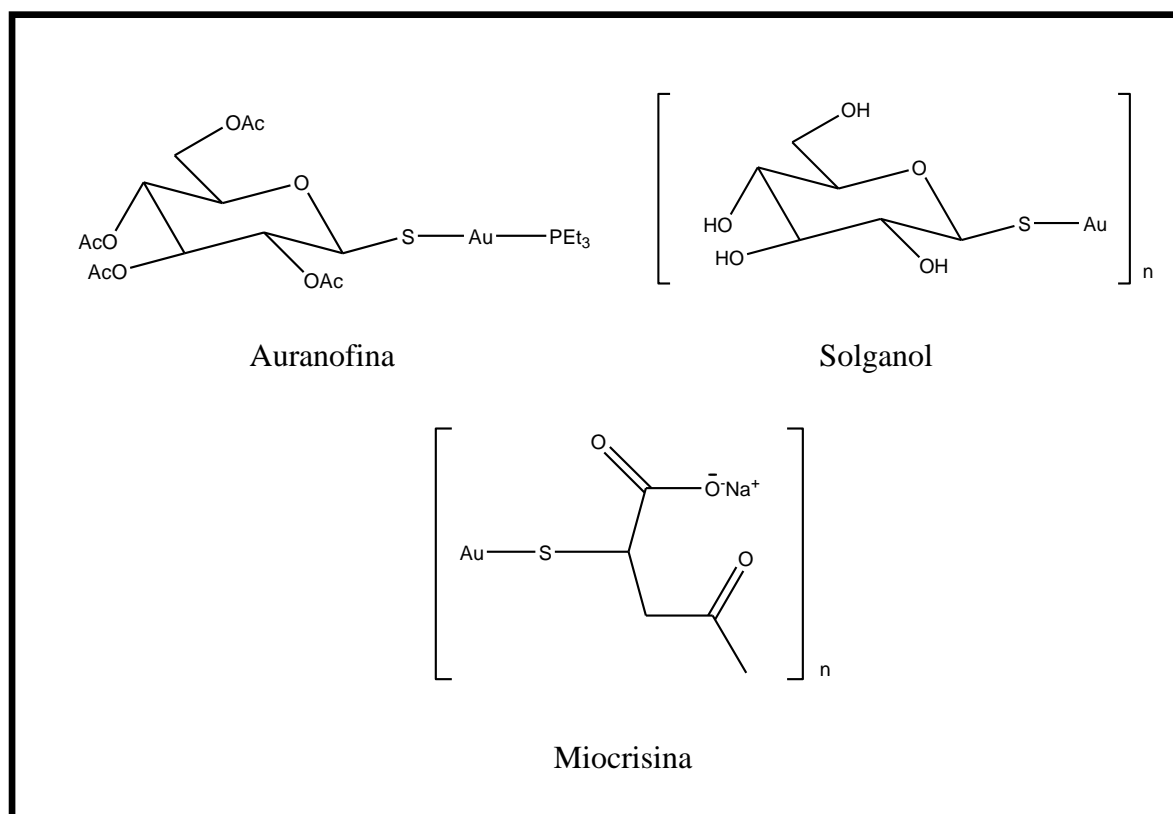


Figura 1.4.1. Compostos de ouro utilizados clinicamente para o tratamento de artrite reumatoide

Tem havido várias tentativas para preparar e avaliar novos compostos de ouro(I) e ouro(III) devido ao fato de muitos deles se mostrarem capazes de inibir o crescimento de células tumorais e apresentarem também potencial no tratamento de tumores resistentes à cisplatina (Rigobello *et al.*, 2008). Em particular, complexos de ouro contendo o grupo fosfina, como ilustra a Figura 1.4.2, tem se mostrado bastante ativos (Gandin *et al.*, 2010; Tiekink, 2002; Rackham *et al.*, 2007, Barreiro *et al.*, 2008). De acordo com estudos de Gandin e colaboradores (Gandin *et al.*, 2010), complexos de ouro(I) contendo ligantes coordenados pelo átomo de enxofre e grupo fosfina apresentam um melhor perfil de citotoxicidade do que seus complexos análogos contendo cloretos. De maneira geral, essa melhor citotoxicidade pode estar relacionada com a sua lipofilicidade (Mirabelli *et al.*, 1986), que é aumentada pela presença da fosfina, em comparação com os respectivos compostos clorados. Esta característica confere aos mesmos uma melhor penetração na membrana celular, que é de natureza lipoprotéica.

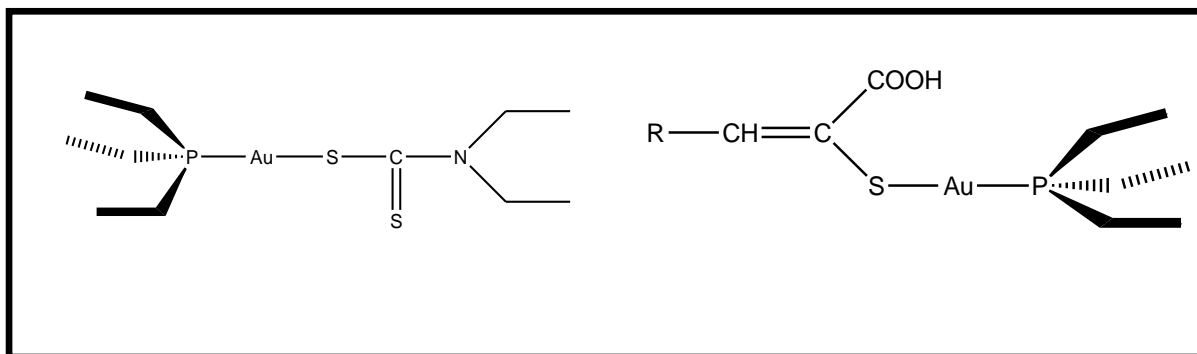


Figura 1.4.2. Compostos de ouro(I) contendo derivados fosfínicos que possuem atividade antitumoral

Há também um grande interesse nos compostos de ouro(III), uma vez que estes são isoeletrônicos (d^8) a Pt(II) e isoestruturais (quadrático plano) aos complexos de Pt(II), e por isso se mostram bons candidatos na terapia contra o câncer, Figura 1.4.3. Alguns desses compostos mostraram ação antitumoral pronunciada em testes *in vitro*, entretanto, foram abandonados devido à ocorrência de toxicidade grave, além de baixa eficácia em testes realizados *in vivo*.

Estudos sobre a atividade farmacológica de compostos de ouro(III) têm revelado uma baixa estabilidade dos mesmos em condições fisiológicas, o que dificultaria, de certa forma, a sua atuação como um fármaco. A estabilidade do centro metálico de ouro(III) depende do tipo de ligante e pode ser aumentada através da coordenação de ligantes multidentados, porém o excesso de estabilização pode resultar em perda da atividade biológica (Messori *et al.*, 2012).

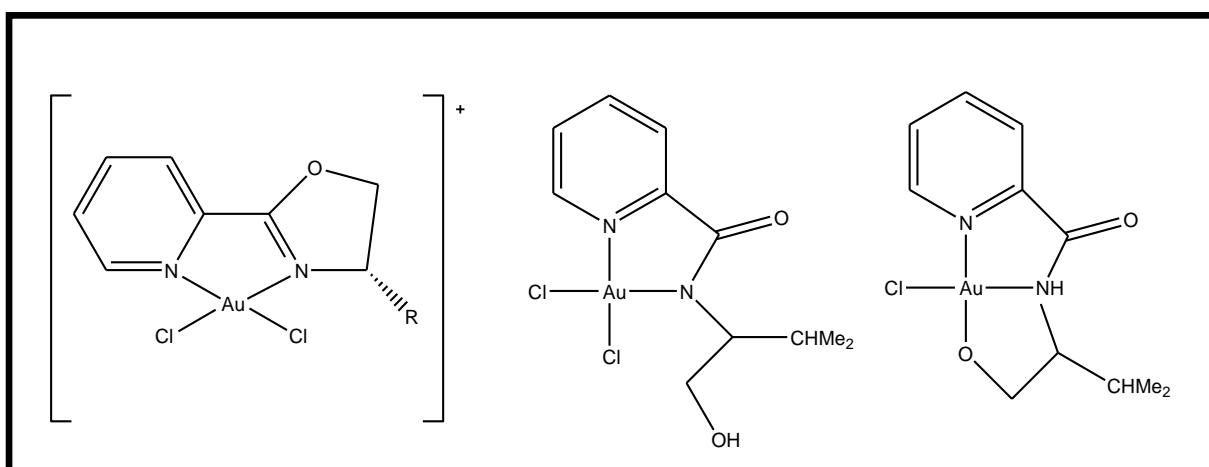


Figura 1.4.3. Complexos de ouro(III) com promissoras atividades antitumorais

Outra maneira de aumentar a estabilidade dos complexos de Au(III) seria a adição de um ligante organometálico para estabilizar o complexo de ouro(III) não permitindo assim, sua redução, ou ainda a adição de um quelante forte que estabilizaria a geometria quadrática plana após a complexação (Casas *et al.*, 2004; Sreekanth *et al.*, 2004).

Há relatos na literatura de compostos de ouro(III) com ligantes multidentados que apresentam atividade contra diferentes linhagens de células tumorais.

Complexos de ouro tem demonstrado certa atividade na inibição da enzima tiorredoxina redutase (TrxR), enzima esta que participa do ciclo de reações redox na qual a enzima ribonucleosídeo difosfato redutase (RDR) também está envolvida, convertendo ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos (Lessa *et al.*, 2011).

A química do ouro contém alguns aspectos únicos que são propensos a consequências importantes nas suas propriedades. Como exemplo podemos citar a grande tendência em formar fortes ligações ouro-ouro (Casini *et al.*, 2008) e sua rica química redox, que está diretamente associada com seus dois principais estados de oxidação. Sabe-se que alterações no estado de oxidação do metal estão estritamente relacionadas com modificações na esfera de coordenação dos complexos de ouro(I), geometria linear, e ouro(III), geometria quadrática plana. Todos esses aspectos podem ser explorados para construir uma variedade de compostos de ouro farmacologicamente ativos. Um intercâmbio relativamente fácil entre os estados de oxidação +1 e +3, ainda sob condições fisiológicas, é possível.

Tendo em vista todas estas considerações e o conhecimento adquirido sobre a química do ouro, muitos compostos têm sido sintetizados e caracterizados apresentando uma maior estabilidade química e um melhor perfil farmacológico (Gabbiani *et al.*, 2007; Barnard & Berners-Prince, 2007; Lessa *et al.*, 2011; Castiñeiras *et al.*, 2012).

2. OBJETIVOS

Dentro deste contexto, descreveremos neste trabalho a síntese e caracterização de novos complexos de platina(II), paládio(II) e ouro(I) com ligantes derivados de tiossemicarbazonas como candidatos a novos agentes anticancerígenos e antibacterianos.

Também foi objetivo do projeto avaliar a atividade antimicrobiana e a citotoxicidade dos compostos, em colaboração com os grupos de pesquisa da UFJF (coordenado pela professora Elita Fontes e da UFMG coordenado pela professora Mirian Lopes), além de avaliar os aspectos relacionados ao seu mecanismo de ação.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. REAGENTES

Tiossemicarbazida (Aldrich)

Benzaldeído (Aldrich)

Para-anisaldeído (Aldrich)

2-tiofenocarboxaldeído (Aldrich)

2-furaldeído (Aldrich)

Piridinocarboxaldeído (Vetec)

Para-Hidroxibenzaldeído (Aldrich)

Solução de trietilamina 1 mol/L

Tetracloroplatinato(II) de potássio (Aldrich)

Tetracloropaladato(II) de potássio (Aldrich)

Tetracloroaurato(III) de potássio (Aldrich)

Trifenilfosfina (Aldrich)

Clorofórmio (Merck)

Diclorometano (Quimex)

Dimetilsulfóxido-*d*₆ (Spectrum)

Metanol (Quimex)

Éter etílico (Quimex)

Acetona (Quimex)

MTT: Brometo de 3-(4,5-Dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (Aldrich)

EDTA (Reagen Quimibras)

Dimetilsulfóxido (Vetec)

ATV (Associação Tripsina 0,2 % Versene EDTA 0,02 %)

FBS – Soro Fetal Bovino (Cultilab)

HEPES ácido 4-(2-hidroxietil)-1-(piperazinetanosulfônico) (Aldrich)

PBS – Tampão fosfato-salina: NaCl 0,14 mol/L; KCl 2,7 mmol/L; Na₂HPO₄ 8 mmol/L e

KH₂PO₄ 2 mmol/L (Sigma)

RPMI 1640 (Aldrich)

Sulfato de Streptomicina (Sigma)

TrxR – Tiorredoxina redutase (Sigma)

DTNB – (Sigma)

3.2. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Bomem FTIR MB – 102, na região compreendida entre 4000 – 400 cm^{-1} , utilizando como suporte pastilha de KBr. Os espectros foram obtidos com uma média de 64 varreduras e uma resolução espectral de 4 cm^{-1} no Departamento de Química da UFJF.

3.3. ESPECTROSCOPIA RAMAN

Os espectros Raman foram obtidos em equipamento Bruker RFS100, com laser $\text{Nd}^{3+}/\text{YAG}$ operando com uma linha de excitação de 1064 nm na região do infravermelho próximo, com detector CCD refrigerado por N_2 . Uma boa relação sinal/ruído foi obtida a partir de 560 acumulações, em uma resolução espectral de 4 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos no Departamento de Química da UFJF.

3.4. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H , ^{13}C E ^{195}Pt

Os espectros de RMN foram obtidos dissolvendo-se os ligantes e os complexos em $\text{DMSO-}d_6$ em espectrofotômetro Bruker (300 MHz para os espectros de RMN de ^1H , 75 MHz para os espectros de RMN de ^{13}C e 64 MHz para os espectros de RMN de ^{195}Pt) no Departamento de Química da UFJF. Os deslocamentos químicos foram expressos em $\delta(\text{ppm})$ a partir do padrão interno TMS (RMN de ^1H) e de uma solução de K_2PtCl_6 em D_2O (RMN de ^{195}Pt).

3.5. FAIXA DE FUSÃO E DE DECOMPOSIÇÃO

As faixas de temperatura de fusão para os ligantes e de decomposição para os complexos foram determinadas em um aparelho digital MQAPF-Microquímica, no Departamento de Química da UFJF.

3.6. ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL

Os espectros na região do UV-Visível foram obtidos no aparelho SPECTROPHOTOMETER-UV-1800-SHIMADZU no Departamento de Química, ICE, UFJF em solução de metanol.

3.7. ANÁLISE ELEMENTAR

A análise elementar dos compostos foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo – USP.

3.8. ANÁLISE TÉRMICA

As medidas termogravimétricas (TG) foram realizadas em uma termobalança Shimadzu TG-60 no Departamento de Química da UFJF.

As amostras, colocadas em cadinho de platina, foram aquecidas em uma taxa de 10°C/min, partindo da temperatura ambiente até 800°C utilizando atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 100 mL/min.

3.9. VOLTAMETRIA CÍCLICA

As análises de voltametria cíclica foram realizadas em um equipamento MicroAutolab Type III (Eco Chemie, Netherlands) com um potencial de software de aquisição de dados chamado GPES versão 4.9 no Departamento de Química da UFJF. Condições experimentais: eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo de referência Ag/AgCl_(s), KCl_(sat).

3.10. ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Os espectros de massas foram obtidos num equipamento AXIMA MALDI-TOF-TOF Shimadzu Biotech no Departamento de Química da UFJF. Um laser de nitrogênio ($\lambda_{\max} = 337 \text{ nm}$) foi empregado para a excitação em uma matriz α ciano. Duzentos scans foram acumulados com 20 repetições cada.

O espectro de massa com ionização por “electrospray” (IES-EM) para um dos complexos de ouro foi obtido em um equipamento MS (modelo LCQ-Fleet, Thermo-Scientific, San Jose, CA, USA) acoplado a um analisador íon trap e 13 operando no modo positivo e negativo. Alíquotas de 500 μL de soluções de acetonitrila foram injetadas diretamente dentro da fonte de íons por meio de micropipetas. As seguintes condições foram utilizadas: taxa de fluxo de 20 mL min^{-1} , temperatura de 27,5 $^{\circ}\text{C}$ no capilar; tensão IES de 5 kV. Este espectro foi obtido na UFMG.

3.11. CÁLCULOS DE MECÂNICA QUÂNTICA

Cálculos de mecânica quântica usando a Teoria do Funcional de Densidade (DFT) foram realizados para a previsão de estruturas e propriedades espectroscópicas dos complexos de Pt(II) e Pd(II) com as tiossemicarbazonas. As geometrias para os isômeros *cis* e *trans* foram otimizadas em fase de gás no nível DFT com o funcional B3LYP (Becke, 2003) e com as funções de base 6-31+G(d) (Hay & Wadt, 1985) para todos os átomos exceto para os átomos de metal (Pt e Pd), onde o potencial de caroço efetivo LANL2DZ (Dunning Jr, 1976) foi utilizado. Este esquema de cálculo pode ser abreviado como B3LYP/LANL2DZ/6-31+G(d) e foi recentemente testado para avaliar a reatividade da cisplatina (Paschoal *et al.*, 2012). O mesmo nível de teoria foi usado para os cálculos de frequência vibracional de forma a se caracterizar as estruturas como mínimos na superfície de energia potencial (todas as frequências harmônicas são reais) assim como para analisar os modos normais de vibração. Previsões de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram realizadas para os núcleos de ^1H , ^{13}C e ^{195}Pt para auxiliar as atribuições experimentais. O método GIAO implementado por Wolinski, Hilton e Pulay (Wolinski *et al.*, 1990) foi utilizado para os cálculos de constante de blindagem magnética (σ) e de deslocamento químico (δ). Foi utilizado como referência interna TMS (^1H e ^{13}C) e $\text{K}_2[\text{PtCl}_6]$ (^{195}Pt). Para os complexos de Pd(II), apenas os núcleos de ^1H e ^{13}C são ativos, os cálculos de RMN foram realizados no nível B3LYP/LANL2DZ/6-31++G(2df,2pd) com o efeito do solvente (DMSO) incluído através do modelo de solvatação contínuo IEFPCM (Scalmani & Frisch, 2010). Para Pt(II), no qual o núcleo de ^{195}Pt também é ativo, foi aplicada uma metodologia diferente. Ao nível DFT com o funcional B3LYP foi acrescentada uma correção relativística através do método Douglas-Kroll-Hess (DKH) que inclui correções relativísticas escalares através de uma perturbação de 4ª ordem incluindo termos de spin-órbita (SO) (Jansen & Hess, 1989). As funções de base para todos os átomos

foi a NMR-TZPP-DKH, que foi especificamente construída para previsão de RMN de ^{195}Pt (Paschoal *et al.*, em preparação). Todos os cálculos foram realizados no programa GAUSSIAN 09 (Frisch *et al.*, 2009).

3.12. SÍNTESE DOS LIGANTES ARIL-TIOSSEMICARBAZONAS (1-6)

Foram sintetizados os ligantes aril-tiossemicarbazonas através da condensação de quantidades equimolares da tiossemicarbazida (31,25 mmol) com os aldeídos aromáticos (31,25 mmol) na presença de 50 mL de metanol sob refluxo. Após precipitação do produto no meio reacional, os mesmos foram separados através de filtração a vácuo e purificados através de extração quando necessário. (Yl *et al.*, 2009).

3.13. SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE PLATINA (7-12)

Em um balão de 125 mL contendo uma suspensão de (0,5 mmol) do sal de platina $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$ em metanol (40 mL), adicionou-se gota a gota, durante aproximadamente 1 hora, uma solução metanólica dos respectivos ligantes aril-tiossemicarbazonas (1 mmol), contendo solução também metanólica de trietilamina (1 mol.L⁻¹). Ao término da adição do ligante contendo trietilamina, a reação permaneceu sob refluxo e agitação magnética por 10 a 20 dias, dependendo do complexo. O precipitado obtido foi filtrado sob pressão reduzida, lavado com bastante água e metanol e seco.

3.14. SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE PALÁDIO (13-18)

Em um balão de 125 mL contendo uma suspensão de (0,5 mmol) do sal de paládio $\text{K}_2[\text{PdCl}_4]$ em 20 mL de metanol, adicionaram-se gota a gota, durante aproximadamente 1 hora, os respectivos ligantes aril-tiossemicarbazonas (1 mmol) solubilizados em metanol, contendo solução de trietilamina (1 mol.L⁻¹), preparada também em metanol. Ao término da

adição do ligante contendo trietilamina, a reação permaneceu sob refluxo e agitação magnética por aproximadamente 24 horas, dependendo do complexo. O precipitado obtido foi filtrado sob pressão reduzida, lavado com bastante água e metanol e seco.

3.15. SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE OURO COM CLORETO (19-24)

Em um balão de 25 mL os ligantes aril-tiossemicarbazonas (1 mmol) foram solubilizados, em 5 mL de metanol. Sob agitação e banho de gelo foi acrescentada, de uma única vez, solução também metanólica (0,5 mmol em 5 mL) do sal de ouro $K[AuCl_4]$. Após o término da adição, a reação permaneceu sob agitação magnética por aproximadamente 2 horas à temperatura ambiente. O precipitado obtido foi filtrado sob pressão reduzida, lavado com bastante água e metanol e seco.

3.16. SÍNTESE DOS COMPLEXOS DE OURO COM TRIFENILFOSFINA (25-30)

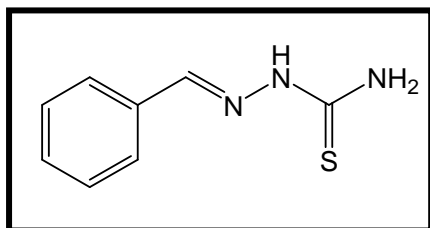
O sal de partida, $Au(PPh_3)Cl$, foi previamente preparado em nosso laboratório a partir do sal $K[AuCl_4]$ utilizando-se metodologia a seguir (Roulet, *et al.*, 1973; Baenziger *et al.*, 1976). Em um balão de 50 mL, a trifenilfosfina (1 mmol) foi solubilizada em 15 mL de etanol. Sob agitação magnética, adicionou-se de forma lenta solução do sal de ouro $K[AuCl_4]$ (1mmol) em 15 mL de etanol. Ao término da adição, a reação permaneceu em agitação magnética constante e à temperatura ambiente por aproximadamente 1 hora. O precipitado branco obtido foi filtrado e lavado com etanol.

Os complexos 25-30 foram preparados em um balão de 50 mL onde os ligantes aril-tiossemicarbazonas (1 mmol) foram solubilizados em 10 mL de acetona. Sob agitação magnética constante foi acrescentada, de forma lenta, solução do sal de ouro $Au(PPh_3)Cl$ (1 mmol) em 10 mL de diclorometano. Após o término da adição, a reação permaneceu sob agitação magnética por aproximadamente 6 horas à temperatura ambiente. Os compostos foram purificados por placa preparativa.

3.17. DADOS E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

Todos os compostos sintetizados foram purificados e caracterizados, como mostrado a seguir.

1 Feniltiossemicarbazona



Fórmula Molecular: $C_8H_9N_3S$

Massa Molar: 179,0 g/mol

Característica Física: sólido branco

Faixa de fusão: 158,5-159,0 °C

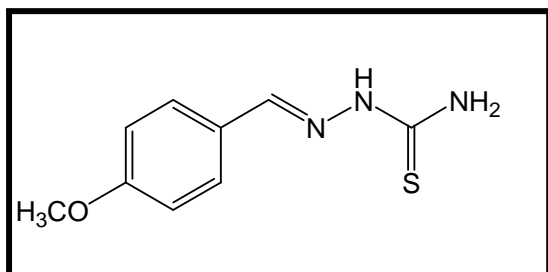
Rendimento: 63 % (3,52 g)

Principais bandas de absorção no I.V. v KBr (cm^{-1}): 3399, 3228, 3142, 1605, 1055, 876.

RMN 1H (DMSO- d_6) δ : 11,56 (s, 1H, =N-NH); 8,32 e 8,01 (s, 2H, NH $_2$); 8,13 (s, 1H, HC=N); 7,88; 7,87; 7,48; 7,47 (m, 5H, Ph).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ : 177,98 (C=S); 143,36 (C=N); 141,23; 134,20; 129,93; 128,95; 127,43; 126,26 (C, Ph).

2 Para-metoxifeniltiossemicarbazona



Fórmula Molecular: C₉H₁₁N₃SO

Massa Molar: 209,0 g/mol

Característica Física: sólido branco

Faixa de fusão: 174,0-175,0 °C

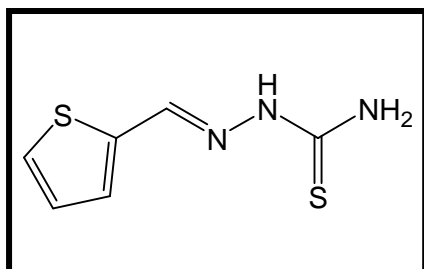
Rendimento: 82 % (5,35 g)

Principais bandas de absorção no I.V. v KBr (cm⁻¹): 3407, 3284, 3145, 1611, 1170, 1015, 819.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ: 11,44 (s, 1H, =N-NH); 8,23 e 8,03 (s, 2H, NH₂); 8,09 (s, 1H, HC=N); 7,83 e 7,81(d, 2H, Ph, *J* = 6,0 Hz) e 7,05 e 7,03 (d, 2H, Ph, *J* = 6,0 Hz); 3,95 (s, CH₃).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ: 177,78 (C=S); 160,80 (C-OCH₃); 142,81 (C=N); 128,99; 114,38 (C, Ph) e 55,28 (H₃CO).

3 Orto-tiofenotiossemicarbazona



Fórmula Molecular: C₆H₇N₃S₂

Massa Molar: 185,0 g/mol

Característica Física: sólido amarelo claro

Faixa de fusão: 189,5-190,8 °C

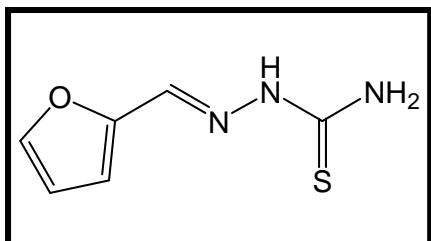
Rendimento: 75 % (4,34 g)

Principais bandas de absorção no I.V. v KBr (cm⁻¹): 3407, 3238, 3154, 1611, 1535, 1473, 1036, 828.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ: 11,46 (s, 1H, =N-NH); 8,23 e 7,56 (s, 2H, NH₂); 7,64 (s, 1H, HC=N); 7,44; 7,43; 7,11; 7,08 (m, 3H, tiofeno).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ: 177,61 (C=S); 138,62 (C=N); 137,70; 130,58; 128,85 e 127,95 (C, tiofeno).

4 Orto-furanotiossemicarbazona



Fórmula Molecular: C₆H₇N₃SO

Massa Molar: 169,0 g/mol

Característica Física: sólido bege

Faixa de fusão: 152,7-153,5 °C

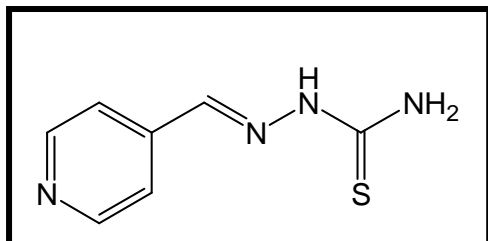
Rendimento: 61 % (3,22 g)

Principais bandas de absorção no I.V. v KBr (cm⁻¹): 3422, 3223, 3138, 1611, 1058, 836.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ: 11,40 (s, 1H, =N-NH); 8,22; 7,64 (s, 2H, NH₂); 7,60 (s, 1H, HC=N); 7,95; 6,96; 6,60 (m, 3H, furano).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) δ: 177,39 (C=S); 148,94 (C=N); 144,62; 144,5; 112,53 e 111,96 (C, furano).

5 *Para*-piridinotiossemicarbazona



Fórmula Molecular: $C_7H_8N_4S$

Massa Molar: 180,0 g/mol

Característica Física: sólido bege

Faixa de fusão: 217,8-219,4 °C

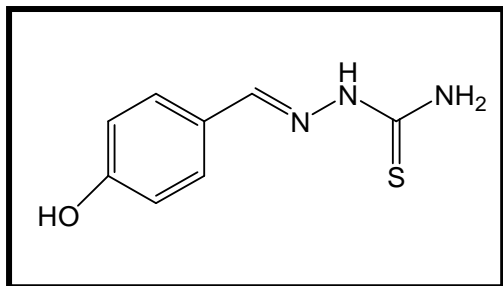
Rendimento: 88 % (4,95 g)

Principais bandas de absorção no I.V. v KBr (cm^{-1}): 3417, 3262, 3151, 1598, 1297, 1100, 1065, 834, 637.

RMN 1H (DMSO- d_6) δ : 11,68 (s, 1H, =N-NH); 8,58 e 8,56 (d, 2H, piridina, $J = 6,0$ Hz) e 7,76; 7,74 (d, 2H, piridina, $J = 6,0$ Hz); 8,39; 8,20 (s, 2H, NH $_2$); 7,98 (s, 1H, HC=N).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ : 178,58 (C=S); 149,99 (C=N); 141,48; 139,58; 121,17 (C, piridina).

6 *Para*-hidroxifeniltiossemicarbazona



Fórmula Molecular: $C_8H_9N_3SO$

Massa Molar: 195,0 g/mol

Característica Física: sólido bege

Faixa de fusão: 237,9-238,4 °C

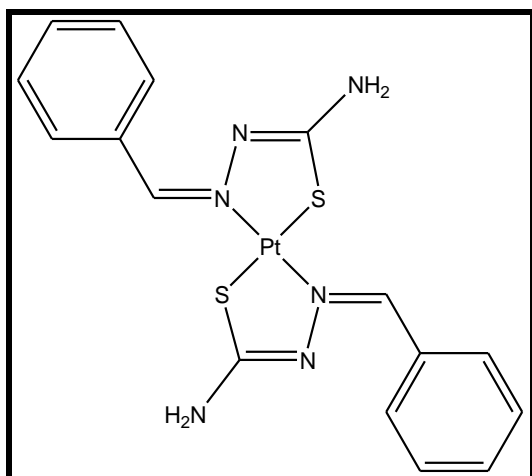
Rendimento: 44 % (2,68 g)

Principais bandas de absorção no I.V. v KBr (cm^{-1}): 3472, 3379, 3169, 1606, 1380, 1229, 1045, 833.

RMN 1H (DMSO- d_6) δ : 11,54 (s, 1H, =N-NH); 8,65 e 7,96 (s, 2H, NH₂); 8,07 (s, 1H, HC=N); 7,63 e 7,60 (d, 2H, Ph, $J = 9,0$ Hz) e 6,68 e 6,65 (d, 2H, Ph, $J = 9,0$ Hz) e 4,51 (s, 1H, OH).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ : 177,12 (C=S); 158,92 (COH); 142,48 (C=N); 128,70; 124,78 e 115,20 (C, Ph).

7 Di(feniltiossemicarbazona)platina(II)



Fórmula Molecular: $C_{16}H_{16}N_6S_2Pt$

Massa Molar: 551 g/mol

Característica Física: sólido amarelo escuro

Faixa de fusão/decomposição: 167,9-168,6 °C

Rendimento: 74 % (0,203 g)

Principais bandas de absorção no I.V. v_{max} KBr (cm^{-1}): 3420, 3274, 1598, 1586, 1025, 847.

Principais bandas de absorção no Raman, $\lambda = 1064$ nm, v_{max} (cm^{-1}): 1578, 1556, 1180, 872, 433, 400.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8,14 (s, 1H, **HC=N**); 7,79 (m, 2H, **NH₂**); 7,78 e 7,44 (m, 6H, Ph).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 176,16 (**C-S**); 154,50 (**HC=N**); 132,38; 132,32; 130,70; 128,29; 128,10 e 11,32 (**C, Ph**).

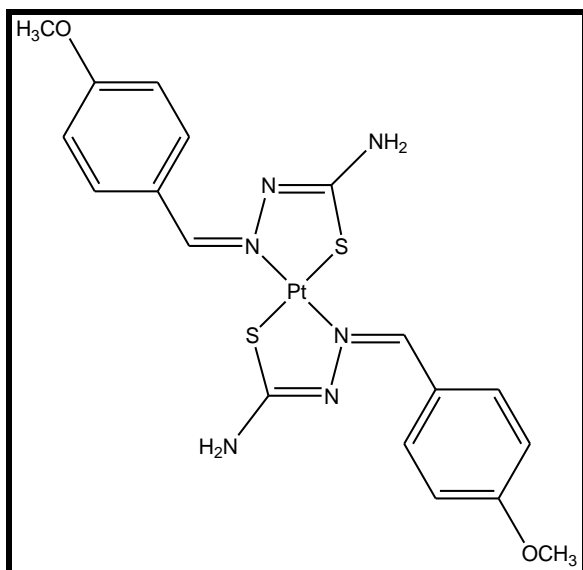
RMN ^{195}Pt (64 MHz, DMSO- d_6) δ : -3126.

MS (MALDI) [$C_{16}H_{17}N_6S_2Pt$] [$M+H$] $^+$: m/z calculado (552,1) encontrado 552,5.

Análise Elementar (%): Calculado C, 34,85; H, 2,90; N, 15,25.

Encontrado C, 34,72; H, 3,02; N, 14,71.

8 Di(*para*-metoxifeniltiossemicarbazona)platina(II)



Fórmula Molecular: $C_{18}H_{20}N_6S_2O_2Pt$

Massa Molar: 611 g/mol

Característica Física: sólido
alaranjado

Faixa de fusão/decomposição: 182,9-
183,7 °C

Rendimento: 42% (0,128 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3452, 3359, 1603, 1563, 1023, 826.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1585, 1537, 1165, 869, 416, 390.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8,27; 8,24; 7,03; 7,06 (2d, 6H, Ph, $J_1 = J_2 = 9$ Hz); 7,82 (s, 1H, HC=N); 7,43 (s, 2H, NH $_2$); 3,93 (s, 3H, CH $_3$).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 175,19 (C-S); 153,89 (HC=N); 134,71; 125,43 e 113,80 (C, Ph); 55,08 (CH $_3$).

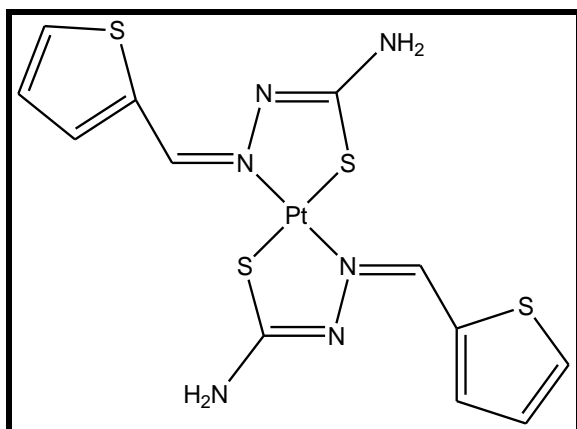
RMN ^{195}Pt (64 MHz, DMSO- d_6) δ : -3143.

MS (MALDI) [$C_{18}H_{21}N_6S_2O_2Pt$] [M+H] $^+$: m/z calculado (612,1) encontrado 612,2.

Análise Elementar (%): Calculado C, 35,35; H, 3,27; N, 13,75.

Encontrado C, 35,31; H, 3,50; N, 13,03.

2 Di(*orto*-tiofenotiossemicarbazona)platina(II)



Fórmula Molecular: C₁₂H₁₂N₆S₄Pt

Massa Molar: 563 g/mol

Característica Física: sólido amarelo claro

Faixa de fusão/decomposição: 162,0-163,8 °C

Rendimento: 64% (0,180 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3461, 3358, 1599, 1572, 1062, 813.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{\max} (cm⁻¹): 1578, 1522, 1083, 857, 456, 388.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8,11 (s, 1H, HC=N); 8,07; 7,94; 7,64 e 7,15 (m, 4H, tiofeno); 7,34 (s, 2H, NH₂).

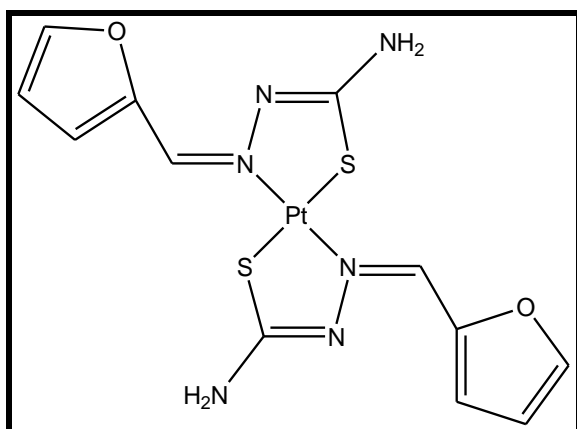
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 176,57 (C-S); 148,31 (HC=N); 136,54; 134,50; 134,19 e 126,95 (C, tiofeno).

RMN ¹⁹⁵Pt (64 MHz, DMSO-*d*₆) δ : -3012.

MS (MALDI) [C₁₂H₁₃N₆S₄Pt] [M+H]⁺: m/z calculado (564,0) encontrado 564,5.

Análise Elementar (%): Calculado 25,58; H, 2,13; N, 14,92.

Encontrado C, 25,79; H, 2,18; N, 14,15.

10 Di(*orto*-furanotiossemicarbazona)platina(II)Fórmula Molecular: C₁₂H₁₂N₆S₂O₂Pt

Massa Molar: 531 g/mol

Característica Física: sólido
esverdeadoFaixa de fusão/decomposição: 285,8-
287,3 °C

Rendimento: 61% (0,161 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3405, 3295, 1608, 1588, 1091, 869.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{\max} (cm⁻¹): 1590, 1503, 1146, 823, 452, 418.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7,90 (s, 1H, HC=N); 7,77; 7,76; 7,70 e 7,56 (m, 4H, furano); 6,75 (s, 2H, NH₂).

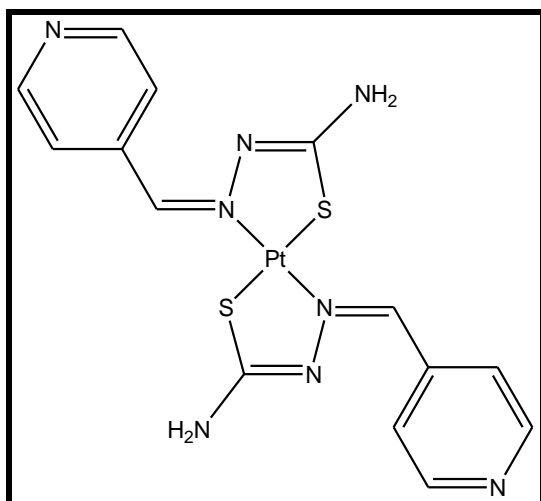
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 175,79 (C-S); 147,69 (HC=N); 146,07; 141,76; 121,54; 121,54 e 113,03 (C, furano).

RMN ¹⁹⁵Pt (64 MHz, DMSO-*d*₆) δ : -2999.

MS (MALDI) [C₁₂H₁₃N₆S₂O₂Pt] [M+H]⁺: m/z calculado (532,0) encontrado 532,3.

Análise Elementar (%): Calculado C, 27,12; H, 2,26; N, 15,82.

Encontrado C, 27,16; H, 2,42; N, 15,49.

11 Di(*para*-piridiniltiossemicarbazona)platina(II)

Fórmula Molecular: C₁₄H₁₄N₈S₂Pt

Massa Molar: 553 g/mol

Característica Física: sólido avermelhado

Faixa de fusão/decomposição: 270,5-271,8 °C

Rendimento: 67% (0,185 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3417, 3288, 1632, 1589, 1040, 859.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{\max} (cm⁻¹): 1593, 1541, 1154, 850, 418, 384.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8,69; 8,36; 7,85; 7,68; 7,61; 7,38 (m, 5H, piridina); 8,08 (s, 1H, HC=N); 7,07 (s, 2H, NH₂).

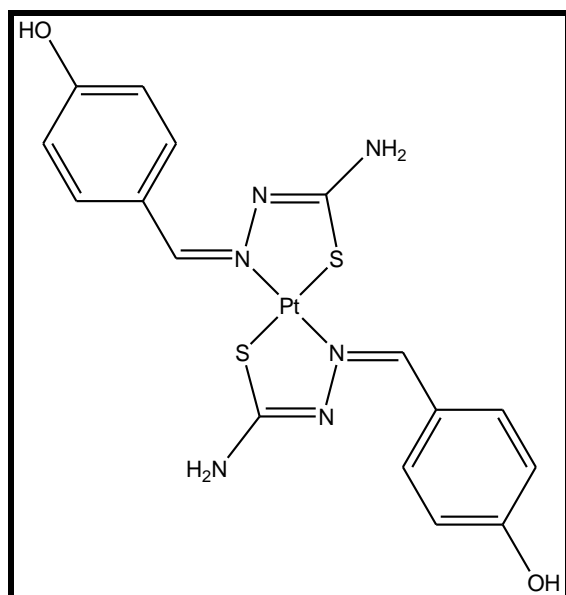
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 182,72 (C-S); 178,19 (HC=N); 159,44; 151,96; 150,11; 138,49 e 125,19 (C, piridina).

RMN ¹⁹⁵Pt (64 MHz, DMSO-*d*₆) δ : -2932.

MS (MALDI) [C₁₄H₁₅N₈S₂Pt] [M+H]⁺: m/z calculado (554,1) encontrado 554,1.

Análise Elementar (%): Calculado C, 30,38; H, 2,53; N, 20,25.

Encontrado C, 31,31; H, 3,11; N, 22,30.

12 Di(*para*-hidroxifeniltiossemicarbazona)platina(II)

Fórmula Molecular: $C_{16}H_{16}N_6S_2O_2Pt$

Massa Molar: 583 g/mol

Característica Física: sólido amarelo
escuro

Faixa de fusão/decomposição: 270,5-
271,8 °C

Rendimento: 31 % (0,090 g)

Principais bandas de absorção no I.V. v_{max} KBr (cm^{-1}): 3426, 3321, 1598, 1574, 1025, 827.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, v_{max} (cm^{-1}): 1560, 1537, 1169, 869, 414, 384.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 8,08 e 8,05 (d, 2H, Ph, $J = 9$ Hz); 6,84 e 6,81 (d, 2H, Ph, $J = 9$ Hz); 7,66 (s, 1H, HC=N); 7,24 (s, 2H, NH $_2$).

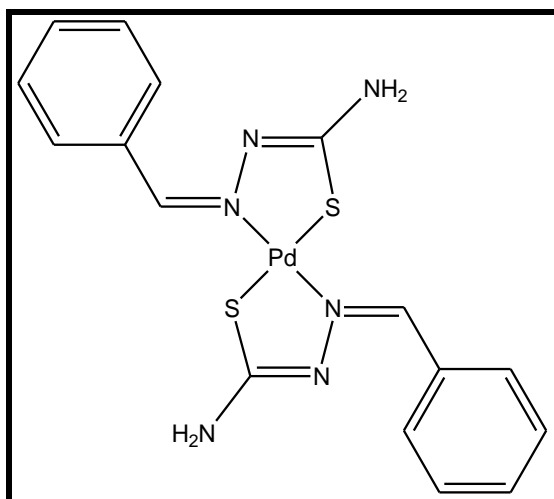
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 175,02 (C-S); 160,30; 154,89; 124,33 e 115,28 (C, Ph); 135,15 (HC=N).

RMN ^{195}Pt (64 MHz, DMSO- d_6) δ : -2931.

MS (MALDI) [$C_{16}H_{17}N_6S_2O_2Pt$] [$M+H$] $^+$: m/z calculado (584,1) encontrado 584,3.

Análise Elementar (%): Calculado C, 32,93; H, 2,74; N, 14,41.

 Encontrado C, 31,80; H, 2,55; N, 13,97.

13 Di(feniltiossemicarbazona)paládio(II)Fórmula Molecular: C₁₆H₁₆N₆S₂Pd

Massa Molar: 462,5 g/mol

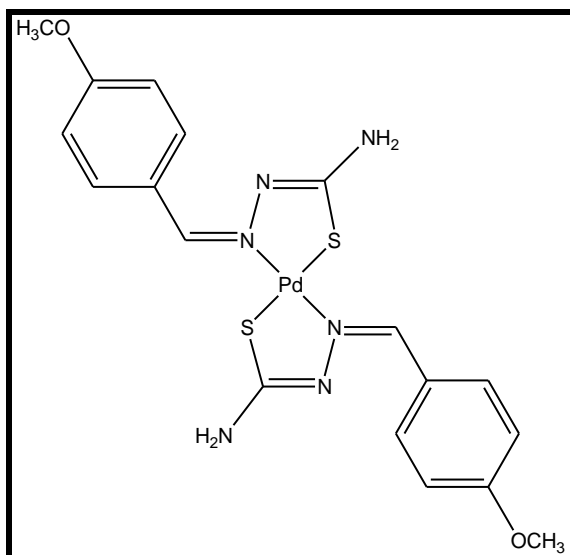
Característica Física: sólido laranja
tijoloFaixa de fusão/decomposição: 179,1-
180,5 °C

Rendimento: 40 % (0,092 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3452, 3330, 1615, 1574, 1023, 868.Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{\max} (cm⁻¹): 1596, 1574, 1173, 874, 470, 405.RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7,66 (H, NH₂); 7,55-7,29 (m, 6H, Ph); 6,79 (s, 1H, HC=N).RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 172,81 (C-S); 155,02 (HC=N); 132,24; 130,62; 130,03 e 127,29 (C, Ph).MS (MALDI) [C₁₆H₁₇N₆S₂Pd] [M+H]⁺: m/z calculado (463,5) encontrado 463,1.

Análise Elementar (%): Calculado C, 41,52; H, 3,46; N, 18,17.

Encontrado C, 39,92; H, 3,91; N, 17,27.

14 Di(*para*-metoxifeniltiossemicarbazona)paládio(II)

Fórmula Molecular: C₁₈H₂₀N₆S₂O₂Pd.

CH₃OH

Massa Molar: 554,5 g/mol

Característica Física: sólido marron claro

Faixa de fusão/decomposição: 235,1-236,5 °C

Rendimento: 79 % (0,219 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3452, 3356, 1602, 1566, 1023, 825.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{\max} (cm⁻¹): 1593, 1571, 1173, 880, 412, 389.

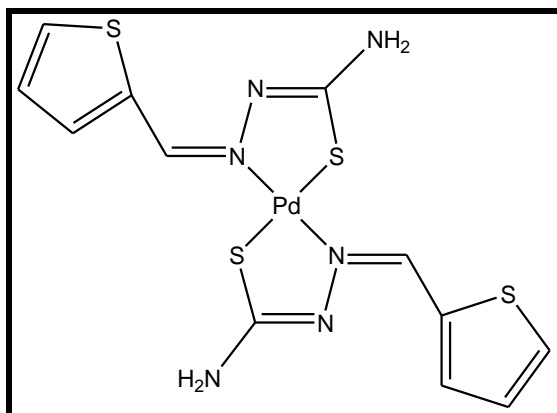
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7,65; 7,62; 6,98 e 6,95 (2d, 6H, Ph, $J_1 = J_2 = 9$ Hz); 7,48 (s, 1H, HC=N); 6,75 (s, 2H, NH₂) e 3,88 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 171,80 (C-S); 155,11 (HC=N); 132,00; 124,40; 113,09 (C, Ph); 55,56 (CH₃).

MS (MALDI) [C₁₈H₂₁N₆S₂O₂Pd] [M+H]⁺: m/z calculado (523,5) encontrado 523,3.

Análise Elementar (%): Calculado C, 41,12; H, 4,32; N, 15,15.

Encontrado C, 40,08; H, 4,16; N, 15,12.

15 Di(*orto*-tiofenotiossemicarbazona)paládio(II)Fórmula Molecular: C₁₂H₁₂N₆S₄Pd

Massa Molar: 474,5 g/mol

Característica Física: sólido amarelo
escuroFaixa de fusão/decomposição: 275,1-
277,2 °C

Rendimento: 70 % (0,165 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3443, 3281, 1598, 1572, 1057, 825.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{\max} (cm⁻¹): 1578, 1576, 1146, 857, 418, 317.

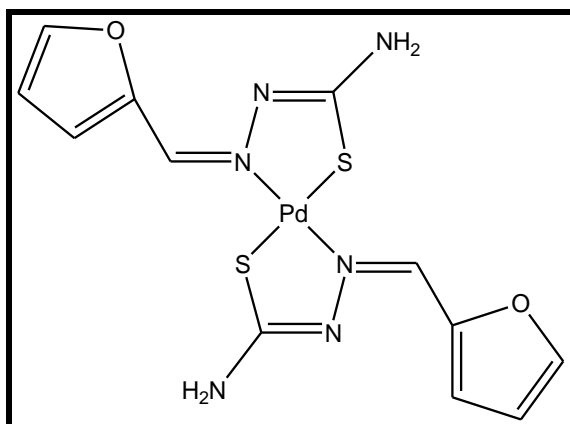
RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7,87; 7,86; 7,11 e 7,10 (2d, 4H, tiofeno, $J_1 = J_2 = 3$ Hz); 7,58 (s, 1H, HC=N); 7,13 (s, 2H, NH₂).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 173,07 (C-S); 146,78 (HC=N); 135,58; 133,95; 132,89 e 126,56 (C, tiofeno).

MS (MALDI) [C₁₂H₁₃N₆S₄Pd] [M+H]⁺: m/z calculado (475,5) encontrado 475,1.

Análise Elementar (%): Calculado C, 30,35; H, 2,53; N, 17,71.

 Encontrado C, 30,32; H, 2,68; N, 17,29.

16 Di(*orto*-furanotiossemicarbazona)paládio(II)

Fórmula Molecular: $C_{12}H_{12}N_6S_2O_2Pd$

Massa Molar: 442,5 g/mol

Característica Física: sólido amarelo

Faixa de fusão/decomposição: 279,7-
280,3 °C

Rendimento: 87% (0,192 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3478, 3303, 1609, 1592, 1082, 889.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1585, 1560, 1150, 828, 425, 381.

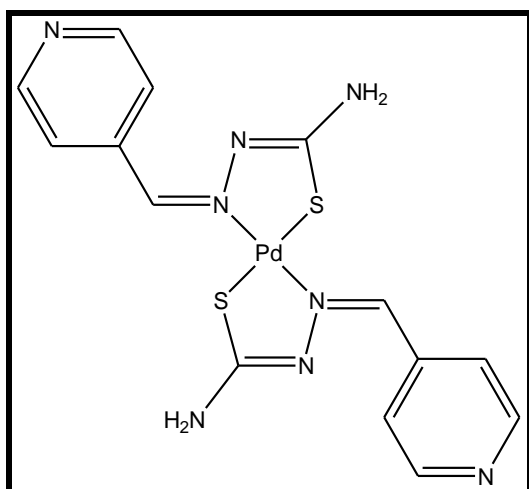
RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7,84 (s, 1H, HC=N); 7,64- 6,69 (m, 4H, furano); 7,34 (s, 2H, NH $_2$).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 174,57 (C-S); 147,17 (HC=N); 146,09; 140,85; 121,21 e 113,32 (C, furano).

MS (MALDI) [$C_{12}H_{13}N_6S_2O_2Pd$] [M+H] $^+$: m/z calculado (443,5) encontrado 443,3.

Análise Elementar (%): Calculado C, 32,55; H, 2,71; N, 18,99.

 Encontrado C, 32,77; H, 2,91; N, 18,90.

17 Di(*para*-piridiniltiossemicarbazona)paládio(II)Fórmula Molecular: C₁₄H₁₄N₈S₂Pd

Massa Molar: 464,5 g/mol

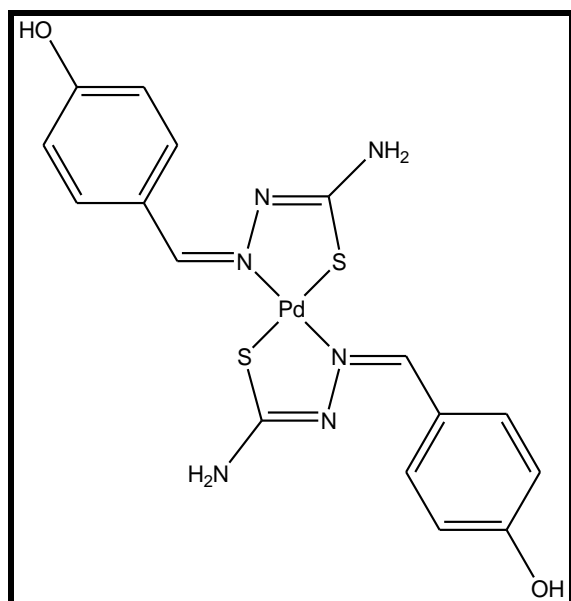
Característica Física: sólido
alaranjadoFaixa de fusão/decomposição: 258,7-
259,8 °C

Rendimento: 61 % (0,141 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{\max} KBr (cm⁻¹): 3470, 3410, 1619, 1593, 1027, 865.Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{\max} (cm⁻¹): 1593, 1574, 1199, 857, 444, 392.RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8,65 - 7,55 (m, 4H, piridina); 8,21 (s, 1H, HC=N); 7,25 (s, 2H, NH₂).RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 176,60 (C-S); 147,27 (HC=N); 138,31; 137,87; 125,29 e 125,09 (C, Ph).MS (MALDI) [C₁₄H₁₅N₈S₂Pd] [M+H]⁺: m/z calculado (465,5) encontrado 465,4.

Análise Elementar (%): Calculado C, 36,18; H, 3,01; N, 24,12.

Encontrado C, 35,82; H, 2,86; N, 23,15.

18 Di(*para*-hidroxifeniltiossemicarbazona)paládio(II)

Fórmula Molecular: $C_{16}H_{16}N_6S_2O_2Pd$

Massa Molar: 494,5 g/mol

Característica Física: sólido amarelo

Faixa de fusão/decomposição: 272,4-
273,4 °C

Rendimento: 66 % (0,166 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3460, 3392, 3305, 1598, 1538, 1029, 816.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1588, 1512, 1176, 805, 414, 343.

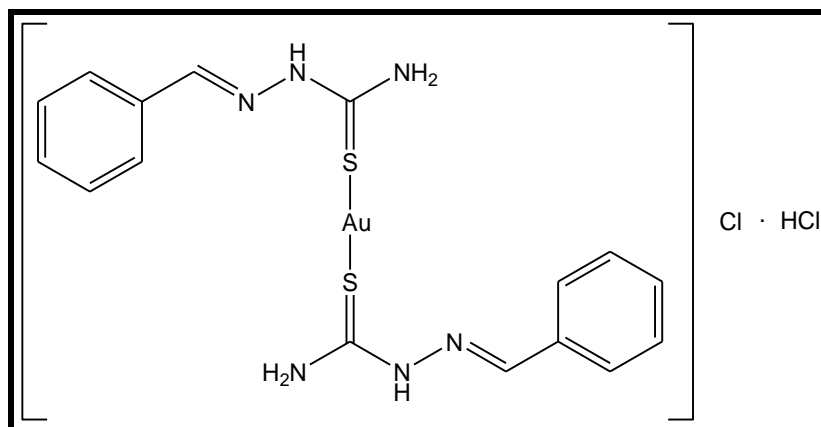
RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7,99; 7,97; 6,79 e 6,76 (2d, 6H, Ph, $J_1 = 6$ Hz e $J_2 = 9$ Hz), 7,14 (s, 1H, HC=N); 6,98 (s, 2H, NH $_2$).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 173,36 (C-S); 160,08; 135,10; 123,85 e 115,28 (C, Ph); 153,99 (HC=N).

MS (MALDI) [$C_{16}H_{17}N_6S_2O_2Pd$] [$M+H$] $^+$: m/z calculado (495,5) encontrado 495,3.

Análise Elementar (%): Calculado C, 38,83; H, 3,24; N, 16,99.

 Encontrado C, 38,06; H, 3,18; N, 16,97.

19 Cloreto de di(feniltiossemicarbazona)ouro(I) monoclóridato

Fórmula Molecular: $[C_{16}H_{18}N_6S_2Au]Cl \cdot HCl$

Massa Molar: 627 g/mol

Característica Física: sólido bege

Faixa de fusão/decomposição: 116,0-117,8 °C

Rendimento: 52 % (0,163 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} Kbr (cm^{-1}): 3364, 3227, 3142, 2962, 1604, 1548, 1092, 1064, 867.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1599, 1573, 1091, 581, 256.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 12,30 (s, 1H, NH); 9,10 e 8,69 (s, 2H, NH₂); 8,31 (s, 1H, CH=N); 7,81; 7,80 e 7,79 (t, 2H, CH, Ph, $J = 3$ Hz); 7,42; 7,41 e 7,39 (t, 3H, CH, Ph, $J = 3$ Hz).

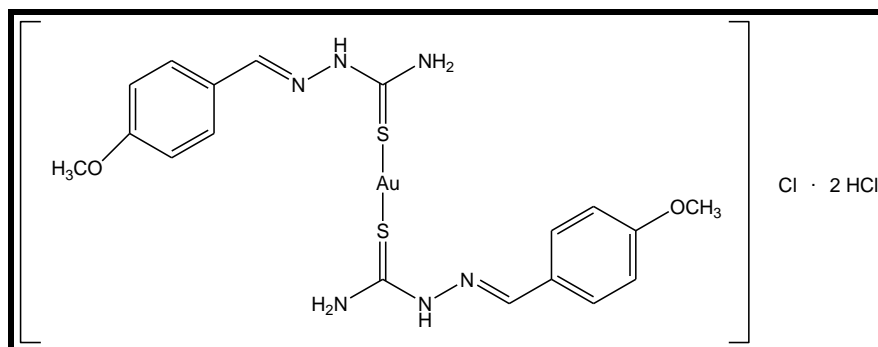
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 171,83 (C-S); 147,65 (HC=N); 146,10; 132,98; 131,44; 129,38; 127,32 e 126,55 (C, Ph).

MS (MALDI) $[C_{16}H_{18}N_6S_2Au]$: m/z calculado (555,5) encontrado 555,2.

Análise Elementar (%): Calculado C, 30,62; H, 3,03; N, 13,39; Cl, 11,32.

Encontrado C, 30,01; H, 3,02; N, 12,87; Cl, 10,82.

20 Cloreto de di(*para*-metoxifeniltiossemicarbazona)ouro(I) dicloridrato



Fórmula Molecular: $[C_{18}H_{22}N_6O_2S_2Au]Cl \cdot 2HCl$

Massa Molar: 723,5 g/mol

Característica Física: sólido amarelo claro

Faixa de fusão/decomposição: 180,7-181,4 °C

Rendimento: 29 % (0,103 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} Kbr (cm^{-1}): 3408, 3271, 3143, 2955, 1597, 1511, 1026, 828.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1599, 1569, 1104, 804, 258.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 12,33 (s, 1H, NH); 9,19 e 8,78 (s, 2H, NH₂); 8,34 (s, 1H, CH=N); 7,84 e 7,80 (d, 2H, CH, Ph, $J = 12$ Hz); 7,01 e 6,98 (d, 2H, CH, Ph, $J = 9$ Hz); 3,80 (s, 3H, CH₃).

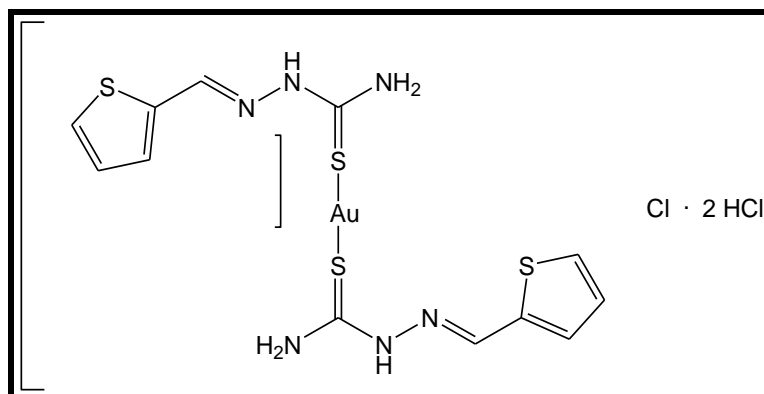
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 170,13 (C-S); 161,53 (C-OCH₃); 148,13 (HC=N); 129,78; 125,79 e 114,41 (C, Ph); 67,01 (OCH₃).

MS (MALDI) $[C_{18}H_{22}N_6O_2S_2Au]$: m/z calculado (615,5) encontrado 615,2.

Análise Elementar (%): Calculado C, 29,85; H, 3,32; N, 11,61.

Encontrado C, 28,77; H, 3,25; N, 11,01.

21 Cloreto de di(*orto*-tiofenotiossemicarbazona)ouro(I) dicloridrato



Fórmula Molecular: $[C_{12}H_{14}N_6S_4Au]Cl \cdot 2HCl$

Massa Molar: 675,5 g/mol

Característica Física: sólido bege

Faixa de fusão/decomposição: 142,3-143,5 °C

Rendimento: 41 % (0,138 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} Kbr (cm^{-1}): 3415, 3270, 3167, 2979, 1587, 1553, 1537, 1475, 1049, 819.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1603, 1516, 1082, 857, 526, 262.

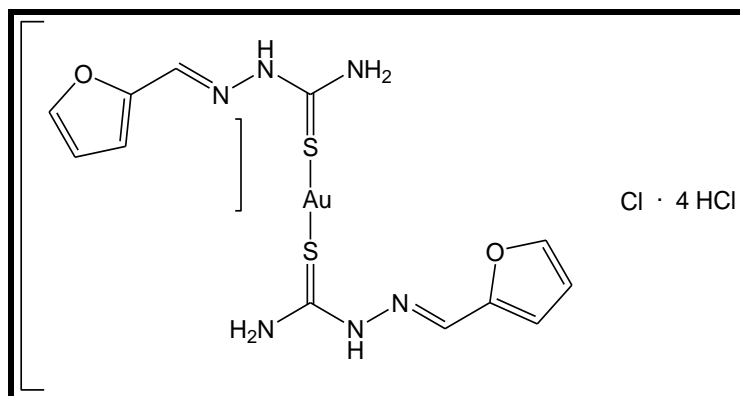
RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 12,25 (s, 1H, NH); 9,07 e 8,38 (s, 2H, NH₂); 8,49 (s, 1H, CH=N); 7,76; 7,75; 7,57 e 7,56; 7,17; 7,16 e 7,14 (3H, CH, tiofeno).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 170,85 (C-S); 141,85 (HC=N); 136,98; 131,87; 129,92 e 127,48 (C, tiofeno).

MS (MALDI) $[C_{12}H_{14}N_6S_4Au]$: m/z calculado (567,5) encontrado 567,1.

Análise Elementar (%): Calculado C, 21,32; H, 2,36; N, 12,44.

Encontrado C, 21,56; H, 2,89; N, 12,35.

22 Cloreto de di(*orto*-furanotiossemicarbazona)ouro(I) tetracloridrato

Fórmula Molecular: $[C_{12}H_{14}N_6O_2S_2Au]Cl \cdot 4HCl$

Massa Molar: 716,5 g/mol

Característica Física: sólido bege

Faixa de fusão/decomposição: 239,7-241,5 °C

Rendimento: 31 % (0,112 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} Kbr (cm^{-1}): 3398, 3151, 2989, 1615, 1546, 1016, 828.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1617, 1551, 1087, 827, 557, 266.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 12,19 (s, 1H, NH); 9,03 e 8,40 (s, 2H, NH₂); 8,20 (s, 1H, CH=N); 7,88; 7,09 e 6,67 (m, 3H, CH, furano).

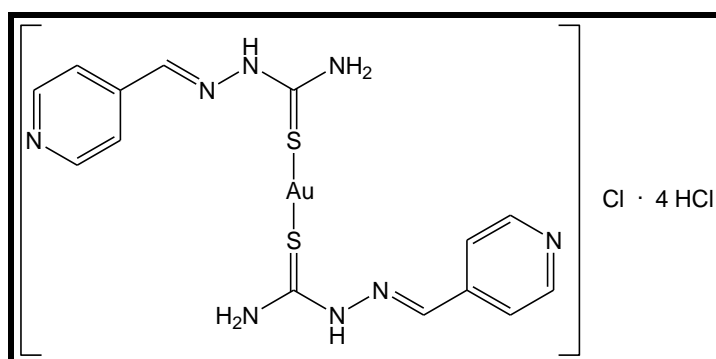
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 171,91 (C-S); 148,59 (HC=N); 145,74; 136,45; 114,60 e 112,42 (C, furano).

MS (MALDI) $[C_{12}H_{14}N_6O_2S_2Au]$: m/z calculado (535,4) encontrado 535,1.

Análise Elementar (%): Calculado C, 20,10; H, 2,51; N, 11,72.

Encontrado C, 19,17; H, 3,09; N, 11,39.

23 Cloreto de di(*para*-piridiniltiossemicarbazona)ouro(I) tetracloridrato



Fórmula Molecular: $[C_{14}H_{16}N_8S_2Au]Cl \cdot 4HCl$

Massa Molar: 738,5 g/mol

Característica Física: sólido bege

Faixa de fusão/decomposição: 219,3-220,8 °C

Rendimento: 62 % (0,228 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} Kbr (cm^{-1}): 3416, 3074, 2977, 2766, 1608, 1535, 1294, 1081, 818.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1638, 1590, 1087, 878, 549, 266.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 12,39 (s, 1H, **NH**); 9,01 e 8,80 (s, 2H, **NH₂**); 8,59 e 8,57; 8,15 e 8,13 (2d, 4H, **CH**, piridina, $J_1 = J_2 = 6$ Hz); 8,01 (s, 1H, **CH=N**).

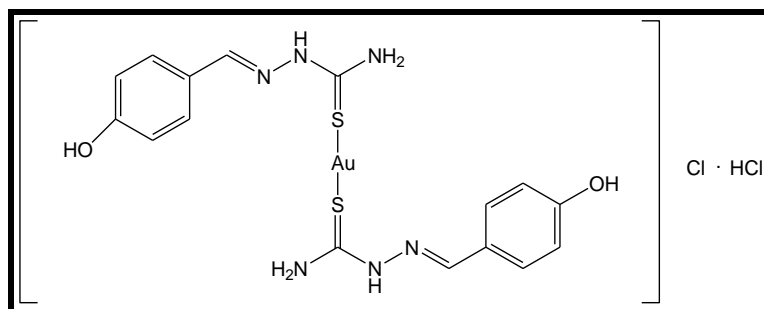
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 174,63 (**C-S**); 148,56 (**HC=N**); 142,35; 140,49 e 123,73 (**C**, piridina).

MS (MALDI) $[C_{14}H_{16}N_8S_2Au]$: m/z calculado (557,4) encontrado 557,2.

Análise Elementar (%): Calculado C, 22,75; H, 2,71; N, 15,17.

Encontrado C, 22,03; H, 3,15; N, 14,49.

24 Cloreto de di(*para*-hidroxifeniltiossemicarbazona)ouro(I) monocloridrato



Fórmula Molecular: $[C_{16}H_{18}N_6O_2S_2Au]Cl \cdot HCl$

Massa Molar: 659 g/mol

Característica Física: sólido cinza

Faixa de fusão/decomposição: 188,7-190,4 °C

Rendimento: 60 % (0,198 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} Kbr (cm^{-1}): 3407, 3287, 3158, 3013, 1596, 1553, 1100, 819.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1599, 1586, 1091, 822, 284.

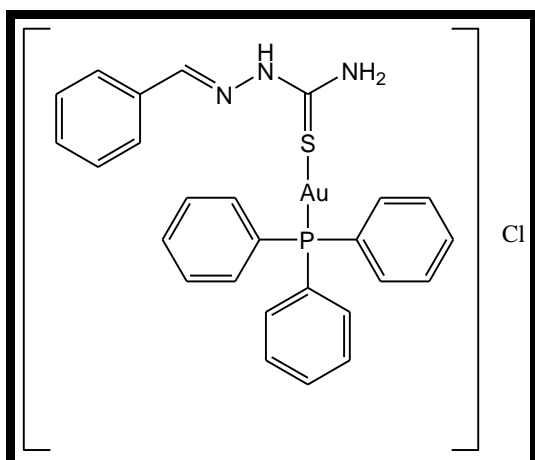
RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 12,32 (s, 1H, NH); 10,21 (s, 1H, OH); 9,15 e 8,71 (s, 2H, NH₂); 8,33 (s, 1H, CH=N); 7,80 e 7,78; 6,87 e 6,86 (2d, 4H, CH, Ph, $J_1 = 6$ Hz e $J_2 = 3$ Hz); 7,01 e 6,98 (d, 2H, CH, Ph, $J = 9$ Hz); 3,13 (s, 1H, OH).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 170,52 (C-S); 160,12 (C-OH); 147,88 (HC=N); 129,78; 124,22 e 115,63 (C, Ph).

MS (MALDI) $[C_{16}H_{18}N_6O_2S_2Au]$: m/z calculado (587,5) encontrado 587,1.

Análise Elementar (%): Calculado C, 29,14; H, 2,88; N, 12,75

Encontrado C, 29,99; H, 3,02; N, 12,91.

25 Cloreto de (feniltiossemicarbazonatrifenilfosfino)ouro(I)Fórmula Molecular: $[C_{26}H_{24}N_3SPAu].Cl$

Massa Molar: 673,5 g/mol

Característica Física: sólido branco

Faixa de fusão/decomposição: 99,7-100,4 °C

Rendimento: 15 % (0,100 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3423, 3261, 3142, 2962, 1594, 1519, 1092, 1050, 947, 870, 536, 425.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1598, 1567, 1175, 868, 617, 542, 250.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 11,50 (s, 1H, NH); 8,26 (s, 1H, CH=N); 8,06 (s, 2H, NH₂); 7,80; 7,79 (d, 2H, CH, Ph, $J = 3$ Hz) e 7,39 (m, 3H, CH, Ph); 7,57 (m, 15H, PPh₃).

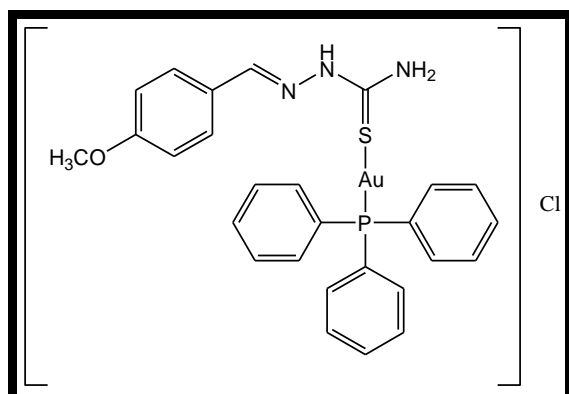
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 177,46 (C-S); 142,39 (HC=N); 132,23; 129,80; 129,51; 128,59 e 127,27 (C, Ph); 134,10 (s, 3C, CH, PPh₃); 133,76 (d, 1C, CH, PPh₃, $J = 13,5$ Hz); 129,64 (d, C, CH, PPh₃, $J = 11,7$ Hz).

MS (MALDI) $[C_{26}H_{24}N_3SPAu]$: m/z calculado (638,5) encontrado 638,3.

Análise Elementar (%): Calculado C, 46,33; H, 3,56; N, 6,24.

Encontrado C, 48,25; H, 4,01; N, 6,56.

26 Cloreto de (*para*-metoxifeniltiossemicarbazonatrifenilfosfino)ouro(I)



Fórmula Molecular: $[C_{27}H_{26}N_3SOPAu].Cl$

Massa Molar: 703,5 g/mol

Característica Física: sólido branco

Faixa de fusão/decomposição: 110,1-111,2 °C

Rendimento: 17 % (0,119 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3407, 3288, 3150, 2971, 1604, 1545, 1168, 1074, 835, 519, 442.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1601, 1570, 1170, 877, 527, 257.

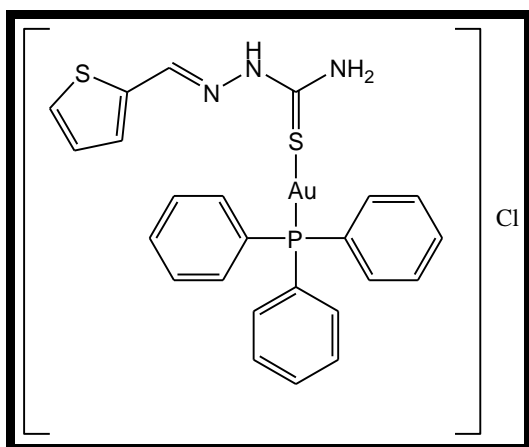
RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 11,47 (s, 1H, **NH**); 8,27 (s, 1H, **CH=N**); 8,05 (s, 2H, **NH₂**); 7,76; 7,74 (d, 2H, **CH**, Ph, $J = 6$ Hz); 7,58 (m, 15H, **CH**, PPh); 6,98 e 6,96 (d, 2H, Ph₃, $J = 6$ Hz); 3,79 (s, 3H, **H₃CO**).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 176,71 (**C-S**); 160,43 (**H₃CO**); 142,44 (**HC=N**); 131,98; 128,70; 127,73, 126,48 e 113,89 (5C, **CH**, Ph); 133,18 (3C, **CH**, PPh₃); 133,64 e 133,45 (d, 1C, **CH**, PPh₃, $J = 14,25$); 129,41 e 129,26 (d, 2C, **CH**, PPh₃, $J = 11,26$); 55,03 (**H₃CO**).

MS (MALDI) $[C_{27}H_{26}N_3SOPAu]$: m/z calculado (668,5) encontrado 668,6.

Análise Elementar (%): Calculado C, 46,06; H, 3,69; N, 5,97.

Encontrado C, 46,53; H, 3,55; N, 5,89.

27 Cloreto de (*orto*-tiofenotiossemicarbazona-trifenilfosfino)ouro(I)Fórmula Molecular: $[C_{24}H_{22}N_3S_2PAu].Cl$

Massa Molar: 679,5 g/mol

Característica Física: sólido branco

Faixa de fusão/decomposição: 74,0-75,2 °C

Rendimento: 12 % (0,081 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3415, 3270, 3150, 2903, 1587, 1545, 1100, 827, 528, 494.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1593, 1509, 1096, 829, 656, 528, 262.

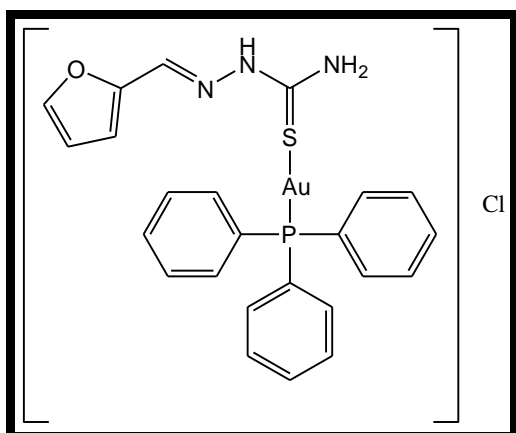
RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 11,60 (s, 1H, NH); 8,34 (s, 2H, NH₂); 7,67 (m, 15H, CH, PPh); 7,53 (s, 1H, CH=N); 7,20; 7,14 e 7,00 (s, 3H, CH, tiofeno).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 176,38 (C-S); 138,09 (HC=N); 137,60; 131,48; 128,30 e 127,35 (3C, CH, tiofeno); 133,27; 133,12 (d, 1C, CH, PPh₃, $J = 11,25$); 129,98 (3C, CH, PPh₃); 129,07; 128,92 (d, 2C, CH, PPh₃, $J = 11,25$).

MS (MALDI) $[C_{24}H_{22}N_3S_2PAu]$: m/z calculado (644,5) encontrado 644,5.

Análise Elementar (%): Calculado C, 42,38; H, 3,24; N, 6,18.

Encontrado C, 43,18; H, 3,47; N, 6,50.

28 Cloreto de (*orto*-furanotiossemicarbazonatrifetilfosfino)ouro(I)Fórmula Molecular: $[C_{24}H_{22}N_3SOPAu].Cl$

Massa Molar: 663,5 g/mol

Característica Física: sólido branco

Faixa de fusão/decomposição: 92,4-93,1 °C

Rendimento: 20 % (0,132 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3449, 2920, 2849, 1608, 1528, 1061, 835, 541, 489.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1628, 1555, 1099, 887, 671, 265.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 11,49 (s, 1H, NH); 8,26 e 7,08 (s, 2H, NH $_2$); 7,98 (s, 1H, CH=N); 7,57 (m, 15H, CH, PPh); 7,81; 6,97 e 6,62 (s, 3H, CH, furano).

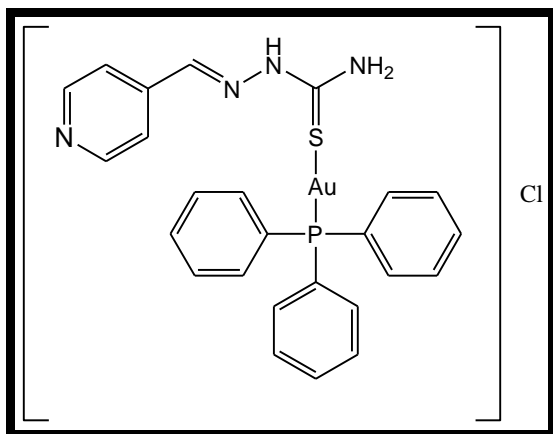
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 176,94 (C-S); 149,11 (HC=N); 144,64; 132,58; 112,52 e 111,99 (3C, CH, furano); 133,55; 133,36 (d, 1C, CH, PPh $_3$, $J = 14,25$); 131,73 (3C, CH, PPh $_3$); 129,30; 129,15 (d, 2C, CH, PPh $_3$, $J = 11,25$).

MS (MALDI) $[C_{24}H_{22}N_3SOPAu]$: m/z calculado (628,5) encontrado 628,4.

Análise Elementar (%): Calculado C, 43,41; H, 3,32; N, 6,33.

Encontrado C, 42,07; H, 3,15; N, 6,09.

29 Cloreto de (*para*-piridiniltiossemicarbazonatrifenilfosfino)ouro(I)



Fórmula Molecular: $[C_{25}H_{23}N_4SPAu].Cl$

Massa Molar: 674,5 g/mol

Característica Física: sólido amarelo

Faixa de fusão/decomposição: 187,6-189,1 °C

Rendimento: 31 % (0,208 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3427, 3270, 3157, 2917, 1603, 1550, 1107, 882, 544, 499.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1597, 1582, 1102, 887, 689, 254.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 11,77 (s, 1H, NH); 8,58 e 7,77 (s, 4H, CH, piridina); 8,37 e 8,21 (s, 2H, NH $_2$); 8,02 (s, 1H, CH=N); 7,52 (m, 15H, CH, PPh).

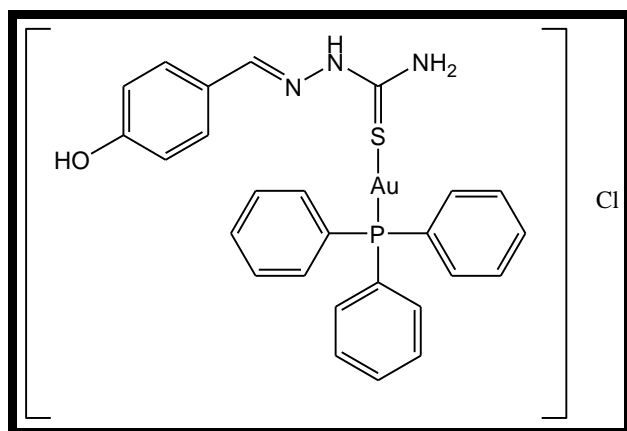
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 177,76 (C-S); 149,49 (HC=N); 141,07; 139,35; 128,29; 127,47 e 120,46 (5C, CH, piridina); 133,23; 133,05 (d, 1C, CH, PPh $_3$, $J = 13,50$); 131,63 (3C, CH, PPh $_3$); 129,05; 128,91 (d, 2C, CH, PPh $_3$, $J = 10,50$).

MS (MALDI) $[C_{25}H_{23}N_4SPAu]$: m/z calculado (639,5) encontrado 639,4.

Análise Elementar (%): Calculado C, 44,48; H, 3,41; N, 8,30.

Encontrado C, 44,62; H, 3,26; N, 7,98.

30 Cloreto de (*para*-hidroxifeniltiossemicarbazonatrifenilfosfino)ouro(I)



Fórmula Molecular:

$[C_{26}H_{24}N_3SOPAu].Cl$

Massa Molar: 689,5 g/mol

Característica Física: sólido bege

Faixa de fusão/decomposição:

101,2-102,3 °C

Rendimento: 34 % (0,234 g)

Principais bandas de absorção no I.V. ν_{max} KBr (cm^{-1}): 3474, 3370, 3129, 1598, 1511, 1100, 835, 537, 499.

Principais bandas de absorção no Raman $\lambda = 1064$ nm, ν_{max} (cm^{-1}): 1605, 1586, 1164, 877, 646, 257.

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 11,53 (s, 1H, NH); 10,13 (s, 2H, NH₂); 8,33 (s, 1H, CH=N); 8,11; 8,07 (d, 2H, CH, fenol, $J = 12$ Hz); 6,93; 6,90 (d, 2H, CH, fenol, $J = 3$ Hz); 7,71 (m, 15H, CH, PPh).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 176,38 (C-S); 159,18 (HOC); 143,29 (HC=N); 133,59; 133,42 (d, 1C, CH, PPh₃, $J = 12,75$); 129,45; 129,28 (d, 2C, CH, PPh₃, $J = 12,75$); 128,79 (3C, CH, PPh₃); 132,00; 124,67 e 115,28 (5C, CH, fenol).

MS (MALDI) $[C_{26}H_{24}N_3SOPAu]$: m/z calculado (654,5) encontrado 654,5.

Análise Elementar (%): Calculado C, 45,25; H, 3,48; N, 6,09.

Encontrado C, 44,09; H, 3,42; N, 6,45.

3.18. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS LIGANTES E DOS COMPLEXOS DE PLATINA, PALÁDIO E OURO

A atividade antibacteriana dos ligantes e complexos de platina e paládio foi avaliada sobre as cepas das bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Shigella dysenteriae* ATCC 13313, *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium* ATCC 13311, *Escherichia coli* ATCC 10536 e *Enterobacter cloacae* ATCC 23355. Para os complexos de ouro e ligantes, a atividade antibacteriana foi avaliada para *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium* ATCC 13311 e *Escherichia coli* ATCC 10536. Para tal avaliação, foi realizado o ensaio de susceptibilidade em microdiluição em caldo, usando o método descrito pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002), com modificações. Cepas de bactérias foram cultivadas a 37 °C por 24 horas em ágar BHI (Brain Heart Infusion). Soluções estoque (em DMSO) das amostras foram diluídas de 200 a 1,56 µg/mL e 80 µL dessas foram transferidas para microplacas de 96 poços, que já continham 100 µL de caldo Mueller-Hinton. Em cada poço, foi adicionado 20 µL do inóculo diluído em solução salina 0,9% (10^8 UFC/mL, de acordo com a escala turbidimétrica padrão de McFarland). Posteriormente, as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Como controles, foram utilizados caldo Mueller-Hinton e micro-organismo; caldo Mueller-Hinton e amostra; e como controle positivo, Cloranfenicol (Feniclor®) nas concentrações de 100 a 0,78 µg/mL. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi calculada como a menor concentração que apresentou completa inibição da cepa testada. Todos os testes foram realizados em duplicata (NCCLS, 2002).

3.19. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS COMPLEXOS DE PLATINA, PALÁDIO E OURO

Para a avaliação da atividade citotóxica dos complexos foram utilizadas as seguintes linhagens de células: B16-F10 (célula de melanoma murino), CT26.WT (carcinoma de cólon de camundongo) e BHK-21 (célula normal de rim de hamster).

Para determinação da concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC_{50}), as células foram distribuídas em meio de cultura em densidades que variaram conforme a linhagem celular entre $0,5 \times 10^3$ e 2×10^3 células/poço/100 μ L numa placa com 96 poços e foram devidamente incubadas a 37 °C em atmosfera umedecida a 5% de CO_2 por 48 horas para ideal aderência.

Nos poços da placa contendo as células já aderidas, foram distribuídos 100 μ L de concentrações decrescentes (100 a 0,1 μ M) da substância a ser testada (solução em DMSO), em quadruplicatas. Para controle negativo, 100 μ L de meio de cultura suplementado com 10% de FBS foram adicionados a doze poços da placa. As células foram expostas aos compostos por 72 horas, contendo 10% v/v de FBS e os compostos testados nas devidas concentrações.

Após a exposição das células ao composto de investigação, as mesmas foram incubadas com MTT (5 μ L/10 μ L/poço) durante 4 horas. A seguir, todo o líquido sobrenadante foi removido por aspiração e foram adicionados 100 μ L de DMSO/poço, sendo a viabilidade celular (proporcional à concentração dos sais de formazan) determinada pela medida de absorvância a 492 nm num espectrofotômetro de microplacas.

Os dados obtidos através dos ensaios citotóxicos foram normalizados considerando-se a viabilidade celular do controle negativo como 100%. As IC_{50} foram calculadas usando regressão linear sobre os valores de concentração em escala logarítmica *versus* a porcentagem de viabilidade celular em cada concentração. Para tal foi utilizado o programa Sigma Plot 10.0.

3.20. ESTUDOS DE INIBIÇÃO DA ENZIMA TIORREDOXINA REDUTASE (TrxR)

O estudo de inibição da atividade enzimática da tiorredoxina redutase (TrxR) isolada de fígado de rato (Sigma) foi realizado para os ligantes e compostos de ouro sintetizados no presente trabalho. O ensaio foi feito de acordo com as instruções do fabricante Sigma (Informação do produto T9698) e com Ott e colaboradores (Ott *et al.*, 2009) com as modificações apropriadas.

Uma alíquota de 20 μL da solução diluída de TrxR (contendo cerca de 0,10 unidades de enzima) foi adicionada a 20 μL de uma solução do complexo em 5% de DMSO/tampão fosfato de potássio, pH 7,0 e a solução resultante foi incubada durante 1 hora a 37 °C. Para todos os complexos a concentração final foi de 5 μM . Após a incubação, 600 μL da mistura reacional foram adicionados e a formação de ácido 5-tio-2-nitrobenzóico (TNB) foi monitorada no espectrofotômetro na região do UV-Visível a 412 nm durante 4 minutos.

Para o preparo de 10 mL da mistura reacional utilizou-se 200 μL de solução de EDTA pH 7,5 (500 mmol.L^{-1}); 800 μL de ácido ditiobisnitrobenzóico (DTNB) em etanol (63 mmol.L^{-1}), 50 μL de fosfato dinucleótido de nicotinamida adenina (NADPH) em água (48 mmol.L^{-1}), 100 μL de solução de albumina bovina em água (20 mg/mL), 1 mL de tampão de fosfato de potássio (1,0 mol.L^{-1}) e 7,8 mL de água.

A solução do branco consistiu de 20 μL de uma solução do complexo em 5% de DMSO/tampão fosfato de potássio pH 7,0 adicionada 20 μL de água e 600 μL da mistura reativa. A atividade enzimática das amostras foi calculada em percentagem, utilizando a absorvância do controle positivo (20 μL da solução de TrxR de fígado de rato e 20 μL de tampão fosfato de potássio pH 7,0 adicionados a 600 μL da mistura reativa como a atividade máxima (100% de atividade) . As medidas foram realizadas em triplicata.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. LIGANTES ARIL-TIOSSEMICARBAZONAS

As tiossemicarbazonas são compostos de considerável interesse científico devido as suas importantes propriedades químicas e biológicas. A preparação de tiossemicarbazonas é largamente explorada na literatura (Hang & Bertozzi, 2001; Bharti *et al.*, 2002). Em geral, duas estratégias podem ser empregadas na sua obtenção: a forma direta, através da reação quimiosseletiva de aldeídos e/ou cetonas com as tiossemicarbazidas, e a forma indireta, que ocorre pela preparação prévia das tiossemicarbazidas, utilizando hidrazina ($\text{NH}_2\text{-NH}_2$) e diferentes reagentes, seguida de condensação com o derivado carbonilado específico (Tenório *et al.*, 2005).

Neste trabalho, a síntese dos ligantes foi realizada pela forma direta, através da condensação da tiossemicarbazida com os respectivos aldeídos aromáticos, com rendimentos dos produtos isolados variando entre 45 e 87%, de acordo com o esquema apresentado na Figura 4.1.1.

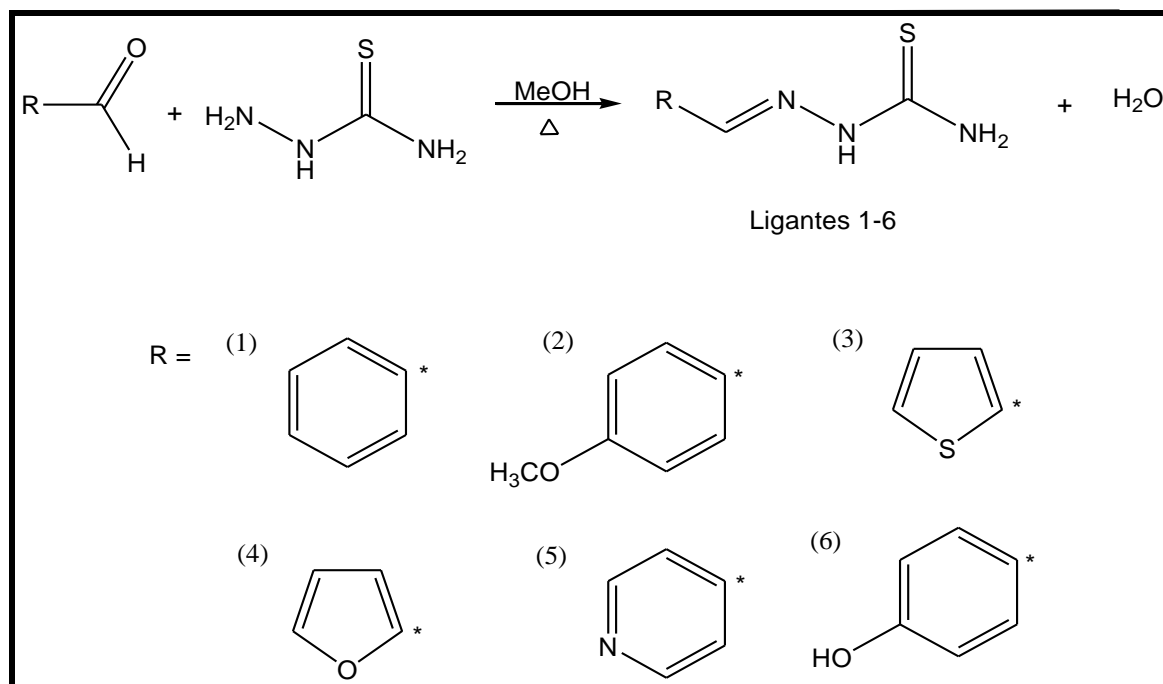


Figura 4.1.1. Representação esquemática da síntese dos ligantes aril-tiossemicarbazonas

O mecanismo reacional de formação das tiossemicarbonas pela forma direta, inicia-se com a protonação do oxigênio da carbonila para formar o intermediário íon oxônio, seguida pelo ataque nucleofílico do nitrogênio N-1 da tiossemicarbazida para formar o intermediário hemiaminal protonado. Este perde uma molécula de água e, após neutralização, forma-se a tiossemicarbazona, conforme Figura 4.1.2 (Tenório *et al.*, 2005).

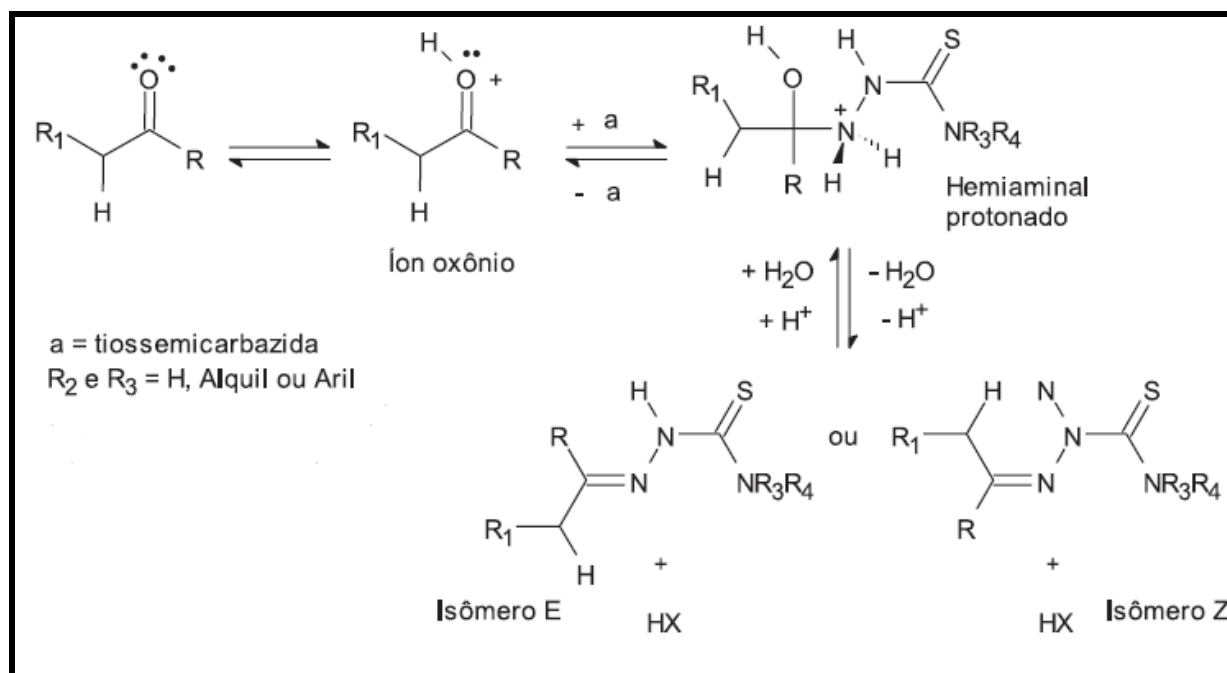


Figura 4.1.2. Mecanismo de formação de tiossemicarbonas

Já que todas as tiossemicarbonas foram previamente descritas (Hong *et al.*, 2004; Tenório *et al.*, 2005), suas caracterizações foram feitas comparando suas faixas de fusão, espectros na região do infravermelho e ultravioleta e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C com os dados da literatura.

Devido às semelhanças estruturais dos compostos, serão discutidos mais detalhadamente, apenas os resultados obtidos nos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , infravermelho e ultravioleta para o ligante *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona. As atribuições de espectros de infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C de todos os ligantes encontram-se no item 3.17 (Dados e Caracterização dos Compostos). Todos os espectros estão mostrados no anexo.

Os espectros no infravermelho dos compostos foram obtidos em pastilhas de KBr, na região de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} . Pode-se destacar a presença de absorções na região de 3407 a

3145 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação N-H dos grupos NH_2 e NH. Uma absorção intensa em 1611 cm^{-1} foi observada, característica do estiramento da ligação C=N, outra forte banda em 1170 e uma banda sobreposta em 819 cm^{-1} referentes ao estiramento assimétrico e simétrico da ligação C-O-C, respectivamente. Ocorreram ainda duas outras absorções em 1015 e 819 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento assimétrico da tiocarbonila (C=S), confirmando a formação da tiossemicarbazona. É válido ressaltar a ausência de uma banda de absorção na região de 2600 a 2550 cm^{-1} referente ao estiramento S-H da forma tiol, indicando que a forma tiona é predominante nas tiossemicarbazonas (Khanye *et al.*, 2010; Silverstein *et al.*, 1991) (Figura 4.2.3, capítulo 4.2, discussão dos complexos).

Para o composto **3**, verificou-se a presença de bandas associadas aos modos vibracionais do anel tiofênico encontradas em 1535 cm^{-1} e 1473 cm^{-1} , referentes à deformação angular do grupo CH_2 adjacente a enxofre. Para o composto **5**, observamos o surgimento de uma banda em 1297 cm^{-1} característica de absorção C-N de aminas aromáticas, além de apresentar, assim como os demais compostos, a banda de absorção C-N de amina alifática na região de aproximadamente 1100 cm^{-1} . Nota-se também uma banda característica do modo de deformação no plano do anel da piridina aparecendo na região de 637 cm^{-1} . No espectro do composto **6**, observa-se uma banda em 3472 cm^{-1} referente ao estiramento do grupo O-H, foi observada ainda uma banda forte e larga, provavelmente sobreposta com a banda de NH, em 3169 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-O e outra banda referente ao estiramento C-O ocorre em 1229 cm^{-1} , além de banda de vibração no plano da ligação C-O-H em 1380 cm^{-1} .

No espectro de RMN de ^1H do composto **2** (Figura 4.1.3) observa-se a presença de um simpleto em δ 11,44 referente ao NH da tiossemicarbazona, dois simpletos largos em δ 8,23 e δ 8,03 que correspondem aos hidrogênios NH_2 , um simpleto em δ 8,09 atribuído ao hidrogênio do carbono da imina, dois dupletos em δ 7,82 ($J = 6,0$ Hz) e δ 7,04 ($J = 6,0$ Hz), referentes aos hidrogênios aromáticos e um simpleto em δ 3,95 referente aos hidrogênios do grupo metoxila. Os hidrogênios do grupo NH_2 apareceram como sinais não equivalentes já que são diastereotópicos devido a rotação restrita da ligação C- NH_2 e também o fato das tiossemicarbazonas possuírem formas tautoméricas (Tenório *et al.*, 2005). Para o composto **6**, o espectro de RMN de ^1H apresentou ainda um sinal mais largo em δ 4,51 que foi atribuído ao hidrogênio da hidroxila.

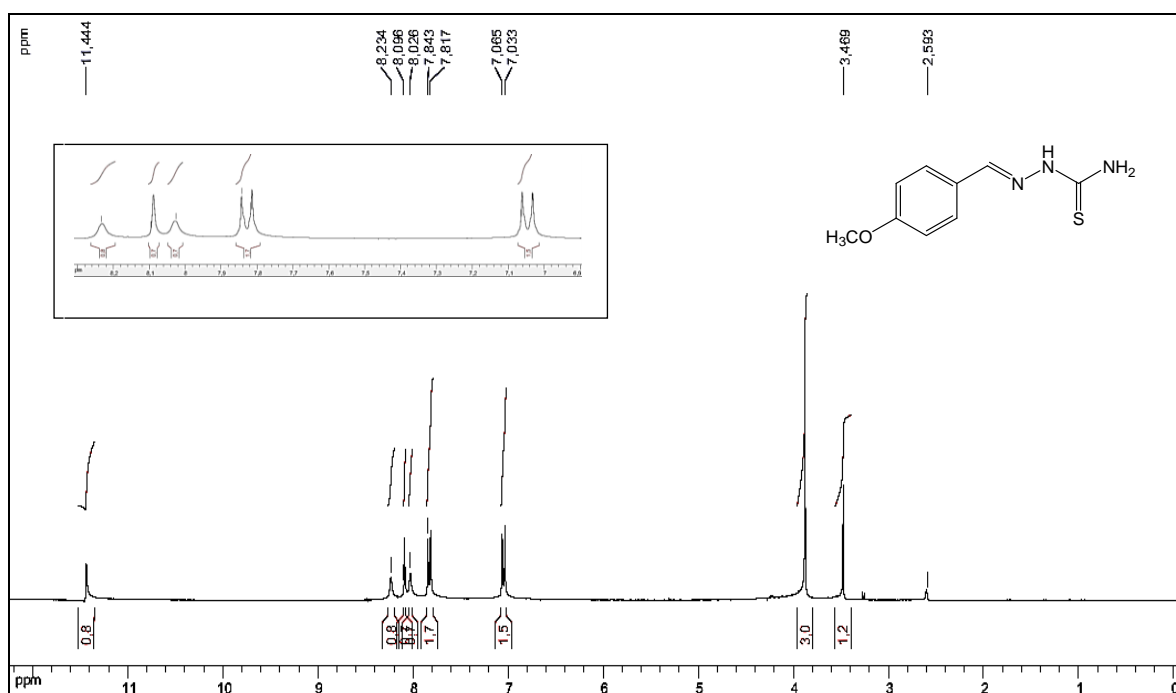


Figura 4.1.3. Espectro de RMN de ^1H do *p*-metoxifenil-tiosemicarbazona **2**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

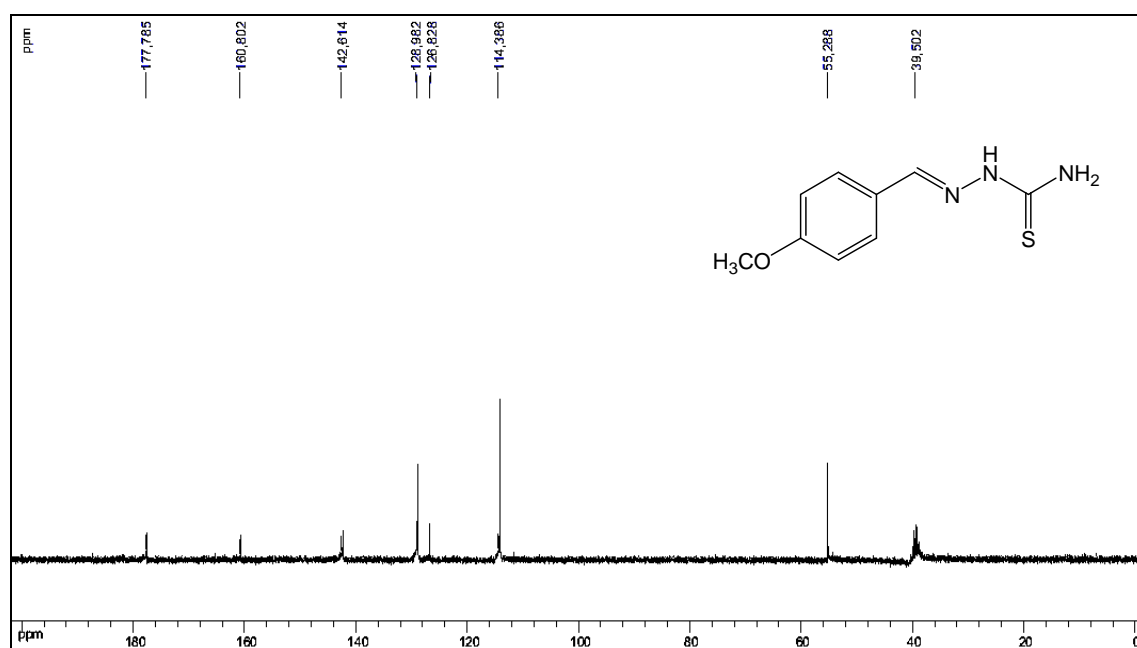


Figura 4.1.4. Espectro de RMN de ^{13}C do *p*-metoxifenil-tiosemicarbazona **2**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

A Figura 4.1.4 mostra o espectro de RMN de ^{13}C do composto em questão. Podemos atribuir os seguintes sinais de ressonância: um sinal em δ 177,78 referente ao carbono do grupo $\text{C}=\text{S}$ da tiossemicarbazona, sinal em δ 160,80 referente ao carbono do anel ligado diretamente ao oxigênio, um sinal em δ 142,81 referente ao carbono da imina, sinais entre δ 128,99 e δ 114,38 e atribuídos aos carbonos do anel aromático. Observa-se ainda um sinal em δ 55,28 que corresponde ao carbono do grupo metoxila.

No espectro no UV-visível (Figura 4.1.5) em solução metanólica do composto *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona pode-se observar uma banda em λ 320 nm ($\epsilon = 5,1 \times 10^4 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ da tiocarbonila (Silverstein *et al.*, 2008). Outra banda em λ 225,0 nm ($\epsilon = 1,6 \times 10^4 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) foi observada, sendo referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel aromático (Judge *et al.*, 1987).

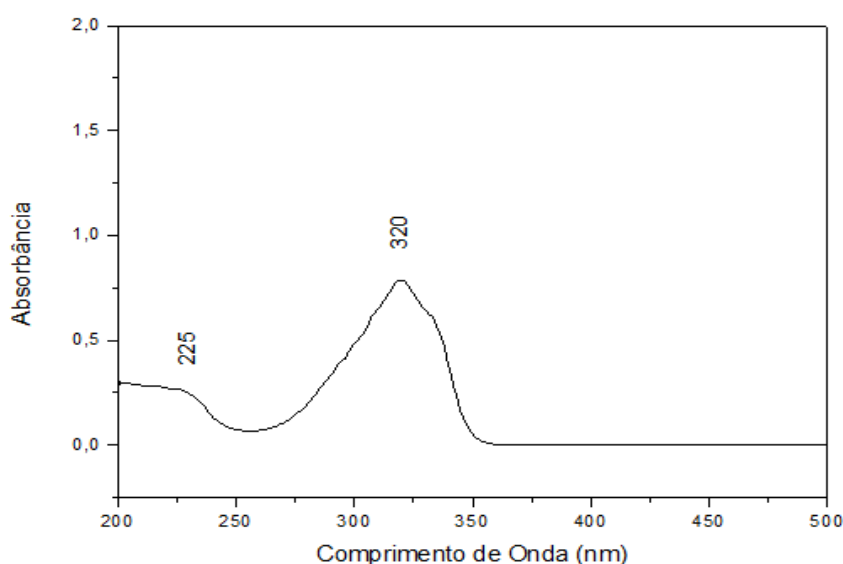


Figura 4.1.5. Espectro no UV-visível em solução metanólica do *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona, 2

4.2. COMPLEXOS DE PLATINA E PALÁDIO

A literatura reporta várias investigações de complexos de platina e paládio com ligantes derivados de tiossemicarbazonas. Há relatos de complexos com estruturas diferentes das propostas para os obtidos neste trabalho, mas com os mesmos ligantes utilizados por nós. Por exemplo, Ali e colaboradores relatam a obtenção de um complexo de platina com o ligante 2-acetiltiofenotiossemicarbazona (Figura 4.2.1) (Ali *et al.*, 2012). Alguns desses compostos com ligantes benzaldeído tiossemicarbazona foram descritos por Hernández e colaboradores (Hé Hernández *et al.*, 2008). Eles descobriram que o paládio forma um complexo bis-quelato, enquanto o complexo de platina é tetranuclear. Lobana e colaboradores (Lobana *et al.*, 2012) descreveram um complexo de paládio com trifenilfosfina e tiofeno tiossemicarbazona coordenado de um modo tridentado através dos átomos de nitrogênio, enxofre e carbono. O grupo de Antelo (Antelo *et al.*, 2010) relatou o estudo de compostos de paládio e platina bimetalícos com *p*-hidroxifenil-tiossemicarbazona.

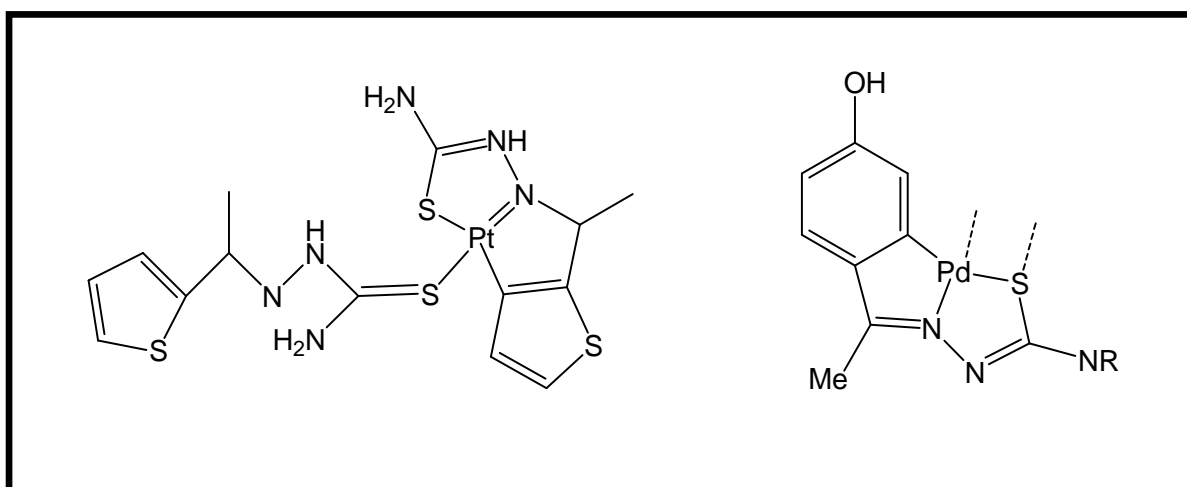


Figura 4.2.1. Complexo de platina com o ligante 2-acetiltiofenotiossemicarbazona e de paládio com o derivado *p*-hidroxifenil-tiossemicarbazona que apresentam estruturas diferentes das propostas para os obtidos neste trabalho

Como já mencionado anteriormente, os complexos de paládio são mais lábeis que seus respectivos complexos de platina. Durante o desenvolvimento do presente trabalho, foi observado nos procedimentos de síntese que os complexos de paládio(II) são formados em

poucas horas, enquanto que os complexos de platina(II) formam-se somente após alguns dias de reação.

Inicialmente pretendia-se sintetizar complexos de platina e paládio com ligantes tiossemicarbazonas em estequiometria 1:1, contendo dois cloretos como grupos abandonadores. No decorrer das sínteses, observou-se uma forte tendência na formação de complexos com estequiometria 1:2. A partir dessa observação, resolveu-se sintetizar complexos com estequiometria (1:2)/(M/L) e aumentar assim, o rendimento das reações. A adição de trietilamina ocorre para favorecer a reação de desprotonação da tiossemicarbazona e a formação do complexo com o ligante na forma aniônica.

Os complexos de platina(II) e paládio(II) foram obtidos através da reação do sal de platina, $K_2[PtCl_4]$, ou sal de paládio, $K_2[PdCl_4]$, com os ligantes derivados das tiossemicarbazonas com estequiometria (1:2)/(M/L), na presença de trietilamina, conforme apresenta o esquema da Figura 4.2.2. Os complexos são semelhantes estruturalmente, ou seja, em ambos os casos o metal coordena-se ao ligante através dos átomos de nitrogênio e enxofre, formando um anel quelato estável de cinco membros.

Considerando que as estruturas dos complexos de Pt(II) e Pd(II) são análogas, não havendo significativas mudanças na caracterização dos mesmos, optou-se em discuti-los conjuntamente.

Devido às semelhanças estruturais dos complexos, serão discutidos apenas os resultados obtidos nos espectros de RMN de 1H , ^{13}C e ^{195}Pt , espectroscopia na região do infravermelho e ultravioleta, além de análise elementar, para os complexos derivados do *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona com platina(II) e paládio(II).

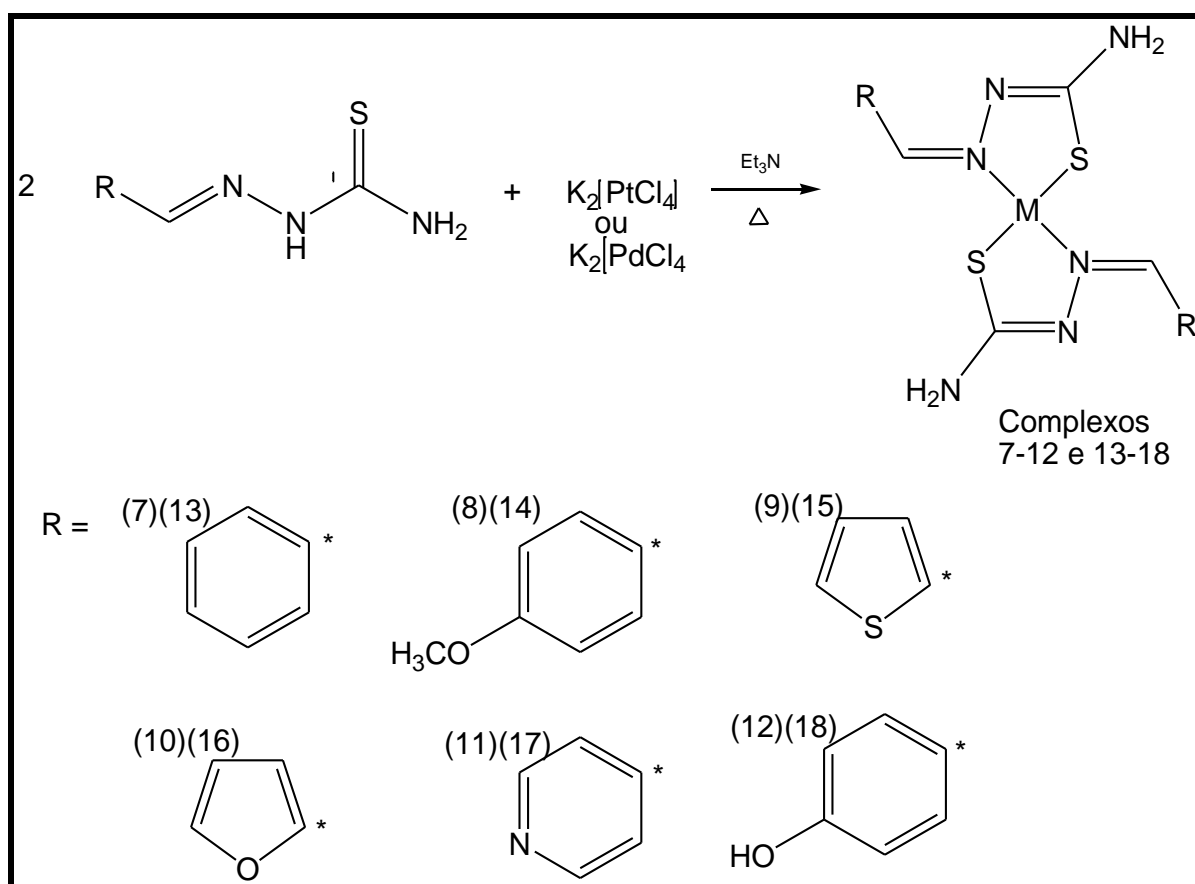


Figura 4.2.2. Representação esquemática da síntese dos complexos de platina(II) e paládio(II) com derivados aril-tiossemicarbazonas

A Figura 4.2.3 mostra os espectros no infravermelho do ligante e de seus respectivos complexos de platina e paládio. Pode-se destacar a presença de absorções na região de 3452 a 3356 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação N-H do grupo NH_2 para ambos os complexos. A banda observada em aproximadamente 3145 cm^{-1} referente ao grupo N-H no ligante livre desapareceu após a complexação, indicando a desprotonação do grupo NH-CS. A banda intensa observada no ligante livre em aproximadamente 1611 cm^{-1} referente ao estiramento C=N, desloca-se levemente para a região de 1603 e 1602 cm^{-1} , nos espectros dos complexos **8** e **14**, respectivamente. As bandas atribuídas ao estiramento C=S são observadas por volta de 1015 cm^{-1} e 819 cm^{-1} nos espectros das tiossemicarbazonas livres, enquanto que nos espectros dos complexos de platina e paládio ela sofre um deslocamento para aproximadamente 1023 e 826 cm^{-1} , compatível com a presença do átomo de enxofre na forma de tiolato (Bindoli *et al.*, 2009). As bandas referentes ao estiramento Metal-Nitrogênio e Metal-Enxofre ocorrem em uma região de baixa frequência, o que não foi possível observar tendo em vista que o equipamento utilizado não compreende tal região. Desta maneira, foram realizados os

espectros Raman onde foi possível observar bandas em torno de 416 e 390 cm^{-1} referentes à Pt-N e Pt-S, respectivamente e 412 e 389 cm^{-1} referentes à Pd-N e Pd-S, respectivamente.

Para os complexos **11** e **17**, não foram observadas significativas mudanças na banda referente ao estiramento C-N de aminas aromáticas, sugerindo que não ocorreu coordenação através do átomo de nitrogênio piridínico.

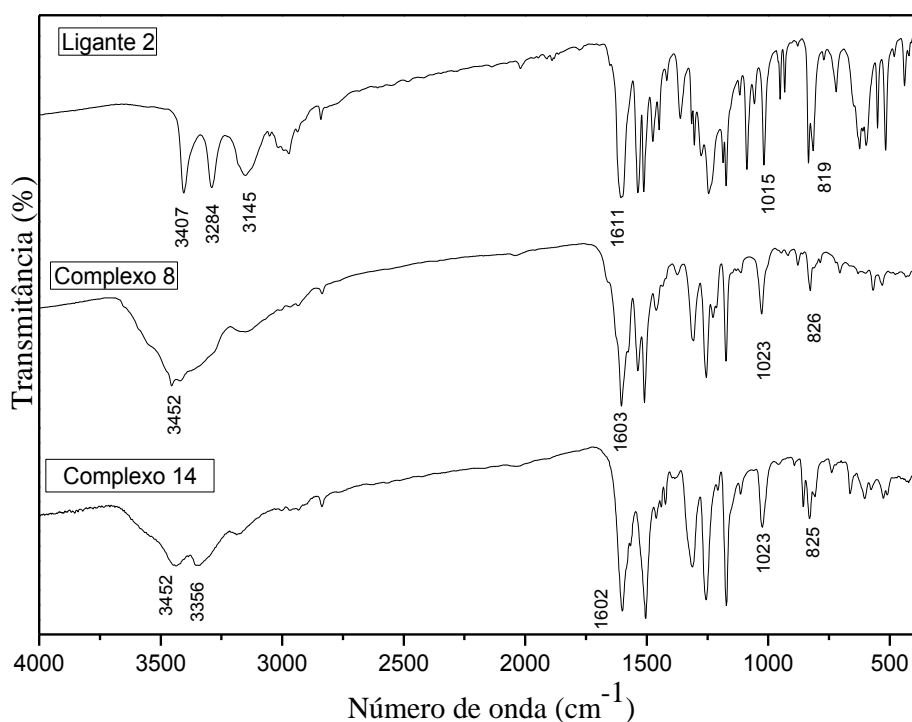


Figura 4.2.3. Espectros no infravermelho do ligante **2** e dos complexos de platina(II) **8** e paládio(II) **14** com *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona

No espectro de RMN de ^1H do ligante, o sinal do próton $=\text{N-NH}$ foi observado em δ 11,44. Tal sinal não foi observado nos espectros dos complexos de platina(II) e paládio(II) indicando a desprotonação do grupo $=\text{N-NH}$. O sinal do próton HC=N , que aparece na forma de simpleto em δ 8,09 no ligante livre, desloca-se para mais próximo do TMS, δ 7,82 e δ 7,48 respectivamente para os complexos de platina e paládio, o que sugere a coordenação do nitrogênio imina ao centro metálico. Os sinais dos prótons aromáticos aparecem na forma de dupletos em aproximadamente δ 8,25 ($J = 9,0$ Hz) e δ 7,04 ($J = 9,0$ Hz) para os complexos de platina e em δ 7,63 ($J = 9$ Hz) e δ 6,96 ($J = 9$ Hz) para os complexos de paládio. Ao contrário do que se observa nos espectros dos ligantes livres, para os complexos, os hidrogênios do grupo NH_2 aparecem como um único sinal (δ 7,43 e δ 6,75 para os complexos de platina e

paládio, respectivamente), o que indica que não são mais diastereotópicos, ou seja, após a complexação esses hidrogênios passam a ter rotação livre. Foram observados ainda sinais em δ 3,93 e δ 3,88 referentes aos hidrogênios do CH₃ (Figuras 4.2.4 e 4.2.5). Os sinais que aparecem em δ 4,10 e δ 3,25 no espectro do complexo **14**, são referentes ao metanol, que foi o solvente utilizado na síntese dos compostos, o que está coerente com o resultado da análise elementar do mesmo, apresentada na Tabela 4.2.4.

Nos espectros de RMN de ¹³C dos complexos (Figuras 4.2.6 e 4.2.7), é possível observar um grande deslocamento do sinal de ressonância do carbono ligado a enxofre, condizente com a coordenação do enxofre aos íons metálicos. Este sinal ocorre em δ 175,19 e δ 171,80, para os complexos de Pt(II) e Pd(II), respectivamente, enquanto tal sinal é observado em δ 177,78 no ligante livre. Os sinais dos carbonos do anel aromático ocorrem na região de δ 134,71 a δ 113,80 para os complexos de platina e δ 132,00 a δ 113,09 para os complexos de paládio, não apresentando mudanças relevantes comparados ao espectro do ligante livre em ambos os casos. O sinal do carbono do grupo HC=N desloca-se para δ 153,89 (complexo de platina) e δ 155,11 (complexo de paládio), comparado a este sinal do ligante livre (δ 142,81), o que sugere a complexação neste sítio de ligação. O sinal referente ao carbono do grupo CH₃ é observado na região de δ 55,08 e δ 55,56, respectivamente para os complexos de platina e paládio, não apresentando significativa variação em relação ao ligante livre.

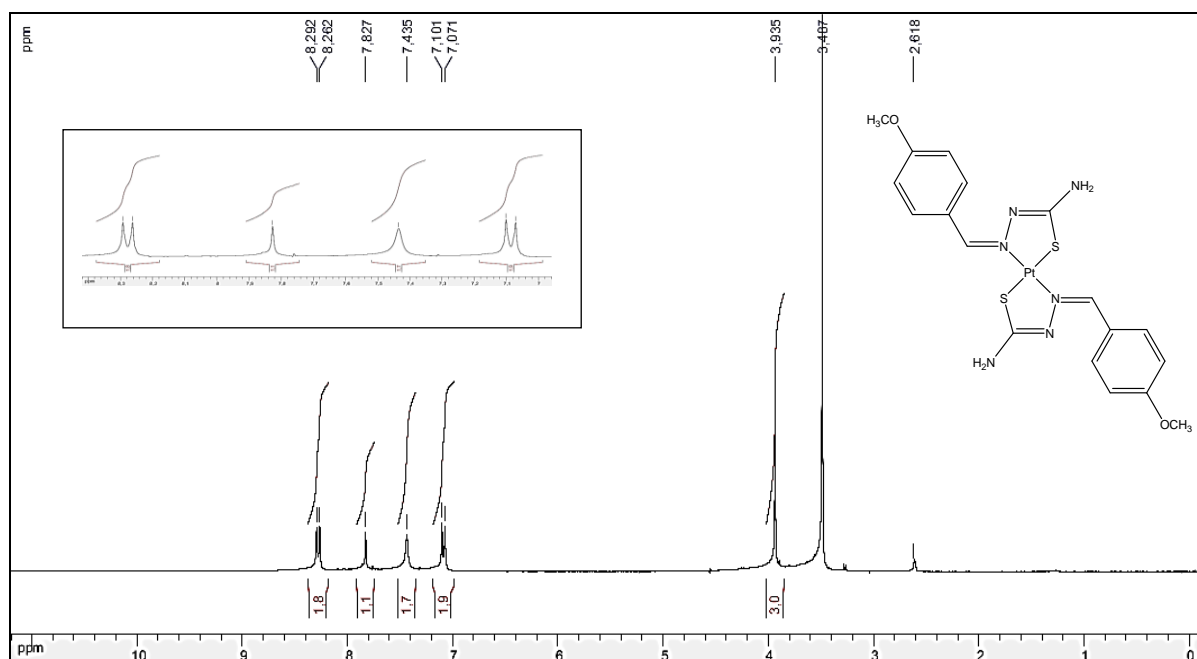


Figura 4.2.4. Espectro de RMN de ¹H do complexo de platina(II) com *p*-metoxifeniltiossemicarbazona **8**, (DMSO-*d*₆, 300 MHz)

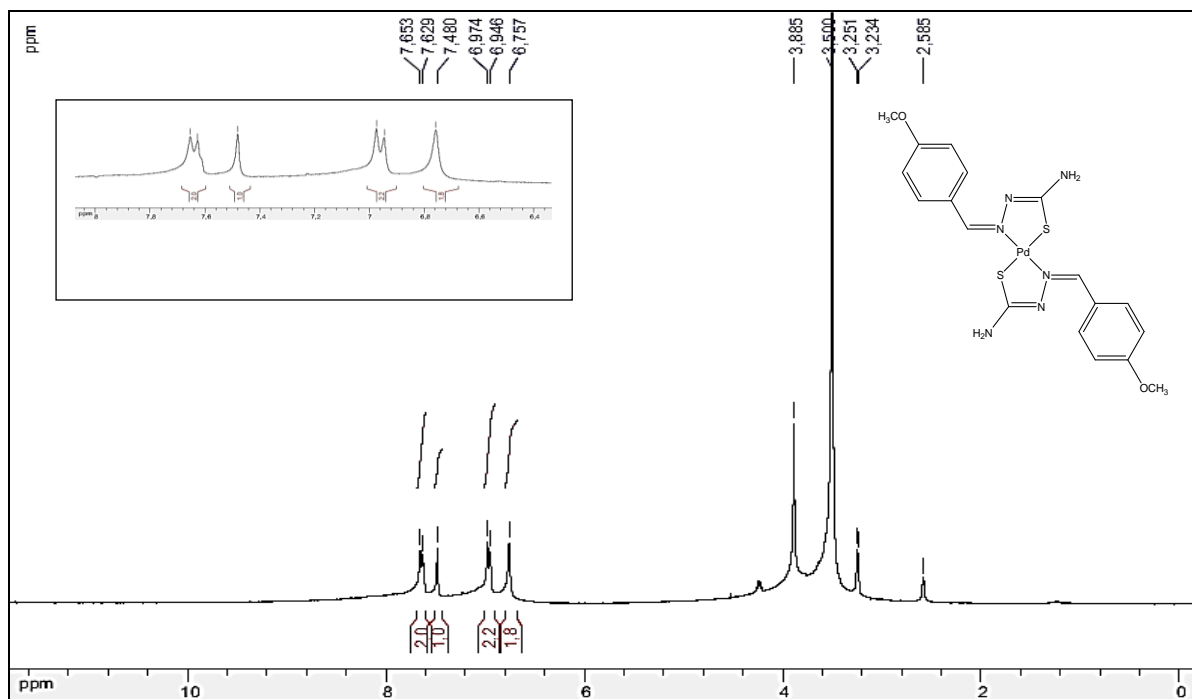


Figura 4.2.5. Espectro de RMN de ^1H do complexo de paládio(II) com *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona **14**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

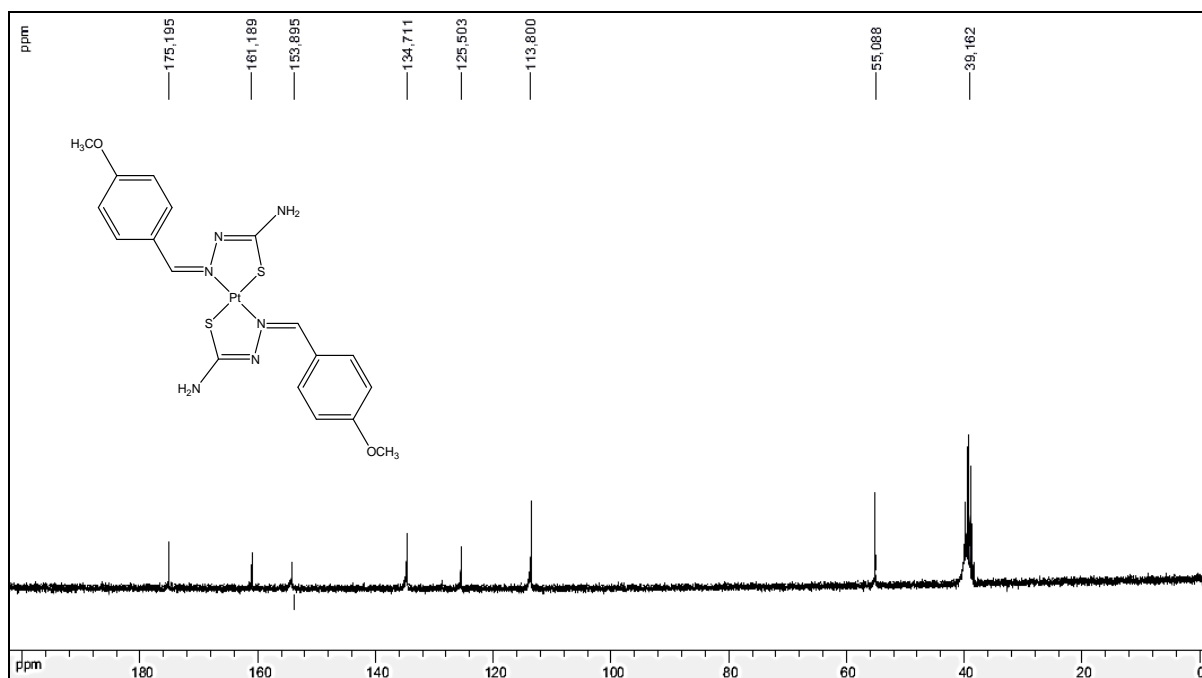


Figura 4.2.6. Espectro de RMN de ^{13}C do complexo de platina(II) com *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona **8**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

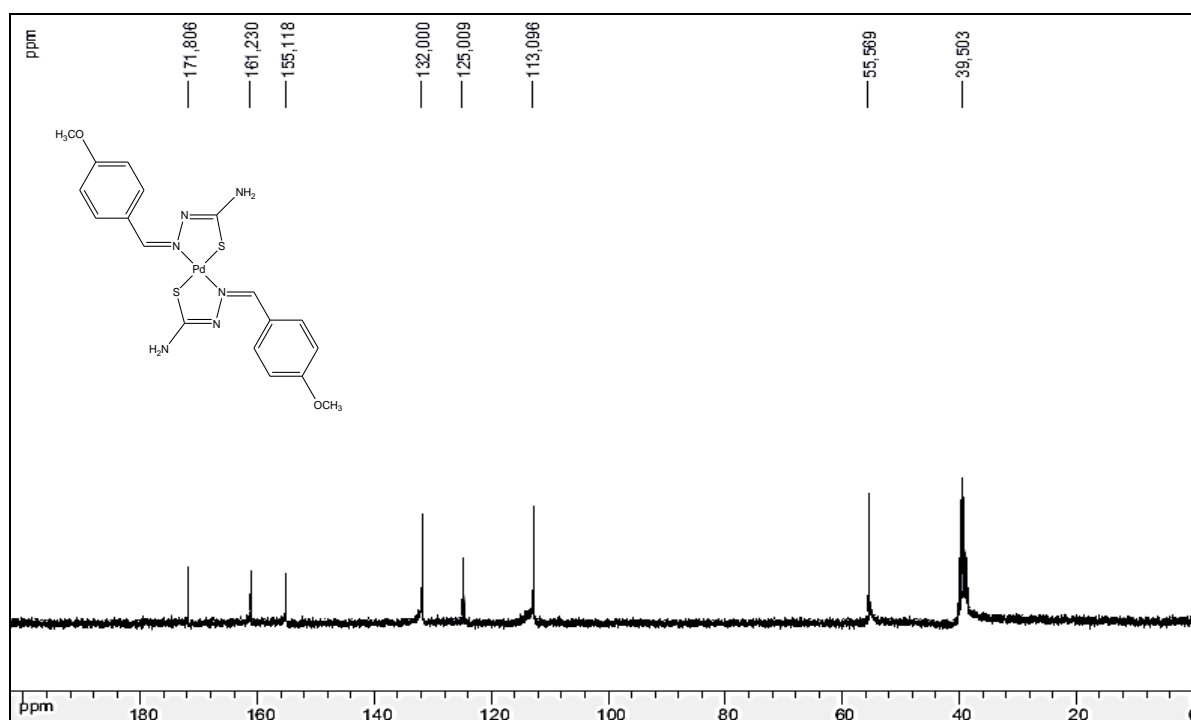


Figura 4.2.7. Espectro de RMN de ^{13}C do complexo de paládio(II) com *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona **14**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

Fazendo uma análise geral e comparativa entre o ligante **2** e seus respectivos complexos de platina (**8**) e paládio (**14**), através das Tabelas 4.2.1 e 4.2.2, notamos que acontecem as mesmas variações após a complexação. Em ambos os compostos, após coordenar-se o sinal característico de $-\text{N}-\text{NH}$ desaparece, fato este que ocorre para todos os demais complexos da série. Outra relevante variação foi o grupo NH_2 apresentar dois sinais no ligante livre e após ligar-se à platina (**8**) e ao paládio (**14**), tal grupo passa a apresentar um único sinal no espectro de RMN de ^1H , com deslocamento mais próximo ao TMS, fato que ocorre para todos os demais complexos de platina e paládio sintetizados. Através da Tabela também observamos uma variação para regiões mais próximas do TMS para ambos os complexos no sinal referente ao hidrogênio do grupo $\text{HC}=\text{N}$, grupo este que está diretamente envolvido ao íon metálico. No RMN de ^{13}C observamos que o sinal referente ao carbono ligado a enxofre sofre deslocamento para regiões mais próximas do TMS em ambos os complexos, fato esse que se repete para todos os complexos da série com exceção do complexo **11** (δ 182,72 e ligante livre **5** δ 178,58). Uma tendência também pode ser vista na variação do sinal de carbono ligado a nitrogênio, em ambos os casos, após complexar, houve um deslocamento para regiões de menor frequência.

Tabela 4.2.1. Deslocamentos químicos em RMN de ^1H ligante *p*-metoxifeniltiossemicarbazona e seus respectivos complexos de platina e paládio.

	Ligante 2 , δ	Complexo 8 (Platina), δ	Complexo 14 (Paládio), δ
=N-NH	11,44	–	–
NH ₂	8,23 e 8,03	7,43	6,75
HC=N	8,09	7,82	7,48
Ph	7,82 e 7,04	8,25 e 7,04	7,63 e 6,96
OCH ₃	3,95	3,93	3,88

Tabela 4.2.2. Deslocamentos químicos em RMN de ^{13}C ligante *p*-metoxifeniltiossemicarbazona e seus respectivos complexos de platina e paládio.

	Ligante 2 , δ	Complexo 8 (Platina), δ	Complexo 14 (Paládio), δ
C=S	177,78	175,19	171,80
C=N	142,81	153,80	155,11
C do Ph	128,99/114,38	125,43/113,80	124,40/113,09
H ₃ CO	55,28	55,08	55,56

Espectros de RMN de ^{195}Pt foram obtidos para os complexos de platina(II). Estes possuem na esfera de coordenação da platina, dois átomos de nitrogênio e dois átomos de enxofre, gerando um único sinal na região de δ -3145, o que corresponde ao esperado (Brett *et al.*, 2006), como por exemplo o espectro da Figura 4.2.8.

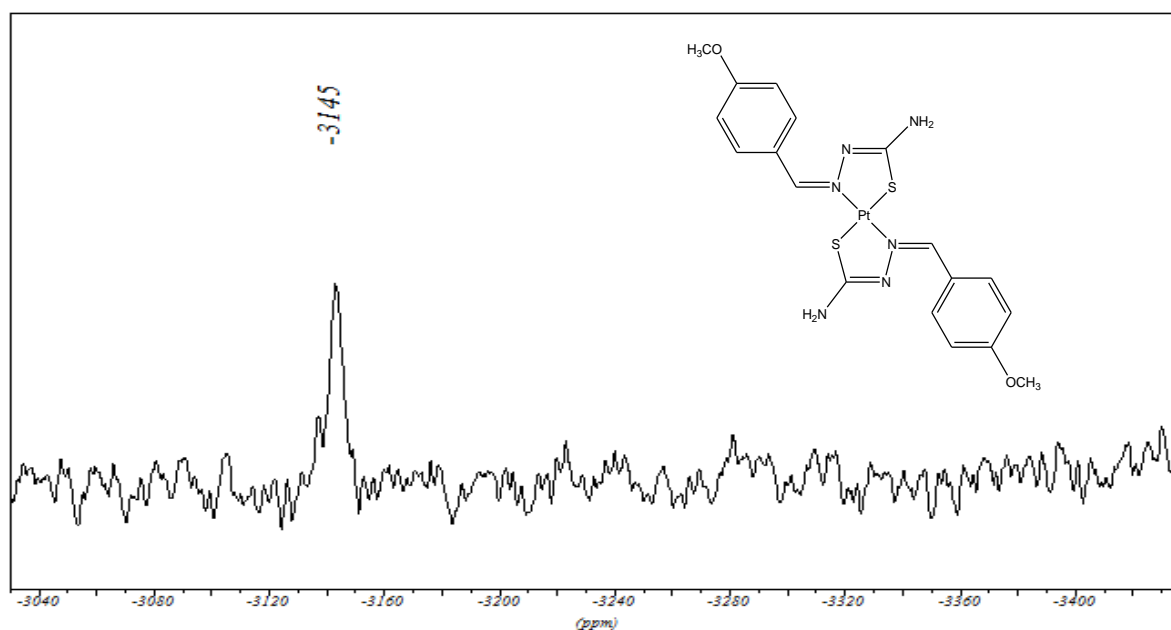


Figura 4.2.8. Espectro de RMN de ^{195}Pt do complexo de platina(II) com *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona **8**, (DMSO- d_6 , 64 MHz)

Os valores de deslocamento químico para os complexos de platina **7-12** estão apresentados na Tabela 4.2.3. Todos eles, conforme esperado, apresentam sinal em torno de δ -3000.

Tabela 4.2.3. Deslocamentos químicos em RMN de ^{195}Pt dos complexos de platina(II).

Complexo	δ , RMN de ^{195}Pt
7	-3126
8	-3143
9	-3012
10	-2999
11	-2932
12	-2931

No espectro de UV-Vis do complexo de platina (Figura 4.2.9) em solução metanólica na concentração de $3,4 \times 10^{-5}$ mol/L, observa-se uma banda intensa em 318 nm ($\epsilon = 2,3 \times 10^4$ mol.L⁻¹.cm⁻¹) possivelmente referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ da tiocarbonila, e mais duas bandas de menor intensidade sobrepostas à primeira, uma em aproximadamente 275 nm ($\epsilon = 1,7 \times 10^4$ mol.L⁻¹.cm⁻¹) atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da porção aromática da tiossemicarbazona e outra em aproximadamente 374 nm, ($\epsilon = 1,5 \times 10^4$ mol.L⁻¹.cm⁻¹) atribuída a uma combinação de banda de transferência de carga metal-ligante e/ou ligante-metal e banda d-d. Já no espectro no UV-Visível do complexo de paládio (Figura 4.2.10), em solução metanólica na concentração de $7,6 \times 10^{-5}$ mol/L, duas bandas puderam ser observadas, uma banda intensa em 301 nm ($\epsilon = 1,3 \times 10^4$ mol.L⁻¹.cm⁻¹) referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ da tiocarbonila, e outra em 352 nm ($\epsilon = 9,7 \times 10^4$ mol.L⁻¹.cm⁻¹), possivelmente referente à transferência de carga metal-ligante e/ou ligante metal sobreposta à banda d-d. A banda referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da porção aromática da tiossemicarbazona provavelmente foi encoberta pela banda de absorção do solvente (metanol) utilizado na análise (Lobana *et al.*, 2008; Saad *et al.*, 2007).

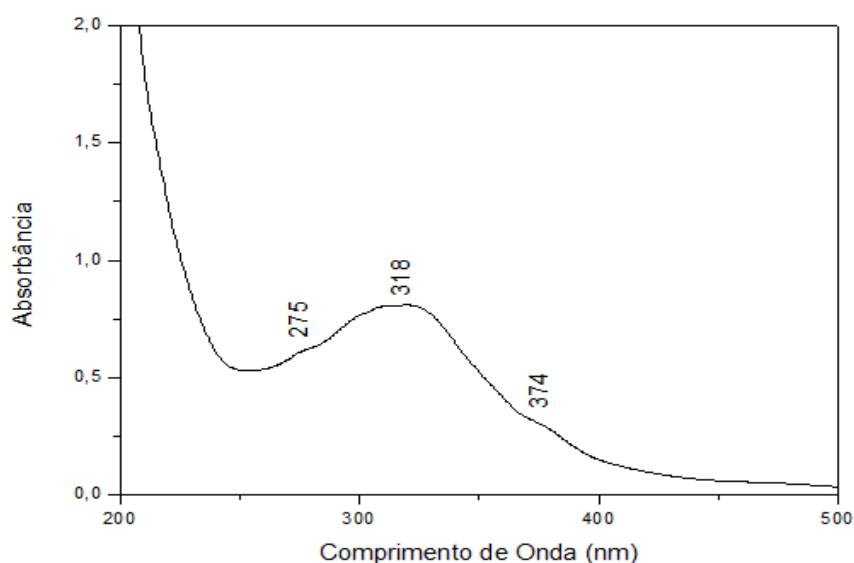


Figura 4.2.9. Espectro no UV-visível em solução metanólica do complexo de platina(II) com *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona, **8**

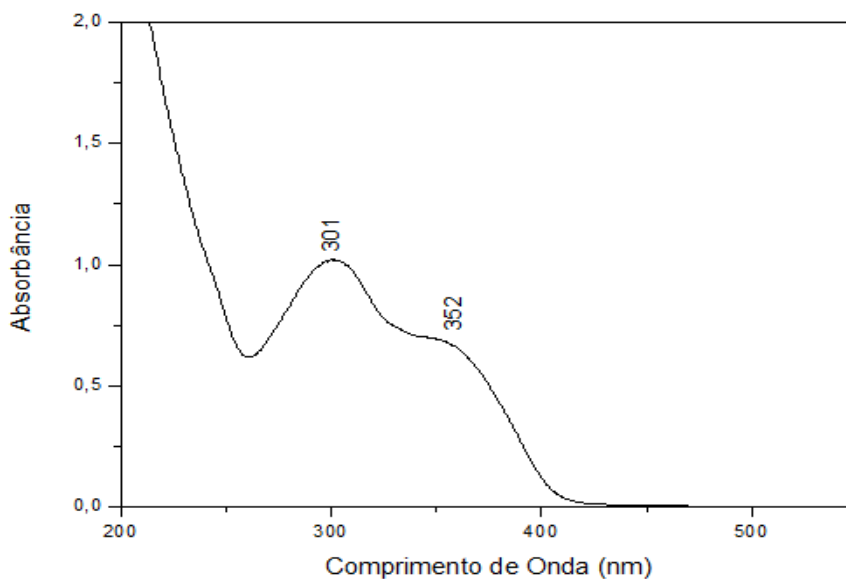


Figura 4.2.10. Espectro no UV-visível em solução metanólica do complexo de paládio(II) com *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona, **8**

Os espectros de massas (MALDI) foram realizados para todos os complexos dissolvidos em acetonitrila. Por exemplo, para o complexo **8** observou-se a relação massa/carga (m/z) em 612,2 como o sinal mais abundante, que foi atribuído à espécie $[C_{18}H_{21}N_6S_2O_2Pt] [M+H]^+$ (teórico: 612,1), além de apresentar sinais com relação massa/carga (m/z) em 611,2 e 613,2 característicos de outros isótopos de mesma composição química, como mostra a Figura 4.2.11. Os principais isótopos da platina são os de massa 193,96 com abundância isotópica de 33%; 194,96 com abundância isotópica de 33% e 195,96 com abundância isotópica de 25%. Para o complexo **14**, o sinal de relação massa/carga (m/z) em 523,3 foi o pico base, atribuído à espécie $[C_{18}H_{21}N_6S_2O_2Pd] [M+H]^+$ (teórico: 523,5). Foram observados também sinais com relação massa/carga (m/z) em 522,4 e 524,6 atribuídos a outros isótopos. Os principais isótopos do paládio são o de massa 104,90 com abundância isotópica de 22%; 105,90 com abundância isotópica de 27% e 107,90 com abundância isotópica de 26%. Os espectros de massas de todos os compostos foram realizados obtendo-se como cátion de razão massa/carga mais abundante o íon molecular do composto em questão.

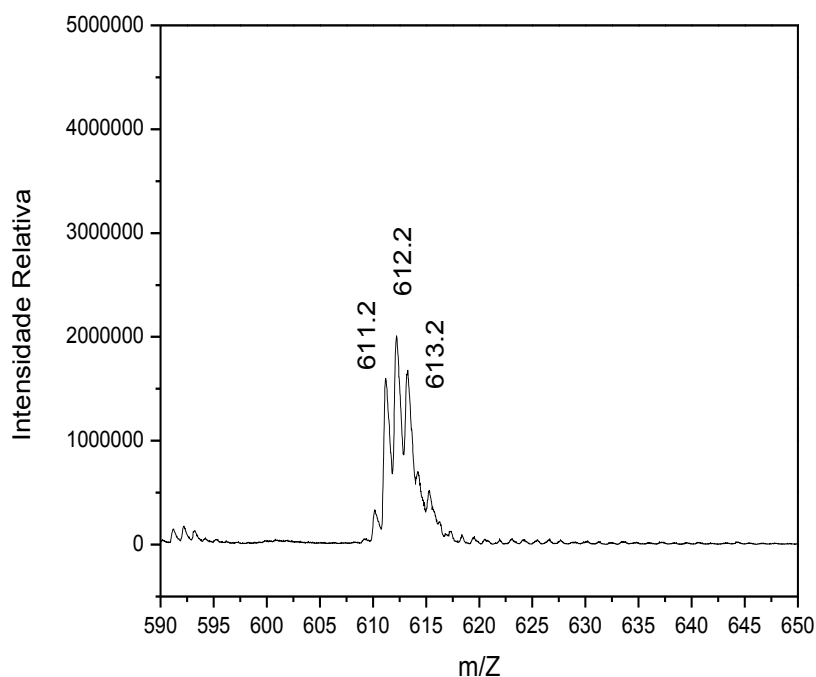


Figura 4.2.11. Espectro de massas em solução de acetonitrila do complexo de platina(II) com *p*-metoxifenil-tiossemicarbazona, **8**

Os complexos de platina(II) e paládio(II) também foram caracterizados por análise elementar. Os complexos apresentam desvios entre os valores experimentais e os calculados dentro de uma faixa aceitável de erro (menor que 5%), considerando a formação de uma espécie 2:1 (ligante e íon metálico, respectivamente). Os resultados de análise elementar para os complexos **7-18** estão apresentados na Tabela 4.2.4.

Tabela 4.2.4. Resultados de análise elementar* para os complexos de platina (**7-12**) e paládio (**13-18**).

Complexos	Fórmula Molecular	% C	% H	% N
7	C ₁₆ H ₁₆ N ₆ S ₂ Pt	34,72 (34,85)	3,02 (2,90)	14,71 (15,25)
8	C ₁₈ H ₂₀ N ₆ S ₂ O ₂ Pt	35,31 (35,35)	3,50 (3,27)	13,03 (13,75)
9	C ₁₂ H ₁₂ N ₆ S ₄ Pt	25,79 (25,58)	2,18 (2,13)	14,15 (14,92)
10	C ₁₂ H ₁₂ N ₆ S ₂ O ₂ Pt	27,16 (27,12)	2,42 (2,26)	15,49 (15,82)
11	C ₁₄ H ₁₄ N ₈ S ₂ Pt	31,31 (30,38)	3,11 (2,53)	22,30 (20,25)
12	C ₁₆ H ₁₆ N ₆ S ₂ O ₂ Pt	31,80 (32,93)	2,55 (2,74)	13,97 (14,41)
13	C ₁₆ H ₁₆ N ₆ S ₂ Pd	39,92(41,52)	3,91 (3,46)	17,27 (18,17)
14	C ₁₈ H ₂₀ N ₆ S ₂ O ₂ Pd. CH ₃ OH	40,08 (41,12)	4,16 (4,32)	15,12 (15,15)
15	C ₁₂ H ₁₂ N ₆ S ₄ Pd	30,32 (30,35)	2,68 (2,53)	17,29 (17,71)
16	C ₁₂ H ₁₂ N ₆ S ₂ O ₂ Pd	32,77 (32,55)	2,91 (2,71)	18,90 (18,99)
17	C ₁₄ H ₁₄ N ₈ S ₂ Pd	35,82 (36,18)	2,86 (3,01)	23,15 (24,12)
18	C ₁₆ H ₁₆ N ₆ S ₂ O ₂ Pd	38,06 (38,83)	3,18 (3,24)	16,97 (16,99)

* valores calculados entre parênteses.

Os principais dados estruturais obtidos através dos cálculos teóricos estão apresentados na Tabela 4.2.5. Através dos cálculos de mecânica quântica utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT), foi possível constatar que o isômero *trans* é mais estável que o isômero *cis*, independentemente do ligante derivado tiossemicarbazona coordenado, com diferença de energia livre de Gibbs de aproximadamente 3 kcal mol⁻¹ (para os complexos de Pt) e aproximadamente 1 kcal mol⁻¹ (para os complexos de Pd), fato que também foi confirmado pelo favorecimento da forma *trans* no cálculo da cinética de reação de ambos os isômeros. De acordo com os cálculos, os complexos *trans* apresentaram geometria quadrática plana ligeiramente distorcidas em torno do centro metálico para os complexos estudados de platina e paládio.

Foram ainda realizados cálculos teóricos relativos aos espectros de RMN de ¹⁹⁵Pt. Os valores calculados foram obtidos para ambos os isômeros, *cis* e *trans*, a fim de verificar a

hipótese de predominância do isômero *trans*. O resultado experimental foi compatível com o cálculo teórico relativo ao isômero *trans*, com um desvio médio absoluto de cerca de 283 ppm (~ 10%), enquanto que para o isômero *cis*, este desvio foi de aproximadamente 622 ppm (~ 20%). De acordo com estudos realizados pelo Núcleo de Estudos em Química Computacional (Paschoal e Santos, em preparação), em que a metodologia foi desenvolvida e testada para a previsão de RMN de ^{195}Pt , o desvio médio foi de ~ 60 ppm, com o erro máximo de 150 ppm para um conjunto de 27 moléculas. O deslocamento previsto para os isômeros *cis e trans* nos sinais dos complexos deste trabalho (~ 300 ppm) é menor do que a limite de confiança, por conseguinte, o nível do valor teórico aplicado aqui pode ser considerado como satisfatório para distinguir entre as formas isoméricas .

Tabela 4.2.5. Parâmetros estruturais calculados para os complexos de Pt(II) e Pd(II) em geometria *trans* (valores entre colchetes são para os complexos *cis*). Os comprimentos de ligação (*r*) são dados em Å e os ângulos de ligação (*a*) em graus.

	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>11</u>	<u>12</u>	Média
rPt-N	2,078 [2,099]	2,078 [2,089]	2,065 [2,089]	2,071 [2,096]	2,078 [2,100]	2,077 [2,097]	2,074 [2,095]
rPt-S	2,366 [2,332]	2,366 [2,334]	2,369 [2,334]	2,369 [2,333]	2,366 [2,330]	2,366 [2,333]	2,366 [2,333]
aS-Pt-S	177,0 [96,5]	178,5 [96,3]	179,5 [96,3]	177,9 [96,5]	176,7 [96,2]	177,3 [96,5]	177,8 [96,4]
aN-Pt-N	178,9 [101,1]	179,3 [101,1]	179,8 [101,1]	179,2 [101,2]	178,7 [101,5]	178,9 [101,0]	179,1 [101,2]
aN-Pt-S _{inter}	97,9 [171,9]	97,9 [172,2]	97,9 [172,2]	98,1 [172,0]	98,0 [171,7]	97,9 [172,0]	97,9 [172,0]
aN-Pt-S _{intra}	82,1 [81,6]	82,1 [81,7]	82,1 [81,7]	81,9 [81,6]	82,0 [81,6]	82,1 [81,6]	82,0 [81,6]
	<u>13</u>	<u>14</u>	<u>15</u>	<u>16</u>	<u>17</u>	<u>18</u>	Média
rPd-N	2,096 [2,121]	2,095 [2,118]	2,082 [2,112]	2,089 [2,118]	2,097 [2,124]	2,095 [2,119]	2,092 [2,119]
rPd-S	2,363 [2,325]	2,365 [2,326]	2,365 [2,327]	2,366 [2,326]	2,362 [2,323]	2,363 [2,325]	2,363 [2,325]
aS-Pd-S	176,4 [95,1]	179,1 [95,1]	179,4 [94,7]	177,4 [94,9]	175,9 [94,7]	176,8 [95,0]	177,4 [94,9]
aN-Pd-N	178,4 [102,6]	179,5 [102,4]	179,7 [102,5]	178,9 [102,6]	178,3 [103,0]	178,5 [102,5]	178,8 [102,6]
aN-Pd-S _{inter}	98,0 [170,8]	98,1 [171,0]	98,9 [171,2]	98,1 [171,0]	98,1 [170,5]	97,9 [170,9]	98,0 [170,9]
aN-Pd-S _{intra}	82,0 [81,7]	82,0 [81,8]	82,1 [81,8]	81,9 [81,7]	82,0 [81,7]	82,1 [81,8]	82,0 [81,8]

Tendo em vista todas as análises realizadas, a estrutura proposta para os complexos discutidos é mostrada na Figura 4.2.12.

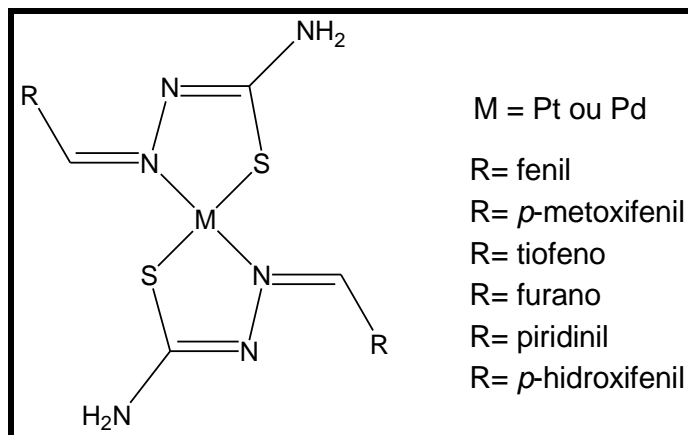


Figura 4.2.12. Proposta de estrutura geral para os complexos de platina e paládio obtidos

Evidentemente, considerando-se que não foi possível a obtenção de monocristais, apesar das diversas tentativas realizadas, sem os dados de difração de Raios X não há como afirmar se os complexos apresentam geometria *cis* ou *trans* de maneira inequívoca. A proposta feita baseou-se em indícios experimentais, como o menor número de bandas apresentadas nos espectros de infravermelho dos complexos em comparação com os espectros dos ligantes livres. Isto se deve ao aumento de simetria que ocorre nos espectros dos complexos *trans* em comparação aos espectros dos complexos *cis*, o que está diretamente relacionado ao grupo pontual dos mesmos. Além disto, dados encontrados na literatura apresentam a grande maioria dos complexos de platina e paládio em uma razão 2:1 com os ligantes derivados aril-tiossemicarbazona na forma *trans* (por exemplo, Lobana *et al.*, 2012; Rosu *et al.*, 2010; Paz *et al.*, 2008). Nossa proposta foi também fundamentada nos cálculos de mecânica quântica realizados em colaboração com o grupo de pesquisa NEQC (Núcleo de Estudos em Química Computacional) da Universidade Federal de Juiz de Fora.

4.3. COMPLEXOS DE OURO

Os complexos de ouro foram obtidos através da reação do sal de ouro tetracloroaurato(III) de potássio, $K[AuCl_4]$, com os ligantes derivados das tiossemicarbazonas, conforme apresenta o esquema da Figura 4.3.2.

Pretendia-se inicialmente sintetizar compostos de ouro(III), entretanto, no decorrer do projeto, verificou-se uma dificuldade na síntese desses compostos e uma tendência na formação de compostos de ouro(I), conforme já documentado na literatura (Casas *et al.*, 2004; Sreekanth *et al.*, 2004; Lessa *et al.*, 2011).

Os complexos de ouro(I) também apresentam atividade biológica e são de interesse da química inorgânica medicinal. Como exemplo, podemos citar o trabalho recente de Lessa e colaboradores, onde são reportadas as sínteses de complexos de ouro(I) a partir do composto $H[AuCl_4].3H_2O$ e do ligante 2-acetilpiridina tiossemicarbazona Figura 4.3.1, que apresentaram boa atividade citotóxica frente a linhagens celulares de leucemia e tumores sólidos (Lessa *et al.*, 2011).

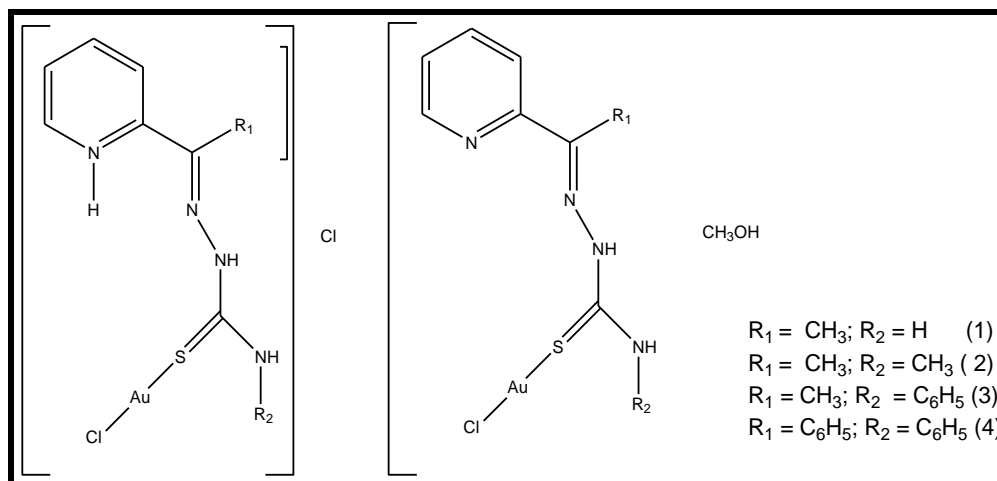


Figura 4.3.1. Complexos de ouro(I) com atividade citotóxica (Lessa *et al.*, 2011)

Muitos trabalhos constataram que a adição de um ligante como o damp- C^1,N (2-[dimetilamino)metil]fenil), que forma um complexo organometálico, pode evitar a redução dos compostos de ouro(III) a ouro(I) (Santos *et al.*, 2000). Outra maneira de evitar tal redução seria através da adição de um quelante forte, que estabilizaria a geometria quadrática plana do complexo de ouro(III) formado (Al-Maythalyon *et al.*, 2009).

Inicialmente, foi feita a tentativa de obtenção dos complexos de ouro de maneira similar a dos respectivos complexos de platina e paládio, já que se pretendia obter complexos análogos com estequiometria 2:1. Entretanto, os complexos obtidos por esta metodologia não puderam ser totalmente caracterizados. Acredita-se terem sido obtidos polímeros devido à baixa solubilidade dos mesmos, além de que os espectros de RMN apresentaram sinais pouco definidos.

Desta maneira, optou-se por uma metodologia de obtenção diferente. As sínteses foram realizadas de forma semelhante, porém sem a adição de trietilamina e à temperatura ambiente, o que levou a formação de novos compostos que serão discutidos a seguir.

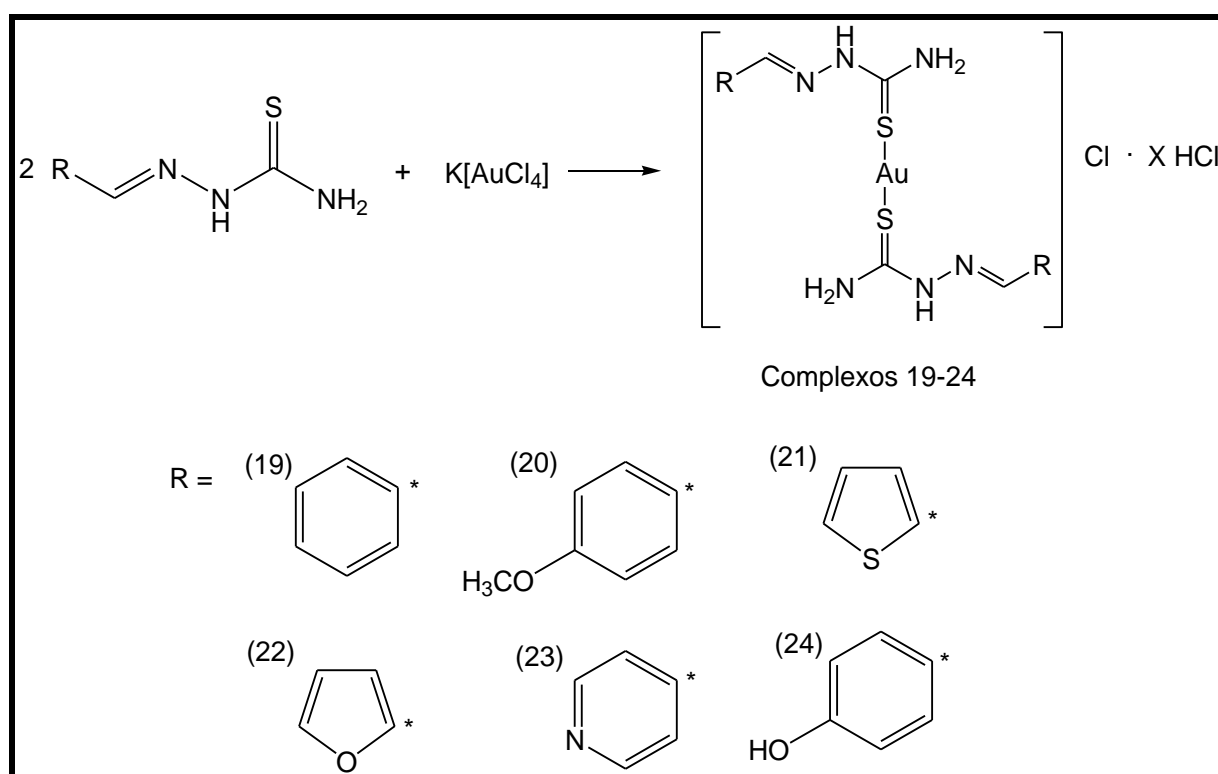


Figura 4.3.2. Representação esquemática da síntese dos complexos de ouro com derivados aril-tiosemicarbazonas

Serão discutidos, em detalhes, apenas os resultados obtidos dos espectros na região do infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C , voltametria cíclica, análise térmica, espectrometria de massas por ionização com “eletrospray” e espectroscopia no ultravioleta para o complexo derivado do fenil-tiosemicarbazona (complexo **19**) com ouro. Os demais complexos resultaram em análises análogas.

Nos espectros no infravermelho pode-se destacar a presença de absorções na região de 3364 cm^{-1} a 3142 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação N-H dos grupos NH_2 e NH . A banda intensa referente ao estiramento $\text{C}=\text{N}$ é observada em 1604 cm^{-1} . O ligante apresentou bandas na faixa de 1055 cm^{-1} e 876 cm^{-1} atribuídas às vibrações $\text{C}=\text{S}$. Essas bandas de absorções deslocaram-se para 1064 e 867 cm^{-1} após a coordenação com o ouro (Castiñeiras *et al.*, 2008), (Figura 4.3.3). A banda referente ao estiramento Au-S foi visualizada no espectro Raman (Figura 4.3.4), na região de 256 cm^{-1} , o que está de acordo com a literatura (Lessa *et al.*, 2012; Kouroulis *et al.*, 2009; Casas *et al.*, 2006).

No espectro do complexo **23**, não foram observadas significativas mudanças na banda referente ao estiramento de absorção $\text{C}=\text{N}$ de aminas aromáticas (ligante 1297 cm^{-1} ; complexo 1294 cm^{-1}), sugerindo que não ocorreu coordenação através do átomo de nitrogênio do anel piridina. As bandas associadas aos modos vibracionais do anel tiofênico encontradas em 1535 e 1473 cm^{-1} no composto **3** não sofreram grandes variações (1537 e 1475 cm^{-1}) após complexação.

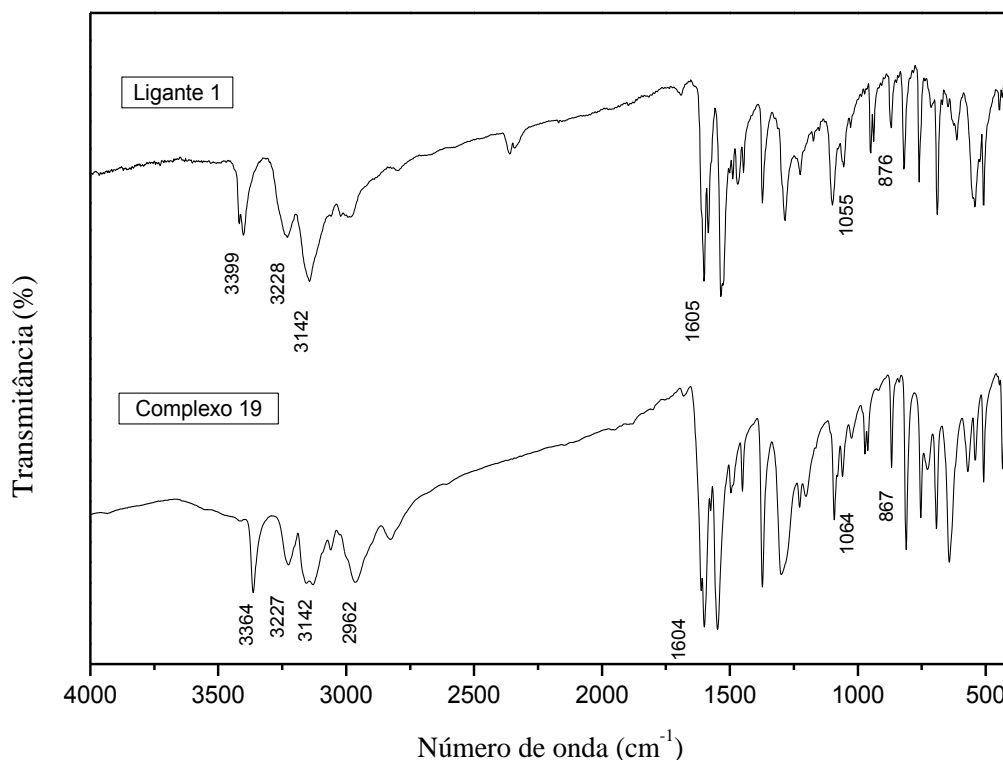


Figura 4.3.3. Espectros de infravermelho do ligante fenil-tiossemicarbazona **1** e do seu complexo de ouro **19**

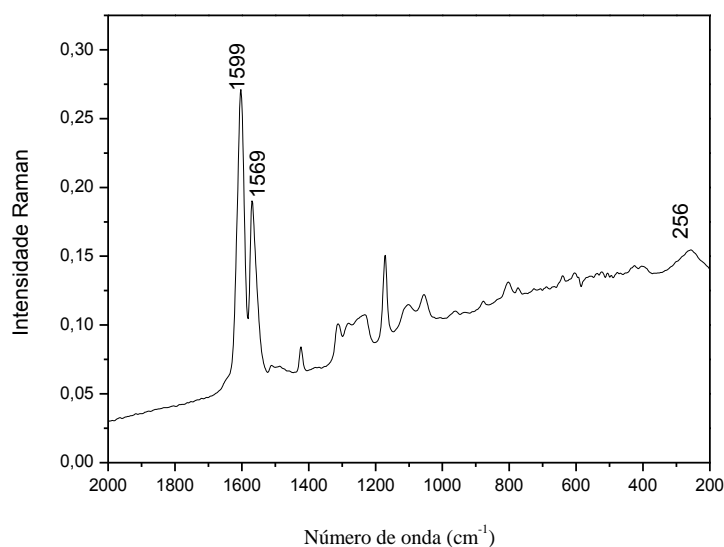


Figura 4.3.4. Espectro Raman do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona, **19**

No espectro de RMN de ^1H do ligante, o sinal do próton $=\text{N-NH}$ foi observado em δ 11,56. No espectro do complexo, esse sinal foi observado em δ 12,30, indicando que não houve a desprotonação do ligante (Lessa *et al.*, 2012). O sinal do próton $\text{HC}=\text{N}$, que aparece na forma de simpleto em δ 8,13 no espectro ligante, deslocou-se para δ 8,31 após complexação. Os sinais dos prótons aromáticos não sofreram relevantes mudanças após coordenação ao ouro. Os sinais em δ 9,10 e δ 8,69 referem-se aos prótons do grupo NH_2 no complexo (Figura 4.3.5), os quais aparecem em δ 8,32 e δ 8,01 no ligante livre. Como já discutido para os ligantes anteriormente, a razão da presença de dois sinais não equivalentes é a rotação restrita da ligação C-NH_2 .

No espectro do complexo **20**, observa-se além dos sinais já discutidos, o surgimento de um sinal em δ 3,80 característicos dos três hidrogênios do grupo OCH_3 , sinal este que não sofreu significativas mudanças quando comparado ao ligante livre (δ 3,95). Para o composto **24**, notou-se a presença de um sinal mais largo em δ 3,13 que seria referente ao hidrogênio da hidroxila, o qual ocorre em regiões de mais alto deslocamento químico δ 4,51 no ligante.

No espectro de RMN de ^{13}C do complexo **19** (Figura 4.3.6), o sinal de ressonância do carbono ligado a enxofre aparece em δ 171,83. Esse sinal aparece em δ 177,98 no espectro do ligante livre. Essa grande variação de deslocamento é condizente para os complexos de ouro coordenados a tiossemicarbazonas através do átomo de enxofre (Bakkar *et al.*, 2003). Os

sinais dos carbonos do anel aromático aparecem na região de δ 146,10 a δ 126,55, não havendo significativas mudanças em comparação a seu respectivo ligante, além de apresentar sinal do carbono do grupo HC=N em δ 147,65. Pode-se observar no espectro do complexo **20**, a presença de um sinal em δ 67,01, referente ao carbono do grupo CH₃, além de todos os demais sinais apresentados pelos demais compostos.

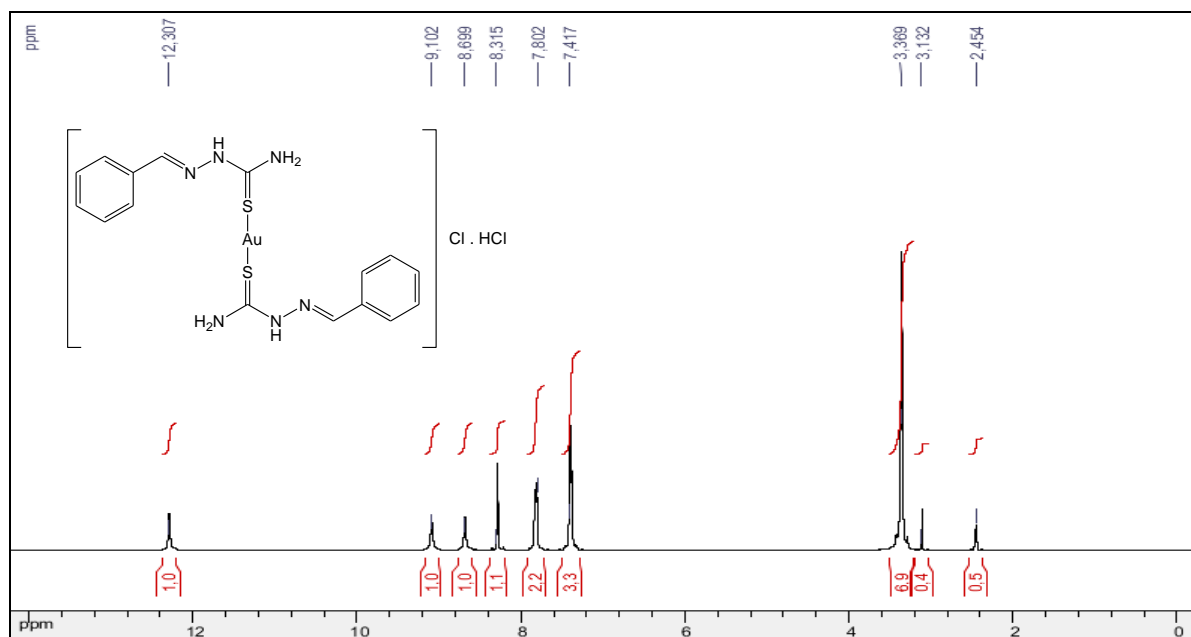


Figura 4.3.5. Espectro de RMN de ¹H do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona **19**, (DMSO-*d*₆, 300 MHz)

No espectro no UV-visível (Figura 4.3.7) em solução metanólica do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona pode-se observar uma única banda com $\lambda_{\text{máx.}}$ de 321 nm ($\epsilon = 1,21 \times 10^4 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) que provavelmente é referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ da tiocarbonila (Silverstein *et al.*, 2008). Não foi possível observar a banda com $\lambda_{\text{máx.}}$ em 215 nm referente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel aromático, provavelmente devido estar localizada em uma região próxima à banda do solvente utilizado (Saad *et al.*, 2007). A banda de transferência de carga metal-ligante e/ou ligante-metal, provavelmente também foi encoberta pela banda intensa da porção da tiocarbonila.

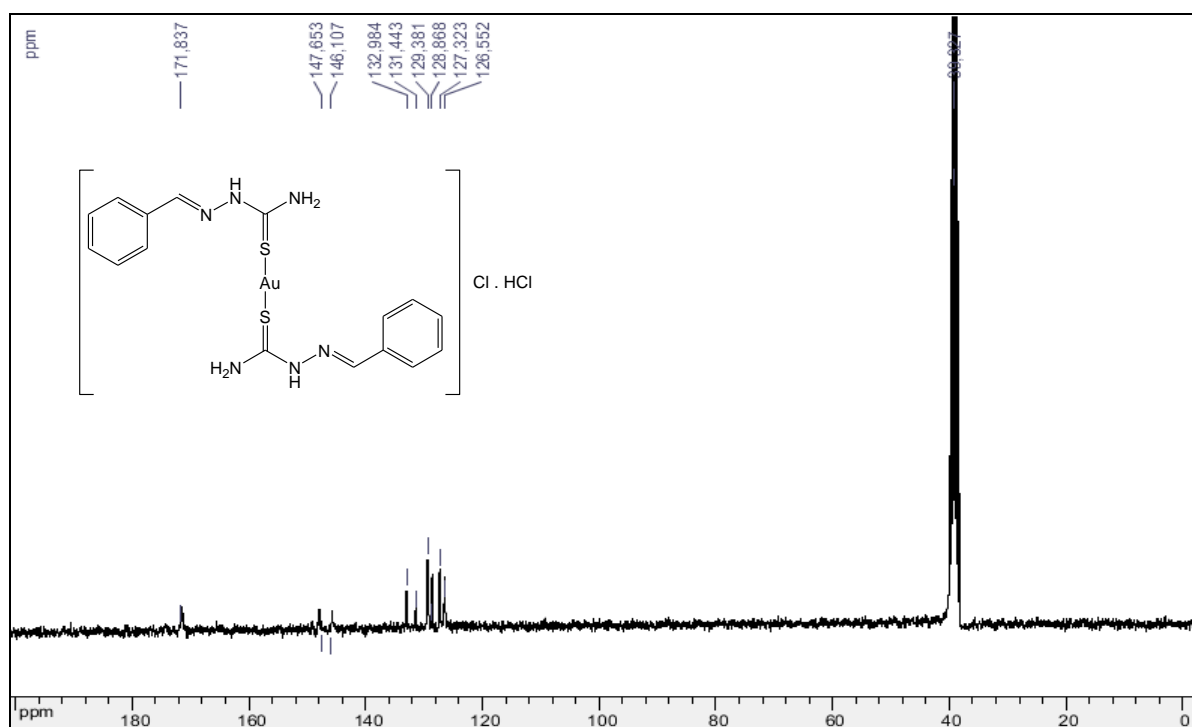


Figura 4.3.6. Espectro de RMN de ^{13}C do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona **19**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

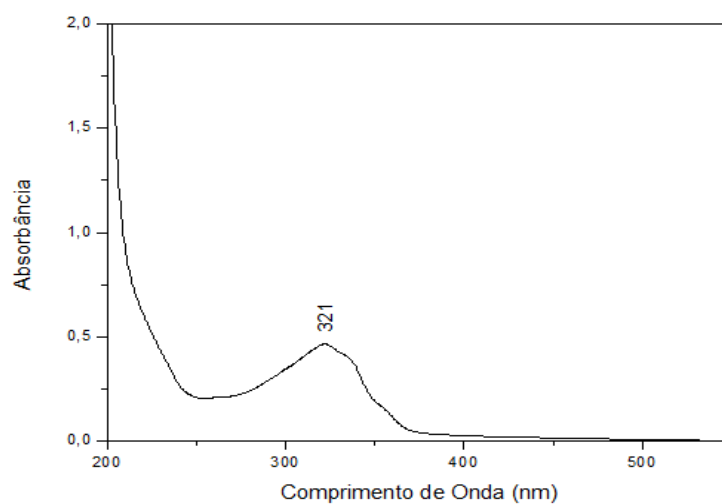


Figura 4.3.7. Espectro no UV-visível em solução metanólica do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona, **19**

Tendo como objetivo principal confirmar o estado de oxidação do ouro nos complexos preparados, o estudo do comportamento eletroquímico dos ligantes, do sal de partida e dos complexos de ouro foi realizado em colaboração com o Núcleo de Pesquisas em Instrumentação e Separações Analíticas, NUPIS utilizando-se a técnica de voltametria cíclica.

A voltametria cíclica tornou-se uma ferramenta importante para o estudo de mecanismos e velocidades de processos de oxidação/redução, particularmente em sistemas orgânicos, metalorgânicos e inorgânicos. Esse método é normalmente a primeira técnica selecionada para a investigação de um sistema que pode ser tratado eletroquimicamente. Frequentemente, os voltamogramas cíclicos revelarão a presença de intermediários em reações de oxidação/redução. Geralmente usa-se platina na construção de microelétrodos para essa técnica (Skoog, 2002).

No presente trabalho, a caracterização por voltametria cíclica foi utilizada para assegurar que o ouro foi reduzido durante a síntese dos complexos. Foram realizados voltamogramas cíclicos de complexos, ligantes e do sal de ouro $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ entre -0,60 e 1,00 V a partir de -0,6 V, a 50 mVs^{-1} para se obter informações sobre os estados de oxidação do metal. A Figura 4.3.7 compara o comportamento eletroquímico do complexo de ouro com *p*-metoxifeniltiossemicarbazona (**20**), do seu respectivo ligante e do sal de ouro $\text{K}[\text{AuCl}_4]$. No voltamograma cíclico de complexo, observou-se um processo quase reversível, com um pico anódico centrado em 0,60 V vs $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(s)}$, $\text{KCl}_{(\text{sat})}$, que pode ser atribuído a oxidação do ouro(I) \rightarrow ouro(II) e um pico catódico em -0,22 V vs $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(s)}$, $\text{KCl}_{(\text{sat})}$ relacionado com a redução do ouro (Lessa *et al.*, 2012), ouro(II) \rightarrow ouro(I), pico este que está ausente nos voltamogramas cíclicos dos ligantes. Para $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ foi observado apenas o processo de redução do ouro, ouro(II) \rightarrow ouro(I). Resposta semelhante foi observada para todos os outros complexos (Tabela 4.3.1). Outra observação importante é que os ligantes não sofrem redução/oxidação na faixa de potencial estudada. Assim, os resultados sugerem que os complexos sintetizados apresentam Au(I) como íon central, o que está em concordância com os demais dados apresentados neste trabalho

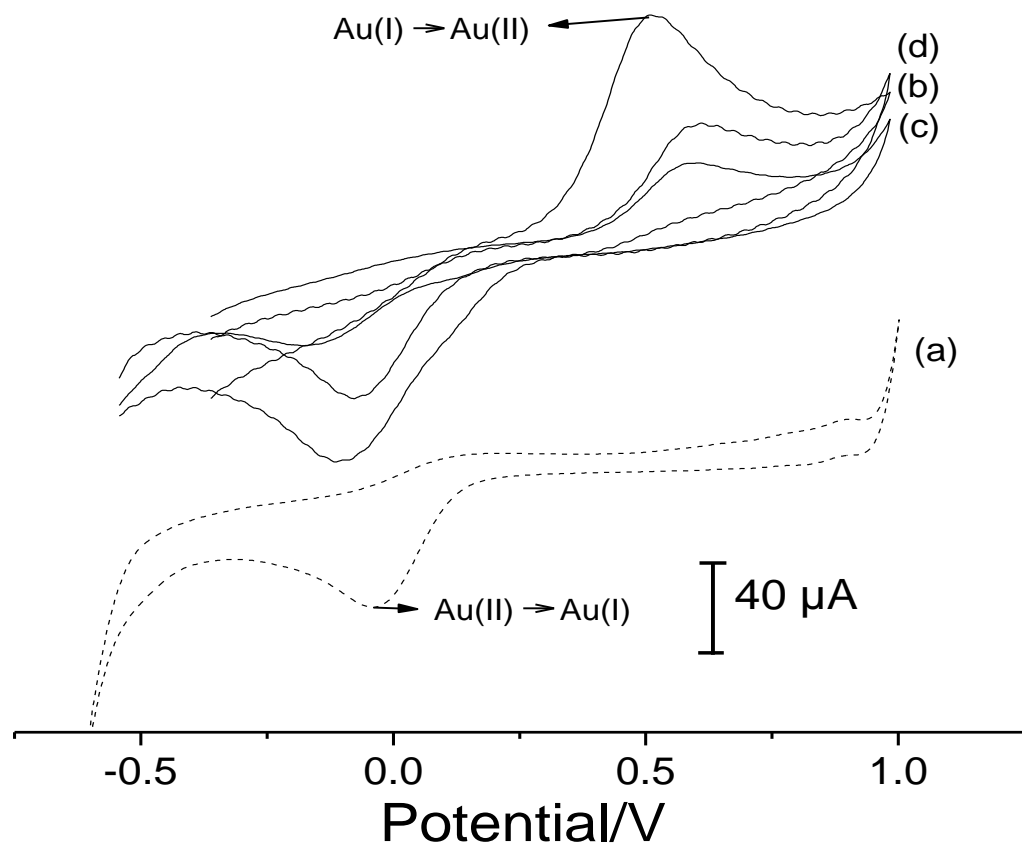


Figura 4.3.8. Voltamogramas cíclicos de $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ (a), complexos de ouro 19 (b), 20 (c) e 21 (d). Condições experimentais: eletrodo de trabalho de carbono vítreo, 100 mmol L^{-1} NaClO_4 , eletrodo de referência $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{s})}$, $\text{KCl}_{(\text{sat})}$ e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Os ligantes não são redox ativos nesta faixa de potencial.

Tabela 4.3.1. Dados obtidos através dos voltamogramas cíclicos dos complexos de ouro com ligantes aril-tiossemicarbazonas.

E(V) vs Ag/AgCl_(s), KCl_(sat)	Complexos						
	<u>19</u>	<u>20</u>	<u>21</u>	<u>22</u>	<u>23</u>	<u>24</u>	<u>K[AuCl₄]</u>
E_{pa}	0,50	0,60	0,61	0,68	0,71	0,60	Ausente
E_{pc}	-0,15	-0,21	-0,11	-0,09	-0,03	-0,23	-0,03

A análise térmica dos complexos foi também realizada. A Figura 4.3.9 apresenta a curva obtida para o complexo **19**. Para este complexo, foi observada certa estabilidade até aproximadamente 145°C, seguida pela primeira perda de massa, na faixa de 145°C a 174°C a qual se refere à saída de um mol de HCl (calculado: 5,8%; experimental: 6,1%). Posteriormente, observam-se duas perdas de massa consecutivas referentes à decomposição do ligante orgânico. A segunda perda de massa foi atribuída à saída de um ligante [C₈H₉N₃S] e um íon cloreto (calculado: 34,2%; experimental: 32,4%) sendo acompanhada na curva DTA por um evento exotérmico em 210°C. A terceira perda de massa foi atribuída à saída de um ligante [C₈H₉N₃S], (calculado: 28,5%; experimental: 29,5%) que também foi acompanhado na curva DTA por um evento exotérmico em 335°C. O resíduo final foi condizente com um mol de ouro metálico (calculado: 31,4%; experimental: 32,1%).

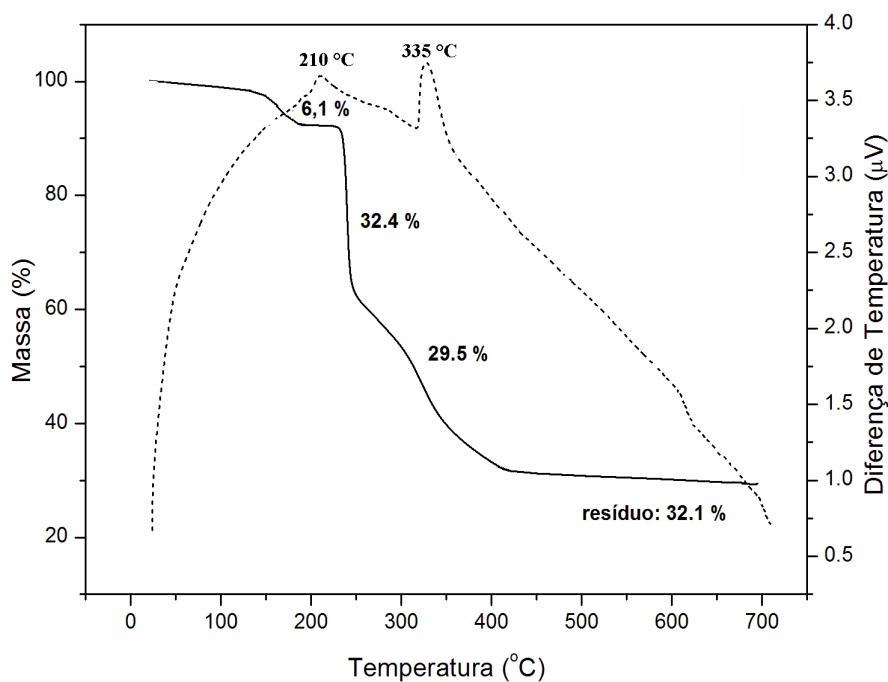


Figura 4.3.9. Curva termogravimétrica para o complexo de ouro com feniltiossemicarbazona, **19**

A Figura 4.3.10 apresenta o espectro de massas obtido para o complexo proposto, **19**. O espectro de massas com ionização por *electronspray* no modo positivo (ESI(+)-MS) do complexo de ouro derivado do feniltiossemicarbazona (**19**), feito em solução de acetonitrila, mostra o cátion de relação massa/carga (m/z) 555,0428 atribuído ao complexo em uma

proporção 2:1 ($C_{16}H_{17}N_6S_2Au$) (teórico: 554,4083). Um sinal mais abundante de relação massa/carga em 179,0102 foi observado e atribuído à espécie do ligante ($C_8H_9N_3S$) (teórico: 179,2451). Observou-se ainda sinal de relação massa/carga em 101,0095 referente à porção da tiossemicarbazona sem o anel aromático (teórico: 101,1317).

Para os demais complexos foram realizados espectros de massas MALDI, e seus respectivos valores de cátion de razão massa/carga estão apresentados no item 3.17 (Dados e Caracterização dos Compostos), os quais apresentaram valores compatíveis com o íon molecular do composto em questão.

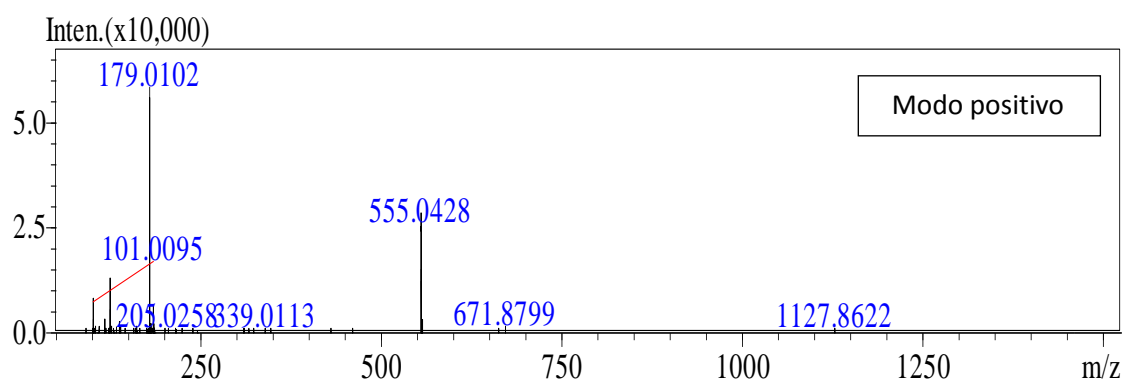


Figura 4.3.10. Espectro de massas do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona **19** em acetonitrila

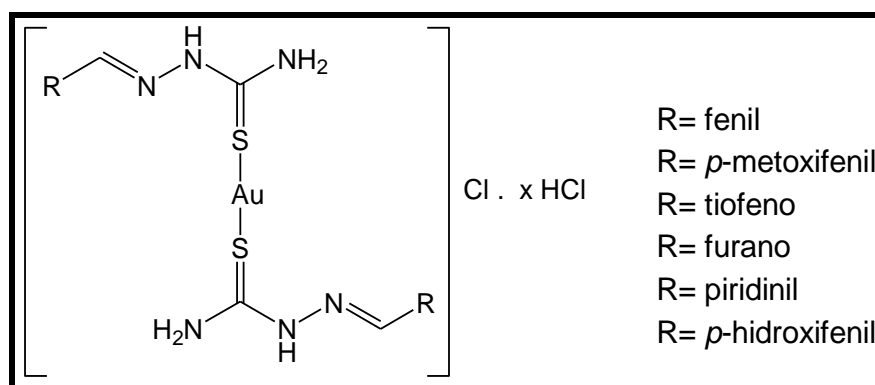
Os complexos de ouro também foram caracterizados por análise elementar, obtendo-se resultados satisfatórios. Os complexos obtidos possuem estequiometria 2:1 (ligante e íon metálico, respectivamente). Estes resultados para os complexos **19-24** estão apresentados na Tabela 4.3.2.

Tabela 4.3.2. Resultados de análise elementar para os complexos de ouro (**19-24**).

Complexos	Fórmula Molecular	%C	%H	%N
19	[C ₁₆ H ₁₈ N ₆ S ₂ Au]Cl.HCl	30,01 (30,62)	3,02 (3,03)	12,87 (13,39)
20	[C ₁₈ H ₂₂ N ₆ O ₂ S ₂ Au]Cl.2HCl	28,77 (29,85)	3,25 (3,32)	11,01 (11,61)
21	[C ₁₂ H ₁₄ N ₆ S ₄ Au]Cl.2HCl	21,56 (21,32)	2,89 (2,36)	12,35 (12,44)
22	[C ₁₂ H ₁₄ N ₆ O ₂ S ₂ Au]Cl.4HCl	19,17 (20,10)	3,09 (2,51)	11,39 (11,72)
23	[C ₁₄ H ₁₆ N ₈ S ₂ Au]Cl.4HCl	22,03 (22,75)	3,15 (2,71)	14,49 (15,17)
24	[C ₁₆ H ₁₈ N ₆ O ₂ S ₂ Au]Cl.HCl	29,99 (29,14)	3,02 (2,88)	12,91 (12,75)

* os valores calculados estão entre parênteses.

A Figura 4.3.11 mostra a proposta estrutural para os complexos de ouro sintetizados, baseado nas análises realizadas e na literatura (Ferraz *et al.*, 2012).

**Figura 4.3.11.** Estrutura proposta para os complexos de ouro sintetizados

4.4. COMPLEXOS DE OURO COM TRIFENILFOSFINA

A literatura reporta compostos de ouro(I) com grupos tiolatos e fosfínicos que apresentam maior citotoxicidade do que seus análogos não fosfínicos (Gandin *et al.*, 2010).

Neste sentido, nos pareceu relevante sintetizar uma série de compostos de ouro(I) com ligantes derivados de tiossemicarbazonas e grupos fosfínicos, com intuito de potencializar a atividade citotóxica dos compostos de ouro(I) sintetizados anteriormente.

O sal de partida para formação dos compostos de ouro com trifenilfosfina, Au(PPh₃)Cl, foi previamente preparado em nosso laboratório a partir do sal K[AuCl₄]. O mecanismo de reação de obtenção do sal desejado, Au(PPh₃)Cl, envolve a formação inicial de Au(PPh₃)Cl₃ seguida pela redução do ouro(III) a ouro(I), conforme mostra o esquema da Figura 4.4.1.

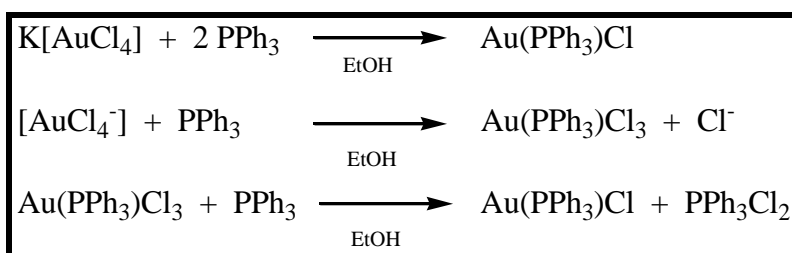


Figura 4.4.1. Reações envolvidas na formação de cloro(trifenilfosfina)ouro(I)

Os complexos de ouro com trifenilfosfina foram obtidos através da reação do sal de ouro Au(PPh₃)Cl com os ligantes derivados das tiossemicarbazonas, com posterior purificação por placa preparativa, conforme apresenta a Figura 4.4.2.

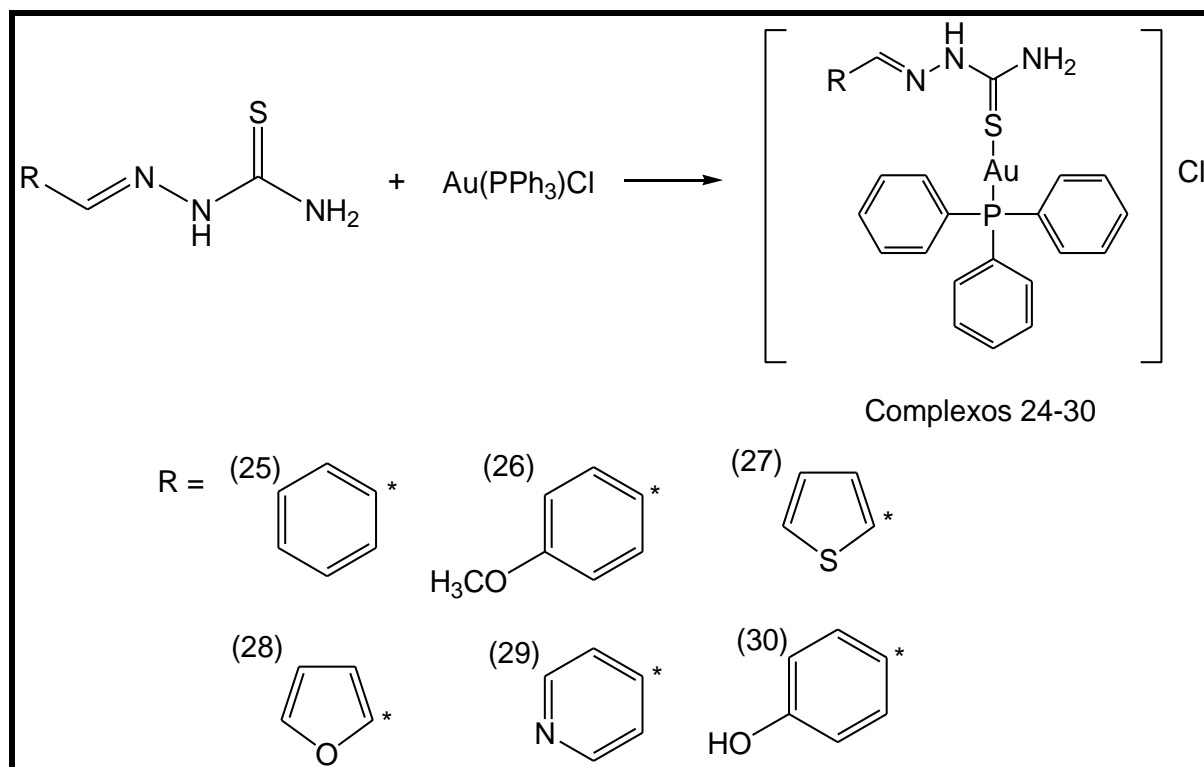


Figura 4.4.2. Representação esquemática da síntese dos complexos de ouro com trifenilfosfina e ligantes aril-tiossemicarbazonas

Serão discutidos mais detalhadamente, apenas os resultados obtidos na caracterização do complexo derivado de fenil-tiossemicarbazona (complexo **25**) com ouro.

A Figura 4.4.3 apresenta os espectros no infravermelho do ligante **1** e do complexo **25** onde pode-se destacar a presença de absorções na região de 3423 cm^{-1} a 3142 cm^{-1} referentes ao estiramento da ligação N-H dos grupos NH_2 e NH . A banda intensa referente ao estiramento $\text{C}=\text{N}$ é observada em 1594 cm^{-1} . O ligante apresentou bandas na faixa de 1055 cm^{-1} e 876 cm^{-1} atribuídas às vibrações $\text{C}=\text{S}$. Essas bandas de absorções deslocaram-se para 1050 e 870 cm^{-1} após a coordenação com o ouro, esse pequeno deslocamento é compatível com a presença do enxofre na forma tiona (Lobana *et al.*, 2008). A banda referente ao estiramento Au-S foi observada no espectro Raman (Figura 4.4.4) em 250 cm^{-1} , característica de tal ligação segundo alguns trabalhos reportados anteriormente (Lessa *et al.*, 2012; Kouroulis *et al.*, 2009). Com a introdução do grupo fosfina observa-se um maior número de bandas na região de aromáticos, bandas de estiramento do anel ($\text{C}=\text{C}$ entre 1600 a 1475 cm^{-1}), além de apresentar banda em 947 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação C-P em aromáticos (Silverstein, 2005; Mistry, 2009).

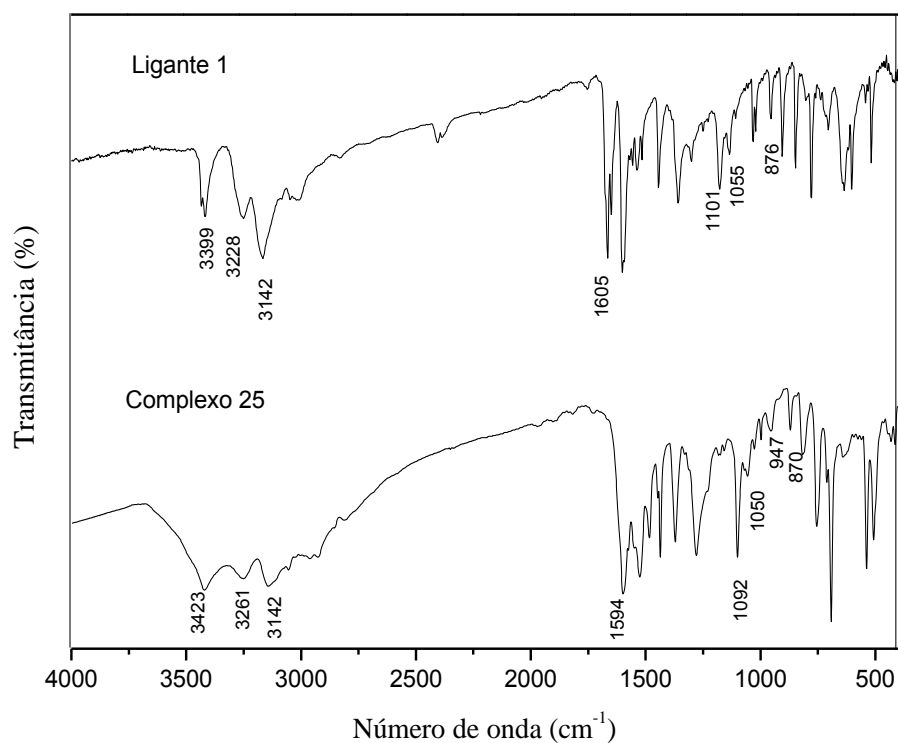


Figura 4.4.3. Espectros de infravermelho do ligante e do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona e trifenilfosfina **25**

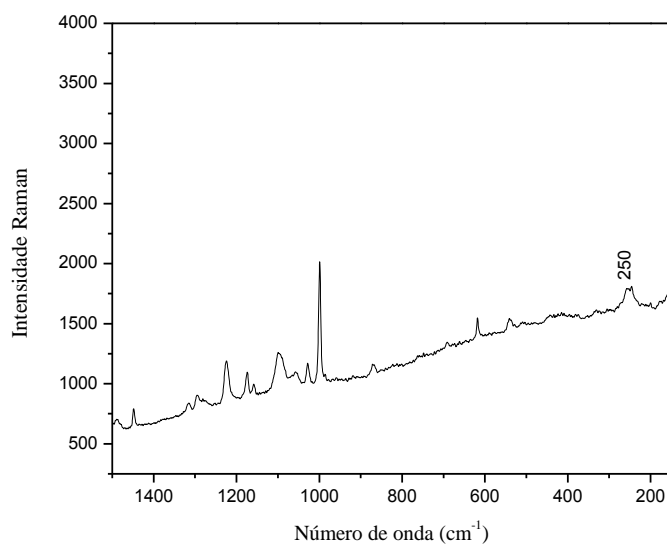


Figura 4.4.4. Espectro Raman do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona **25**

O espectro de RMN de ^1H do complexo **25** está mostrado na Figura 4.4.5. No espectro do ligante, o sinal do próton $=\text{N}-\text{NH}$ foi observado em δ 11,56 e o sinal do próton $\text{HC}=\text{N}$ aparece na forma de simpleto em δ 8,13, ambos não apresentam significativas variações após coordenar-se ao ouro, δ 11,50 e δ 8,26, respectivamente. Os sinais dos prótons aromáticos também não sofreram relevantes mudanças após coordenação ao íon metálico. O sinal em δ 8,06 refere-se aos prótons do grupo NH_2 . Observou-se também o surgimento de um novo multipeto em δ 7,57 atribuído aos hidrogênios aromáticos da trifenilfosfina.

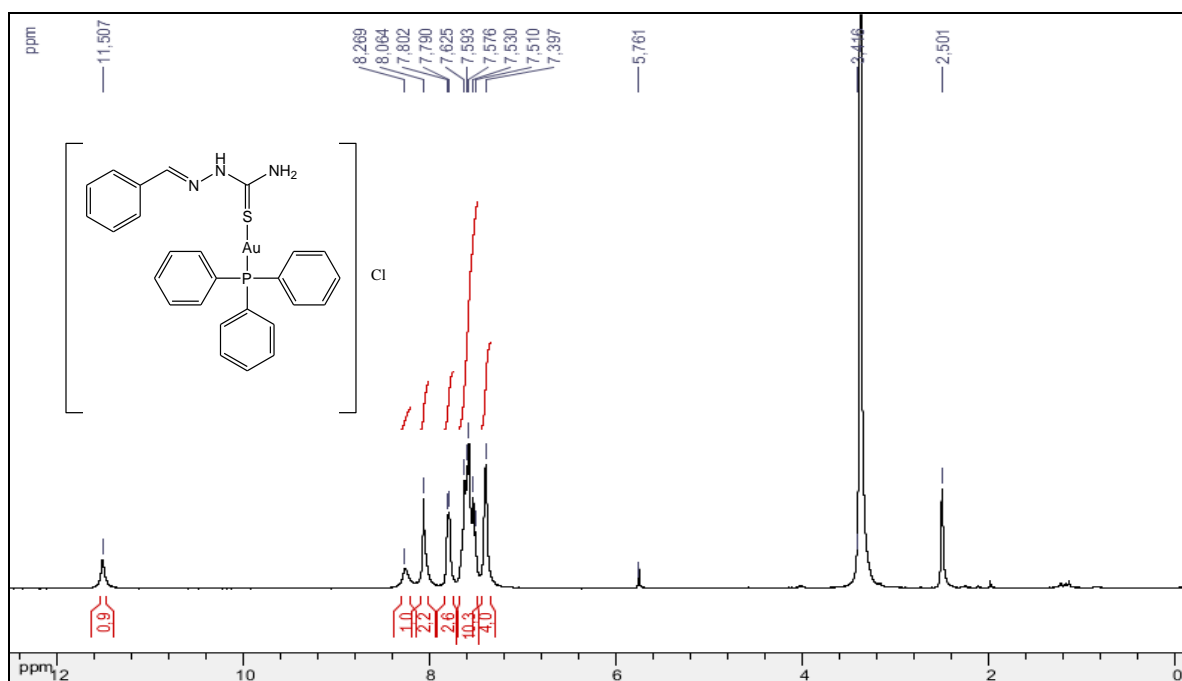


Figura 4.4.5. Espectro de RMN de ^1H do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona e trifenilfosfina **25**, ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz)

No espectro de RMN de ^{13}C do complexo (Figura 4.4.6), o sinal de ressonância do carbono ligado a enxofre foi observado em δ 177,46. Os sinais dos carbonos do anel aromático ocorreram na região de δ 132,23 a δ 127,27. O sinal do carbono do grupo $\text{HC}=\text{N}$ é observado em δ 142,39. Os sinais dos carbonos do grupo fosfina foram observados na forma de um simpleto em δ 134,10 atribuído aos carbonos C-3, C-4 e C-5 e dois dupletos, um em δ 133,76 atribuído a C-1 ($J_{1,P} = 13,5$ Hz) e outro em δ 129,64 ($J_{2,P} = 11,7$ Hz = $J_{6,P}$) atribuído ao C-2 e C-6. A numeração dos átomos pode ser observada na Figura 4.4.10.

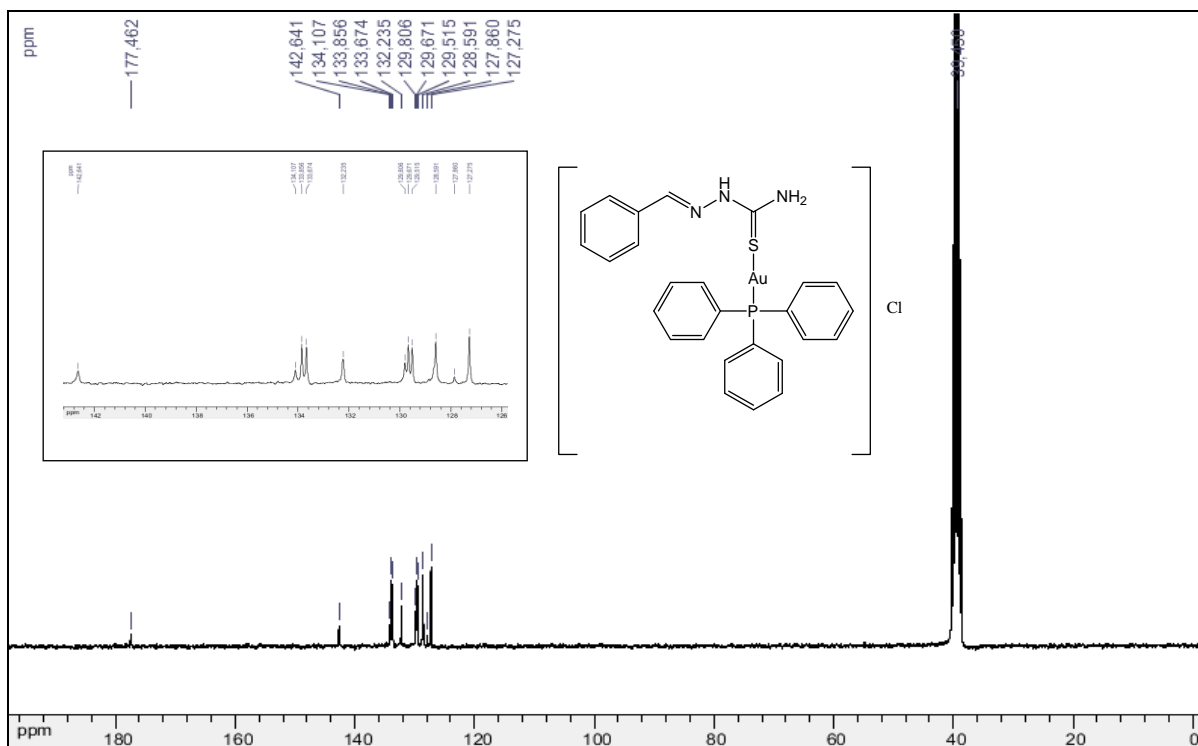


Figura 4.4.6. Espectro de RMN de ^{13}C do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona e trifenilfosfina **25**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

No espectro no UV-visível (Figura 4.4.7) em solução metanólica do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona e trifenilfosfina observa-se uma banda com $\lambda_{\text{máx.}}$ de 316 nm ($\epsilon = 1,75 \times 10^4 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ da tiocarbonila (Silverstein *et al.*, 2008). A banda com $\lambda_{\text{máx.}}$ em 253 nm ($\epsilon = 1,04 \times 10^4 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) refere-se à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel aromático (Saad *et al.*, 2007). A banda de transferência de carga metal-ligante e/ou ligante-metal, foi observada em 348 nm ($\epsilon = 6,99 \times 10^4 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

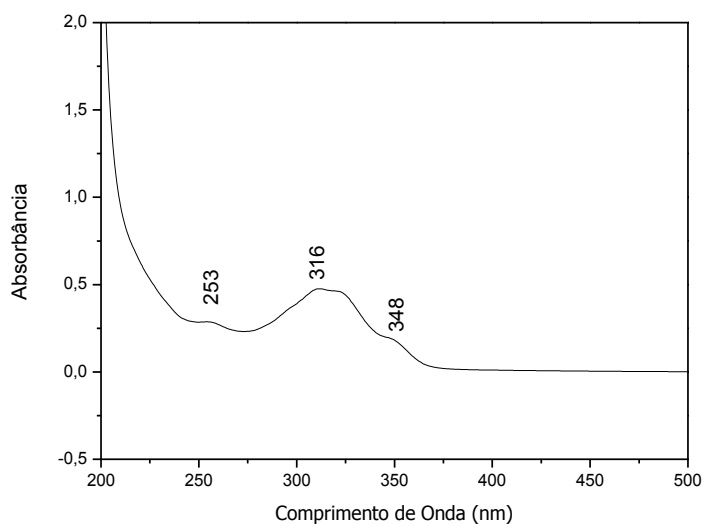


Figura 4.4.7. Espectro no UV-visível em solução metanólica do complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona e trifenilfosfina **25**

A caracterização por voltametria cíclica para os complexos de ouro com trifenilfosfina foi realizada com intuito de observar a permanência do estado de oxidação do sal de partida, ouro(I), após a complexação com ligantes derivados tiossemicarbazonas. Foram realizados os voltamogramas cíclicos destes complexos e de seus respectivos ligantes, em uma faixa de potencial entre 1,70 e -1,50 V a partir de 1,70 V a 200 mV s^{-1} . Os resultados foram comparados com o sal de ouro $\text{K}[\text{AuCl}_4]$, para confirmar a presença de ouro(I) nas estruturas dos complexos. Não houve semelhanças entre os voltamogramas dos complexos e do sal de ouro $\text{K}[\text{AuCl}_4]$. Os voltamogramas cíclicos dos complexos apresentam um pico vagamente irreversível no intervalo catódico correspondente à redução de ouro(I) \rightarrow ouro(0), além de apresentar três ondas irreversíveis de difusão controlada na gama anódica.

Curvas típicas de voltametria cíclica para os complexos **25**, **26** e **27** estão apresentadas na Figura 4.4.8. Os valores dos potenciais dos picos anódicos e catódicos estão listados na Tabela 4.4.1. Assim, os resultados sugerem a presença de ouro(I) na estrutura dos complexos apresentados no presente trabalho.

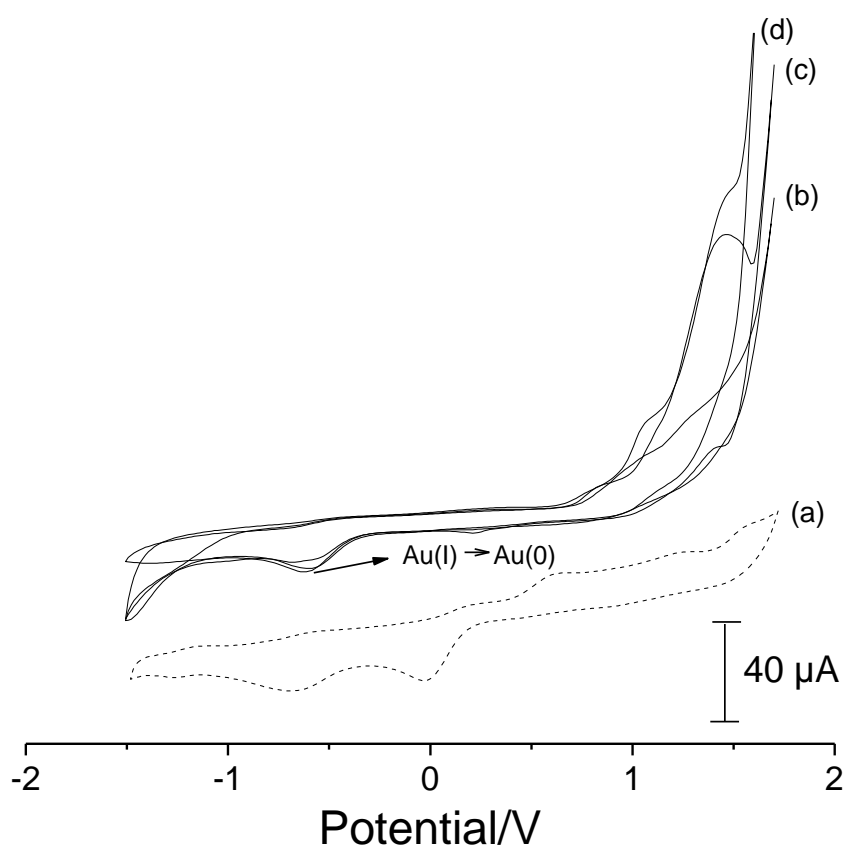


Figura 4.4.8. Voltamograma cíclico do sal de ouro $\text{K}[\text{AuCl}_4]$ (a), dos complexos **25** (b), **26** (c) e **27** (d). Condições experimentais: eletrodo de trabalho de carbono vítreo, 100 mmol L^{-1} NaClO_4 , eletrodo de referência $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{s})}$, $\text{KCl}_{(\text{sat})}$ e velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

Tabela 4.4.1. Dados obtidos através dos voltamogramas cíclicos dos complexos de ouro com ligantes aril-tiossemicarbazonas e trifenilfosfina.

E(V) vs Ag/AgCl _(s) , KCl _(sat)	Complexos						
	25	26	27	28	29	30	K[AuCl₄]
E_{pa}	0,80	0,84	0,80	0,82	0,81	0,80	0,61
	1,10	1,08	0,99	1,02	1,01	1,02	1,18
	1,45	1,47	1,29	1,27	1,35	1,36	1,57
E_{pc}	--	--	--	--	--	--	-0,03
	-0,61	-0,61	-0,61	-0,61	-0,62	-0,60	-0,65

Foram realizadas análises térmicas para todos os compostos de ouro derivados de fosfinas. A curva termogravimétrica do complexo **25** (Figura 4.4.9) mostra eventos de perdas de massa consecutivas entre 184 e 844 °C que podem ser atribuídos à decomposição dos ligantes orgânicos e um íon cloreto (observado 69,8%, calculado 68,9%) sendo acompanhada na curva DTA por um evento endotérmico em 293,47°C. O resíduo final apresenta perda de massa de aproximadamente 1%, entretanto, observamos que ainda continua havendo perda de massa após a temperatura final utilizada, o que sugere ser necessário realizar as medidas em maiores temperaturas para confirmar o resíduo constituído de um mol de ouro metálico (calculado: 29,2%; experimental: não determinado).

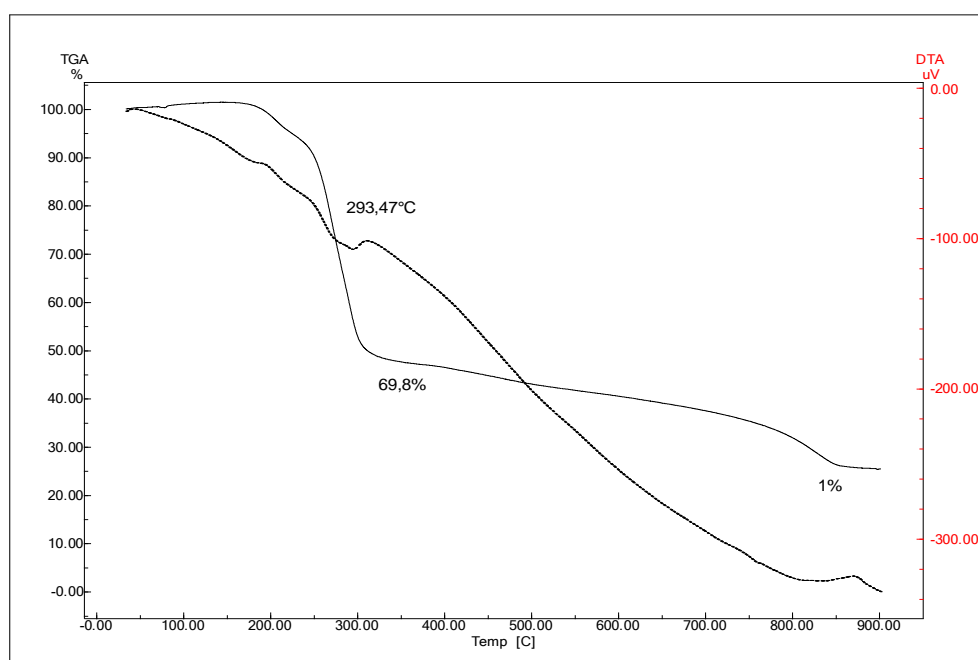


Figura 4.4.9. Curva termogravimétrica para o complexo de ouro com fenil-tiossemicarbazona e trifenilfosfina **25**

Os complexos de ouro com trifenilfosfina também foram caracterizados por análise elementar, obtendo-se resultados satisfatórios. Os complexos obtidos possuem estequiometria 1:1 e os resultados de análise elementar para os complexos **25-30** estão apresentados na Tabela 4.4.2.

Tabela 4.4.2. Resultados de análise elementar para os complexos de ouro com trifenilfosfina.*

Complexos	Fórmula Molecular	%C	%H	%N
<u>25</u>	[C ₂₆ H ₂₄ N ₃ SPAu].Cl	48,25 (46,33)	4,01 (3,56)	6,56 (6,24)
<u>26</u>	[C ₂₇ H ₂₆ N ₃ SOPAu].Cl	46,53 (46,06)	3,55 (3,69)	5,89 (5,97)
<u>27</u>	[C ₂₄ H ₂₂ N ₃ S ₂ PAu].Cl	43,18 (42,38)	3,47 (3,24)	6,50 (6,18)
<u>28</u>	[C ₂₄ H ₂₂ N ₃ SOPAu].Cl	42,07 (43,41)	3,15 (3,32)	6,09 (6,33)
<u>29</u>	[C ₂₅ H ₂₃ N ₄ SPAu].Cl	44,62 (44,48)	3,26 (3,41)	7,98 (8,30)
<u>30</u>	[C ₂₆ H ₂₄ N ₃ SOPAu].Cl	44,09 (45,25)	3,42 (3,48)	6,45 (6,09)

* os valores calculados estão entre parênteses

Considerando as análises apresentadas, propõem-se que os complexos apresentam estruturas com estequiometria 1:1 (ligante:ouro), com um arranjo linear ao redor do centro metálico, contendo como ligantes derivados tiossemicarbazonas e uma unidade fosfina. A Figura 4.4.10 mostra a proposta estrutural para os complexos de ouro com trifenilfosfina sintetizados.

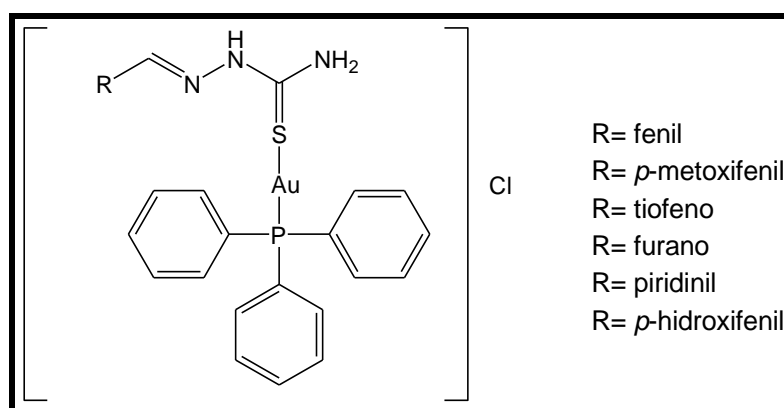


Figura 4.4.10. Estrutura proposta para os complexos de ouro e trifenilfosfina sintetizados

5. ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.1. TESTES DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Considerando-se que a resistência aos antibióticos está crescendo a um ritmo alarmante, o desenvolvimento de novos agentes antibacterianos é uma área de pesquisa muito relevante. Embora o mecanismo de atividade antibacteriana de complexos metálicos ainda não seja compreendido, estes compostos devem provavelmente atuar através de um mecanismo diferente dos compostos orgânicos tradicionais (Rocha *et al.*, 2011).

Os complexos desenvolvidos neste trabalho foram submetidos à determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) no laboratório de Bioquímica do ICB/UFJF sob a coordenação da professora Elita Scio Fontes.

A atividade antibacteriana para os ligantes aril-tiossemicarbazonas e todos os seus respectivos complexos de platina e paládio foi avaliada em seis diferentes cepas de bactérias e posteriormente comparada com o controle positivo, cloranfenicol. Os valores encontrados para a Concentração Inibitória Mínima (CIM) são apresentados na Tabela 5.1.1.

Observa-se através da Tabela 5.1.1 que nenhum ligante apresentou atividade antibacteriana significativa frente às cepas testadas, assim como a maioria dos complexos. É válido ressaltar que, os complexos de platina e paládio derivados do ligante fenil-tiossemicarbazona (complexos **7** e **13**), apresentaram boa atividade frente as cepas *Staphylococcus aureus* e *Shigella dysenteriae*, indicando que o substituinte na subunidade arila pode influenciar na atividade antibacteriana dos compostos analisados.

Tabela 5.1.1. Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) dos ligantes e complexos de platina e paládio contra cepas padrão de bactérias.

Amostras	Concentração Inibitória Mínima- CIM ($\mu\text{g/mL}$)					
	<i>S. aur</i>	<i>P. aer</i>	<i>S. dys</i>	<i>S. typ</i>	<i>E. col</i>	<i>E. clo</i>
Ligante 1	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Ligante 2	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Ligante 3	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Ligante 4	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Ligante 5	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Ligante 6	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 7	25	>200	50	>200	>200	>200
Complexo 8	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 9	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 10	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 11	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 12	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 13	6,2	>200	25	>200	>200	>200
Complexo 14	200	>200	200	>200	>200	>200
Complexo 15	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 16	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 17	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Complexo 18	>200	>200	>200	>200	>200	>200
Cloranfenicol	12,5	25	25	12,5	12,5	12,5

Cepas de bactérias testadas: *S. aur* = *Staphylococcus aureus*; *P. aer* = *Pseudomonas aeruginosa*; *S. dys* = *Shigella dysenteriae*; *S. typ* = *Salmonella typhimurium*; *E. col* = *Escherichia coli*; *E. clo* = *Enterobacter cloacae*.

A atividade antibacteriana dos ligantes aril-tiossemicarbazonas e seus respectivos complexos de ouro foi também avaliada em quatro diferentes cepas: Gram(+), *Staphylococcus aureus* e Gram(-) *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella entérica subsp. Enterica serovar typhimurium* e de *Escherichia coli*, e comparadas ao controle positivo, cloranfenicol. Os valores encontrados para a Concentração Inibitória Mínima (CIM) são apresentados na Tabela 5.1.2.

Mais uma vez, constatou-se que os ligantes não apresentaram atividade antibacteriana contra as cepas padrão testadas. Entretanto, os complexos de ouro apresentaram boa atividade frente a todas as cepas analisadas, com exceção à cepa *Pseudomonas aeruginosa*, para os complexos de ouro com trifenilfosfina. Alguns complexos chegaram a ser pelo menos 30 vezes mais ativos que seu respectivo ligante livre, como é o caso dos complexos **19**, **22**, **25**, **26** e **29** contra a cepa *Staphylococcus aureus*, o complexo **22** contra a cepa *Pseudomonas aeruginosa*, os complexos **19** e **22** contra as cepas *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium* e *Escherichia coli*, o que evidencia a importância do íon metálico para a atividade biológica. Observamos também que os complexos de ouro com ligantes tiossemicarbazonas e fosfinas apresentaram-se tão ativos ou mais que o controle cloranfenicol quando testados contra a cepa padrão *Staphylococcus aureus*. Outro destaque seria os complexos **19-24**, que foram ativos contra *Pseudomonas aeruginosa*, cepa que é resistente ao controle cloranfenicol.

Diante dos resultados obtidos podemos concluir, de modo geral, que houve uma significativa melhora na atividade antibacteriana dos compostos após complexação com íons metálicos, principalmente com o ouro. Fazendo uma breve comparação entre os compostos de ouro fosfínicos e seus respectivos compostos de ouro sem o grupo fosfina, conclui-se que, contra as cepas *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* os compostos não fosfínicos apresentaram melhor atividade antibacteriana. Entretanto, contra a cepa *Staphylococcus aureus* os complexos fosfínicos apresentaram melhor atividade. Já contra a cepa *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium*, ambos os complexos de ouro apresentaram atividade antibacteriana semelhante.

Tabela 5.1.2. Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) dos ligantes e complexos de ouro contra cepas padrão de bactérias.

Amostras	Concentração Inibitória Mínima- CIM ($\mu\text{g/mL}$)			
	<i>S. aur</i>	<i>P. aer</i>	<i>S. cho</i>	<i>E. col</i>
Ligantes <u>1-6</u>	>200	>200	>200	>200
Complexo <u>19</u>	6,3	12,5	6,3	6,3
Complexo <u>20</u>	12,5	50	25	12,5
Complexo <u>21</u>	12,5	25	12,5	12,5
Complexo <u>22</u>	6,3	6,3	6,3	6,3
Complexo <u>23</u>	50	25	25	25
Complexo <u>24</u>	12,5	25	25	25
Complexo <u>25</u>	6,3	>200	12,5	25
Complexo <u>26</u>	3,12	>200	25	50
Complexo <u>27</u>	3,12	>200	12,5	25
Complexo <u>28</u>	12,5	>200	>200	>200
Complexo <u>29</u>	3,1	>200	12,5	25
Complexo <u>30</u>	12,5	>200	25	50
Cloranfenicol	12,5	>200	3,2	0,8

Cepas de bactérias testadas: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium* ATCC 13311 e *Escherichia coli* ATCC 10536.

5.2. TESTES DE ATIVIDADE CITOTÓXICA

A citotoxicidade pode ser avaliada aplicando-se várias metodologias como, por exemplo, a citometria de fluxo (Weaver, 1997) e técnicas colorimétricas e fluorimétricas (Tominaga *et al.*, 1999). No presente trabalho foi utilizado um ensaio colorimétrico com o reagente MTT, que é amplamente utilizado para avaliação de citotoxicidade. A redução do sal tetrazólio, brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2H-tetrazol (MTT), inicialmente amarelo, pela enzima succinato desidrogenase mitocondrial gera o produto de cor violeta chamado Formazan, (Figura 5.2.1). Uma vez que a redução somente ocorre em células viáveis, a quantidade de formazan formado é diretamente proporcional à quantidade de células vivas (Mosmann, 1983).

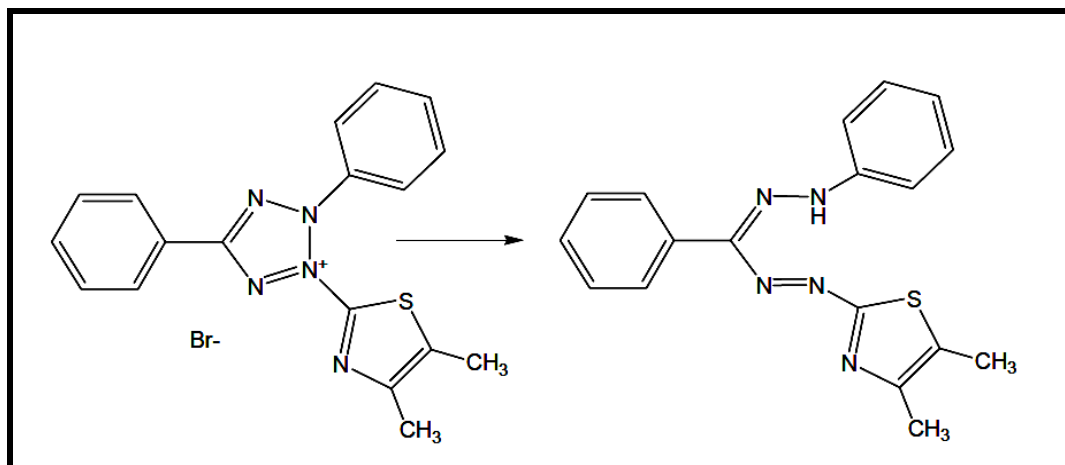


Figura 5.2.1. Redução do MTT ao composto formazan

A citotoxicidade dos complexos foi avaliada em comparação com a cisplatina, em duas linhas de células tumorais: carcinoma de cólon de camundongo (CT26.WT) e melanoma (B16-F10). Os complexos também foram examinados pelas suas propriedades citotóxicas frente a uma célula normal de rim (BHK-21). As células tumorais foram escolhidas para compor dois tipos de tumores diferentes, nomeadamente, melanoma e carcinoma cervical, e também para avaliar a atividade em linhas celulares de origem embrionária diferente, tal como células epiteliais e fibroblastos. A terceira linha de células é uma célula normal, o utilizada para avaliar o índice de seletividade, permitindo a comparação da citotoxicidade dos compostos nas células tumorais e normais.

Os valores de IC_{50} calculados a partir das curvas de concentração-resposta obtidas após 72 horas de tratamento de drogas utilizando o ensaio de MTT, são apresentados nas Tabelas a seguir. Alguns compostos mostraram uma atividade comparável, igual ou superior à da cisplatina.

A Tabela 5.2.1 apresenta os valores de IC_{50} (μM) dos ligantes e complexos de platina e paládio analisados para as linhagens celulares B16-F10, CT26.WT e BHK-21.

Os ligantes livres não mostraram nenhuma toxicidade para a célula B16-F10. No entanto, foram tóxicos para a célula CT26.WT, e mostraram um elevado índice de seletividade em comparação com a célula normal BHK-21.

Já os complexos de platina **7-12** foram citotóxicos para a célula B16-F10. Podemos destacar os complexos **8**, **10**, e **12**, que demonstraram ser 10 vezes mais potente e 20 vezes mais seletivo do que os demais complexos analisados. Para os complexos de paládio **13-18**, podemos observar através dos dados obtidos que todos se mostraram citotóxicos para esta linhagem celular e apresentaram alto índice de seletividade.

Para a linhagem celular CT26.WT, observou-se que os complexos apresentaram citotoxicidade muito semelhante aos seus respectivos ligantes livres. Contudo, os compostos **8**, **10**, e **12** de platina e o composto **14** de paládio apresentaram índices de seletividade bastante elevados.

Podemos concluir com a análise dos dados, que a formação dos complexos melhorou significativamente a citotoxicidade em células tumorais, especialmente para a linha de célula B16-F10, sem mostrar toxicidade para as células normais (BHK-21), melhorando o índice de seletividade para a maior parte dos complexos analisados.

Tabela 5.2.1. Avaliação *in vitro* da atividade citotóxica (IC₅₀) em linhagens celulares B16-F10, CT26.WT e BHK-21 dos compostos **1-18**

Amostras	B16-F10 ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*	SI**	CT26.WT ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*	SI**	BHK-21 ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*
Ligante <u>1</u>	> 100	>1,0	2,2 \pm 2,1	>45,0	> 100
Ligante <u>2</u>	> 100	>0,5	2,7 \pm 1,7	19,6	53,1 \pm 4,1
Ligante <u>3</u>	> 100	>0,7	1,0 \pm 0,7	66,3	66,3 \pm 1,3
Ligante <u>4</u>	> 100	>1,0	2,6 \pm 2,7	>38,5	> 100
Ligante <u>5</u>	> 100	>1,0	8,6 \pm 0,4	>11,6	> 100
Ligante <u>6</u>	> 100	>1,0	1,6 \pm 0,7	>62,5	> 100
Complexo <u>7</u>	3,6 \pm 0,6	4,3	4,4 \pm 3,4	3,5	15,5 \pm 2,9
Complexo <u>8</u>	0,4 \pm 0,3	83,7	< 0,1	335,0	33,5 \pm 2,1
Complexo <u>9</u>	12,3 \pm 3,7	4,1	9,6 \pm 0,4	5,3	50,9 \pm 14,9
Complexo <u>10</u>	0,4 \pm 0,3	151,0	0,6 \pm 0,4	100,7	60,4 \pm 3,2
Complexo <u>11</u>	11,4 \pm 1,4	>8,8	2,0 \pm 1,1	>50,0	> 100
Complexo <u>12</u>	< 0,1	>1000,0	0,5 \pm 0,2	>200,0	> 100
Complexo <u>13</u>	1,7 \pm 0,6	10,6	2,7 \pm 0,4	6,7	18,1 \pm 5,1
Complexo <u>14</u>	< 0,1	>163,0	< 0,1	>163,0	16,3 \pm 2,1
Complexo <u>15</u>	< 0,1	>66,0	0,4 \pm 0,3	16,5	6,6 \pm 1,1
Complexo <u>16</u>	< 0,1	>28,0	0,9 \pm 0,4	3,11	2,8 \pm 0,4
Complexo <u>17</u>	1,4 \pm 0,6	68,9	3,6 \pm 1,0	26,8	96,5 \pm 6,5
Complexo <u>18</u>	1,9 \pm 0,4	52,6	15,4 \pm 8,5	> 6,4	> 100
Cisplatina	0,9 \pm 0,7	43,6	< 0,1	392,0	39,2 \pm 1,0

* SD (desvio padrão de triplicatas de dois experimentos independentes)

** SI (índice de seletividade)

*** Todos os valores de IC_{50} estão representados como média \pm SD

Linhagens testadas: B16-F10: célula de melanoma murino, CT26.WT: carcinoma de cólon de camundongo e BHK-21: célula normal de rim de hamister.

A representação gráfica da determinação da IC_{50} está mostrada na Figura 5.2.2, onde podemos observar a diminuição da viabilidade celular (% de célula viva) com o aumento da concentração do complexo **14**, por exemplo.

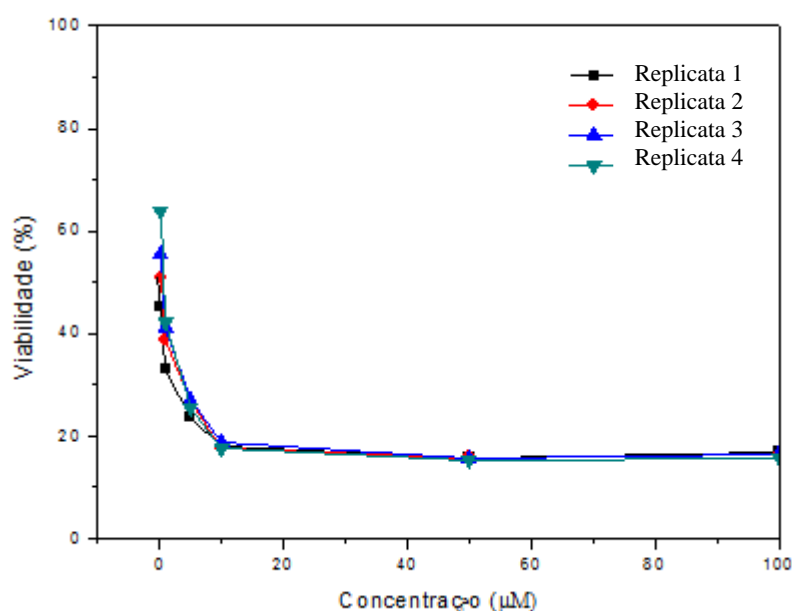


Figura 5.2.2. Perfil citotóxico representativo dos complexos testados. Esse gráfico se refere à determinação da IC_{50} do complexo **14** sobre a linhagem B16-F10, em quadruplicata.

A Tabela 5.2.2 apresenta os valores de IC_{50} (μM) dos ligantes e complexos de ouro analisados frente às mesmas linhagens celulares utilizadas anteriormente: célula de melanoma murino (B16-F10), carcinoma de cólon de camundongo (CT26.WT) e célula normal de rim de hamister (BHK-21).

Tabela 5.2.2. Avaliação *in vitro* da atividade citotóxica (IC₅₀) em linhagens celulares B16-F10, CT26.WT e BHK-21 dos compostos **1-6** e **19-30**.

Amostras	B16-F10 ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*	SI**	CT26.WT ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*	SI**	BHK-21 ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*
Ligante 1	> 100	>1,0	2,2 \pm 2,1	>45,0	> 100
Ligante 2	> 100	>0,5	2,7 \pm 1,7	19,6	53,1 \pm 4,1
Ligante 3	> 100	>0,7	1,0 \pm 0,7	66,3	66,3 \pm 1,3
Ligante 4	> 100	>1,0	2,6 \pm 2,7	>38,5	> 100
Ligante 5	> 100	>1,0	8,6 \pm 0,4	>11,6	> 100
Ligante 6	> 100	>1,0	1,6 \pm 0,7	>62,5	> 100
Complexo 19	19,4 \pm 3,6	1,0	26,4 \pm 2,7	0,8	19,8 \pm 1,4
Complexo 20	65,4 \pm 4,1	1,0	32,7 \pm 3,6	2,2	73,1 \pm 1,7
Complexo 21	>100	>1,0	94,5 \pm 3,0	>1,0	>100
Complexo 22	51,3 \pm 1,4	0,6	32,4 \pm 3,3	1,0	32,2 \pm 2,5
Complexo 23	>100	>1,0	76,5 \pm 4,3	>1,3	>100
Complexo 24	>100	>1,0	> 100	>1,0	>100
Complexo 25	1,34 \pm 0,9	4,9	1,12 \pm 0,4	5,8	6,57 \pm 2,0
Complexo 26	0,19 \pm 0,1	3,7	2,04 \pm 0,2	0,3	0,7 \pm 1,0
Complexo 27	2,13 \pm 0,2	3,4	1,42 \pm 1,0	5,1	7,22 \pm 1,5
Complexo 28	1,8 \pm 1,0	1,5	1,78 \pm 0,3	1,5	2,73 \pm 1,8
Complexo 29	0,67 \pm 0,9	11,4	0,82 \pm 0,6	9,5	7,8 \pm 1,3
Complexo 30	1,50 \pm 0,5	14,6	1,44 \pm 1,0	15,20	21,9 \pm 0,8
Cisplatina	0,9 \pm 0,7	43,6	< 0,1	392,0	39,2 \pm 1,0

* SD (desvio padrão de triplicatas de dois experimentos independentes)

** SI (índice de seletividade)

*** Todos os valores de IC₅₀ estão representados como média ± SD

Linhagens testadas: B16-F10: célula de melanoma murino, CT26.WT: carcinoma de cólon de camundongo e BHK-21: célula normal de rim de hamister.

Assim, como mencionamos anteriormente, podemos observar através dos testes realizados que os ligantes livres não apresentaram nenhuma toxicidade frente à célula B16-F10, entretanto, foram tóxicos para as células CT26.WT.

Analisando os dados da Tabela 5.2.2 podemos concluir que os complexos de ouro com derivados fosfínicos apresentaram atividade contra a célula B16-F10 bastante superior a de seus complexos análogos sem a fosfina. Os compostos de ouro com grupo fosfina foram tão ou mais ativos que a cisplatina nessa linhagem. Podemos destacar os compostos **26** e **29** que demonstraram ser cerca de 340/150 vezes mais potentes que seus análogos sem a fosfina (complexos **20** e **23**), além de serem mais ativos que a cisplatina nessa linhagem (B16-F10).

Os complexos de ouro também apresentaram certa atividade frente à célula CT26.WT, com exceção do complexo **24**. Mais uma vez, quando compara-se a citotoxicidade dos complexos de ouro não-fosfínicos (**19-24**) com a dos fosfínicos (**25-30**), podemos observar uma significativa melhora da atividade para os segundos. Todos os complexos de ouro com grupo fosfina apresentaram atividade frente à célula CT26.WT em concentrações inferiores a 2 µM. Os compostos **29** e **30** apresentaram-se 93/69 vezes mais potentes e 7/15 vezes mais seletivos que seus análogos complexos de ouro não fosfínicos (compostos **23** e **24**).

Através dos dados apresentados, verificou-se que, de uma maneira geral, complexos de ouro contendo fosfinas são mais ativos *in vitro* que os seus similares com substituintes não fosfínicos. A lipofilicidade introduzida nos compostos, através da coordenação de um grupo fenilfosfina, poderia ser responsável pela maior citotoxicidade observada já que esta propriedade facilita a penetração dos compostos na membrana celular, que é de natureza lipoprotéica.

5.3. INIBIÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA TIORREDOXINA REDUTASE (TrxR)

Como mencionado anteriormente, há relatos na literatura que, a inibição da atividade catalítica da enzima tiorredoxina redutase (TrxR) seria um possível modo de ação antitumoral dos complexos de ouro uma vez que esta enzima está diretamente envolvida no balanço Redox celular que previne o estresse oxidativo. A inibição da enzima leva a um desequilíbrio que induz a apoptose celular (Marzano *et al.*, 2007; Lessa *et al.*, 2011).

Os ligantes e complexos de ouro foram avaliados quanto a capacidade de inibir a enzima TrxR (Figura 5.3.1). No ensaio, utilizou-se TrxR isolada de fígado de rato, por meio do ensaio de redução de DTNB, o qual baseia-se na redução dependente de NADPH do dissulfureto de substrato de 5,5'-ditiobis(ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB ou reagente de Elmann). Os complexos de ouro não fosfínicos demonstraram ser inibidores mais eficazes da TrxR na concentração testada (5 μ M), do que seus respectivos complexos fosfínicos. Entretanto, ambos os grupos de complexos (ouro com fosfina e ouro sem o grupo fosfina) foram inibidores da enzima TrxR mais eficientes do que seus respectivos ligantes livres.

Na concentração testada, a auranofina apresenta 90% de inibição da atividade da enzima (Lessa *et al.*, 2012). Os complexos **22**, **23** e **24** demonstraram atividade maior que a auranofina, ou seja, atingiram mais de 95% de inibição da enzima TrxR, já os complexos **19** e **21** obtiveram resultados semelhantes ao do controle (auranofina). Os complexos de ouro com o grupo fosfina inibiram, em média, 65% da atividade enzimática.

Baseado nos resultados obtidos, a adição de um grupo fosfina acarretou uma redução na inibição enzimática da TrxR, que pode estar associada a uma série de fatores relacionados à lipofilicidade e à fatores estéreos. O teste é feito com a enzima isolada, e os resultados obtidos indicam que a ação sobre a enzima se deve preferencialmente a presença do ouro e as diferenças na atividade dos complexos testados pode estar relacionada a fatores estéreos, pois a adição do grupo fosfina, que é um grupo volumoso, levou a um decréscimo na atividade direta sobre a enzima. É importante lembrar que esta enzima é intracelular, e que no teste celular para verificar a citotoxicidade, os complexos com fosfina foram mais ativos, o que pode estar relacionado com lipofilicidade e a capacidade de atravessar a membrana celular para então atingir o possível alvo (TrxR).

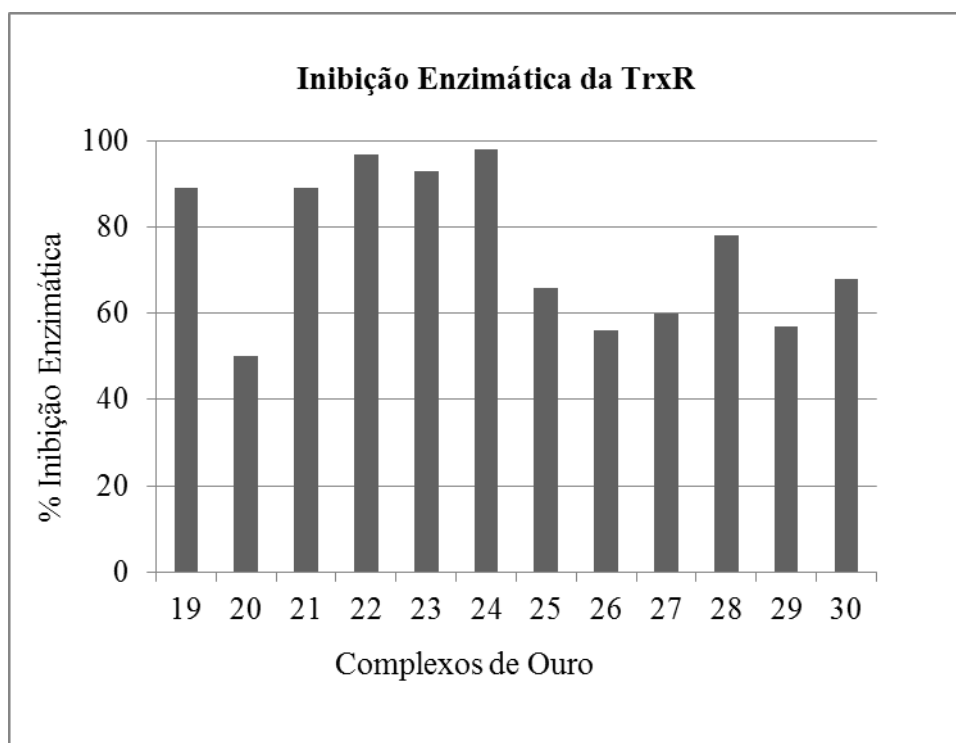


Figura 5.3.1. Percentual de inibição enzimática após exposição da enzima alvo TrxR aos complexos de ouro testados, usando ensaio de redução DTNB, concentração dos complexos testados $5\mu\text{M}$. A TrxR foi incubada como descrito na Seção Experimental. A redução do DTNB foi medida espectrofotometricamente a 412 nm.

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho descreve a síntese e caracterização de seis ligantes derivados das tiossemicarbazonas. As reações de obtenção destes ligantes foram realizadas em condições brandas e sua purificação e rendimento foram bastante eficientes. A partir dos ligantes sintetizados foi possível obter novos complexos de platina, paládio e ouro, os quais foram caracterizados por espectroscopias na região do infravermelho, Raman e ultravioleta, espectrometria de massas, voltametria cíclica, termogravimetria, ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C e ^{195}Pt , além de microanálise de C, H e N.

A platina e o paládio formaram complexos de número de coordenação 4 com as tiossemicarbazonas, como esperado, na proporção estequiométrica de 1:2 (metal:ligante). Nestes complexos as tiossemicarbazonas coordenaram-se ao íon metálico de modo bidentado, envolvendo os átomos de nitrogênio imínico e enxofre tiocarbonílico.

Por outro lado, com o ouro, as tiossemicarbazonas coordenaram-se de forma monodentada, envolvendo somente o átomo de enxofre na coordenação. Além disto, constatou-se que, ao tentar se obter complexos de ouro(III), o íon metálico foi reduzido, resultando em complexos de ouro(I).

Os ligantes e seus respectivos complexos de platina, paládio e ouro foram testados contra algumas cepas padrão de bactérias. Pode-se destacar os complexos **7** (de platina) e **13** (de paládio) com o ligante fenil-tiossemicarbazona que apresentaram certa atividade em cepas como *Staphylococcus aureus* e *Shigella dysenteriae*. Tal fato indica que a natureza do ligante apresenta também uma provável contribuição para a atividade antibacteriana. Destaque maior deve ser dado aos complexos de ouro, os quais apresentaram excelentes resultados de atividade antibacteriana. Alguns complexos chegaram a ser pelo menos 30 vezes mais ativos que seu respectivo ligante livre, como é o caso dos complexos **19**, **22**, **25**, **26** e **29** contra a cepa *Staphylococcus aureus*, o complexo **22** contra a cepa *Pseudomonas aeruginosa*, os complexos **19** e **22** contra as cepas *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium* e *Escherichia coli*. Os complexos de ouro com ligantes tiossemicarbazonas e fosfinas apresentaram-se tão ou mais ativos que o controle cloranfenicol quando testados contra a cepa padrão *Staphylococcus aureus*.

Todos os complexos obtidos foram submetidos a testes de citotoxicidade em células tumorais e célula normal. Alguns dos compostos testados apresentaram citotoxicidade comparável ou melhor do que a da cisplatina, principalmente os complexos de ouro e trifenilfosfina. Sabe-se que a coordenação a um grupo fosfina aumenta a atividade de complexos de ouro, provavelmente porque este grupo aumenta a lipofilicidade dos compostos, facilitando assim a entrada na membrana celular, que é de natureza lipoprotéica.

De uma maneira geral, considerando os complexos de Pt(II), Pd(II) e Au(I) desenvolvidos neste trabalho, observou-se que a coordenação da tiossemicarbazona ao íon metálico melhorou a atividade antibacteriana e citotóxica dos compostos. Assim, a estratégia de coordenação aos íons metálicos mostrou-se eficaz, na maioria dos casos, para melhorar o perfil farmacológico das tiossemicarbazonas estudadas.

O presente trabalho pretendeu apresentar uma contribuição no que tange o estudo de novos candidatos a protótipos de fármacos para o tratamento de doenças como o câncer e infecções microbianas.

REFERÊNCIAS

ABID, M. *et al.* Discovery of potent thiosemicarbazone inhibitors of rhodesain and cruzain. European Journal of Medicinal Chemistry. v. 43, p. 2035-2039, 2008.

AFRASIABI, Z. *et al.* Transition metal complexes of phenanthrenequinone thiosemicarbazone as potential anticancer agents: synthesis, structure, spectroscopy, electrochemistry and in vitro anticancer activity against human breast cancer cell-line, T47D. Inorganic Biochemistry. v. 95, p. 306-14, 2003.

ALI, A. A. *et al.* Organoplatinum(II) Complexes with 2-Acetylthiophene Thiosemicarbazone: Synthesis, Characterization, Crystal Structures, and in Vitro Antitumor Activity. Organometallics. v. 31, p. 2256–2262, 2012.

AL-MAYTHALONY, A. B., WAZEER, I. M. M., ISAB, A. A. Synthesis and characterization of gold(III) complexes with alkyldiamine ligands. Inorganic Chimica Acta. v. 362, p. 3109-3113, 2009.

ANTELO, J. M. *et al.* Synthesis and Structural Characterization of Palladium and Platinum Bimetallic Compounds Derived From Bidentate P,S-Palladacycle Metaloligands. Crystal Growth & Design. v. 10, 700-708, 2010.

APPLETON, T. G. *et al.* NMR Study of the Reactions of the *Cis*-diamminediaquaplatinum(II) Cation with Glutathione and Amino Acids Containing a Thiol Group. Inorganic Chemistry. v.28, p. 2030-2037, 1989.

ASIRI, A. M. & KHAN, S. A. Palladium(II) Complexes of NS Donor Ligands Derived from Steroidal Thiosemicarbazones as Antibacterial Agents. Molecules. v. 15, p. 4784-4791, 2010.

BAENZIGER, N. C.; BENNETT, W. E.; SOBOROFF, D. M. Crystal Structure communications. v. B32, p. 962-963, 1976.

BAKKAR, M. S. *et al.* Preparation and Investigation of the Bonding Mode in the Complexes of Pt(II) with Thiosemicarbazone. Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-organic Chemistry. v.33, p. 1157, 2003.

BARNARD, C. F.J.; CLEAR, M. J. & HYDES, P. C. Second generation of anticancer platinum compounds. Chemistry in Britain. v. 22, p. 1001–1004, 1986.

BARNARD, P. J. & BERNERS-PRICE, S. J. Targeting the mitochondrial cell death pathway with gold compounds. Coordination Chemistry Reviews. v. 251, p. 1889–1902, 2007.

BARREIRO E. *et al.* Synthesis, structure and cytotoxicity of triphenylphosphinegold(I) sulfanylpropenoates. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 102, p. 184–192, 2008.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. The Journal of Chemical Physics. v. 98, p. 5648, 1993.

BERALDO, H. & GAMBINO, D. The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. Mini Reviews in Medicinal Chemistry. v. 4, p. 31-39, 2004.

BERALDO, H. Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: perfil farmacológico e usos clínicos. Química Nova. v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004.

BERALDO, H. Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal. Química Nova na Escola. n. 6, p. 4-6, 2005.

BERALDO, H. Tendências atuais e as perspectivas futuras da química inorgânica. Ciencia e Cultura. v. 63, p. 29-32, 2011.

BERALDO, H. & FANTINI, O. E. Spectroscopic studies of metal complexes containing π -delocalized sulfur ligands. Mössbauer and kinetic studies of iron(II) and iron(III) complexes of the antitumor agent 2-formylpyridine thiosemicarbazone. Inorganica Chimica Acta. v. 172, p. 113-127, 1990.

BHARTI, N. *et al.* Synthesis and in vitro antiprotozoal activity of 5-nitrothiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone derivatives. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. v. 12, p. 3475-3478, 2002.

BINDOLI, A. *et al.* Thioredoxin reductase: A target for gold compounds acting as potential anticancer drugs. Coordination Chemical Reviews. v. 253, p. 1692, 2009.

BRETT, M. S. *et al.* ^{195}Pt NMR—theory and application. Chemical Society Reviews. v. 36, p. 665-686, 2007.

BRUCKMAN, R. W. *et al.* Cancer's Molecular Sweet Tooth and the Warburg Effect. Cancer Research. v. 16, p. 167-177, 1956.

CASAS, J. A. *et al.* Complexes of dichloro[2-(dimethylaminomethyl)phenyl- C^1, N] gold(III), $[\text{Au}(\text{damp-}\text{C}^1, \text{N})\text{Cl}_2]$, with formylferrocene thiosemicarbazones: synthesis, structure and cytotoxicity. Journal Inorganic Biochemistry. v. 98, p. 1009-1016, 2004.

CASAS, J. S. *et al.* A gold(I) complex with a vitamin K3 derivative: characterization and antitumoral activity. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 100, p. 1858–1860, 2006.

CASINI, A. *et al.* Gold(III) compounds as anticancer agents: Relevance of gold–protein interactions for their mechanism of action. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 102, p. 564–575, 2008.

CASTIÑEIRAS, A. *et al.* A Convenient Mode to Stabilize M^{I} Metal Ions by Using Thiosemicarbazones. European Journal of Inorganic Chemistry. v.32, p. 5106–5111, 2008.

CASTIÑEIRAS, A. *et al.* Supramolecular Architecture in gold(I) and gold(III) 2-Pyridineformamide Thiosemicarbazone Complexes by Secondary Interactions: Synthesis, Structures, and Luminescent Properties. Crystal Growth Design. v. 12, p. 1432-1442, 2012.

CHARTONI-SOUZA, E. *et al.* Synthesis and characterization of a tetracycline-platinum (II) complex active against resistant bacteria. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 99, p. 1001-1009, 2005.

CHRISTIAN, M. C. Abstracts. Seventh Internacional Symposium on Platinum and Other Metal Coordination Compounds in Cancer Chemotherapy, S128, 1995.

CUIN, A. *et al.* Synthesis, X-Ray Structure and Antimycobacterial Activity of Silver Complexes with alpha-hydroxycarboxylic Acids. Journal of Inorganic Biochemistry, v. 101, p. 291-296, 2007.

DA SILVA, P. I. *et al.* Palladium(II) Complexes with Thiosemicarbazones. Syntheses, Characterization and Cytotoxicity against Breast Cancer Cells and Anti-*Mycobacterium tuberculosis* Activity. Journal Brazilian Chemistry Society. v. 21, p. 1177-1186, 2010.

DE ALMEIDA, V. L. *et al.* Cancer and cell cycle-specific and cell cycle nonspecific anticancer DNA-interactive agents: An introduction. Quimica Nova. v. 28, p. 118-129, 2005.

DEMERTZI, D. K. *et al.* Synthesis, characterization, toxicity, cytogenetic and in vivo antitumor studies of 1,1-dithiolate Cu(II) complexes with di-, tri-, tetra-amines and 1,3-thiazoles. Structure-activity correlation. Bioorganic & Medicinal Chemistry. v. 7, p. 3142-315, 2009.

DESOIZE, B. & MADOULET, C. Metal ions and cancer. Metal Ions in Biology and Medicine. v. 7, p. 589-594, 2002.

DUNNING T. H. & HAY, P. J. In Modern Theoretical Chemistry, H.F. Schaefer III (Ed.), v. 3, p. 1-28, Springer, New York, 1976.

FARRELL, N. P. Transition Metal Complexes as Drug and Chemotherapeutic Agents, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1989.

FARRELL, N. *et al.* Multinuclear platinum-195 and nitrogen-15 magnetic resonance spectroscopic studies of the reaction of potassium trichloroammineplatinate with potassium iodide and amines. Magnetic Resonance in Chemistry, v. 31, p. 920-4, 1993.

FARRELL, N. *et al.* Metal complexes as drugs and chemotherapeutic agents. Comprehensive Coordination Chemistry II. v. 9, p. 809-840, 2004.

FERRAZ, K. S. O. Perfil farmacológico de compostos com aplicações como agentes antineoplásicos, antimicrobianos e na terapia de doenças neurodegenerativas. Departamento de Química, 2012.

FEUN, L. *et al.* Phase I and pharmacokinetic study of 3-aminopyridine-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-AP) using a single intravenous dose schedule. Cancer National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), 2002. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Approved standard M100-512, v. 22, n. 01, 2002.

FIORENTINO, M. V.; GHIOTTO, C. High-dose medroxyprogesterone in disseminated breast cancer. Correlation between bioavailability and clinical response. Tumori. v. 73, p. 617-21, 1987.

Frisch, M. J. *et al.* Gaussian 09, Revision A. 02, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009.

FONTES, A. P. S. *et al.* Compostos de platina em quimioterapia do cancer. Quimica Nova, v. 20, p. 398-406, 1997.

FONTES, A. P. S., CÉSAR, E. T., BERALDO, H. A Química Inorgânica na Terapia do Câncer. Química Nova na Escola (cadernos temáticos). v. 6, p. 13-18, 2005.

FRICKER, S. P. Medical uses of gold compounds: past, present and future. Gold Bulletin. v. 53, p. 29, 1996.

GABBIANI, C., CASINI, A., MESSORI, L. Gold(III) compounds as anticancer drugs. Gold Bull. v. 40, p. 73–81, 2007.

GANDIN, V. *et al.* Cytotoxicity in human cancer cells and mitochondrial dysfunction induced by a series of new copper(I) complexes containing tris(2-cyanoethyl) phosphines. Biochemical Pharmacology. v. 79, p. 90-101, 2010.

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. Coordination Chemical Reviews. v. 7, p. 81-122, 1971.

GORDON, M. & Hollander, S. Review of platinum anticancer compounds. Journal of Medicine. v. 24, p. 209-65, 1993.

GREEN, M.; GARNER, M.; ORTON, D. M. Cisplatin – the last 5 years. Transition metal chemistry. v. 17, p. 164, 1992.

GUERRA, W. *et al.* Synthesis, characterization, and antibacterial activity of three palladium(II) complexes os tetracyclines. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 99, p. 2348, 2005.

HANG, H. C. & Bertozzi, C. R. Chemoselective Approaches to Glycoprotein Engineering. Accounts of Chemical Research. v. 34, p. 727-736, 2001.

HAY P. J. & WADT. W. R. *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals. The Journal of Chemical Physics. v. 82, p. 299, 1985.

HARRIS, A. L. *et al.* Synthesis and Characterization of the DNA Binding and Cytotoxicity of a Novel Trinuclear Highly Charged Compound. Inorganic Chemistry. v. 44, p. 9598, 2005.

HENDERSON, W.; Nicholson, B. K.; Rickard, C. E. F. Platinum(II) complexes of chelating and monodentate thiourea monoanions incorporating chiral, fluorescent or chromophoric groups. Inorganica Chimica Acta. v. 320, p. 101-109, 2001.

HERNANDEZ, W. *et al.* Nucleotide and amino acid mutations in human immunodeficiency virus corresponding to CD4+ decline. Archives of Virology. v. 151, p. 1149-1158, 2006.

HERNANDEZ, W. *et al.* Synthesis, Characterization, and In Vitro Cytotoxic Activities of Benzaldehyde Thiosemicarbazone Derivatives and Their Palladium(II) and Platinum(II) Complexes against Various Human Tumor Cell Lines. Bioinorganic Chemistry and Applications. v. 2008, p. 1-9, 2008.

HONG, W. S. *et al.* Novel iron carbonyl complexes from thiophene-2-carboxaldehyde thiosemicarbazone. Journal of Organometallic Chemistry. v. 689, p. 277-285, 2004.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. 2012. Disponível em: <www.INCA.gov.br >. Acesso em: 13 fevereiro, 2014.

JAMIESON, E. R.; LIPPARD, S. J. Structural and kinetic studies of a cisplatin-modified DNA icosamer binding to HMG1 domain B. The Journal of Biological Chemistry, v. 274, p. 12346-54, 1999.

JANSEN, G & Hess, B. A. Revision of the Douglas-Kroll transformation. Physical Review. v. 39, p. 6016, 1989.

JUDGE, R. H. *et al.* Thioamide spectroscopy: long path length absorption and quantum chemical studies of thioformamide vapour, CH₃SNH₂/CH₃SND₂. Canadian Journal of Chemistry. v. 65, p. 2100-2105, 1987.

JUNG, Y. W.; LIPPARD, S. J. Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage. Chemical Reviews. v. 107, p. 1387-1407, 2007.

KARALI, N. Synthesis and primary cytotoxicity evaluation of new 5-nitroindole-2,3-dione derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry. v. 37, p. 909-927, 2002.

KASUGA, N. C. *et al.* Synthesis, structural characterization and antimicrobial activities of 12 zinc(II) complexes with four thiosemicarbazone and two semicarbazone ligands. Journal Inorganic Biochemistry. v. 96, p. 298-310, 2003.

KEAN, F. W.; HART, L. & BUCHANAN, W. W. Disease-modifying drugs: Auranofin. British Journal of Rheumatology. v. 36, p. 560-572, 1997.

KHANYE, S. D. *et al.* Synthesis and in vitro evaluation of gold(I) thiosemicarbazone complexes for antimalarial activity. Journal of Inorganic Biochemistry. v.104, p. 1079–1083, 2010.

KHANYE, S. D. *et al.* Gold (I) Derived Thiosemicarbazone complexes with rare halogen-halogen interaction-Reduction of $[Au(dmp-C1,N)Cl_2]$. Dalton Transactions. v. 39, p. 2697–2700, 2010.

KOMEDA, S. *et al.* Phosphate clamps by polynuclear platinum complex. Journal of the American Chemical Society. v.128, p.16092-103, 2006.

KOMEDA, S. *et al.* The phosphate clamp: a small and independent motif for nucleic acid backbone recognition. Nucleic Acids Research. v. 39, p. 325–336, 2011.

KOUROULIS K. N. *et al.* Synthesis, structural characterization and in vitro cytotoxicity of new Au(III) and Au(I) complexes with thioamides. Dalton Transactions. v. 47, p. 10446–10456, 2009.

KOVALA-DEMERTZI, D. *et al.* Platinum(II) complexes with 2-acetyl pyridine thiosemicarbazone. Synthesis, crystal structure, spectral properties, antimicrobial and antitumour activity. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 86, p. 555-63, 2001.

LESSA, J. *et al.* Gold(I) complexes with thiosemicarbazones: cytotoxicity against human tumor cell lines and inhibition of thioredoxin reductase activity. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 105, p. 1729-1739, 2011.

LESSA, J. *et al.* Spectroscopic and electrochemical characterization of gold(I) and gold(III) complexes with glyoxaldehyde bis(thiosemicarbazones): cytotoxicity against human tumor cell lines and inhibition of thioredoxin reductase activity. Biomaterials. v. 25, p. 587–598, 2012.

LIANG, X. J.; SHEN, D. W. & GOTTESMAN, M. M. Reduced endocytosis and altered lysosome function in cisplatin-resistant cell lines. British Journal of Cancer. v. 88, p. 1327-1334, 2003.

LIBERTA, A. E. & WEST, D. X. Antifungal and antitumor activity of heterocyclic thiosemicarbazones and their metal complexes: current status. BioMetals. v. 5, p. 121-126, 1992.

LIPPARD, S. & C. X. Zhang, S. New metal complexes as potential therapeutics. Current Opinion in Chemical Biology. v. 7, p. 481, 2003.

LOBANA, S. T. *et al.* The Influence of Substituents at C₂ Carbon Atom of Thiosemicarbazones {R(H)C₂N₃-N₂(H)-C₁(S)-N₁H₂} on their Dentacy in PtII/PdII Complexes: Synthesis, Spectroscopy, and Crystal Structures. Z. Anorg. Allg. Chem. v. 634, p. 931- 937, 2008.

LOBANA, S. T. *et al.* Thiosemicarbazones of palladium(II): The presence of methyl/pheny substituents (R₂) at C₂ carbon atom induces CeH activation of R₁ rings of thiosemicarbazones {R₁R₂C₂]N₃eN₂HeC₁(J)S)eN₁HR₃}. Journal of Organometallic Chemistry. v. 701, p. 17- 26, 2012.

MAIA P. I. S. *et al.* Palladium(II) Complexes with Thiosemicarbazones. Syntheses, Characterization and Cytotoxicity against Breast Cancer Cells and Anti-Mycobacterium tuberculosis Activity. Journal of the Brazilian Chemical Society. v. 21, p.1177-1186, 2010.

MAIA P. I. S. *et al.* Neutral Gold Complexes with Tridentate SNS Thiosemicarbazide Ligands. Inorganic Chemistry. v. 51, p. 1604–1613, 2012.

MARZANO, C. *et al.* Inhibition of thioredoxin reductase by auranofin induces apoptosis in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells. Free Radical Biology and Medicine. v. 42, n. 6, p. 872–881, 2007.

MATESANZ, A. I. *et al.* Synthesis and characterization of novel palladium(II) and DNA binding of Pd(II)-benzyl bis(thiosemicarbazone). Journal of Inorganic Biochemistry. v. 76, p. 29-37, 1999.

MATESANZ, A. I. & SOUZA, P. Novel cyclopalladated and coordination palladium and platinum complexes derived from a-diphenyl ethanedione bis(thiosemicarbazones): Structural studies and cytotoxic activity against human A2780 and A2780cisR carcinoma cell lines. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 101, p. 1354–1361, 2007.

MESSORI, L. & MARCON, G. Gold complexes in the treatment of rheumatoid arthritis. Metal Ions in Biological Systems. v. 41279, p. 279–304, 2004.

MESSORI, L. *et al.* Gold(III) complexes with 2-substituted pyridines as experimental anticancer agents: Solution behavior, reactions with model proteins, antiproliferative properties. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 108, p. 123–127, 2012.

MIRABELLI, C. K. *et al.* In vivo antitumor activity and in vitro cytotoxic properties of bis[1,2 bis(diphenylphosphino)ethane]gold(I) chloride. Journal of Medicinal Chemistry. v. 29, p. 218, 1986.

MISTRY, B.D. A Handbook of Spectroscopic Data CHEMISTRY (UV, IR, PMR, ¹³CNMR and Mass Spectroscopy). Oxford, Jaipur, India, 2009.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application proliferation and cytotoxicity assays. Journal Immunol Methods. v. 65, p. 55-63, 1983.

NCI. National Cancer Institute. 2009. Disponível em: <www.cancer.gov>. Acesso em: 13 fevereiro, 2014.

OTT, I. *et al.* A Gold(I) Phosphine Complex Containing a Naphthalimide Ligand Functions as a TrxR Inhibiting Antiproliferative Agent and Angiogenesis Inhibitor. Journal of Medicinal Chemistry. v. 52, p 763–770, 2009.

PADHYE, S. *et al.* Antitumor metallothiosemicarbazones: structure and antitumor activity of palladium complex of phenanthrenequinone thiosemicarbazone. Journal of Inorganic Chemistry. v. 7, p. 1154-1160, 2005.

PANICO, R.; POWELL, W. H. & RICHER, J. C. IUPAC – Nomenclature of organic compounds. Blackwell: London, 1993.

PASCHOAL, D. *et al.* The role of the basis set and the level of quantum mechanical theory in the prediction of the structure and reactivity of cisplatin. Journal of Computational Chemistry. v.33, p. 2292, 2012.

PASCHOAL, D. *et al.* Em preparação.

PASINI, A. & ZUNINO, F. Synthesis and antitumor activity of a platinum (II)-doxorubicin complex. Cancer chemotherapy and pharmacology. v. 18, p. 180-2, 1987.

PAZ, J. H. *et al.* Synthesis, Characterization, and In Vitro Cytotoxic Activities of Benzaldehyde Thiosemicarbazone Derivatives and Their Palladium(II) and Platinum(II) Complexes against Various Human Tumor Cell Lines Wilfredo. Bioinorganic Chemistry and Applications. v. 2008, 2008.

PEREZ, M. *et al.* Pd(II) and Pt(II) complexes with aromatic diamines: study of their interaction with DNA. Journal of Inorganic Biochemistry, v. 98, p. 510-521, 2004.

QU, Y. *et al.* Cisplatin as a Synthone - Synthesis and Characterization of Triplatinum Complexes Containing 3 Cis-Pt(Amine)₂ Units Linked in a Linear Fashion. Inorganic Chemistry, Washington, v. 32, p. 2591-2593, 1993.

QUIROGA, A. G. *et al.* Palladated and Platinated Complexes Derived from Phenylacetaldehyde Thiosemicarbazone with cytotoxic activity in cis-DDP Resistant Tumor Cells. Formation of DNA Interstrand Cross-Links by these Complexes. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 70, p. 117-123, 1998.

RACKHAM, O. *et al.* A gold(I) phosphine complex selectively induces apoptosis in breast cancer cells: Implications for anticancer therapeutics targeted to mitochondria. Biochemistry Pharmacological. v. 74, p. 992–1002, 2007.

RIGOBELLO, M. P. *et al.* Gold(I) complexes determine apoptosis with limited oxidative stress in Jurkat T cells. European Journal of Pharmacology. v.582, p. 26–34, 2008.

ROBERTS, J. D. *et al.* Interaction of novel bis(platinum) complexes with DNA. Nucleic acids research. v. 17, p. 9719-33, 1989.

ROSENBERG, B. *et al.* Platinum Compounds - a New Class of Potent Antitumour Agents. Nature. v. 222, p. 385, 1969.

ROSENBERG, B. Vancamp, L. Krigas, T. Inhibition of cell division in escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. Nature. v. 205, p. 698-9, 1965.

ROSU, T. *et al.* Synthesis, characterization antibacterial and antiproliferative activity of novel Cu(II) and Pd(II) complexes with 2-hydroxy-8-R-tricyclo[7.3.1.0.2,7] tridecane-13-one thiosemicarbazone. European Journal of Medicinal Chemistry. v. 45, p. 1627–1634, 2010.

ROULET, R.; Lan, N. Q.; Mason, W. R.; Fenske Jr, G. P. Oxidation – Reduction Reactions of Tetrachloroaurate(III) Anion with Triphenyl Derivatives of Group V Elements Helvetica Chimica Acta. v.7, p. 2405-2418, 1973.

SAAD, E. M. *et al.* Studies on bismuth(III) complexes of ligands containing nitrogen/sulfur and extractive procedure for determination of Bi(III). Transition Metal Chemistry. v. 32, p. 155–162, 2007.

SANTOS, I. G.; HAGENBACH, A. & ABRAM, U. Gold complexes with thiosemicarbazones: reactions of bi- and tridentate thiosemicarbazones with dichloro[2-dimethylamino-methyl]phenyl-C¹,N] gold(III), [Au(damp-C¹,N)Cl₂]. Dalton Transitions. v.32, p. 735-744, 2000.

SARTORELLI, A. C.; AGRAWAL, K. C. & MOORE, E. C. Mechanism of inhibition of ribonucleoside diphosphate reductase by *ga-(n)*-heterocyclic aldehyde thiosemicarbazones. Biochemical Pharmacology. v. 20, p. 3119-3123, 1971.

SCALMANI, G & Frisch, M. J. Continuous surface charge polarizable continuum models of solvation. I. General formalism. The Journal of Chemical Physics, v. 132, p. 114110, 2010.

SHAW, C. F. Gold-based therapeutic agents. Chemical Reviews. v. 99, p. 2589–2600, 1999.

SHAW, C. F. The protein chemistry of antiarthritic gold(I) thiolates and related complexes. Comments Inorganic Chemistry. v. 8, p. 233–267, 1989.

SILVA, H. *et al.* Novel Platinum(II) Complexes of Long Chain Aliphatic Diamine Ligands with Oxalato as the Leaving Group. Comparative Cytotoxic Activity Relative to Chloride Precursors. Journal Of The Brazilian Chemical Society. v. 21, p. 1961-1967, 2010.

SILVA, H. *et al.* Impact of the carbon chain length of novel platinum complexes derived from N-alkyl-propanediamines on their cytotoxic activity and cellular uptake. Journal of Inorganic Biochemistry. v. 102, p. 767-772, 2008.

SILVERSTEIN, R. M., Webster, F. K., Kiemle, D. J. Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos, 5ª Ed., Editora LTC, 289, 1991.

SILVERSTEIN, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J., Spectrometric Identification of Organic Compounds, 7 ed., John Wiley, New York, 2005.

SKOOG, D.A.; Holler, J.F. & Nieman, T.A. Princípios de Análise Instrumental. 5 ed., Bookman, Porto Alegre, 2002.

SREEKANTH, A. *et al.* Formation of first gold(III) complex of an N(4)-disubstituted thiosemicarbazone derived from 2-benzoylpyridine: structural and spectral studies. Inorganic Chemistry Communications. v. 7, p. 1250-1253, 2004.

SRINIVASAN, R.; Miller, B.; Paulus, H. E. Long-term chrysotherapy in rheumatoid arthritis. Arthritis & Rheumatism. v. 22, p. 105, 1979.

TAKAHARA, P. M. *et al.* Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin. Nature, v. 377, p. 649-52, 1995.

TAVARES, T. T. *et al.* Platinum(II) complexes containing long-chain hydrophobic N-alkyl-diamine ligands: Synthesis, characterization, molecular modeling, and cytotoxic activity. Journal of Inorganic Biochemistry. p. 115, v. 13, 2012.

TAVARES, T. T. *et al.* Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. Química Nova, v. 34, p. 111-118, 2011.

TEITZ, Y. *et al.* Inhibition of human immunodeficiency virus by N-methylisatin-beta 4':4'-diethylthiosemicarbazone and N-allylisatin-beta-4':4'-diallylthiosemicarbazone. Antiviral Research. v. 24, p. 305-319, 1994.

TENÓRIO R. T. *et al.* Tiosemicarbazonas: métodos de obtenção, aplicações sintéticas e importância biológica. Química Nova, v. 28, p. 1030-1037, 2005.

TIEKINK, E. R. Gold derivatives for the treatment of cancer. Critical Reviews in Oncology/Hematology. v.42, p. 225–248, 2002.

TOMINAGA, H. *et al.* A water-soluble tetrazolium salt useful for calorimetric cell viability assay. Anal. Commun. v. 36, p. 47-50, 1999.

VALDÉS-MARTÍNEZ, J. & TOSCANO, R. A. Synthesis, crystal and molecular structure of 2-methylthiosemicarbazide copper(II) nitrate, [Cu(2MeTSC)₂(NO₃)₂]. Polyhedron. v. 14, p. 579-583, 1994.

VAN DER VEER, J. L. & REEDIJK, J. Investigating antitumor drug mechanisms. Chemistry in Britain. v. 24, p.779-80, 1988.

VIEIRA, L. M. M. *et al.* Platinum(II) complexes with fluoroquinolones: Synthesis and characterization of unusual metal piperazine chelates. Inorganica Chimica Acta. v. 362, p. 2060-2064, 2009.

VIEIRA, L. M. M. *et al.* Synthesis and antitubercular activity of palladium and platinum complexes with fluoroquinolones. European Journal of Medicinal Chemistry. v. 44, p. 4107-4111, 2009.

WEAVER, J. L. Methods in Bioengineering: Microdevices in Biology and Medicine. Methods in Molecular Biology. v. 91, p. 77, 1997.

WEST, D. X., PADHYE, S. B. & SONAWANE, P. B. Structural and physical correlation in the biological properties of transition metal N-hetero-cyclic thiosemicarbazones and S-alkyldithiocarbazate complexes. Structure and Bonding. v. 76, p. 127, 1991.

WOLINSKI, K; Hilton, J. F & Pulay, P. Efficient Implementation of the Gauge-Independent Atomic Orbital Method for NMR Chemical Shift Calculations. Journal of the American Chemical Society. v.112, p. 8251, 1990.

ANEXOS:

1-SEÇÃO DE ESPECTROS

2- ARTIGO

ESPECTROS DE INFRAVERMELHO, RMN DE ^1H E ^{13}C DE TODOS OS COMPOSTOS SINTETIZADOS NO PRESENTE TRABALHO:

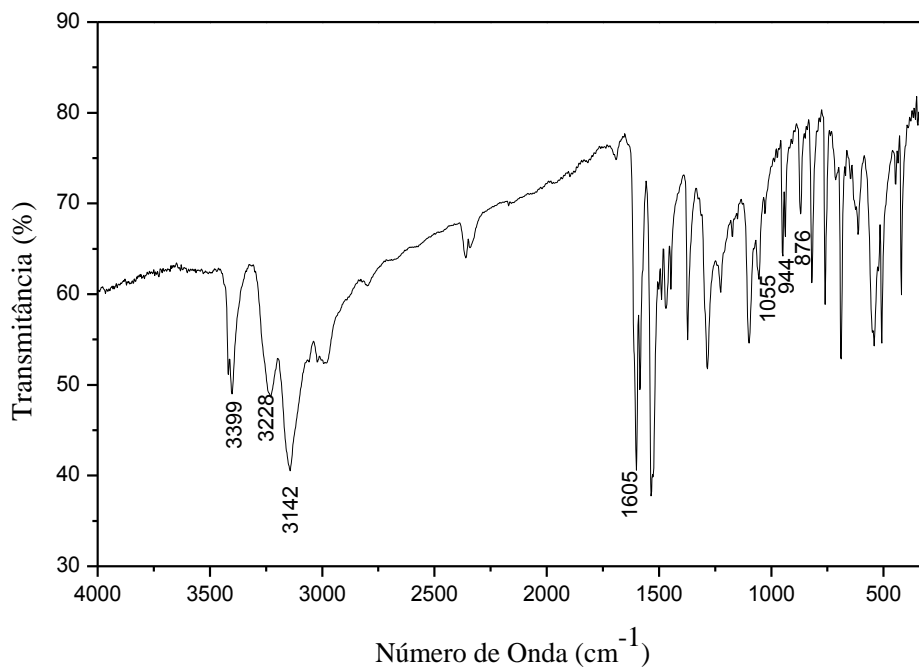


Figura A1. Espectro do IV do composto **1**, (KBr)

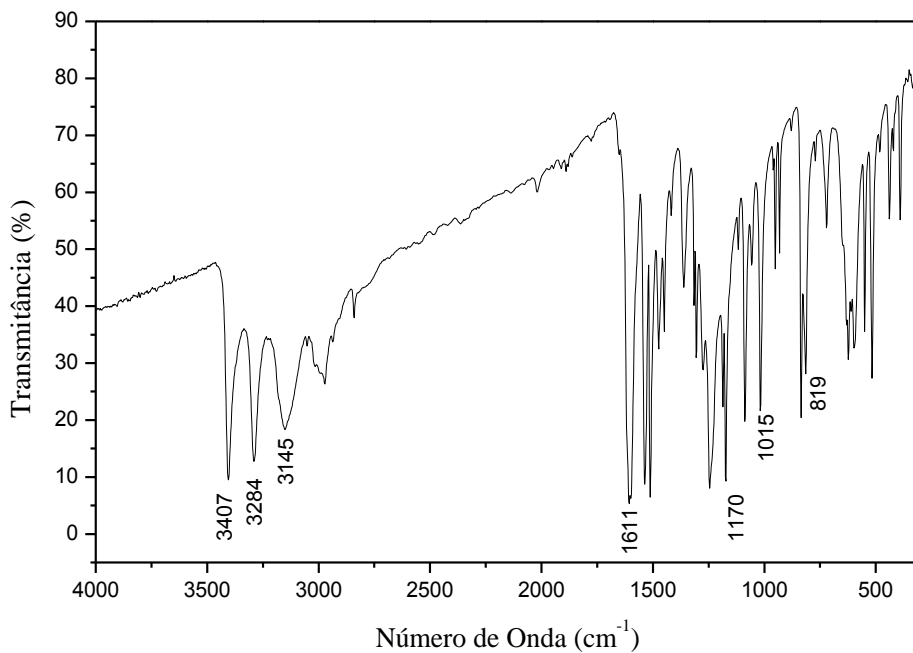


Figura A2. Espectro do IV do composto **2**, (KBr)

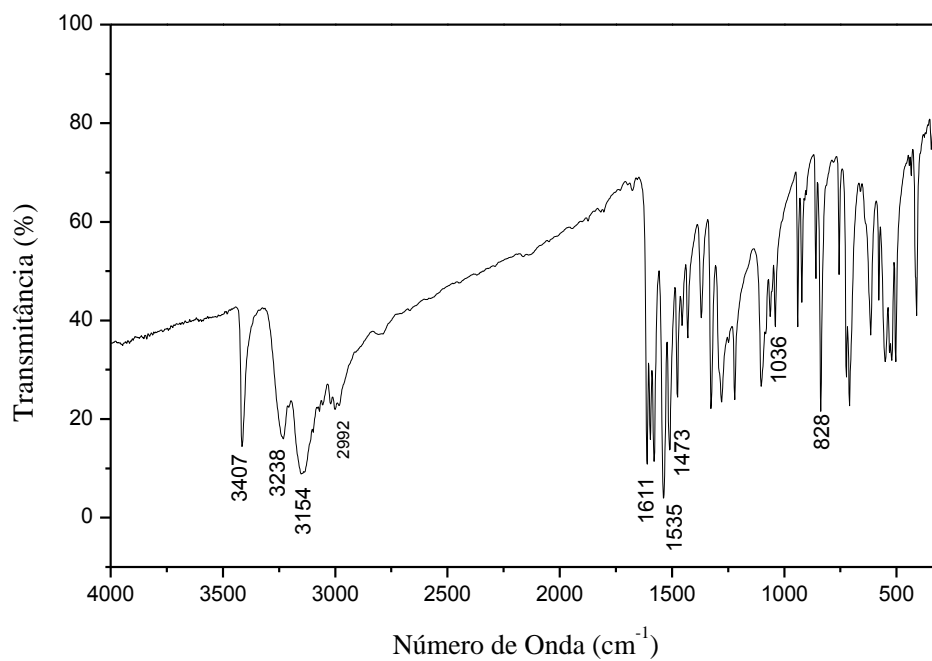


Figura A3. Espectro do IV do composto **3**, (KBr)

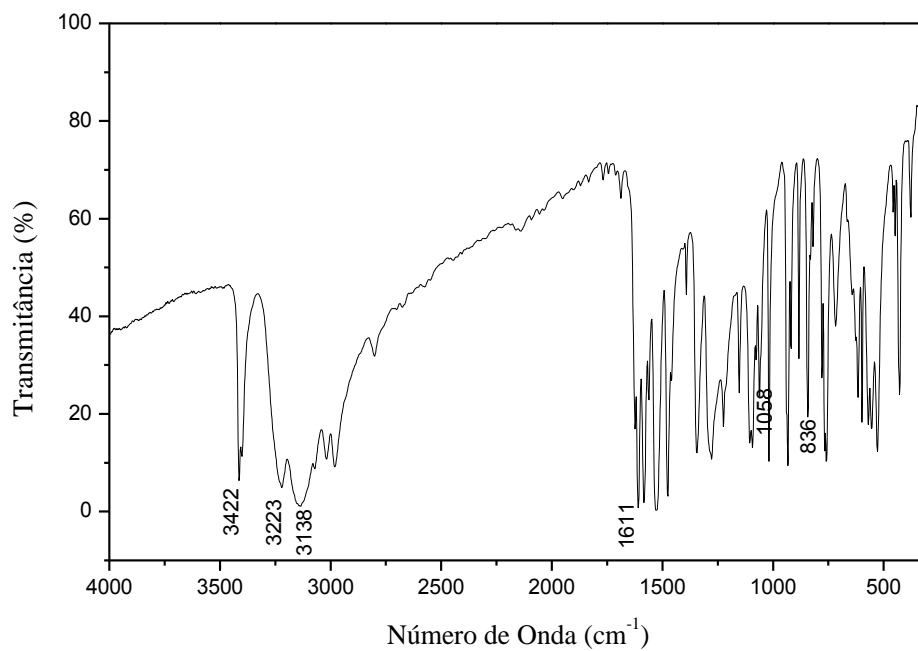


Figura A4. Espectro do IV do composto **4**, (KBr)

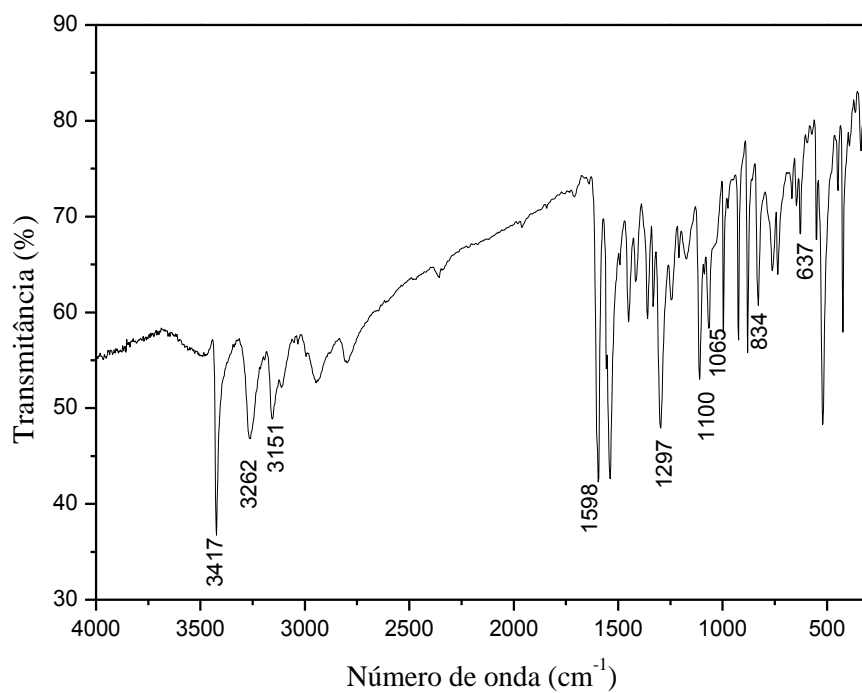


Figura A5. Espectro do IV do composto **5**, (KBr)

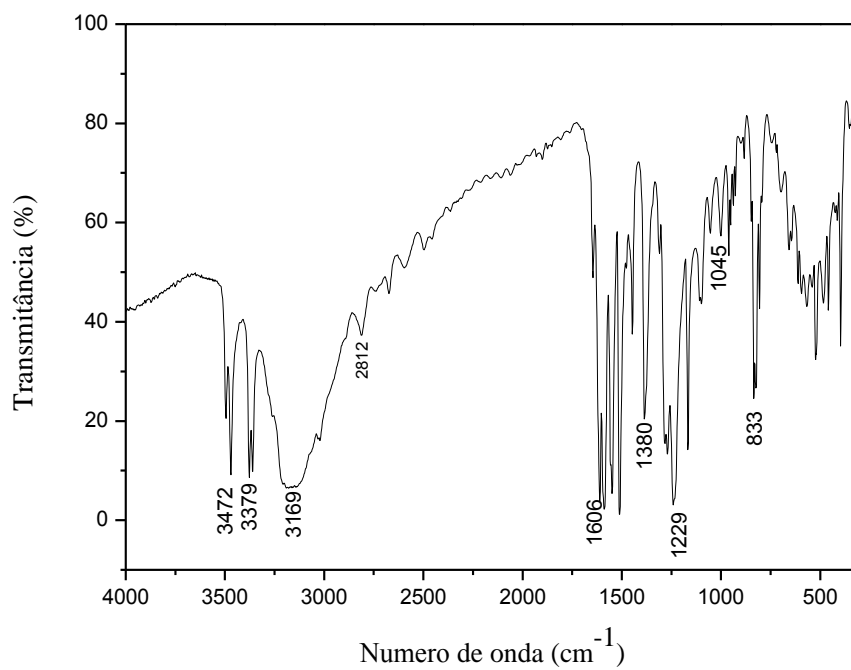


Figura A6. Espectro do IV do composto **6**, (KBr)

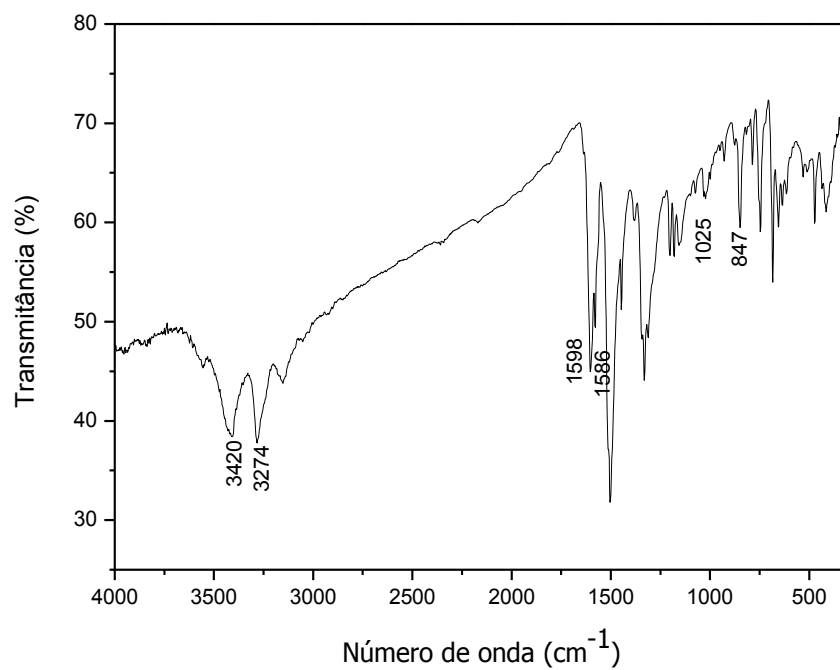


Figura A7. Espectro do IV do composto **7**, (KBr)

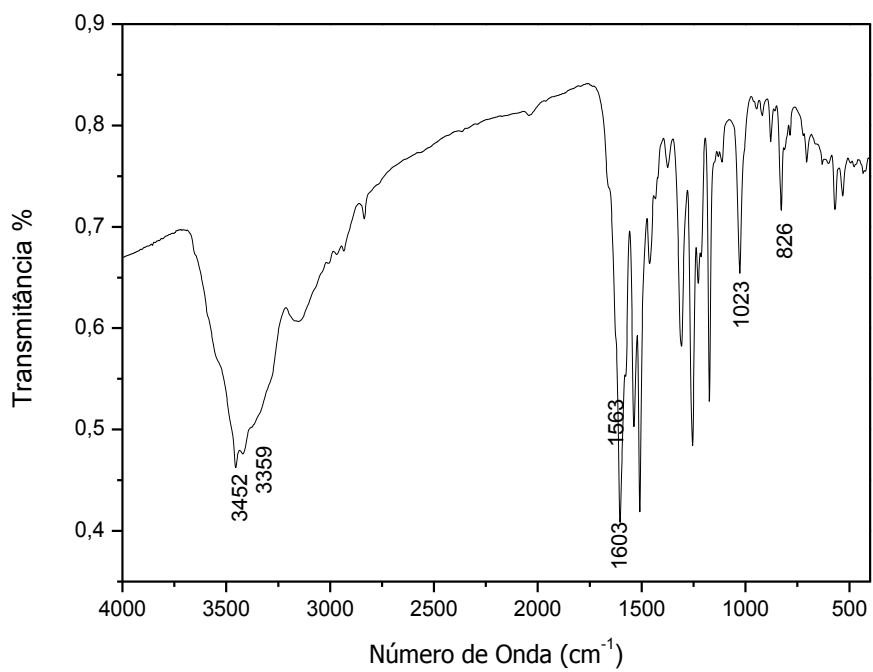


Figura A8. Espectro do IV do composto **8**, (KBr)

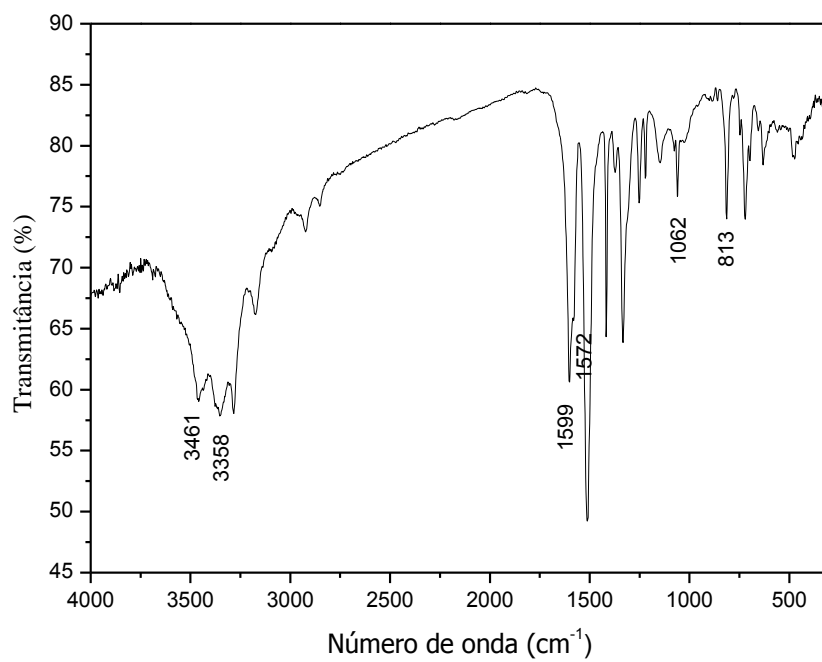


Figura A9. Espectro do IV do composto **9**, (KBr)

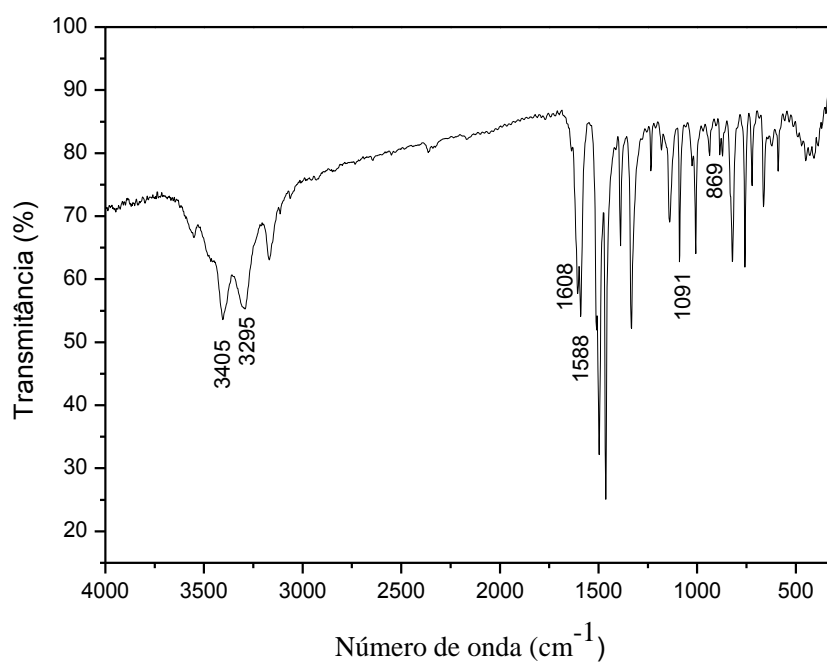


Figura A10. Espectro do IV do composto **10**, (KBr)

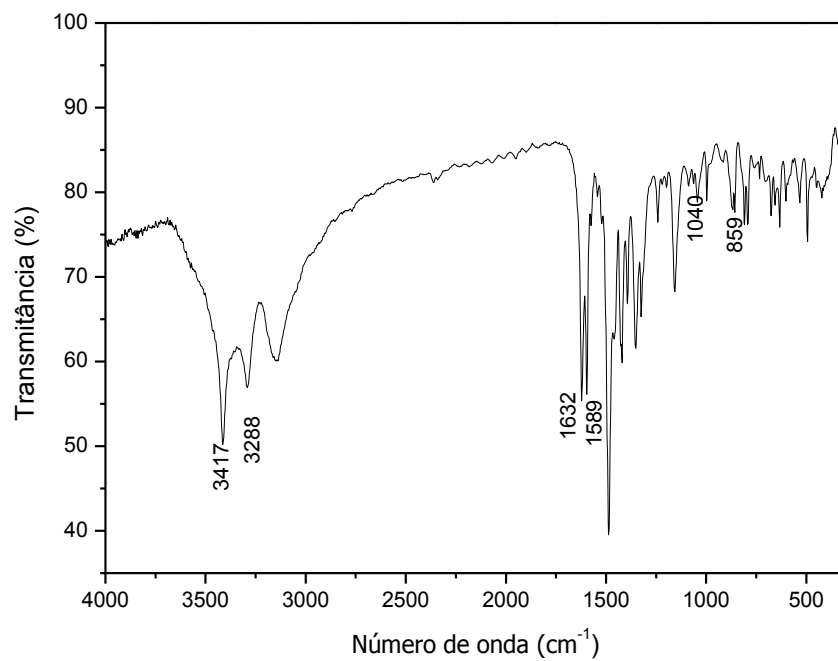


Figura A11. Espectro do IV do composto **11**, (KBr)

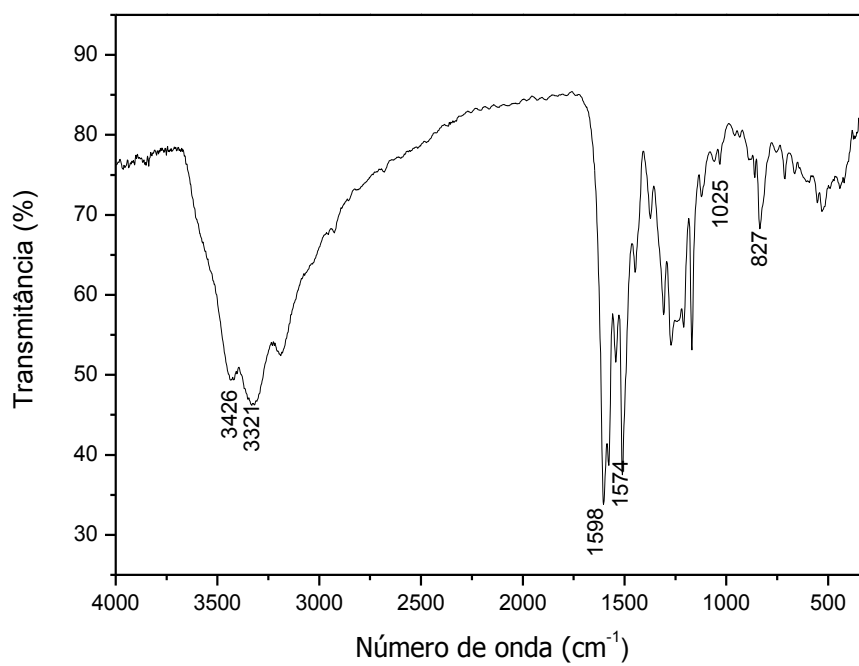


Figura A12. Espectro do IV do composto **12**, (KBr)

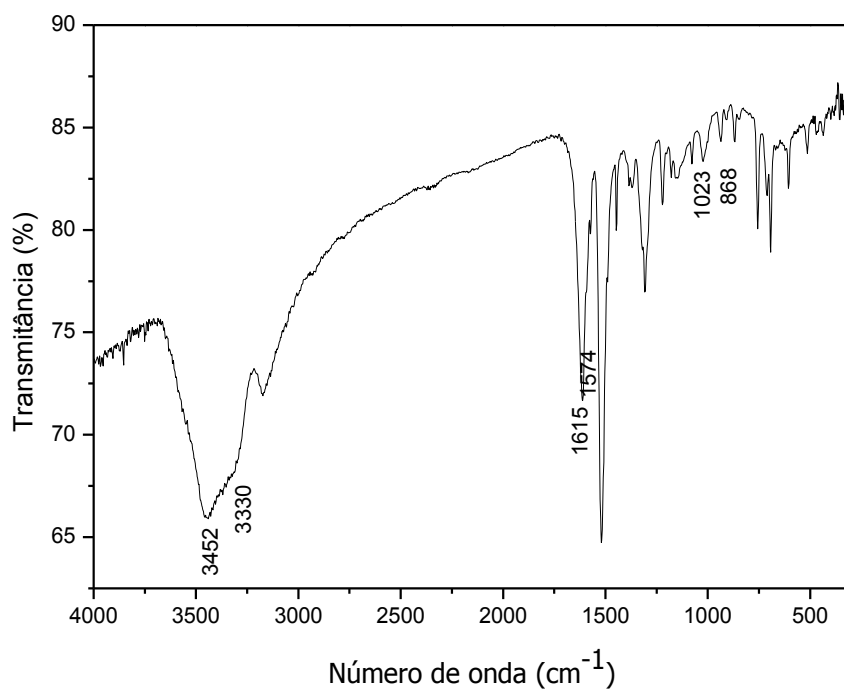


Figura A13. Espectro do IV do composto **13**, (KBr)

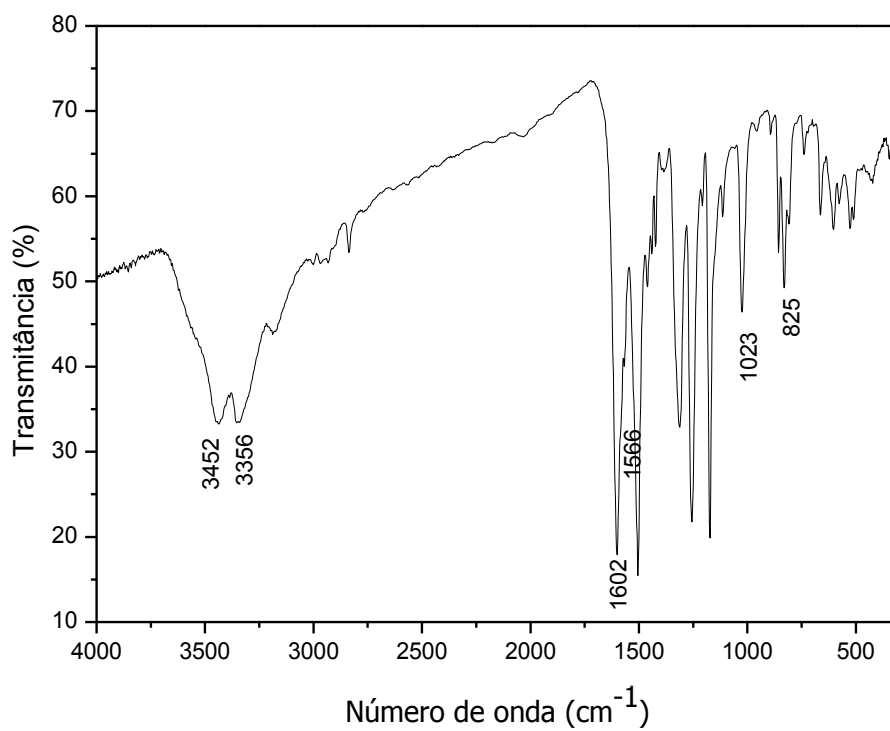


Figura A14. Espectro do IV do composto **14**, (KBr)

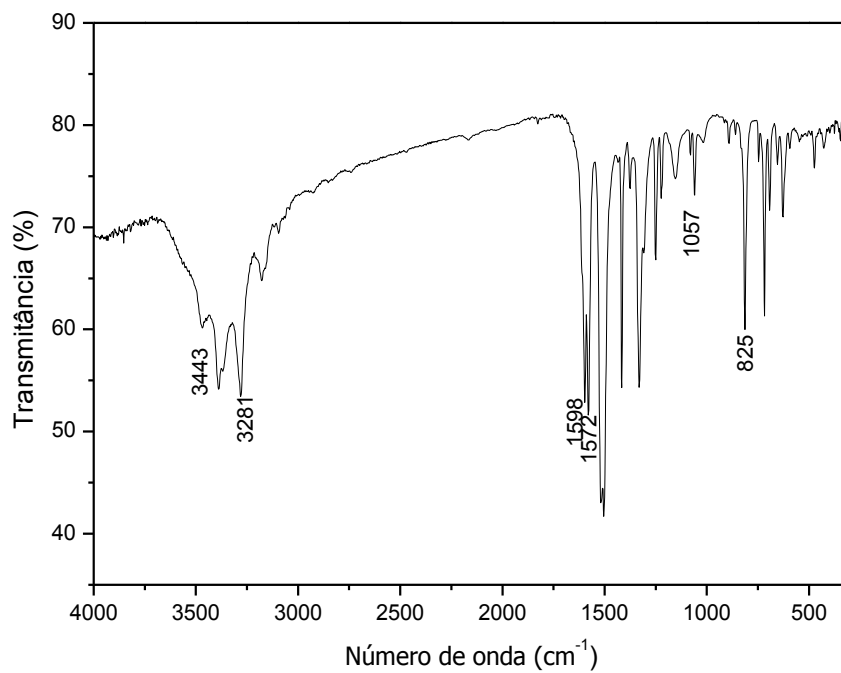


Figura A15. Espectro do IV do composto **15**, (KBr)

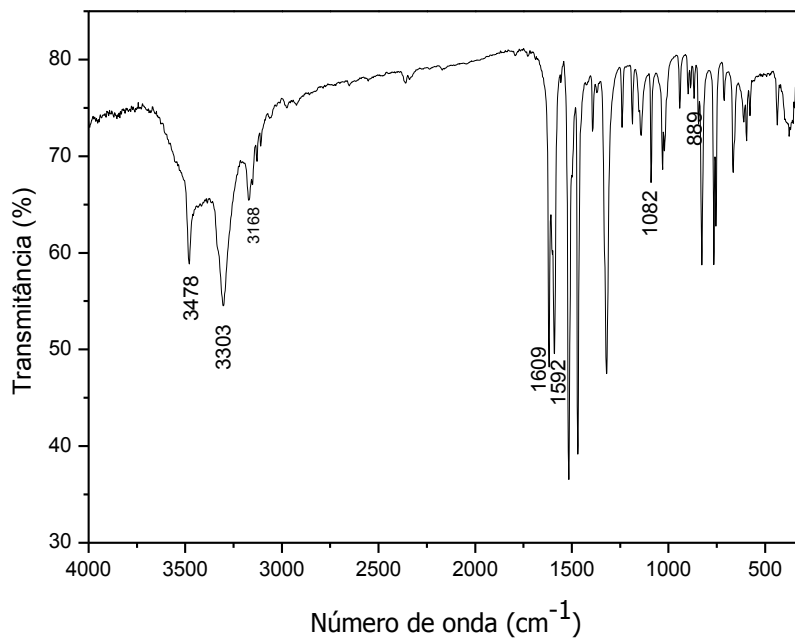


Figura A16. Espectro do IV do composto **16**, (KBr)

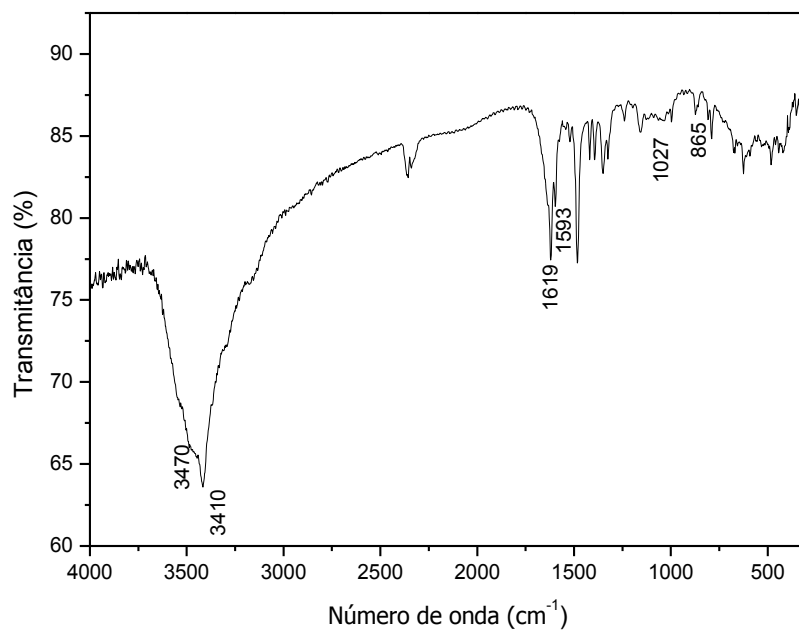


Figura A17. Espectro do IV do composto **17**, (KBr)

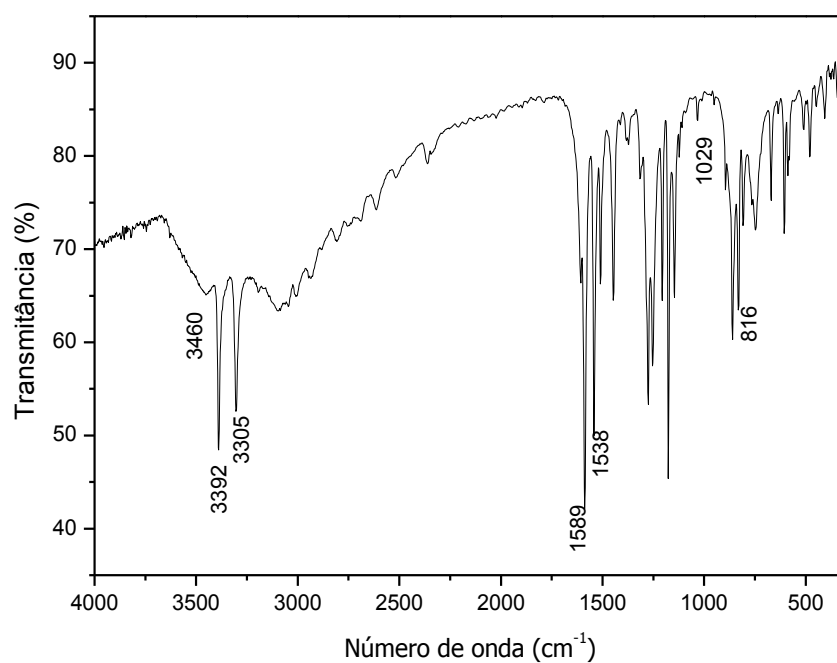


Figura A18. Espectro do IV do composto **18**, (KBr)

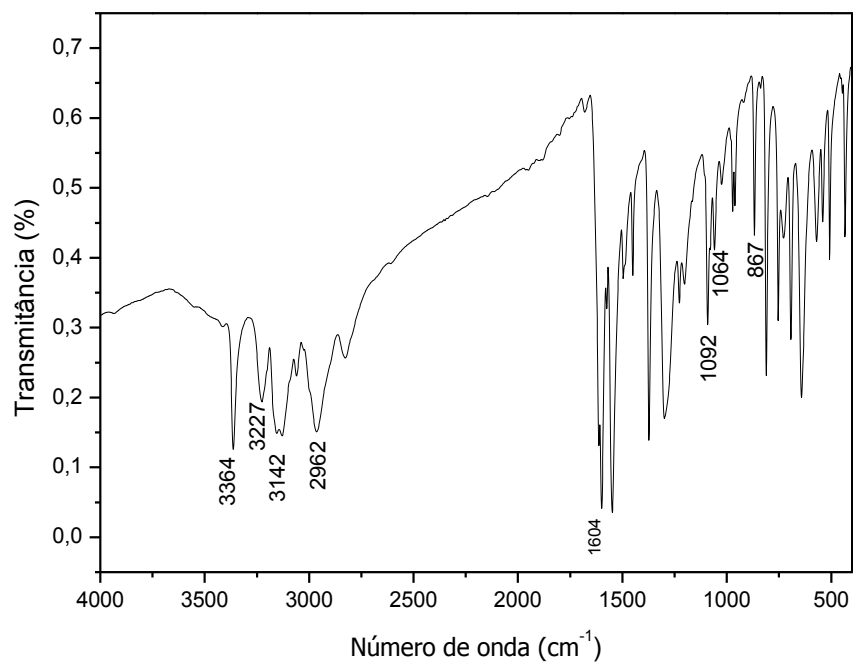


Figura A19. Espectro do IV do composto **19**, (KBr)

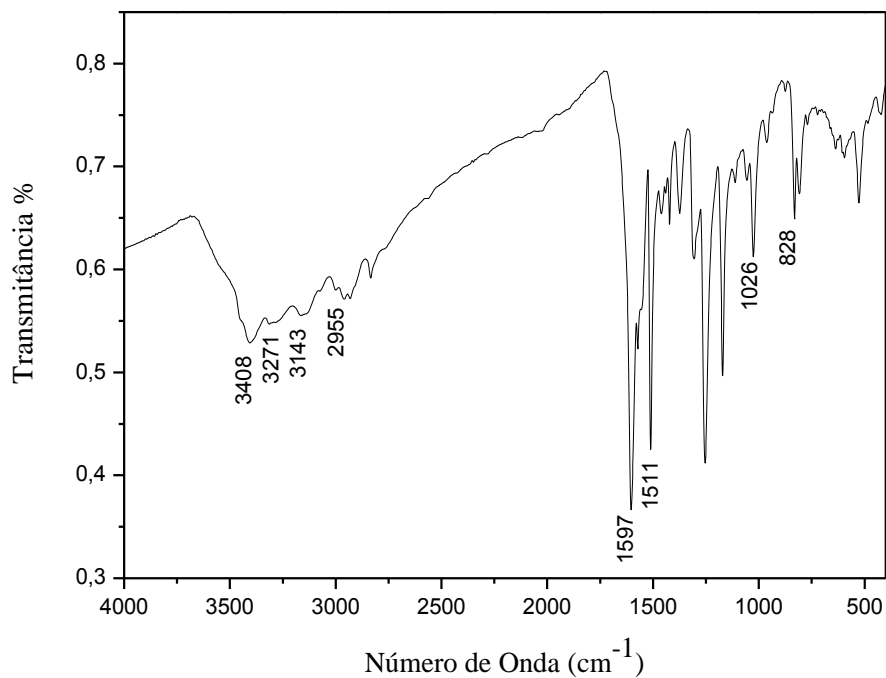


Figura A20. Espectro do IV do composto **20**, (KBr)

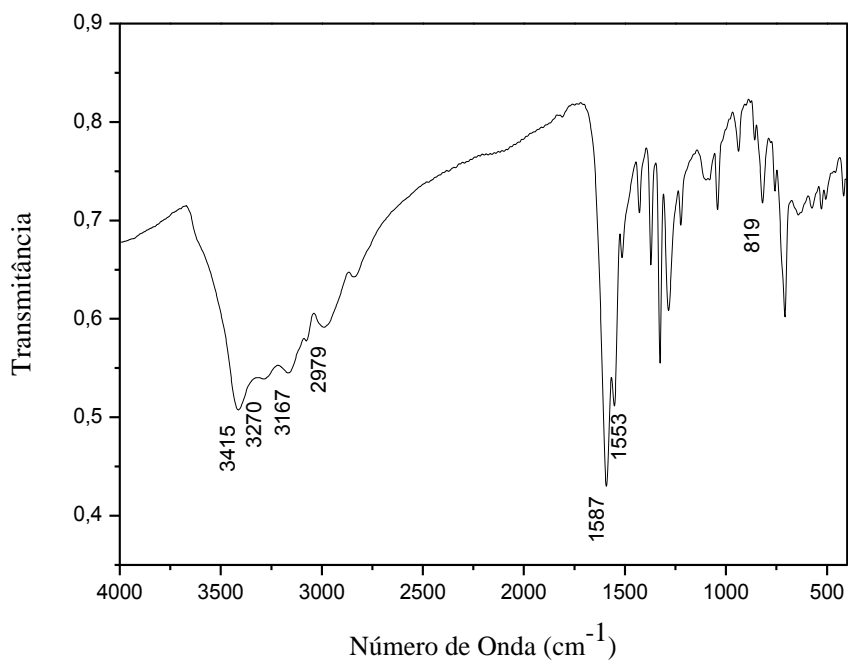


Figura A21. Espectro do IV do composto **21**, (KBr)

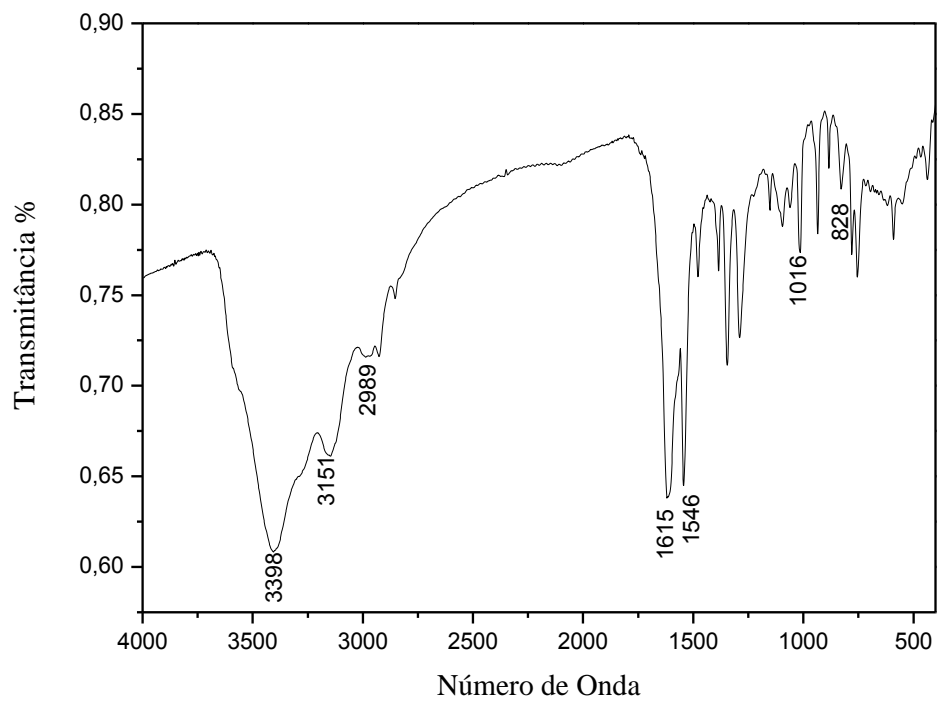


Figura A22. Espectro do IV do composto **22**, (KBr)

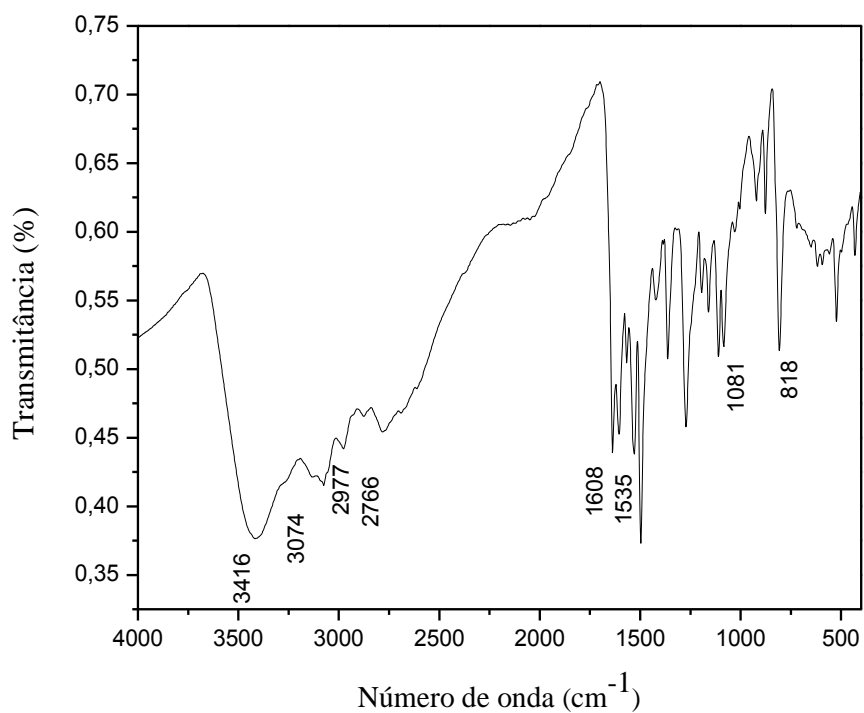


Figura A23. Espectro do IV do composto **23**, (KBr)

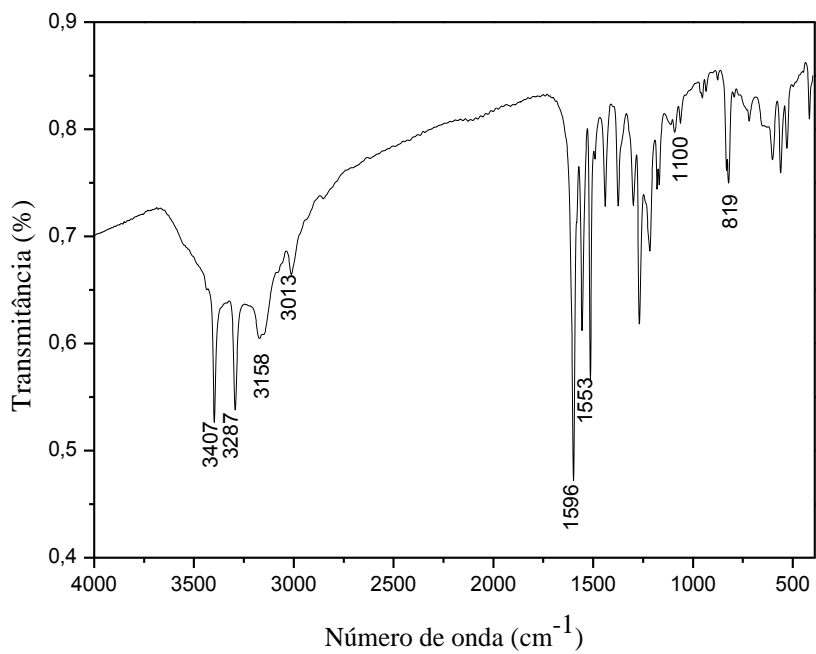


Figura A24. Espectro do IV do composto **24**, (KBr)

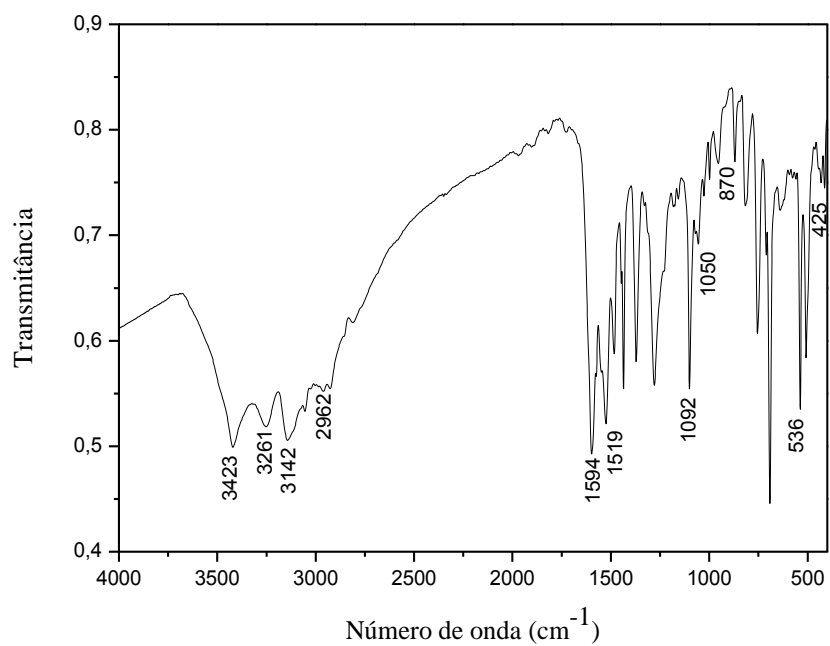


Figura A25. Espectro do IV do composto **25**, (KBr)

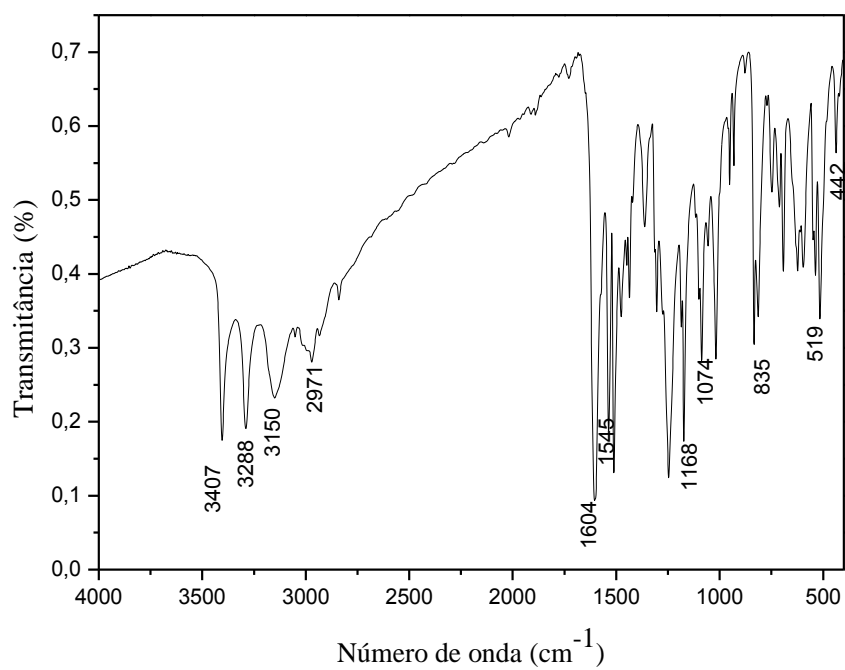


Figura A26. Espectro do IV do composto **26**, (KBr)

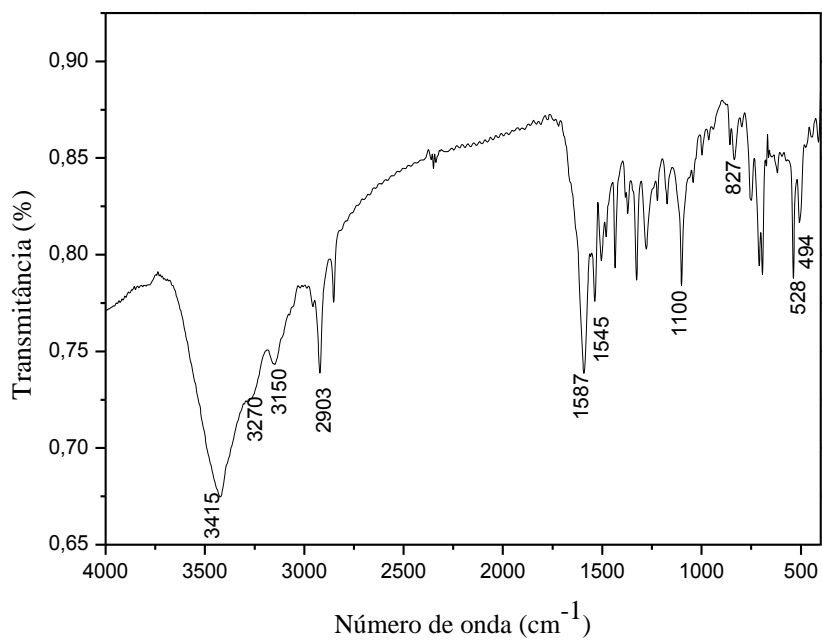


Figura A27. Espectro do IV do composto **27**, (KBr)

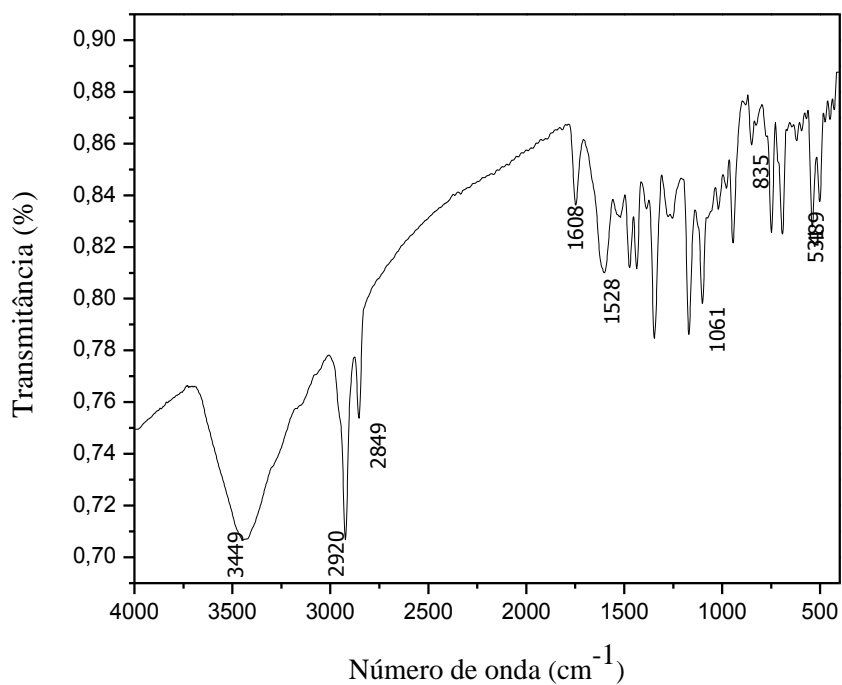


Figura A28. Espectro do IV do composto **28**, (KBr)

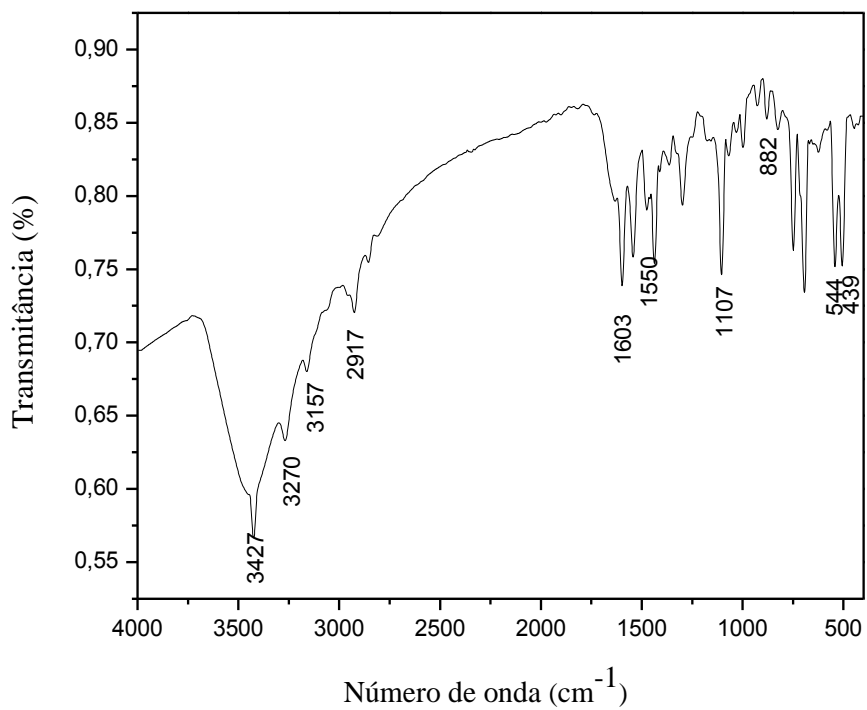


Figura A29. Espectro do IV do composto **29**, (KBr)

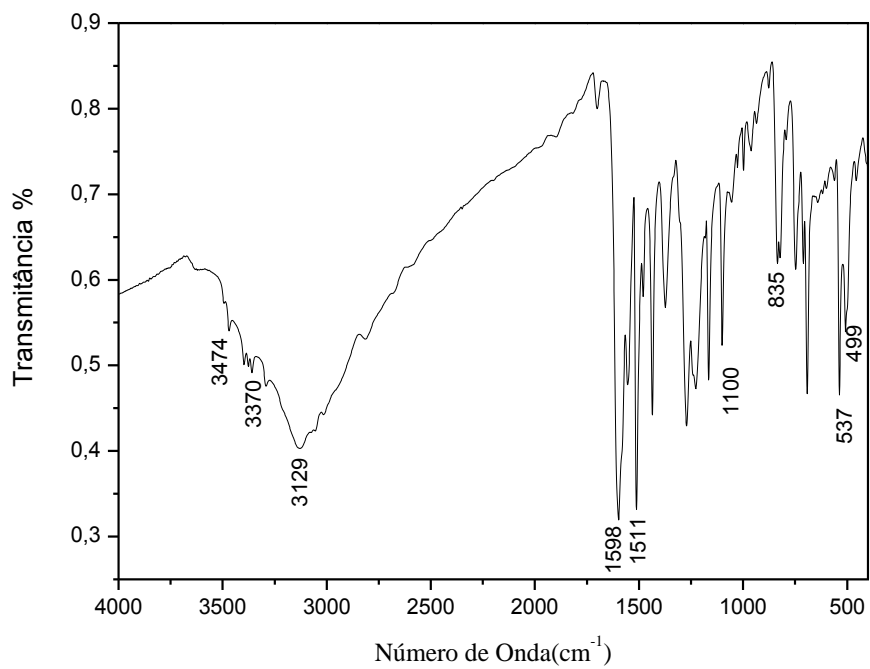


Figura A30. Espectro do IV do composto **30**, (KBr)

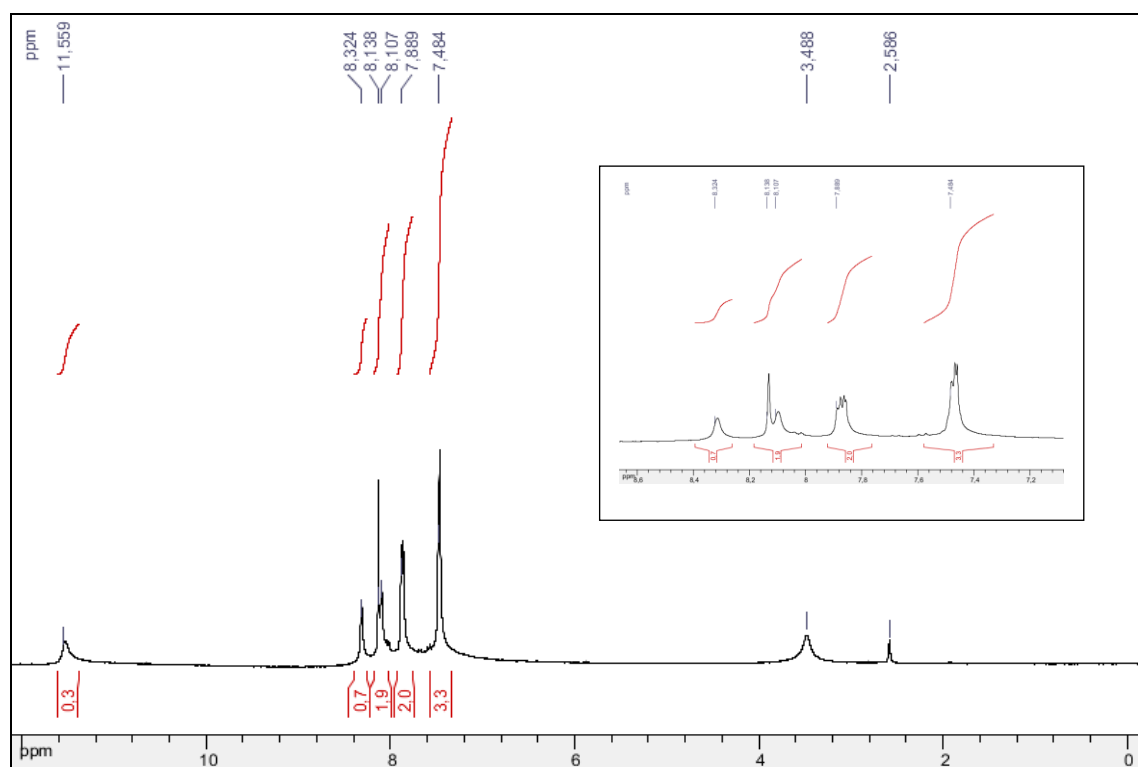


Figura A31. Espectro de RMN de ^1H do composto **1**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

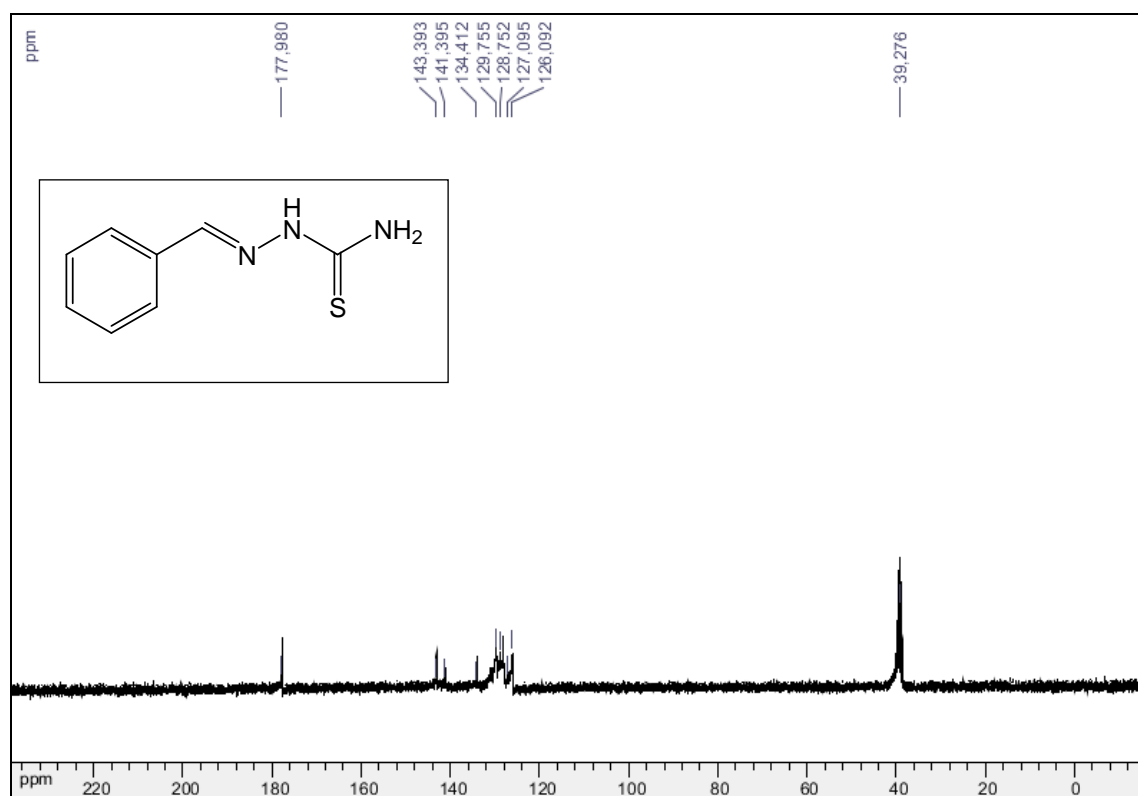


Figura A32. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **1**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

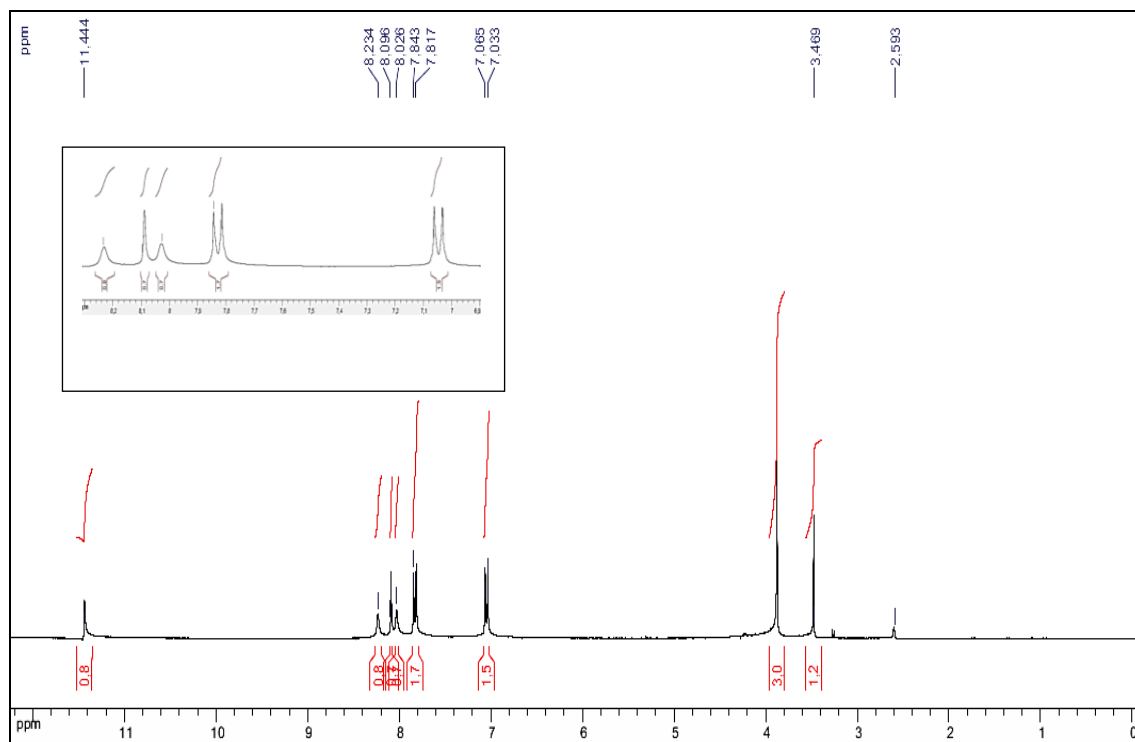


Figura A33. Espectro de RMN de ^1H do composto **2**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

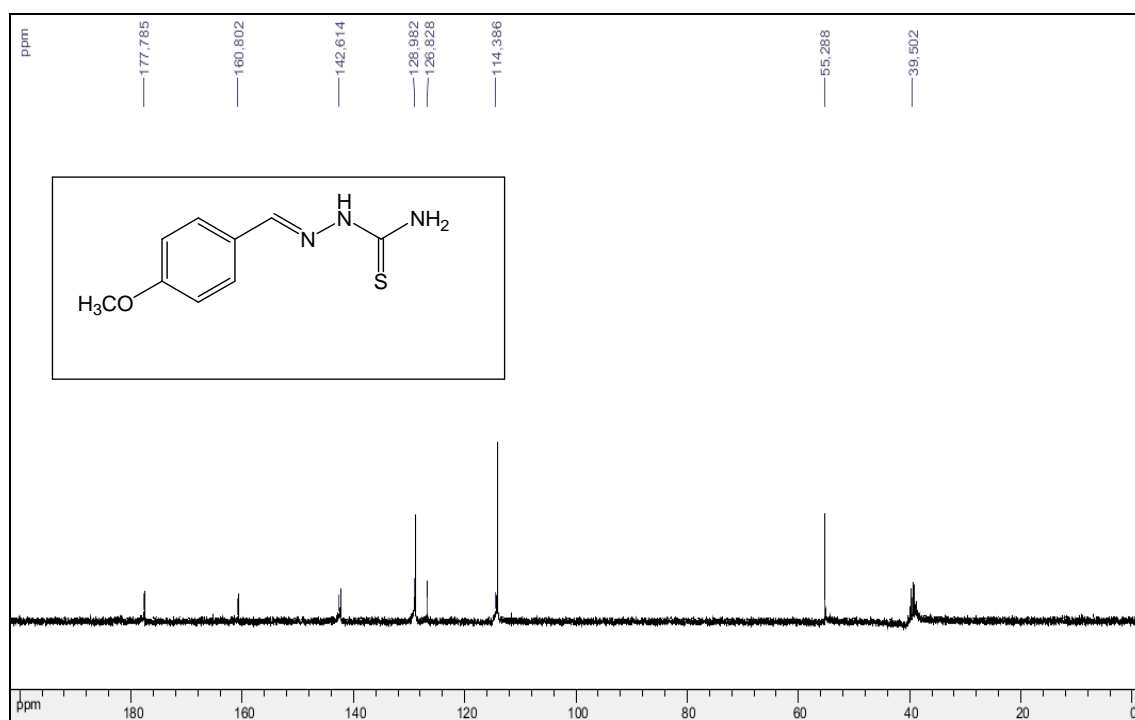


Figura A34. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **2**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

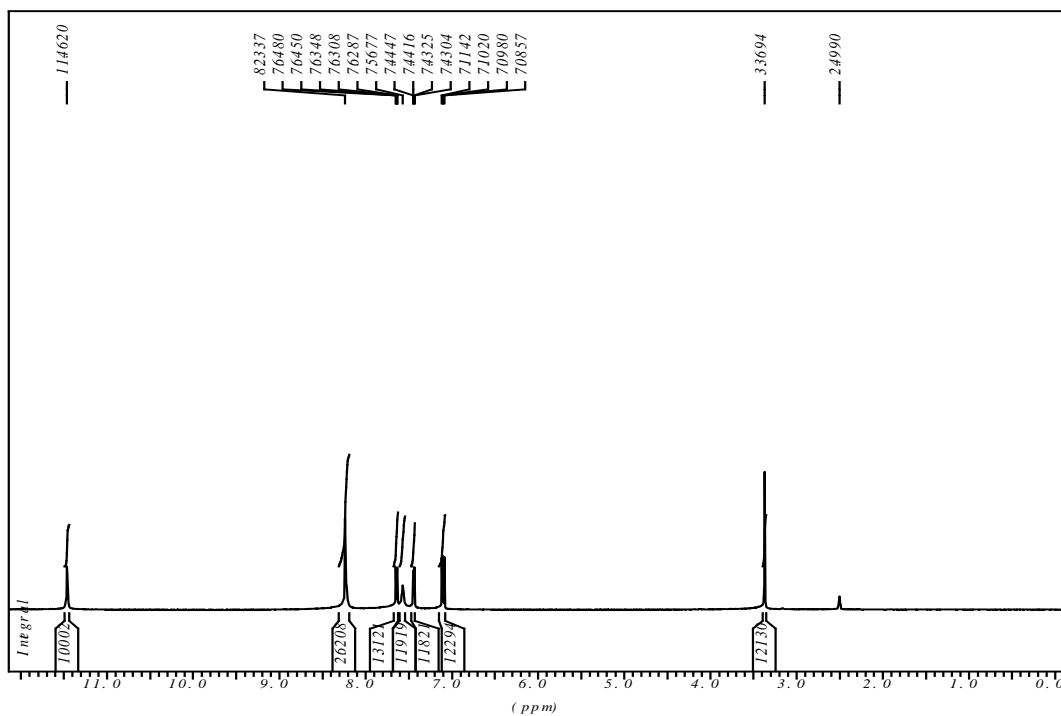


Figura A35. Espectro de RMN de ^1H do composto **3**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

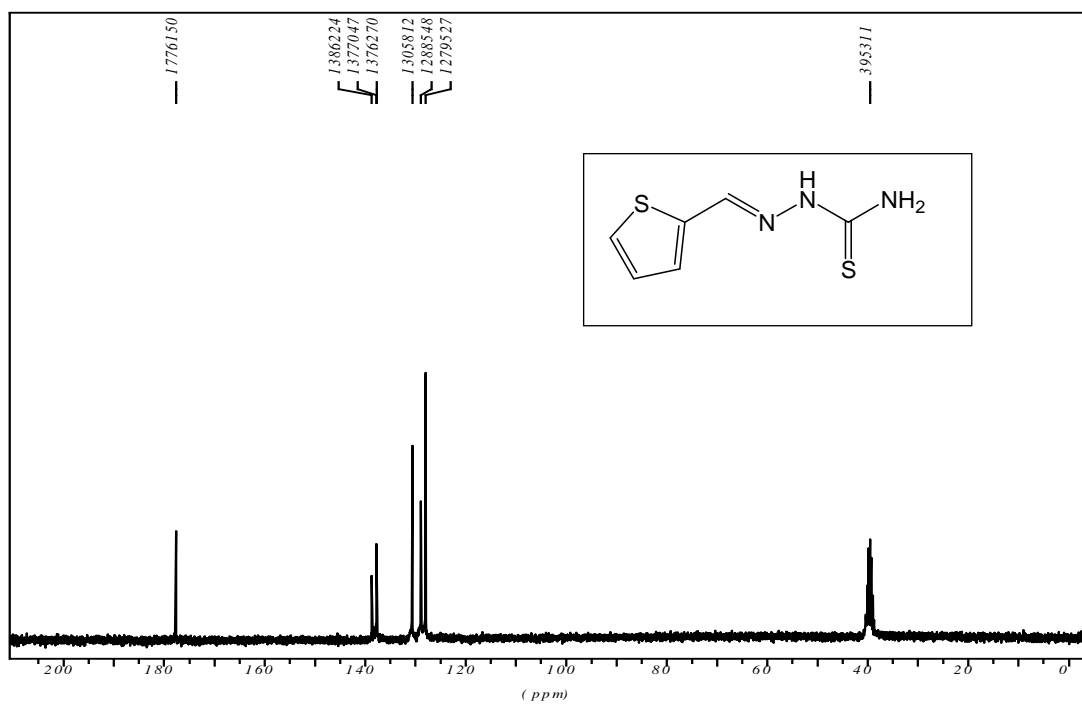


Figura A36. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **3**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

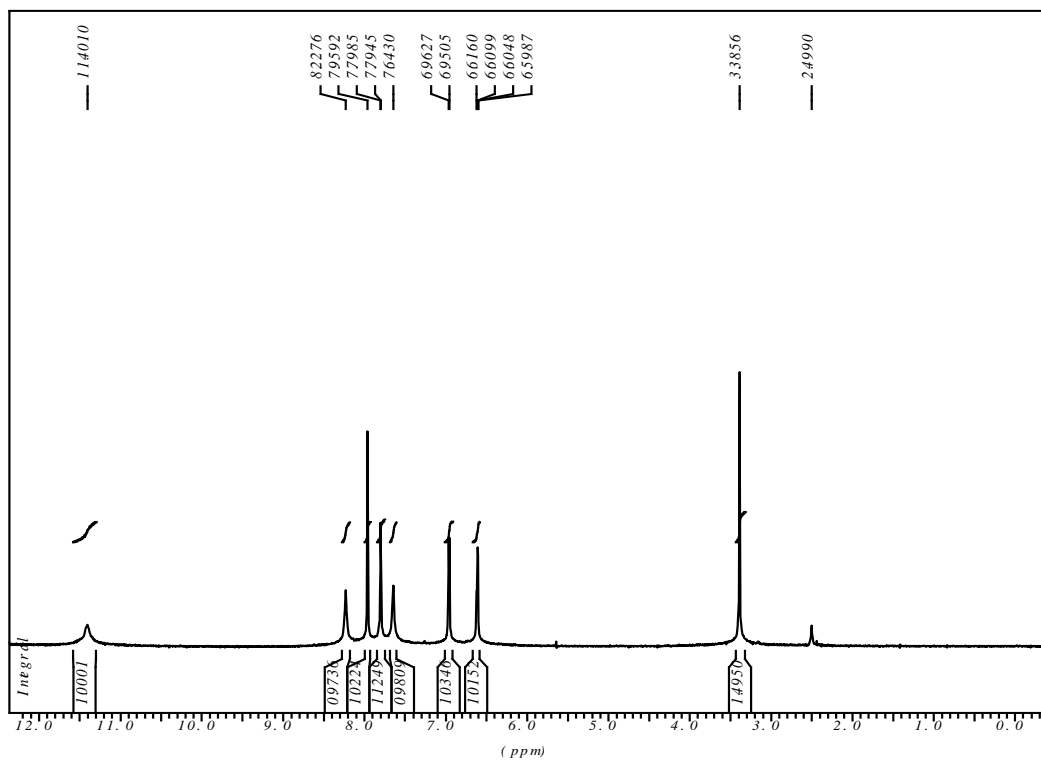


Figura A37. Espectro de RMN de ^1H do composto **4**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

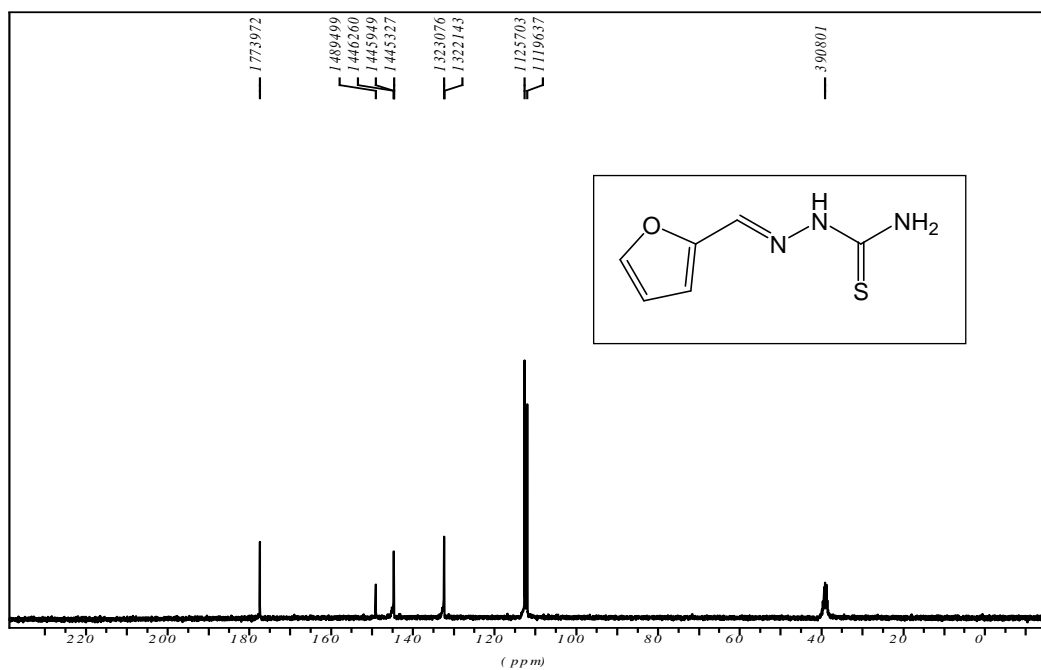


Figura A38. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **4**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

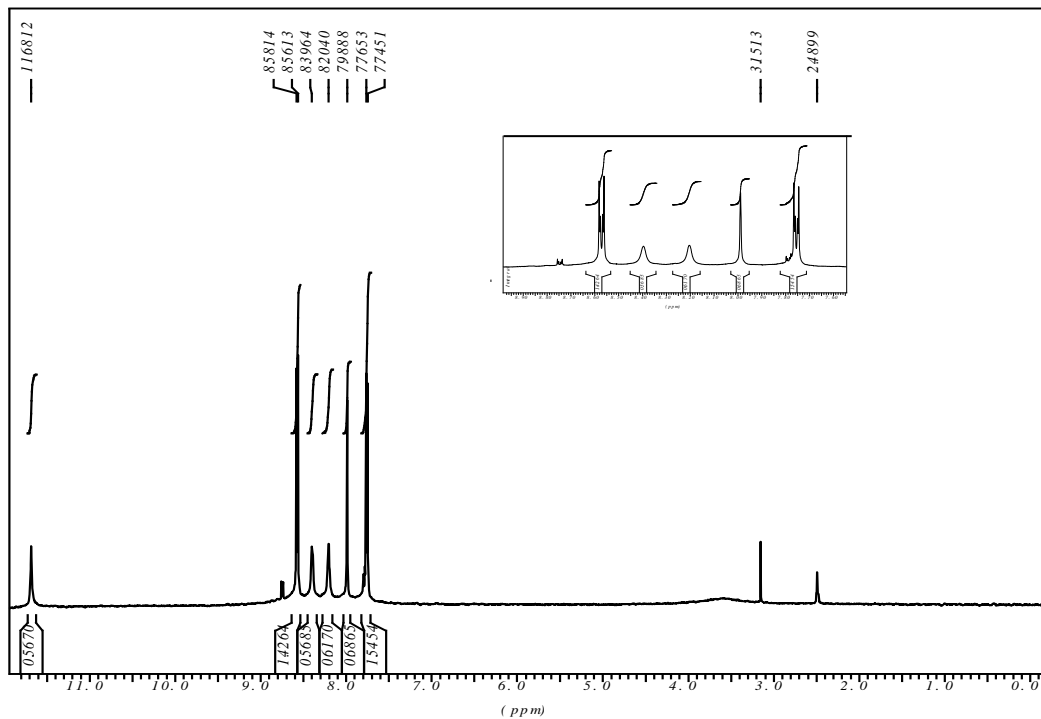


Figura A39. Espectro de RMN de ^1H do composto **5**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

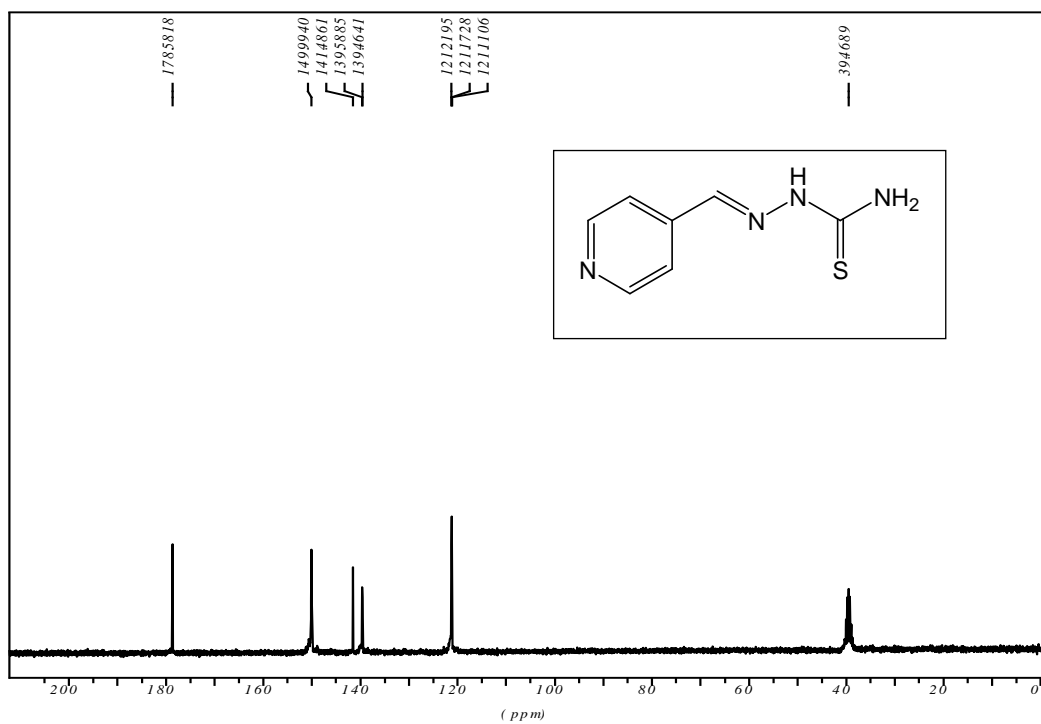


Figura A40. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **5**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

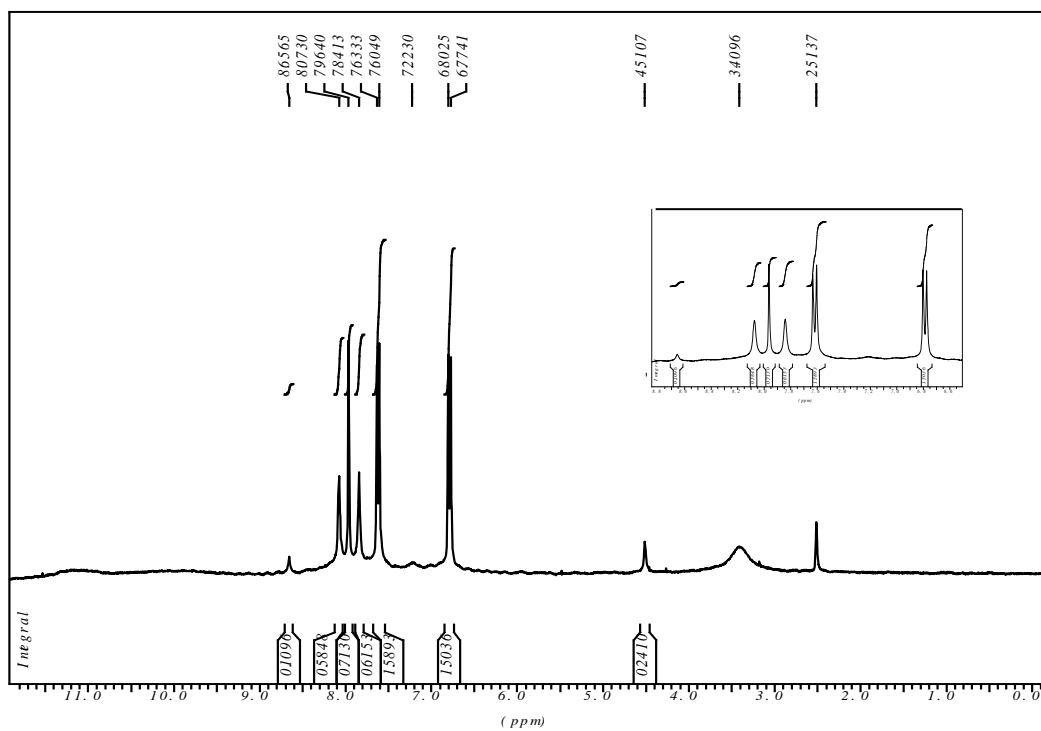


Figura A41. Espectro de RMN de ^1H do composto **6**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

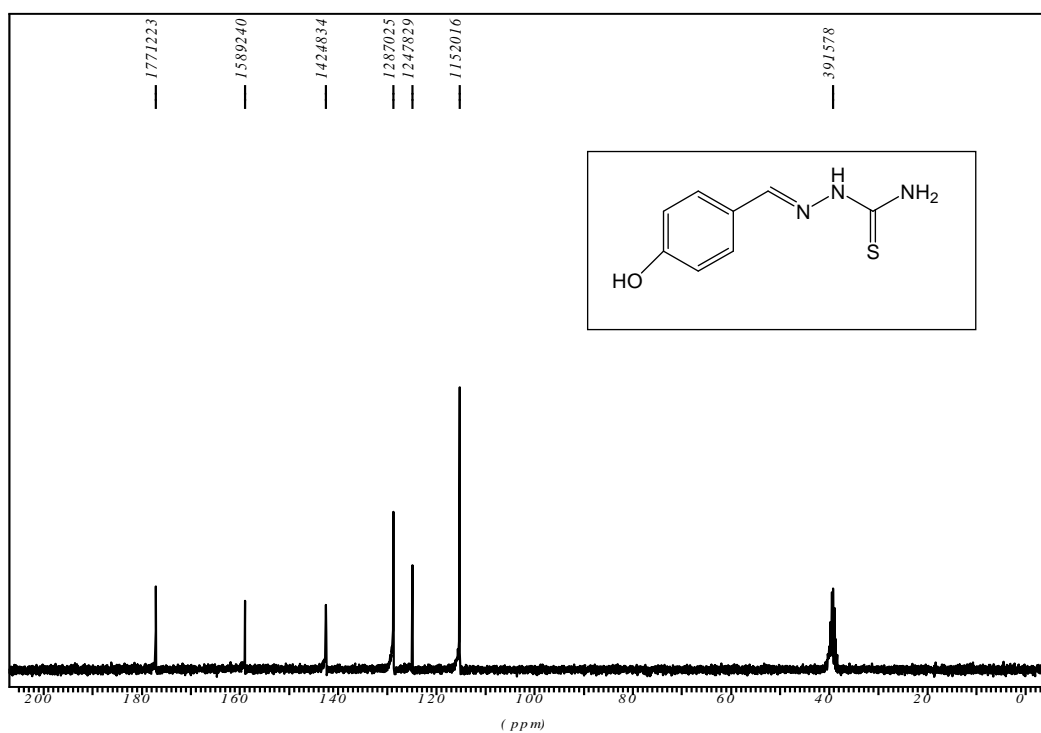


Figura A42. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **6**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

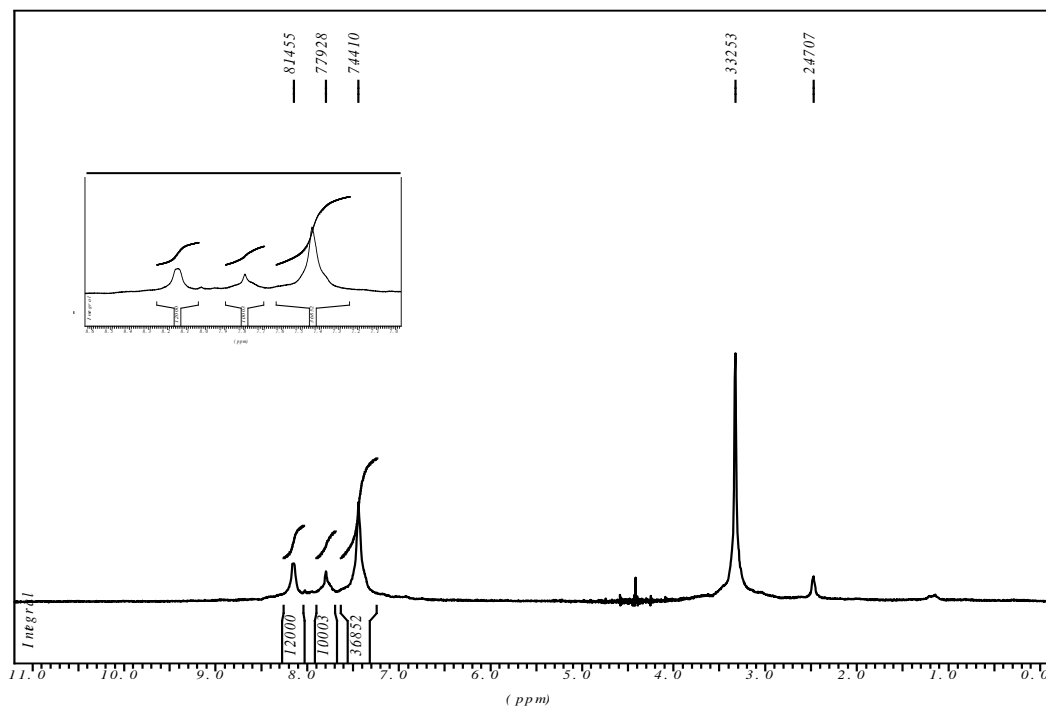


Figura A43. Espectro de RMN de ¹H do composto **7**, (DMSO-*d*₆, 300 MHz)

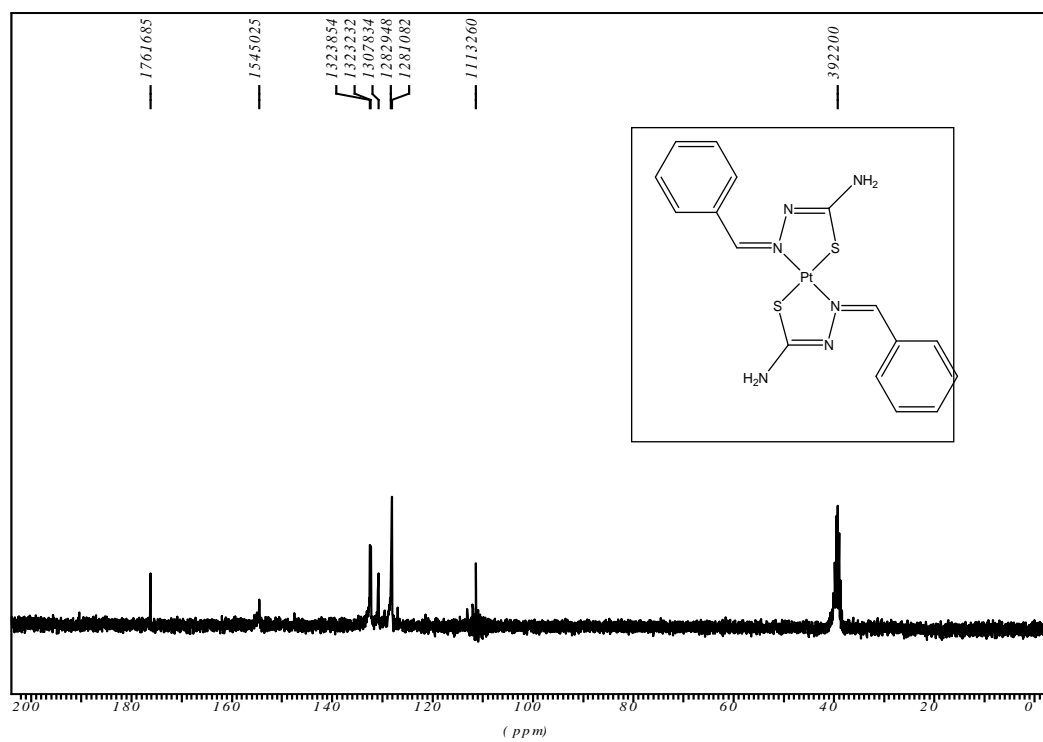


Figura A44. Espectro de RMN de ¹³C do composto **7**, (DMSO-*d*₆, 75 MHz)

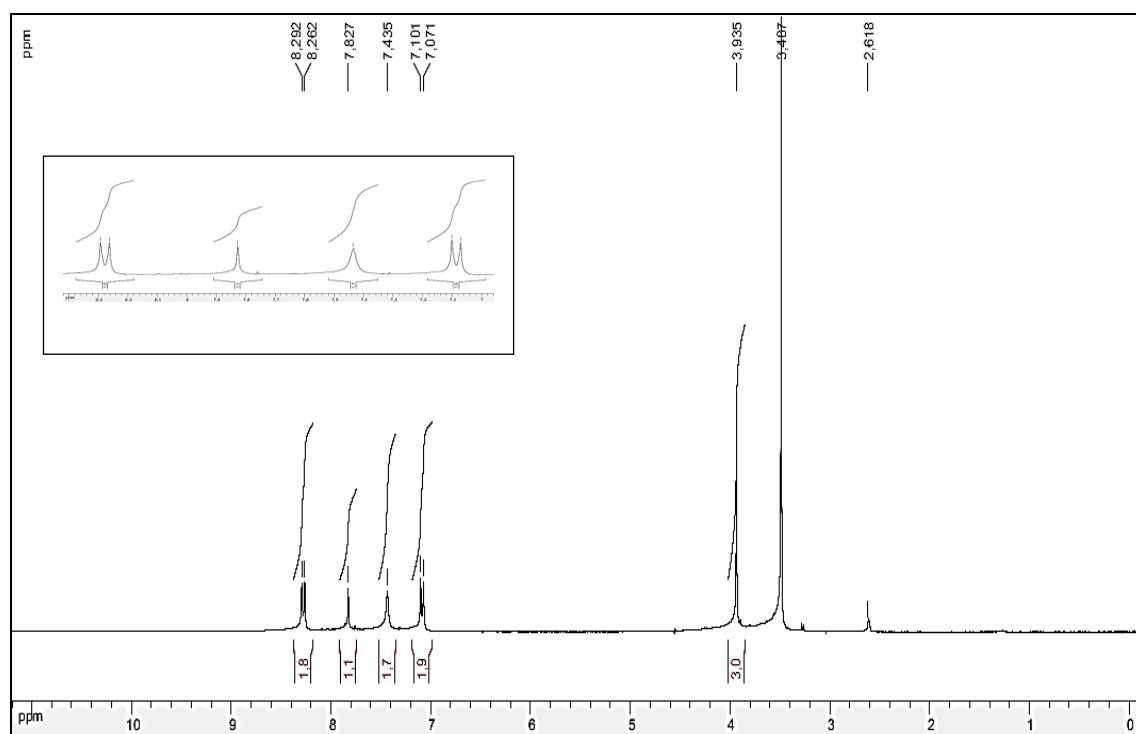


Figura A45. Espectro de RMN de ^1H do composto **8**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

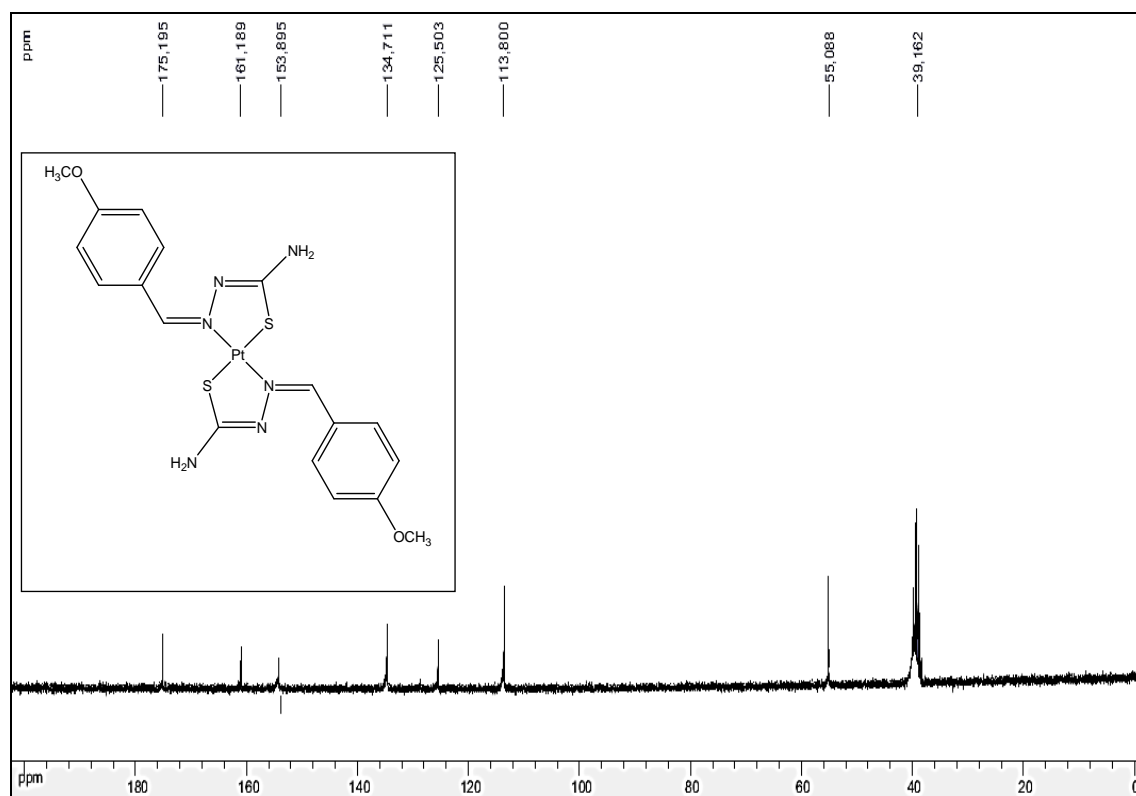


Figura A46. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **8**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

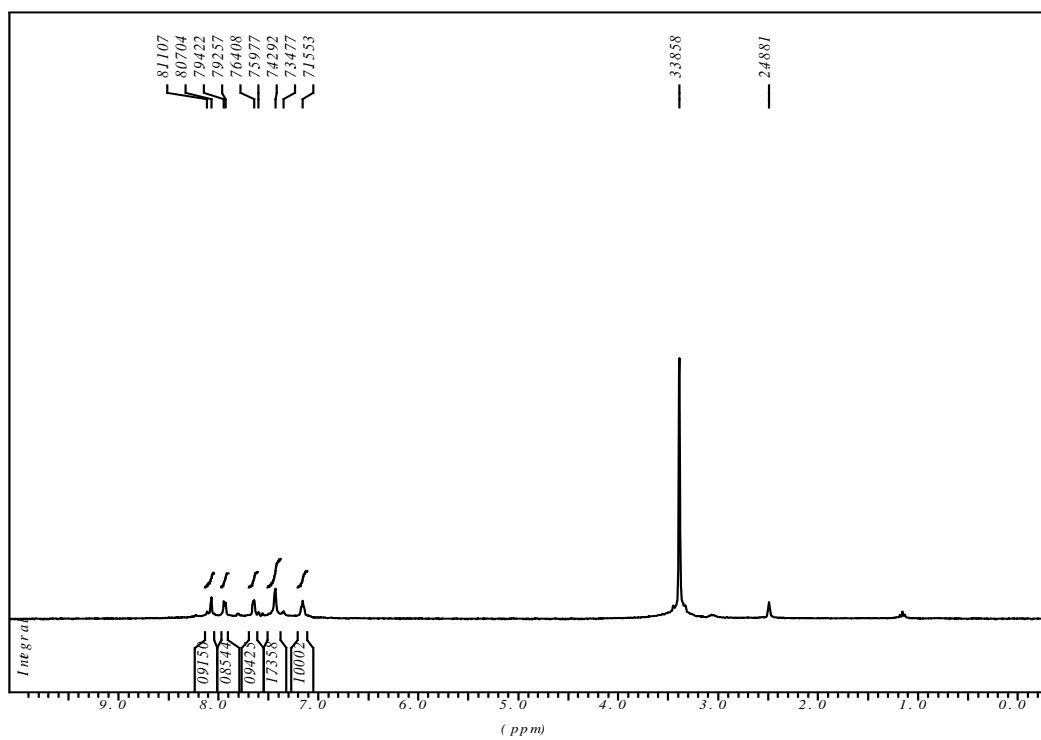


Figura A47. Espectro de RMN de ^1H do composto **9**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

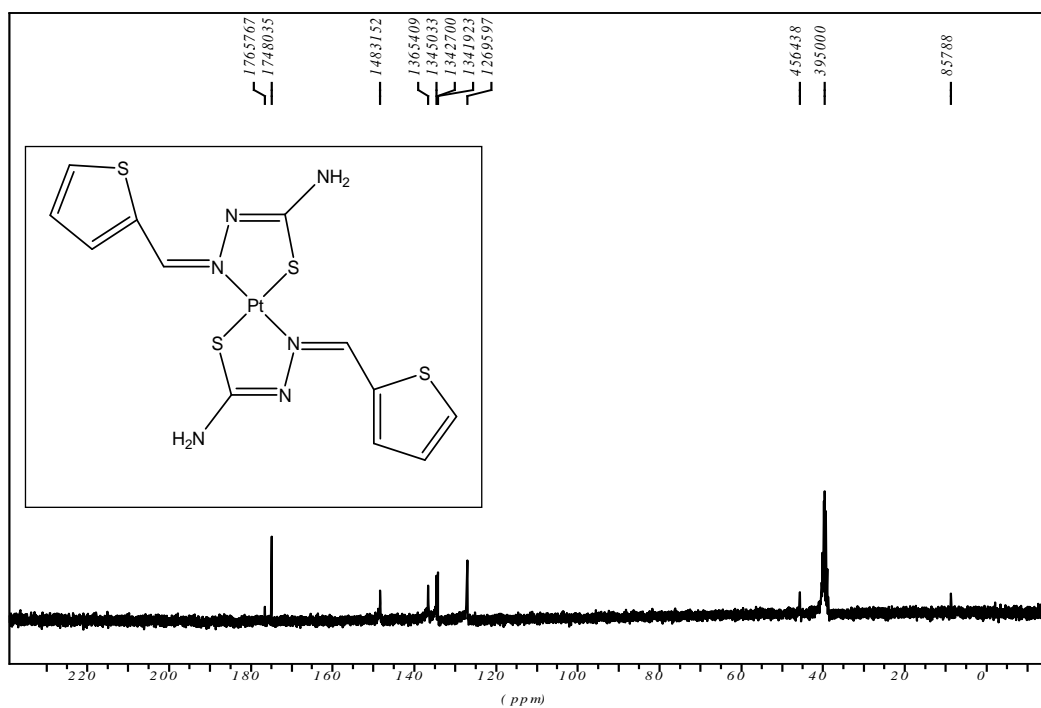


Figura A48. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **9**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

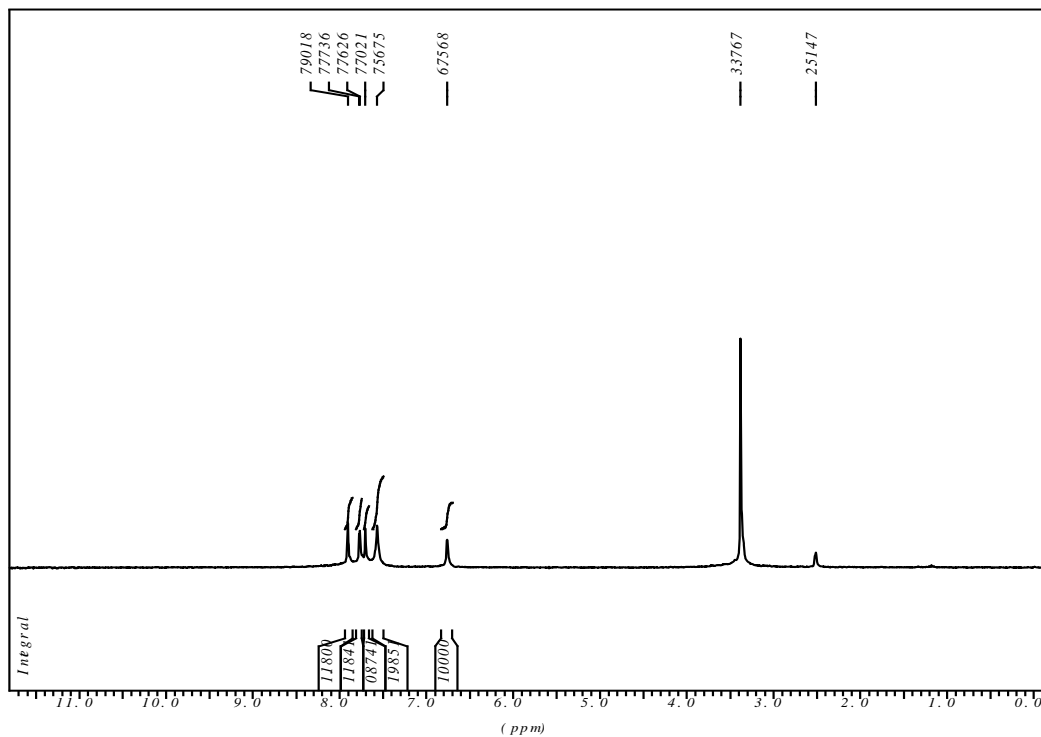


Figura A49. Espectro de RMN de ^1H do composto **10**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

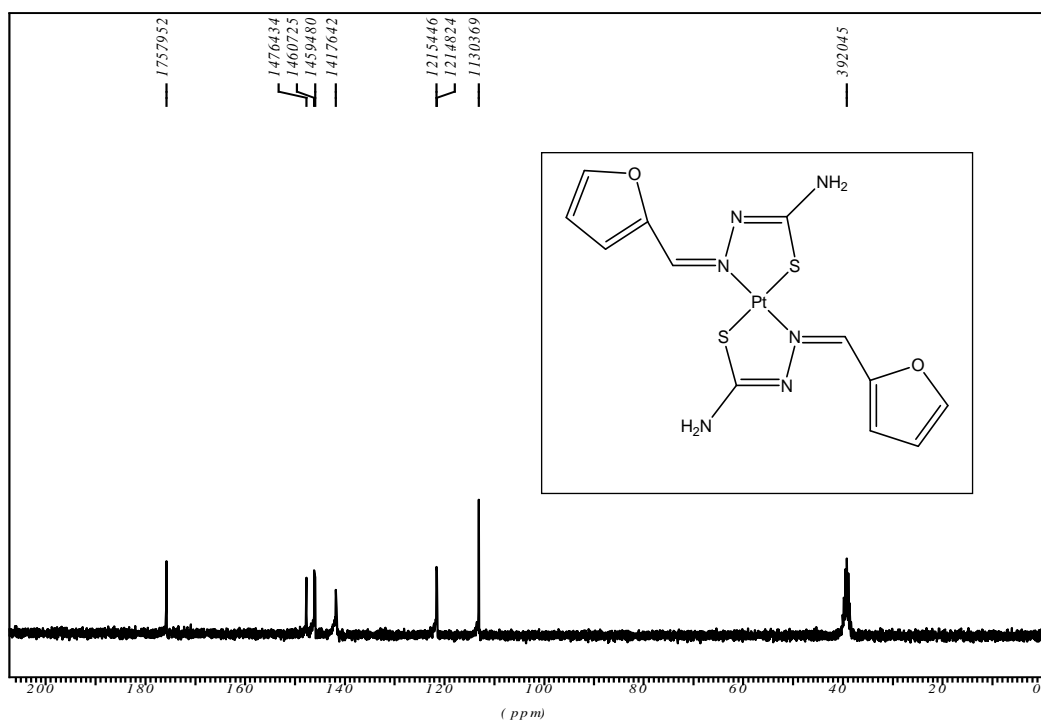


Figura A50. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **10**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

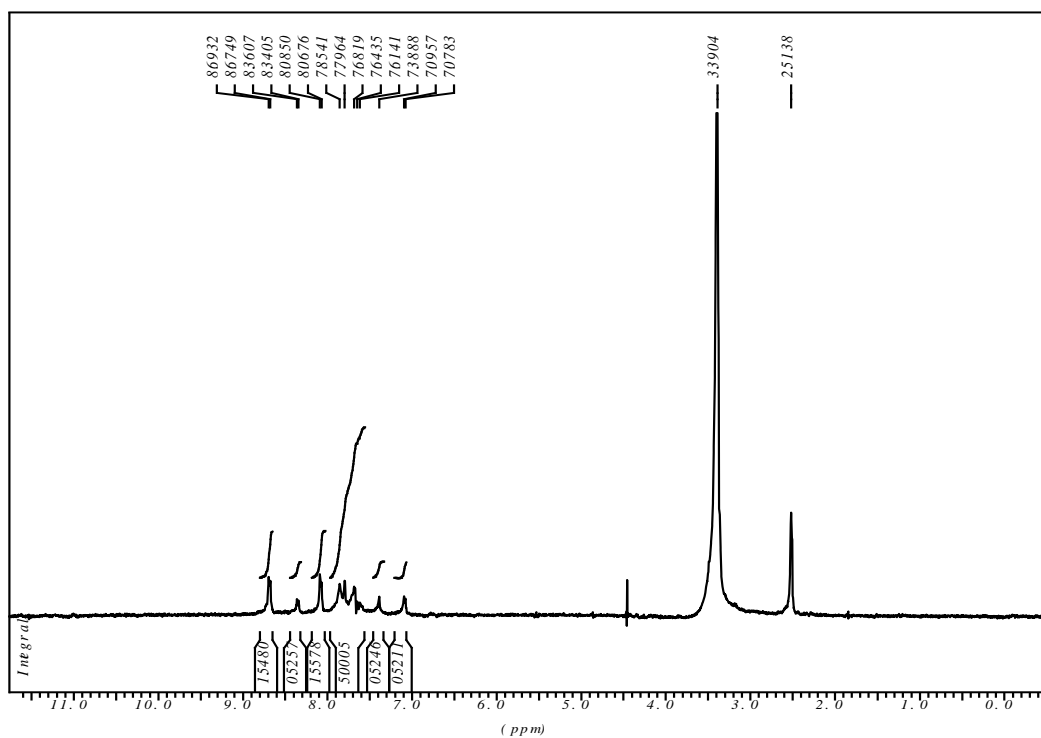


Figura A51. Espectro de RMN de ^1H do composto **11**, ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

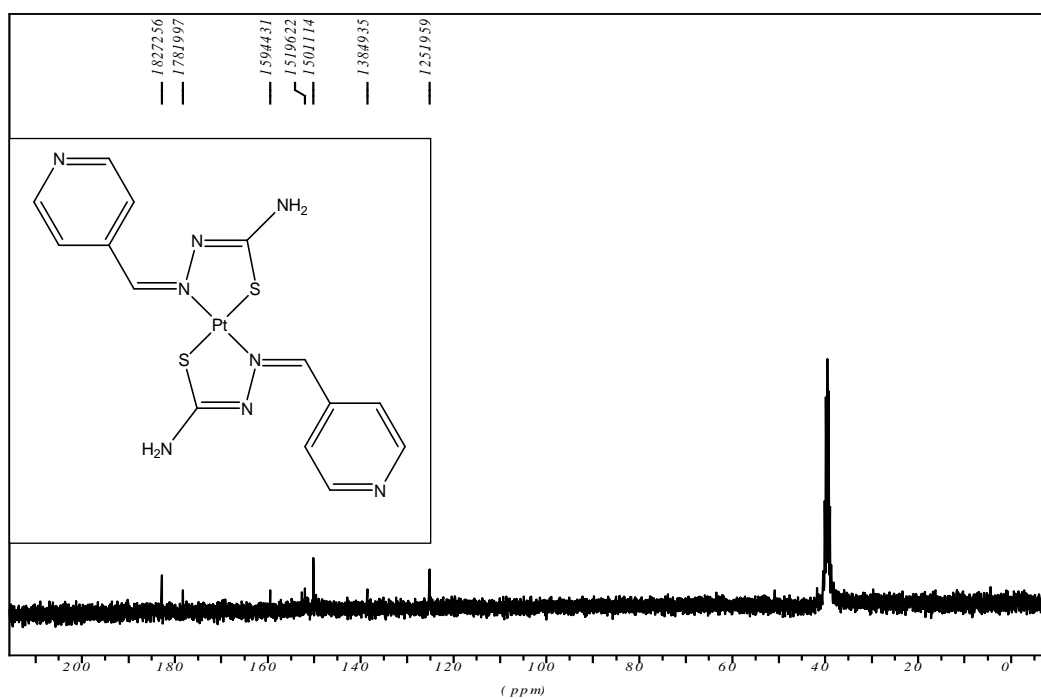


Figura A52. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **11**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

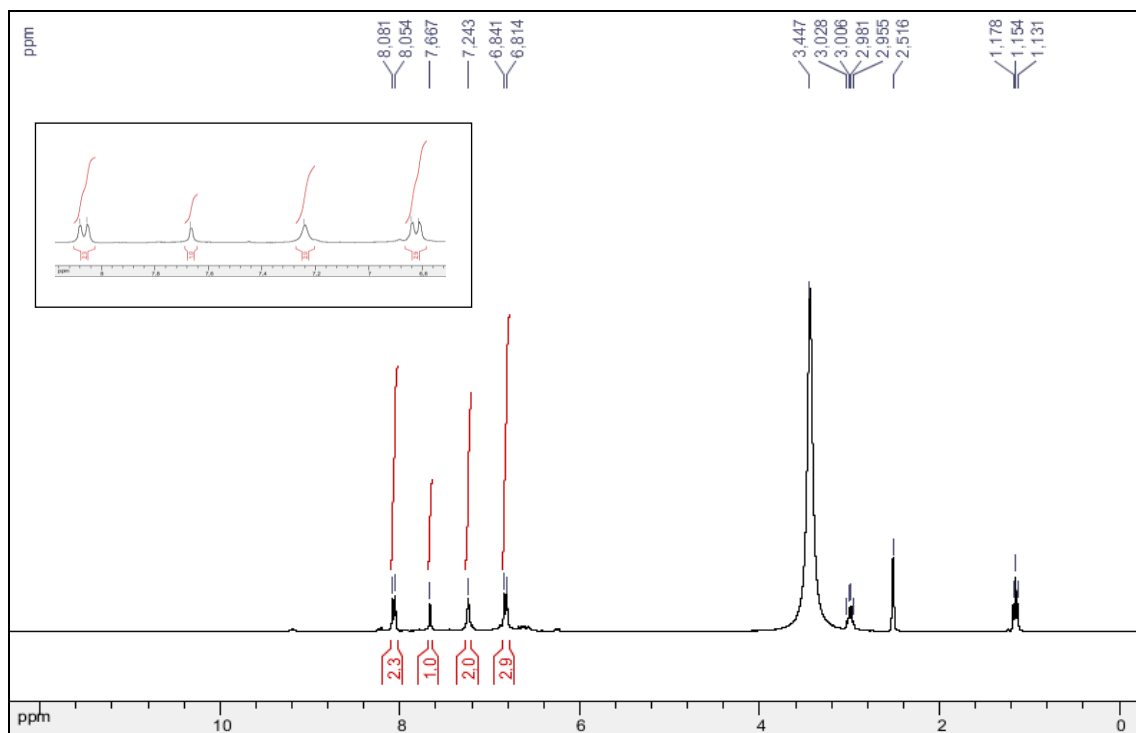


Figura A53. Espectro de RMN de ^1H do composto **12**, ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

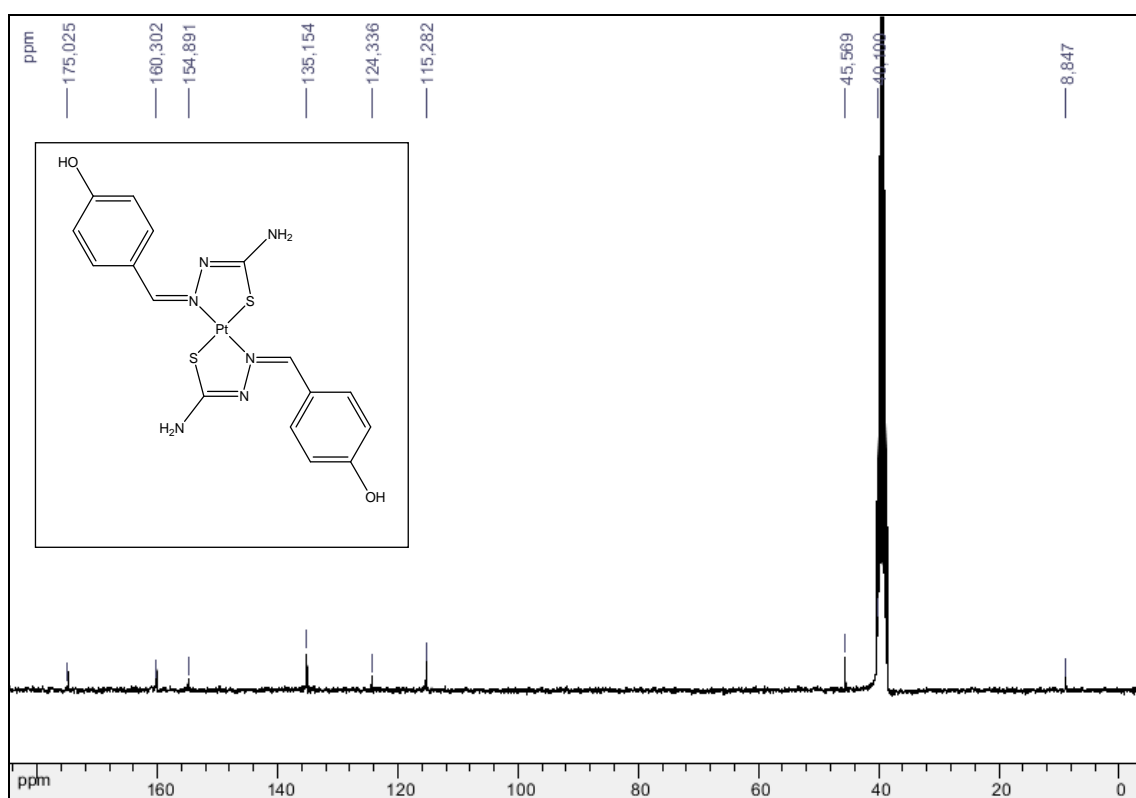


Figura A54. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **12**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

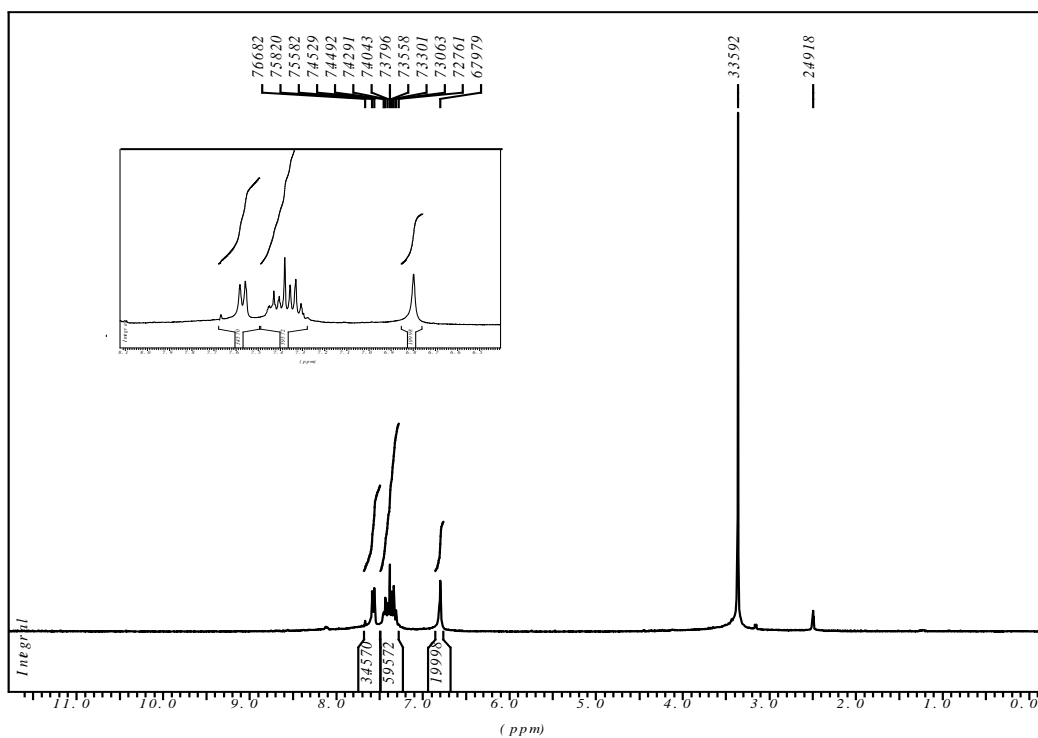


Figura A55. Espectro de RMN de ^1H do composto **13**, ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

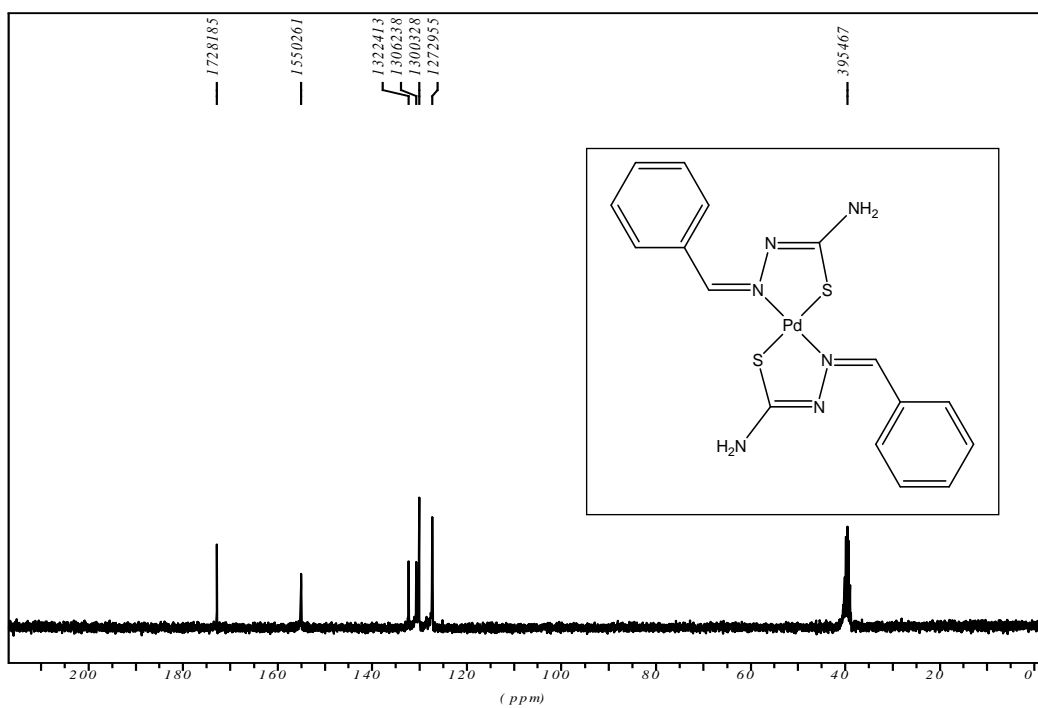


Figura A56. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **13**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

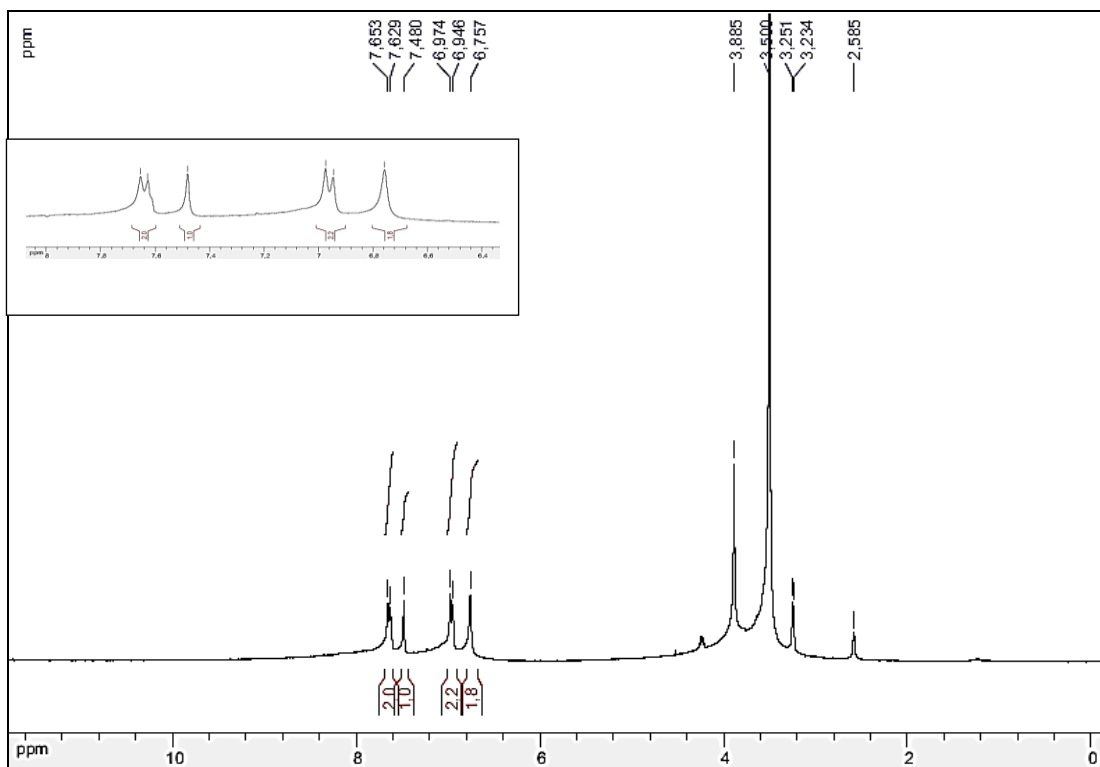


Figura A57. Espectro de RMN de ^1H do composto **14**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

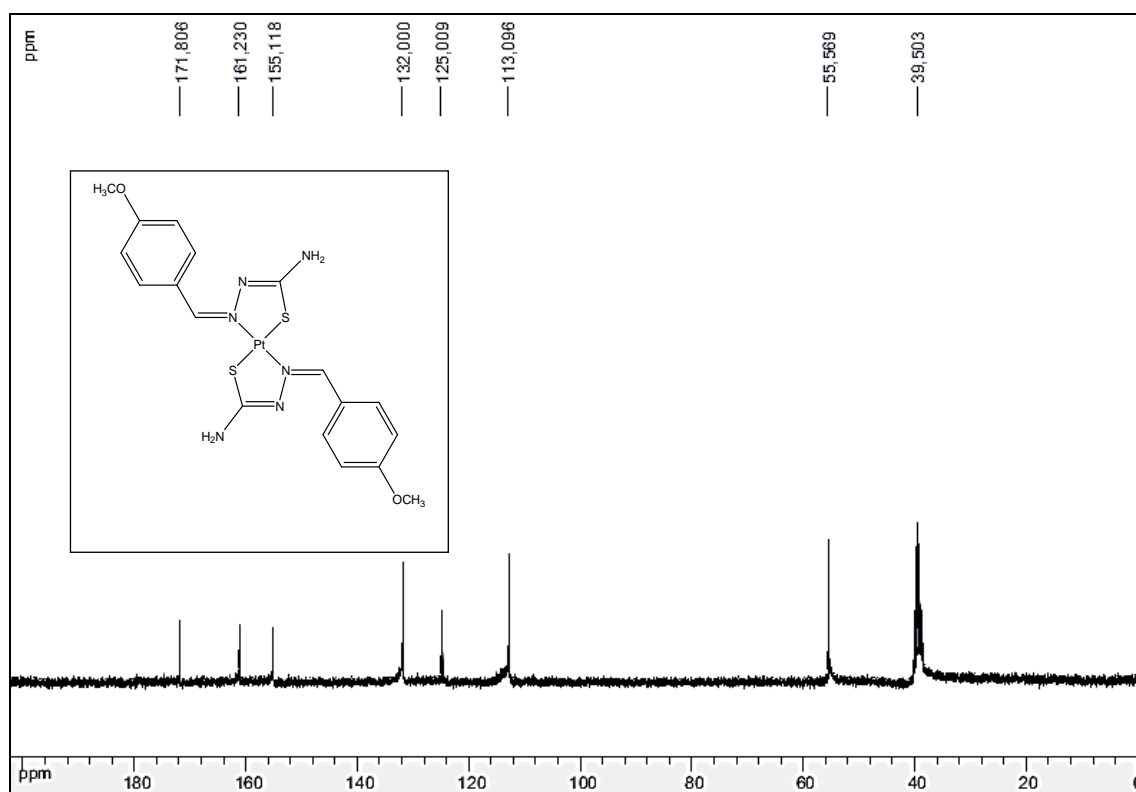


Figura A58. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **14**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

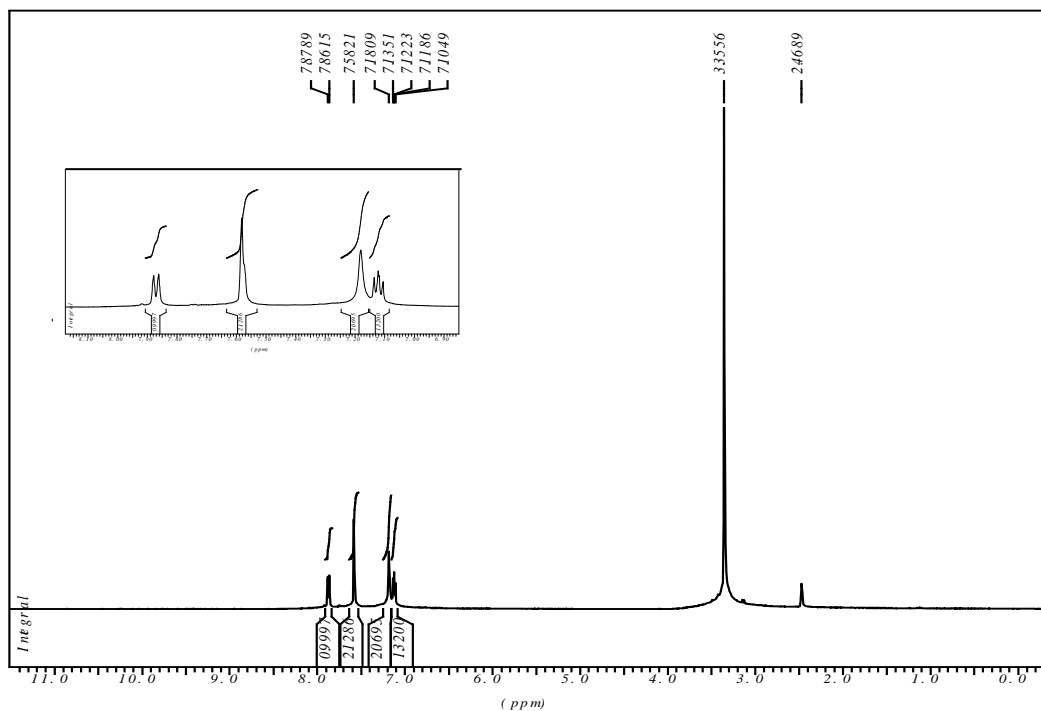


Figura A59. Espectro de RMN de ^1H do composto **15**, (DMSO-*d*₆, 300 MHz)

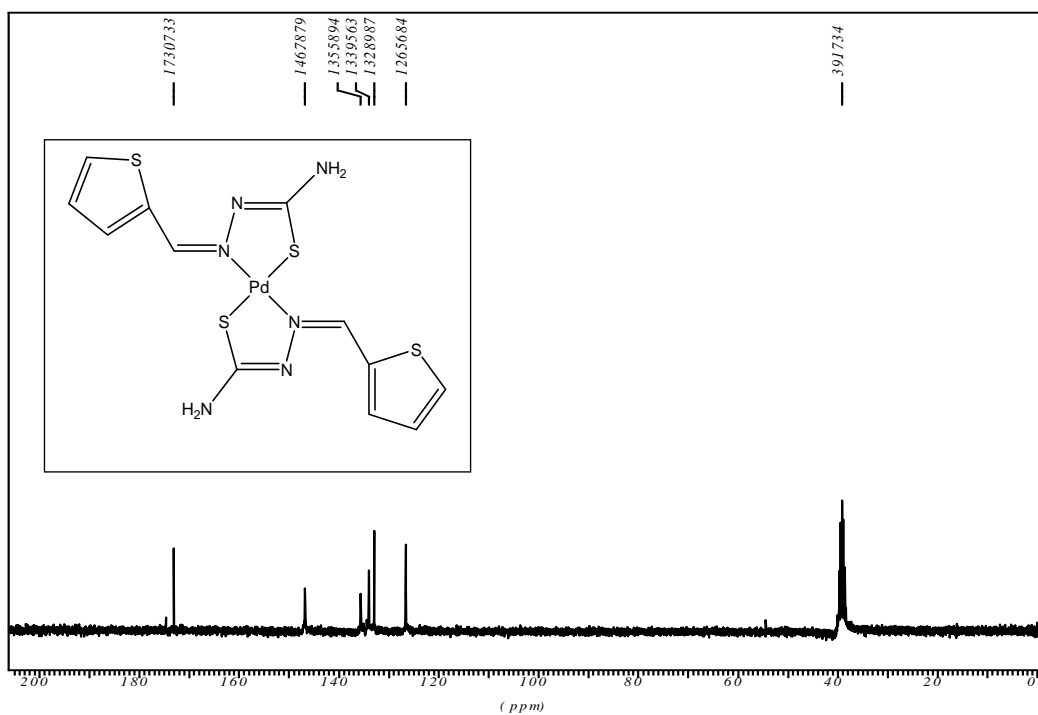


Figura A60. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **15**, (DMSO-*d*₆, 75 MHz)

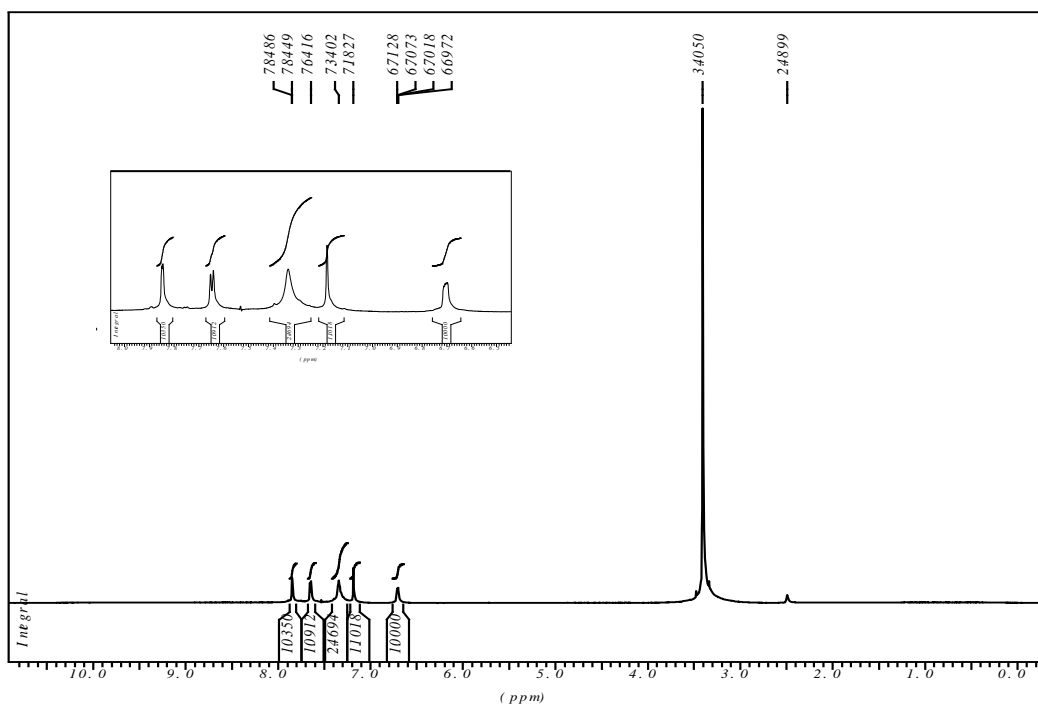


Figura A61. Espectro de RMN de ^1H do composto **16**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

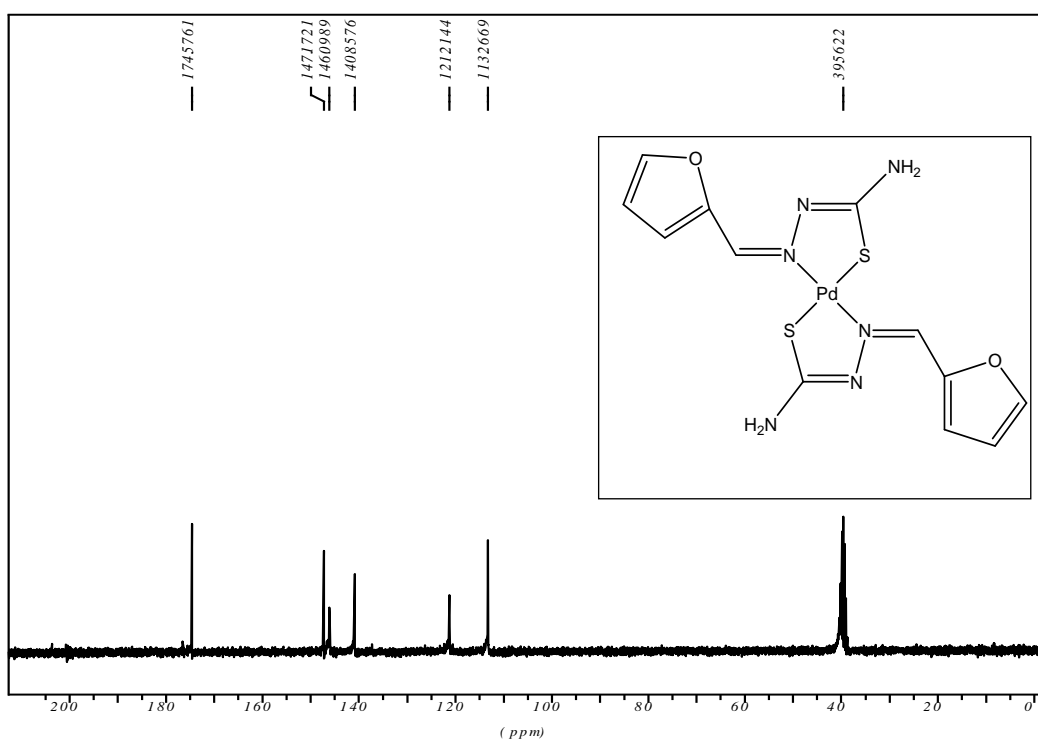


Figura A62. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **16**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

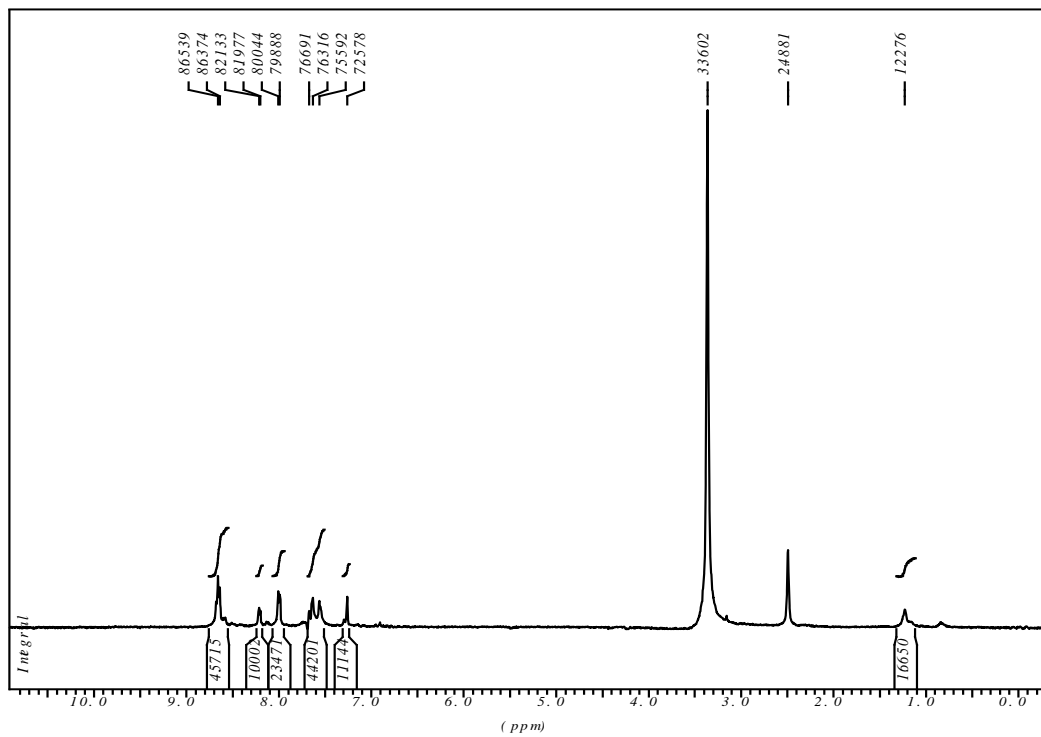


Figura A63. Espectro de RMN de ^1H do composto **17**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

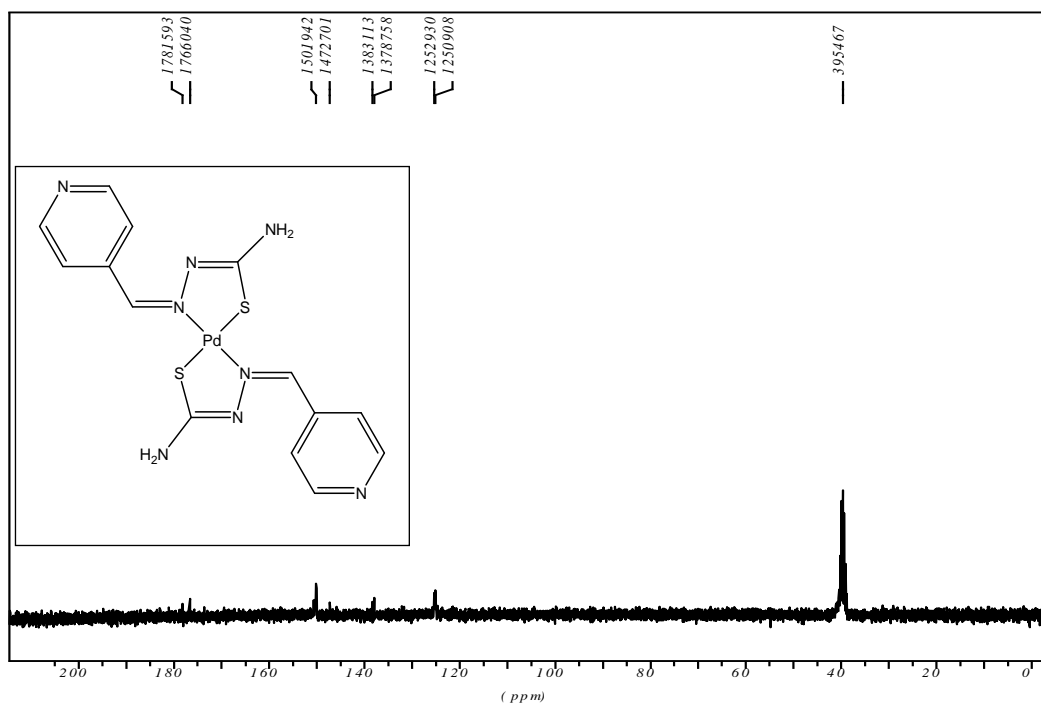


Figura A64. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **17**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

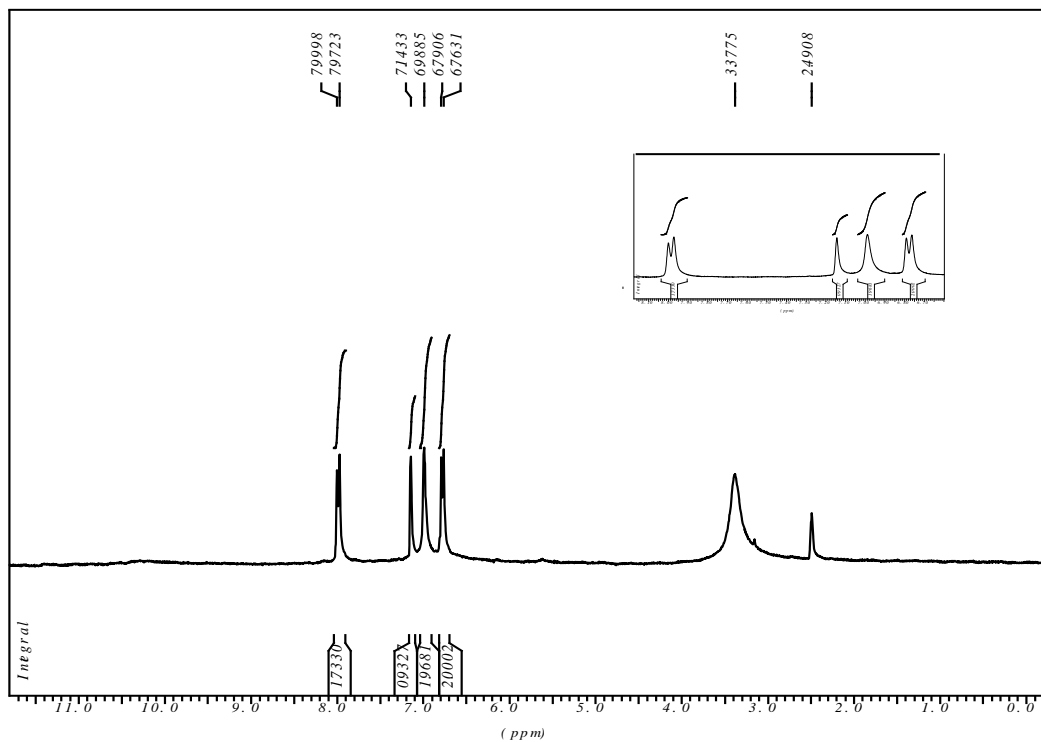


Figura A65. Espectro de RMN de ^1H do composto **18**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

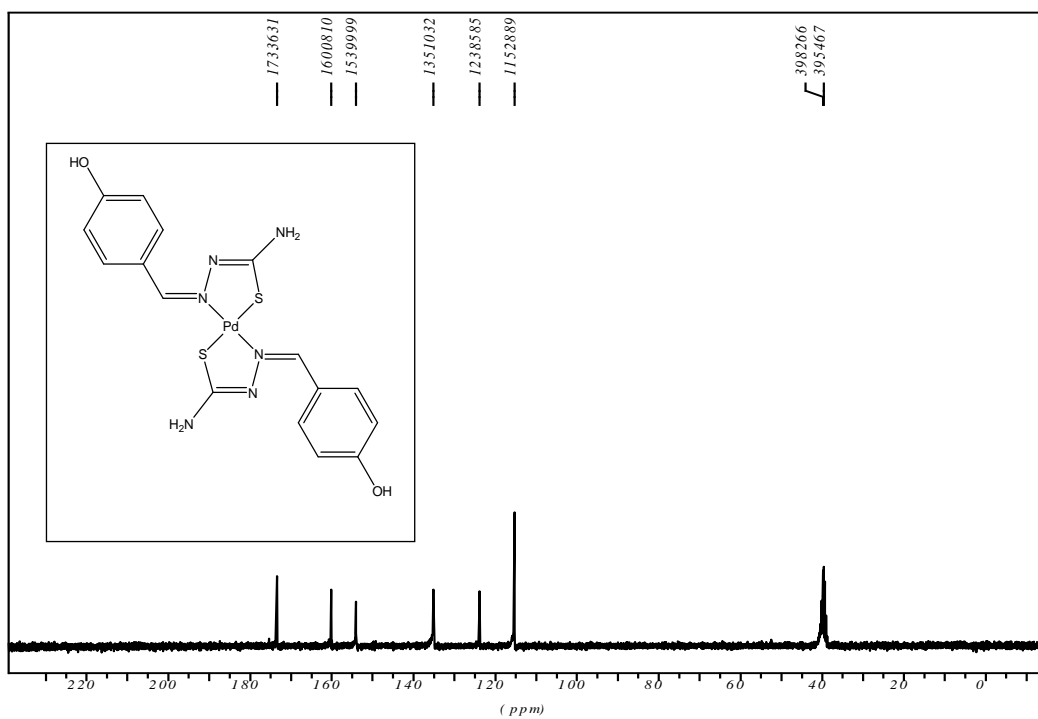


Figura A66. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **18**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

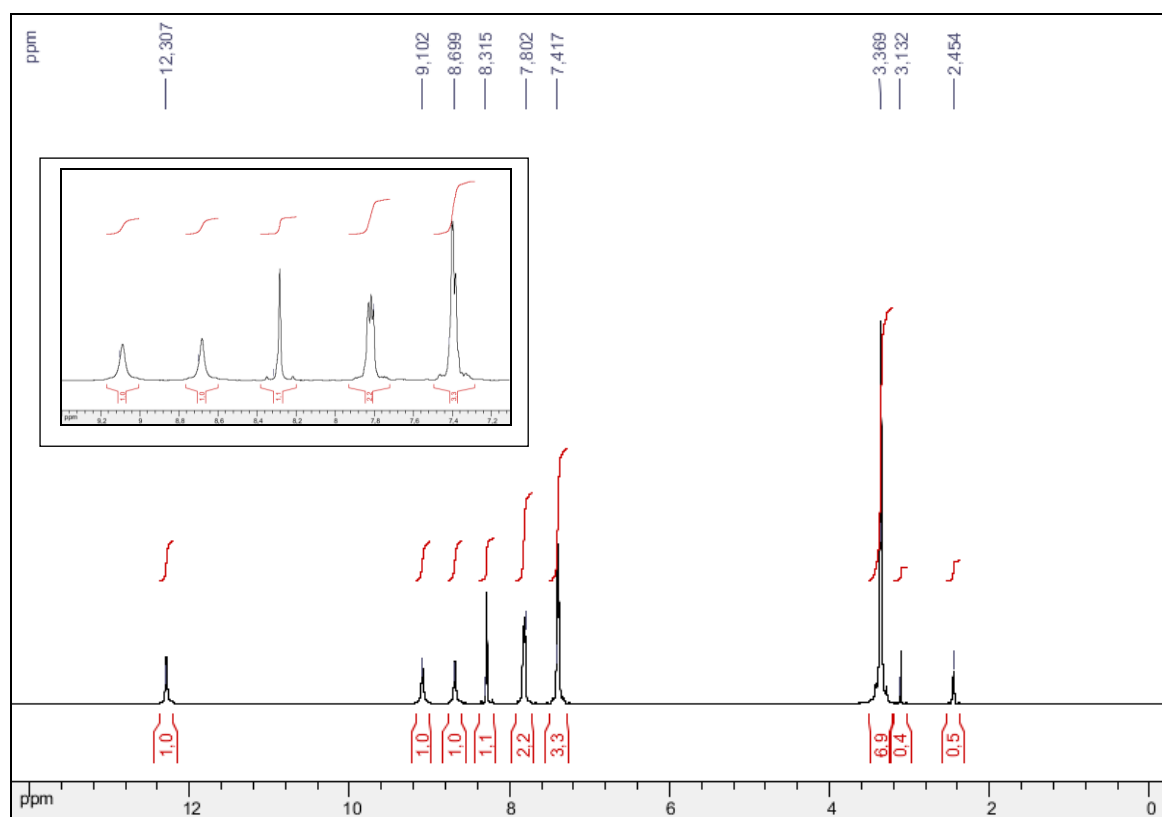


Figura A67. Espectro de RMN de ¹H do composto **19**, (DMSO-*d*₆, 300 MHz)

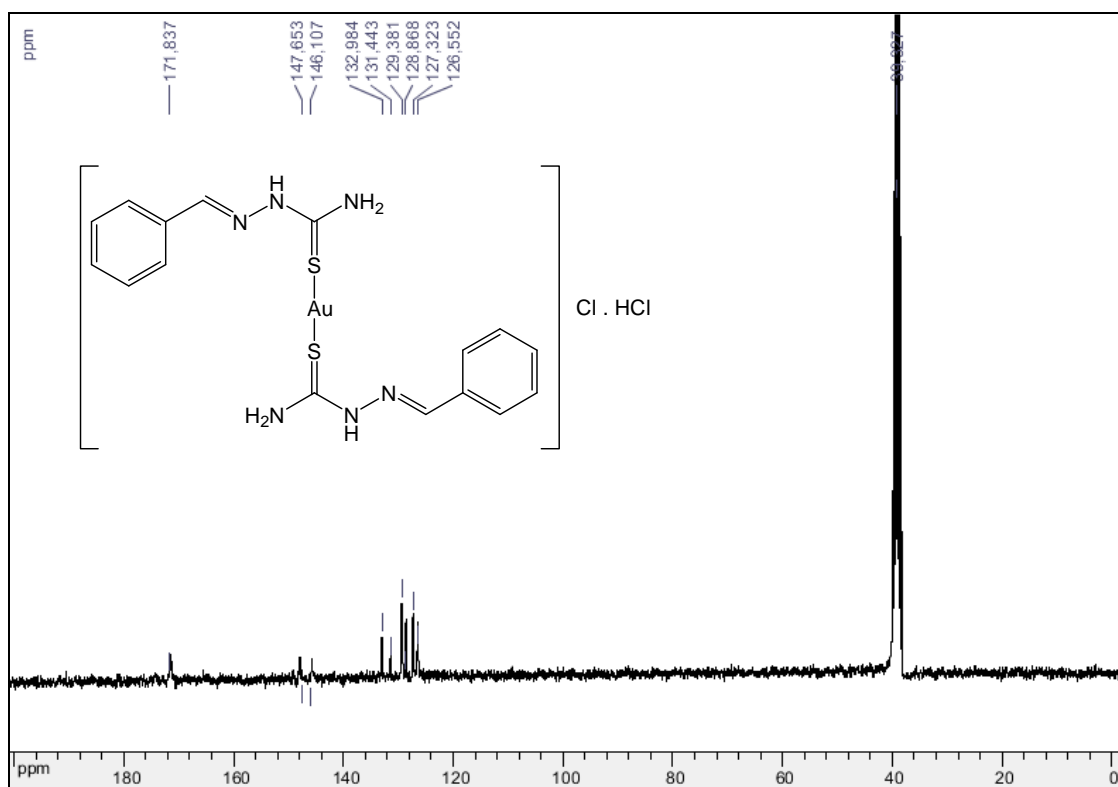


Figura A68. Espectro de RMN de ¹³C do composto **19**, (DMSO-*d*₆, 75 MHz)

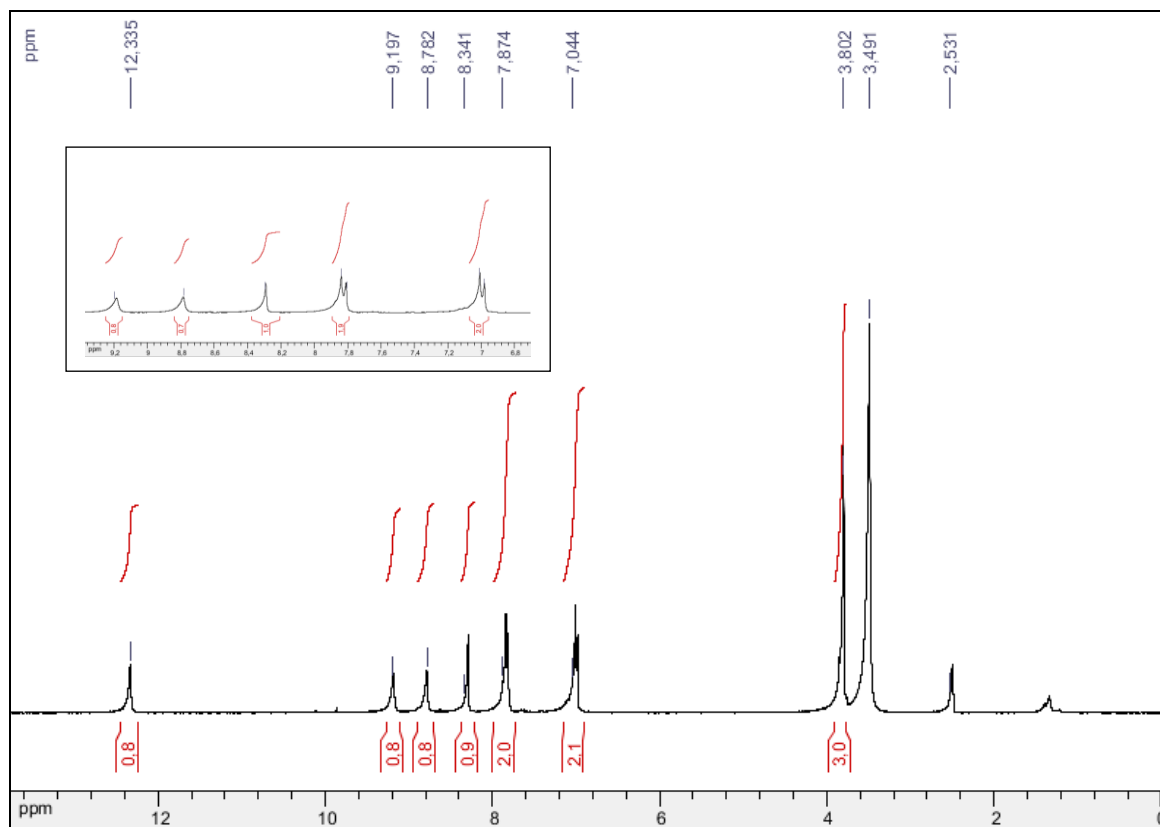


Figura A69. Espectro de RMN de ^1H do composto **20**, ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

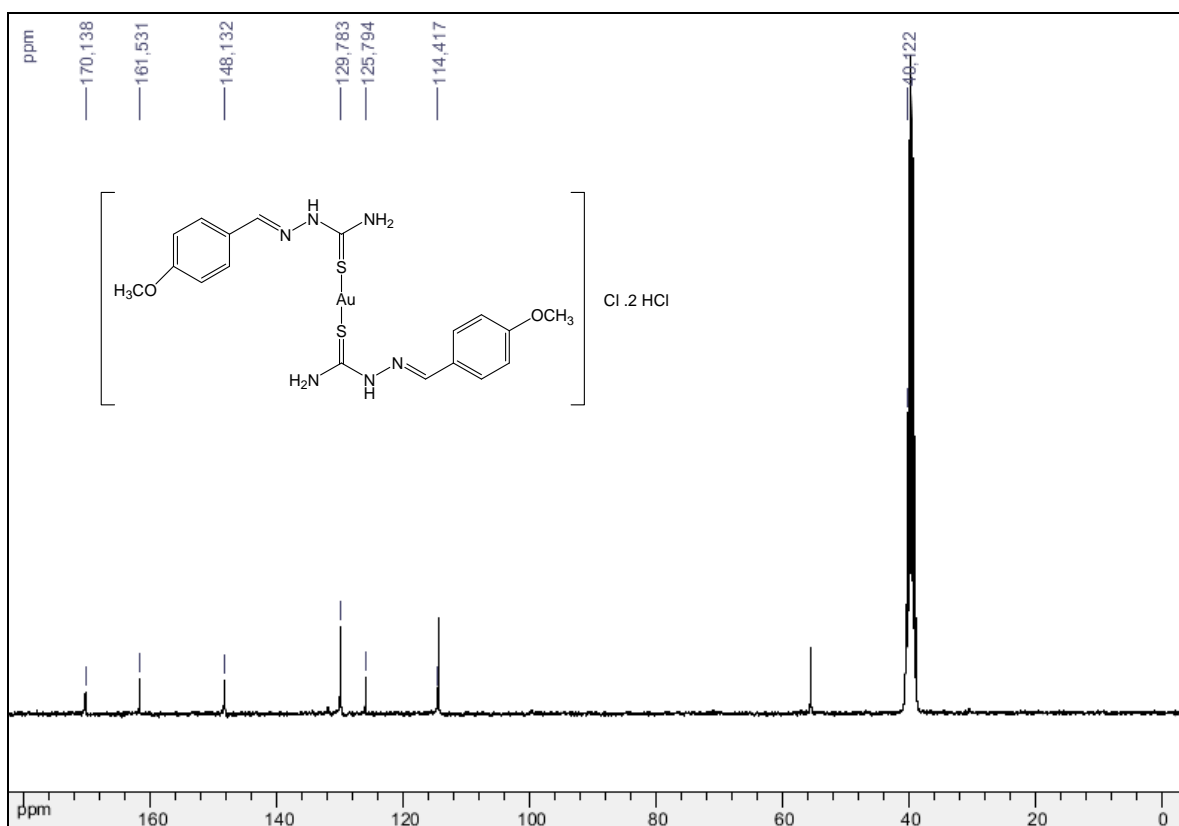


Figura A70. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **20**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

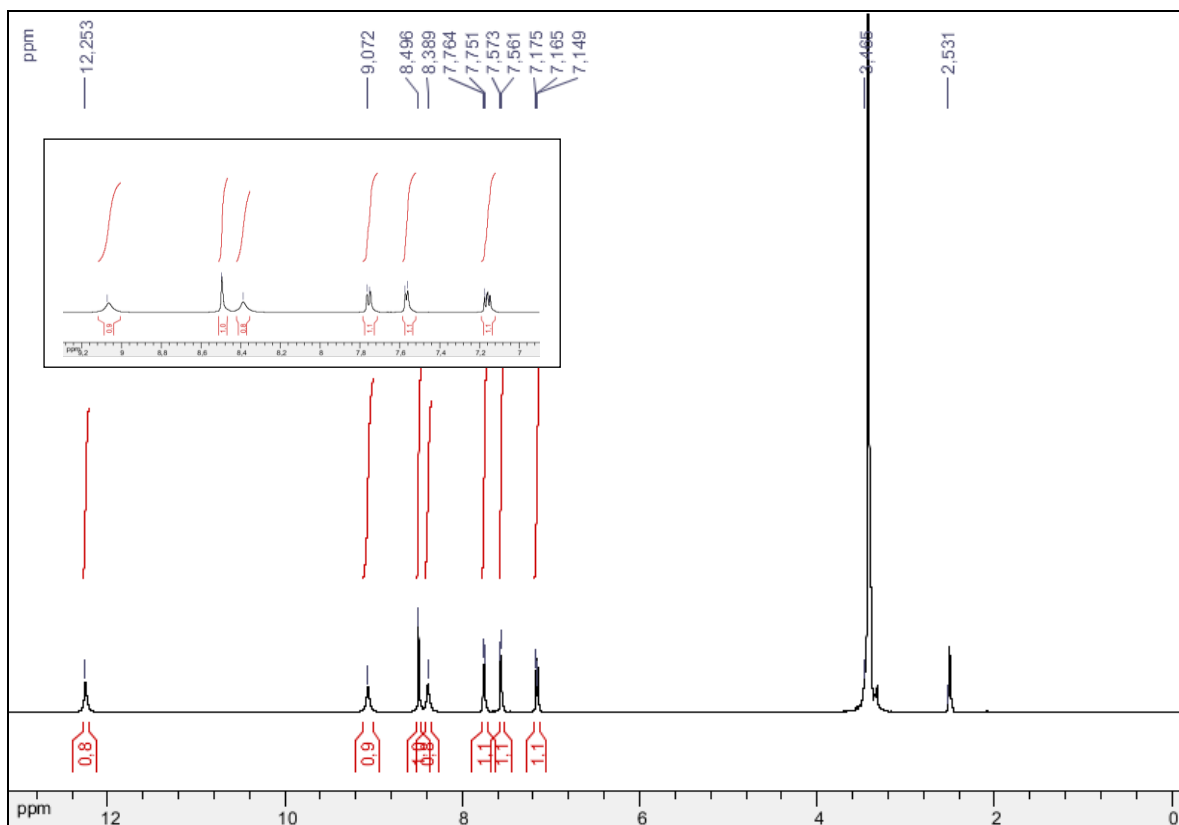


Figura A71. Espectro de RMN de ^1H do composto **21**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

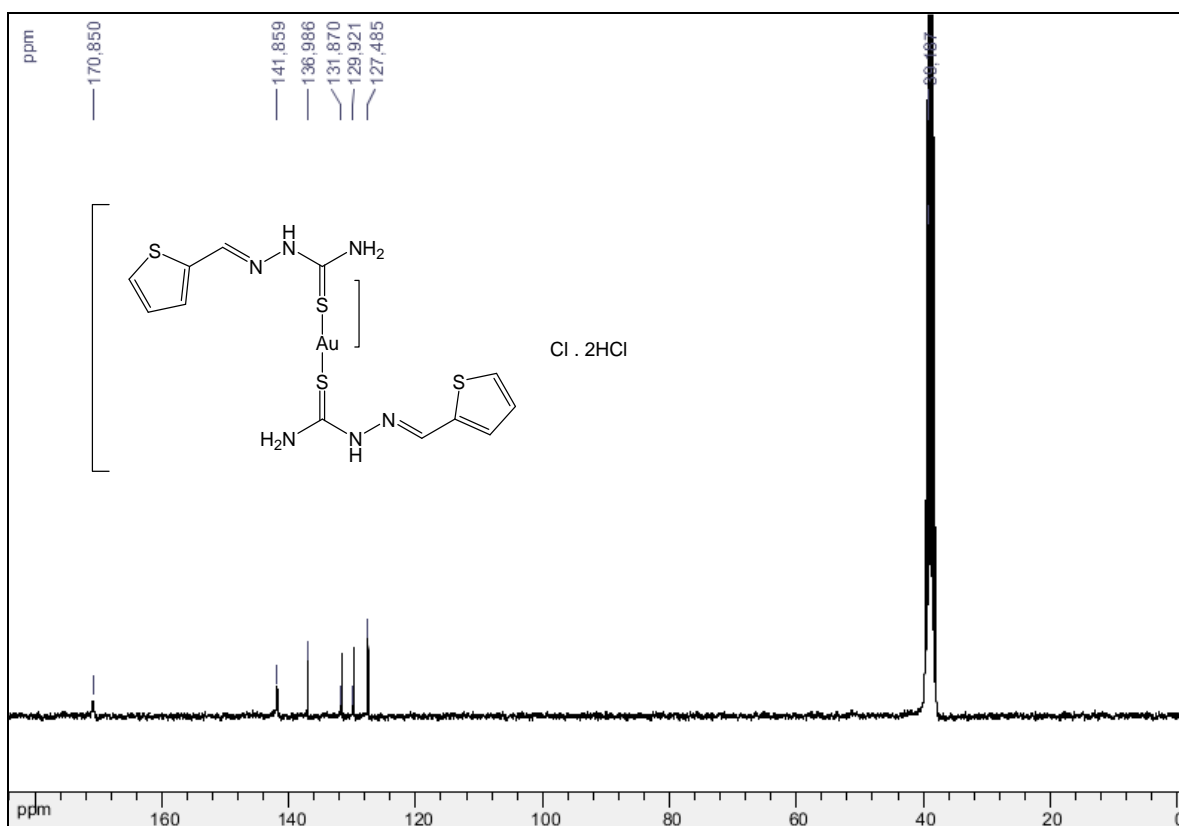


Figura A72. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **21**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

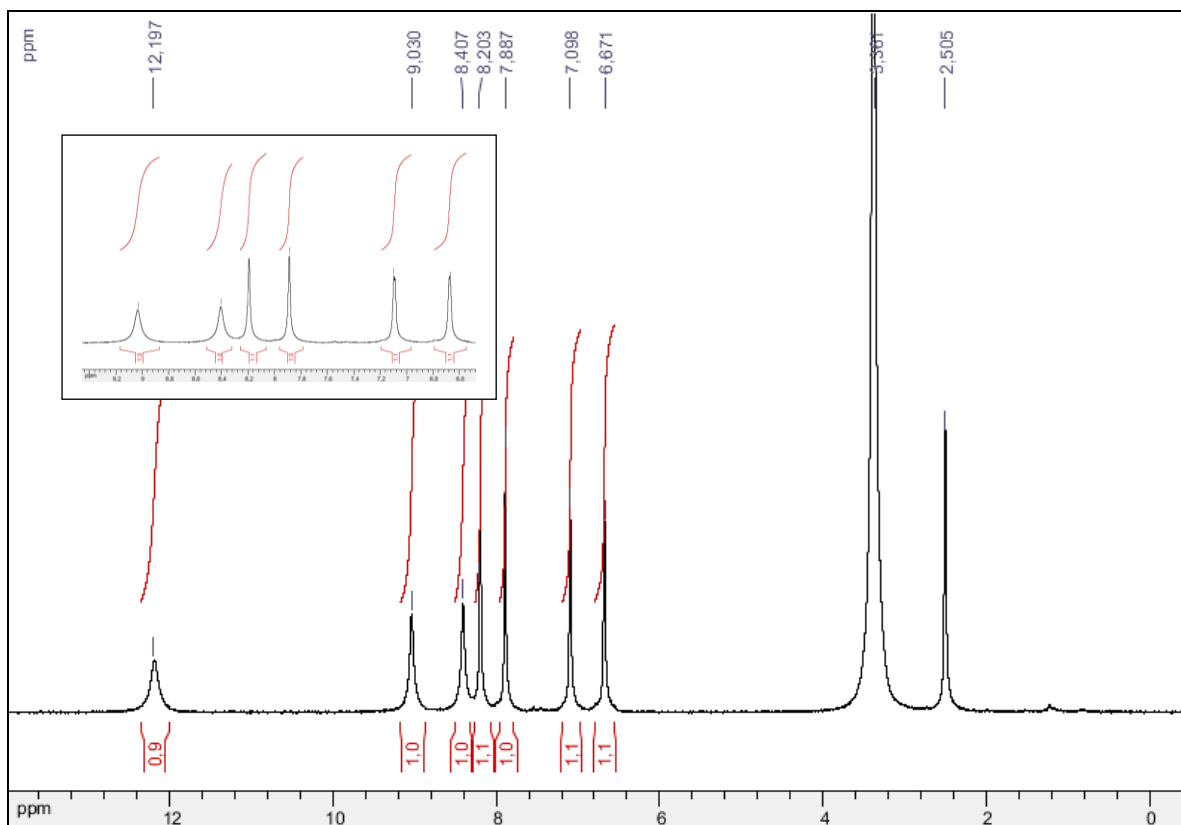


Figura A73. Espectro de RMN de ^1H do composto **22**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

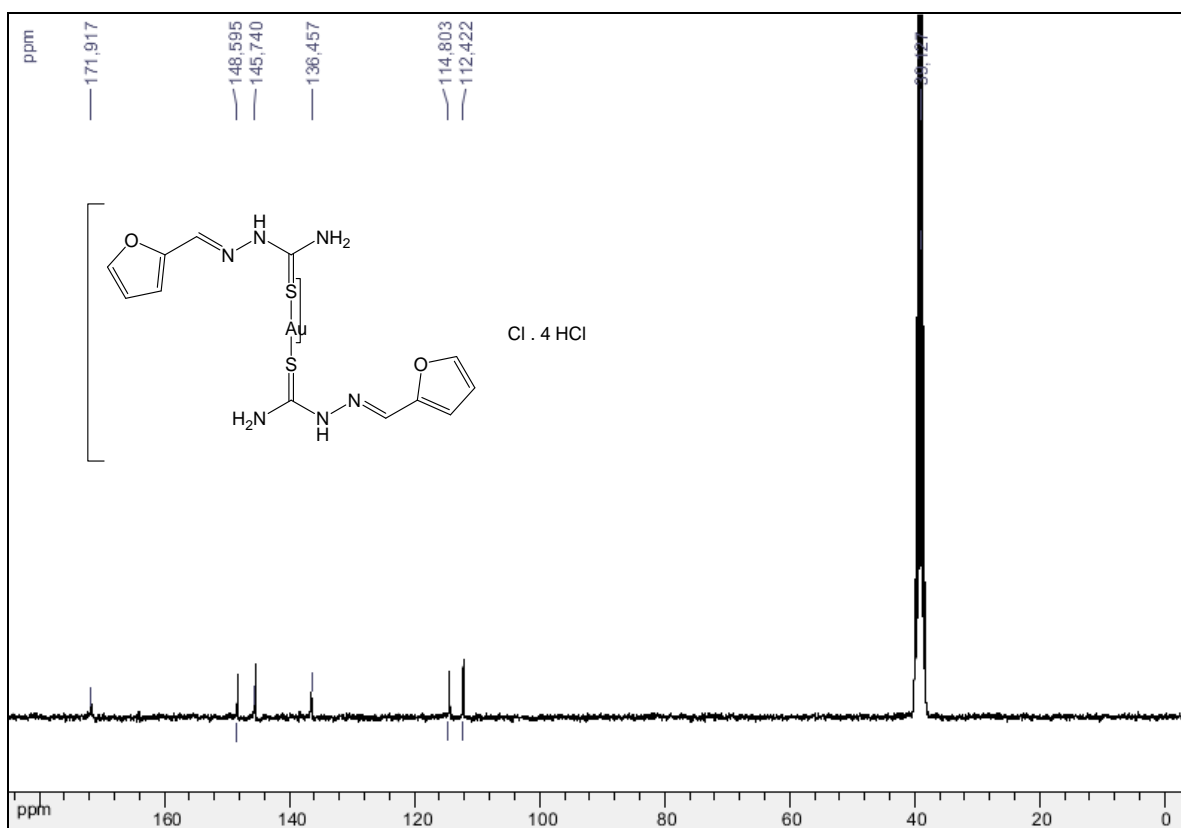


Figura A74. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **22**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

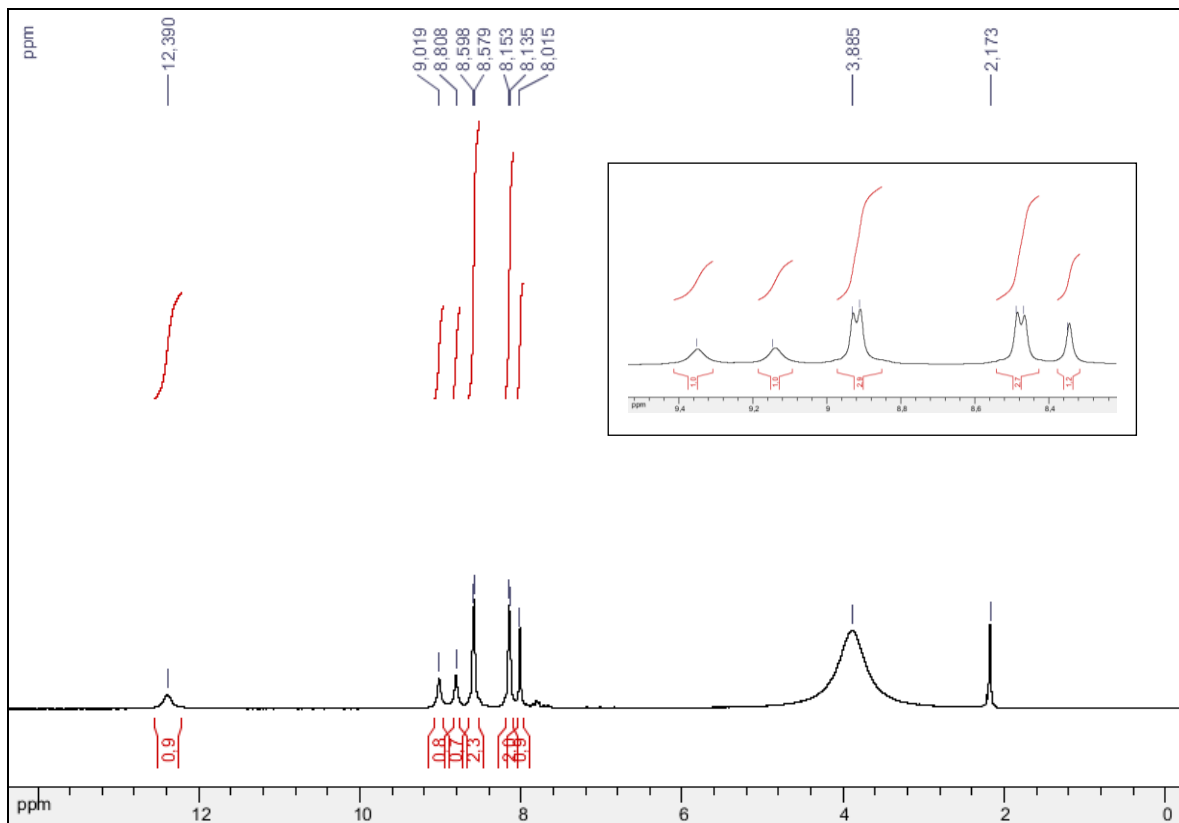


Figura A75. Espectro de RMN de ^1H do composto **23**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

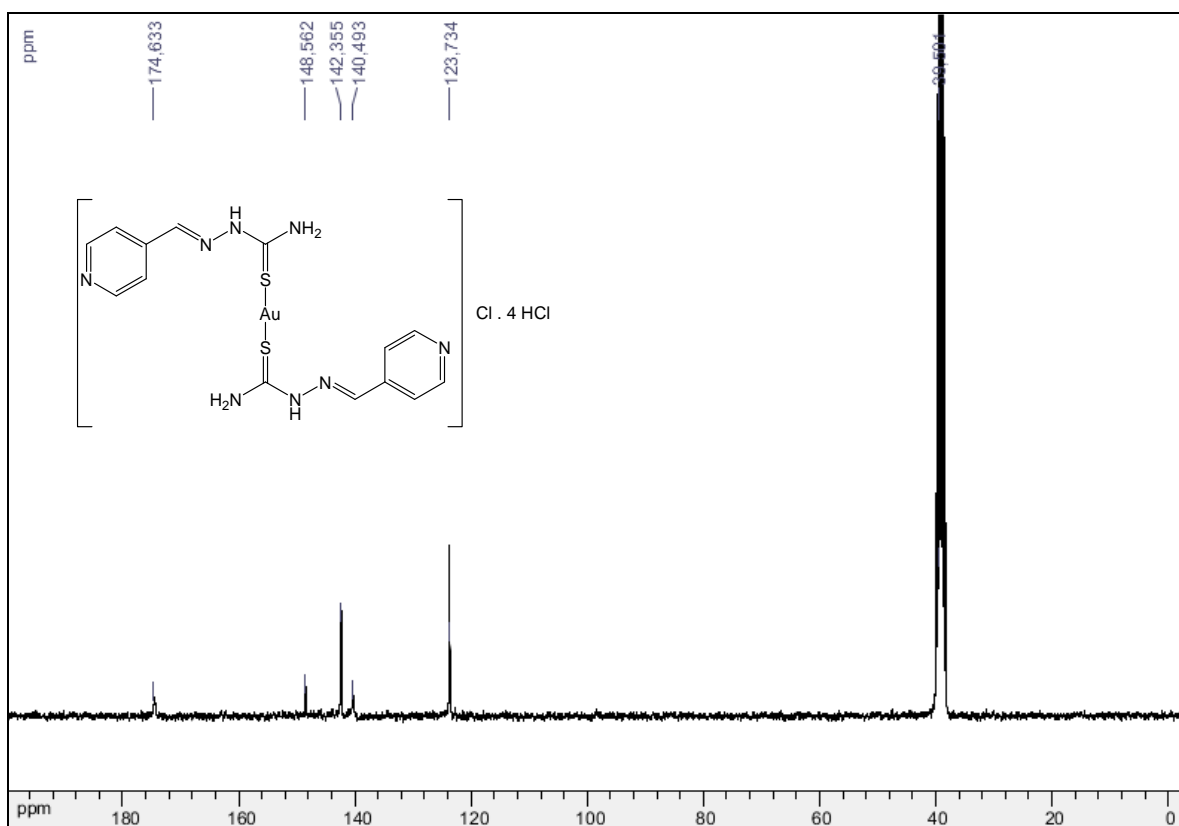


Figura A76. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **23**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

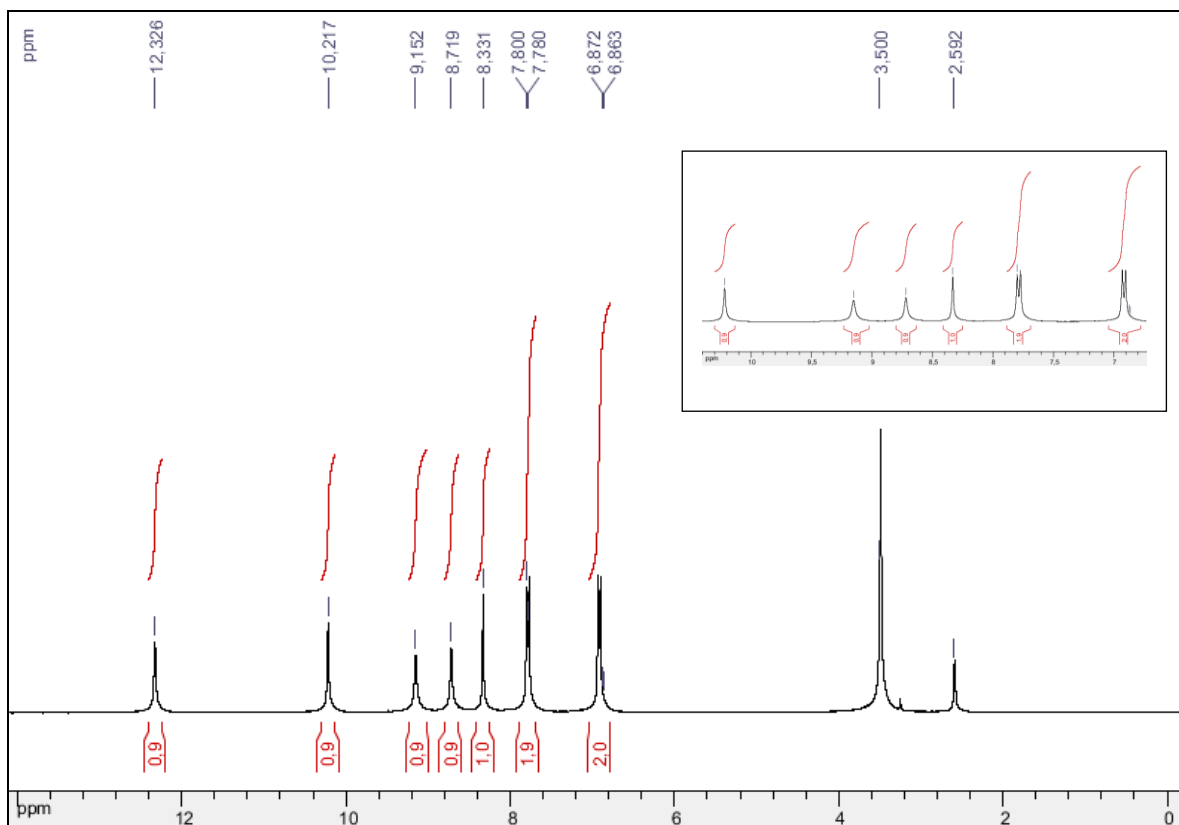


Figura A77. Espectro de RMN de ^1H do composto **24**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

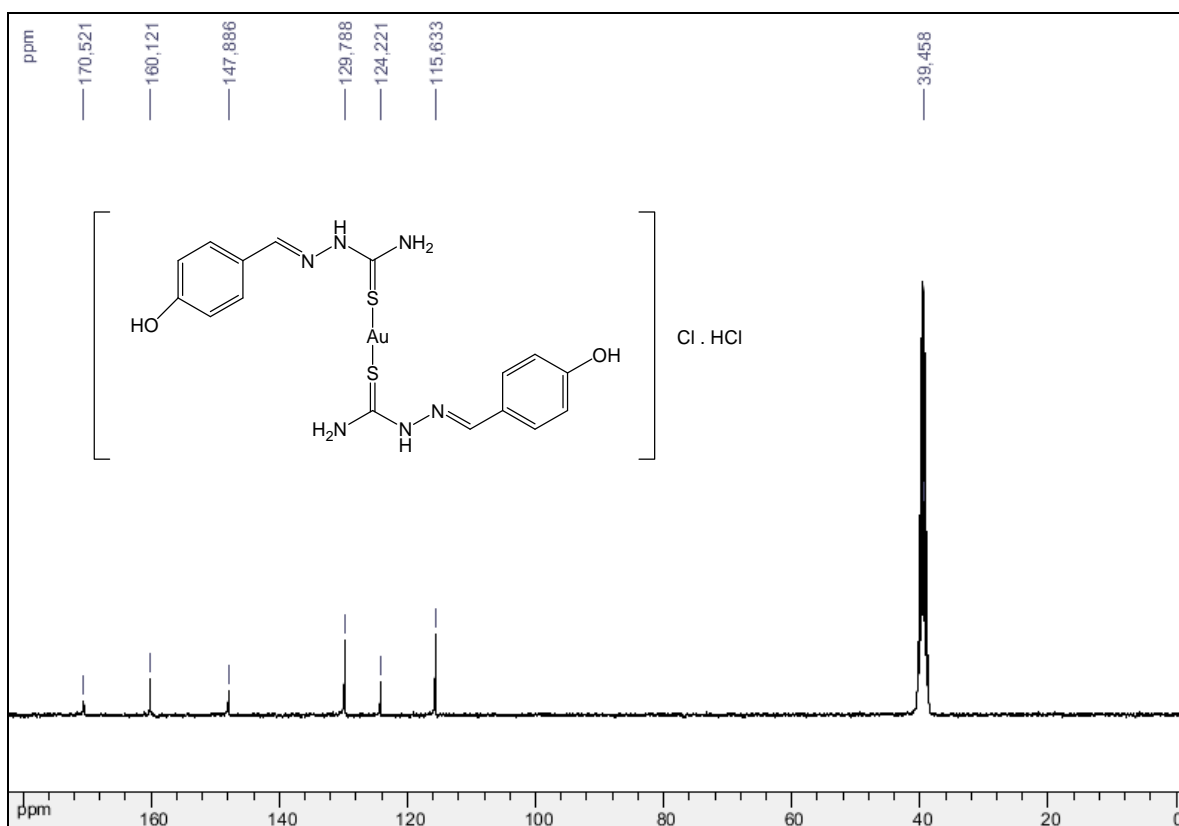


Figura A78. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **24**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

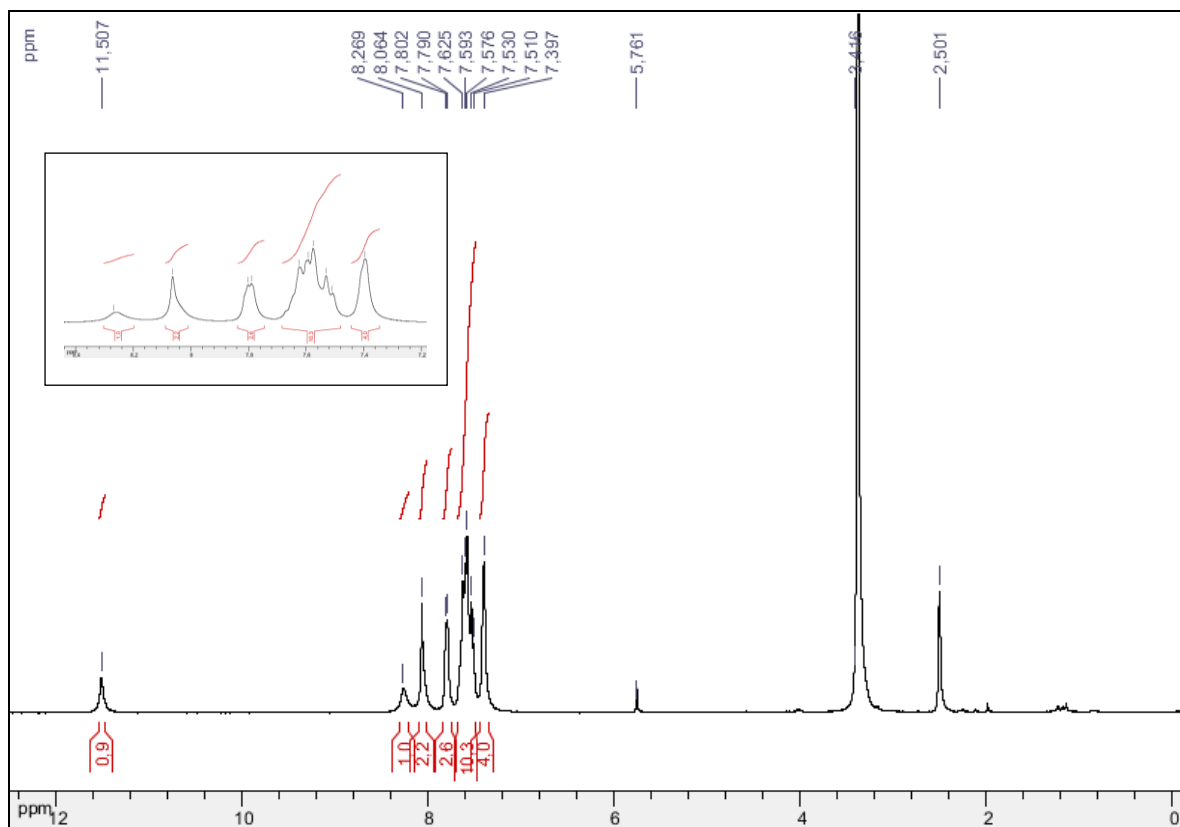


Figura A79. Espectro de RMN de ^1H do composto **25**, ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

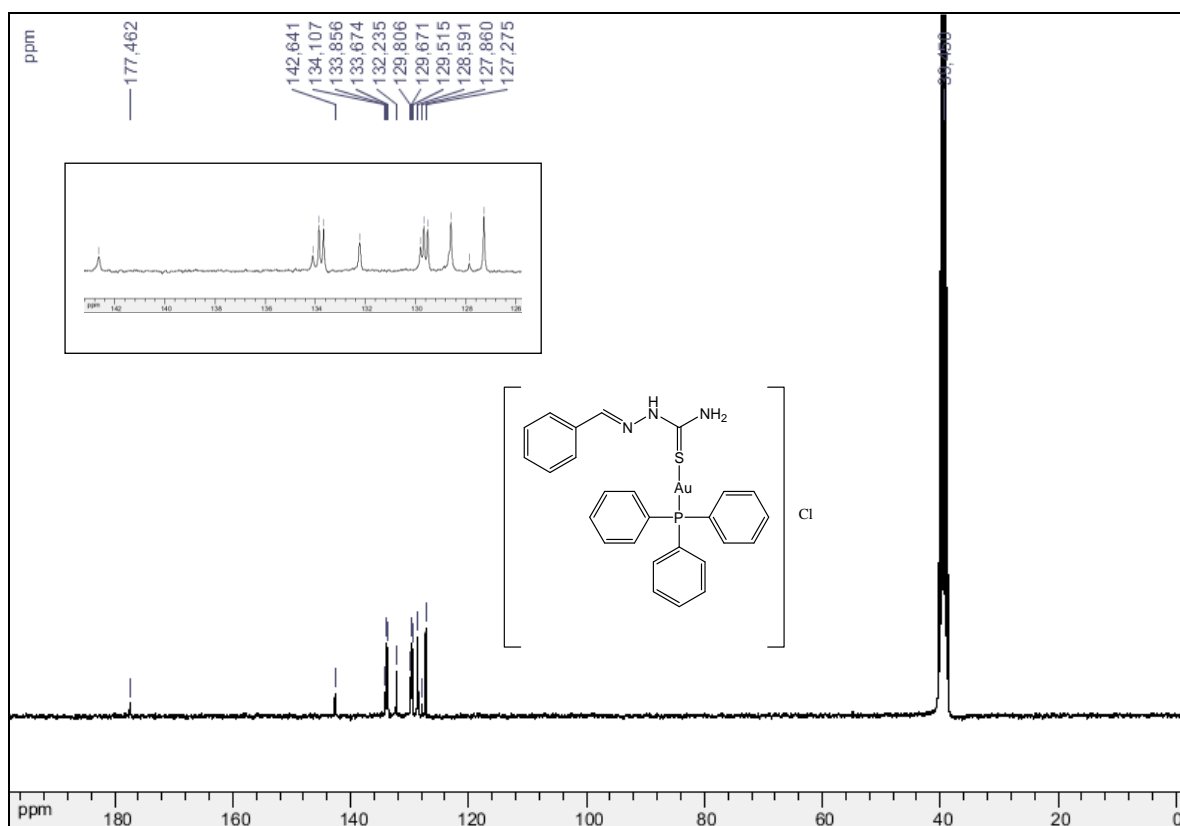


Figura A80. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **25**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

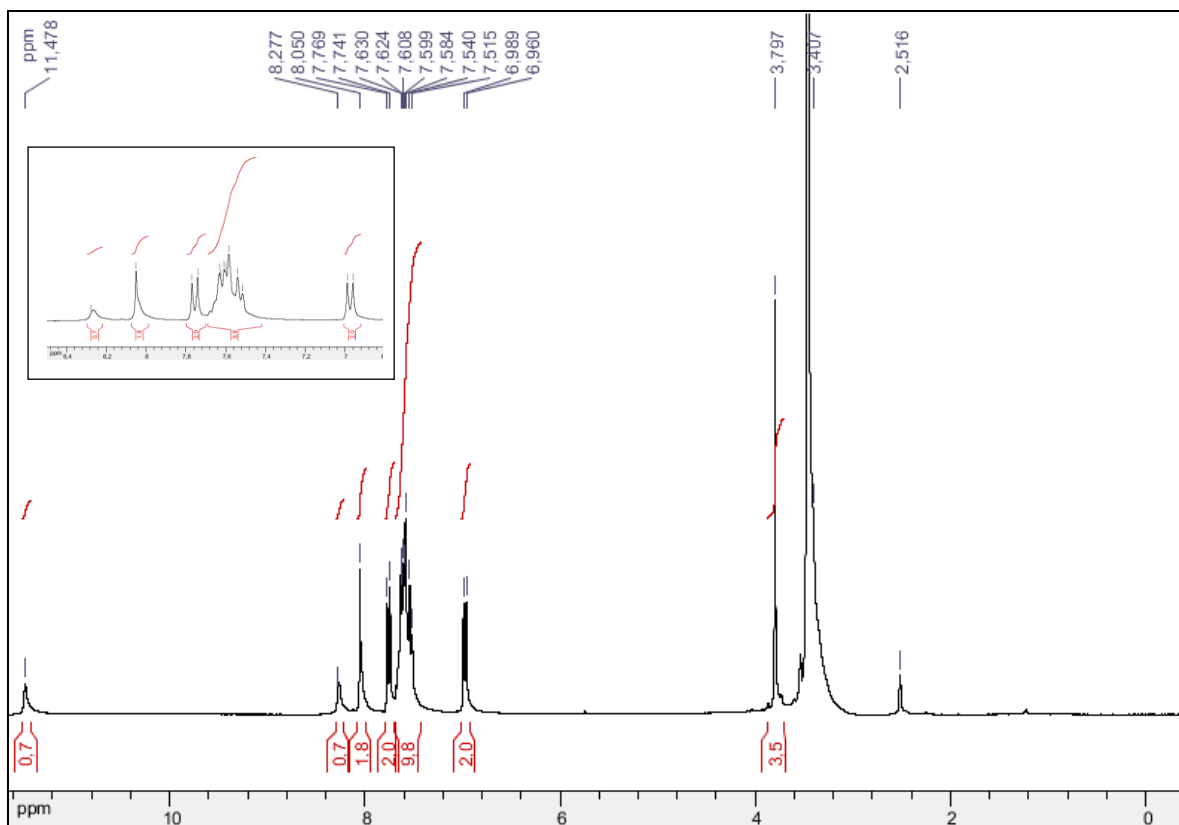


Figura A81. Espectro de RMN de ^1H do composto **26**, ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

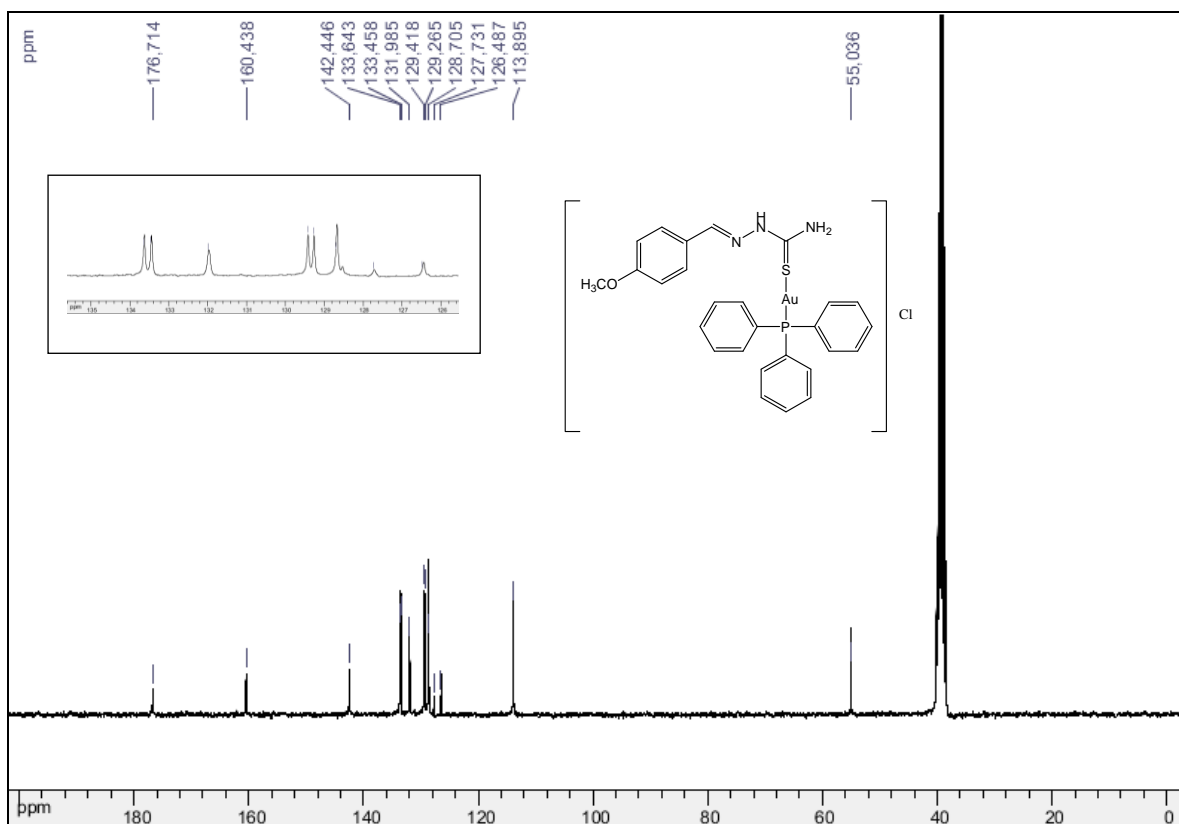


Figura A82. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **26**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

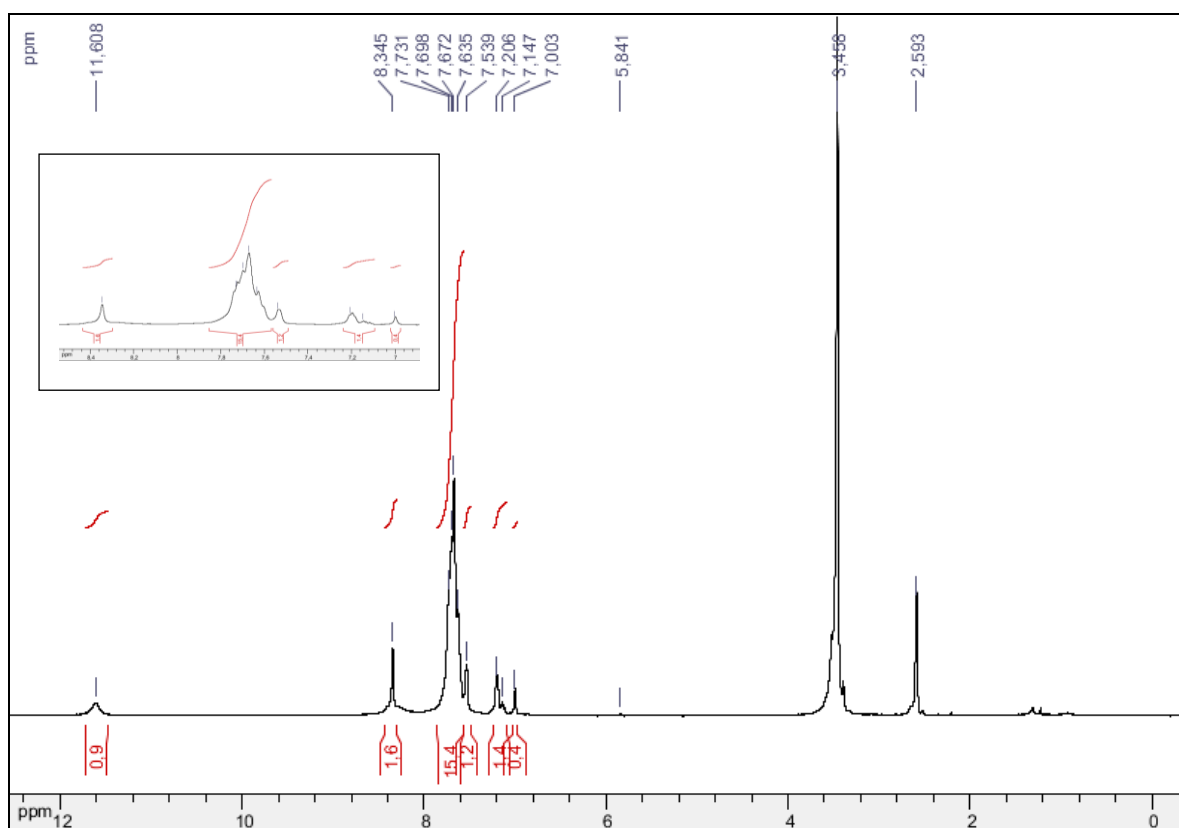


Figura A83. Espectro de RMN de ^1H do composto **27**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

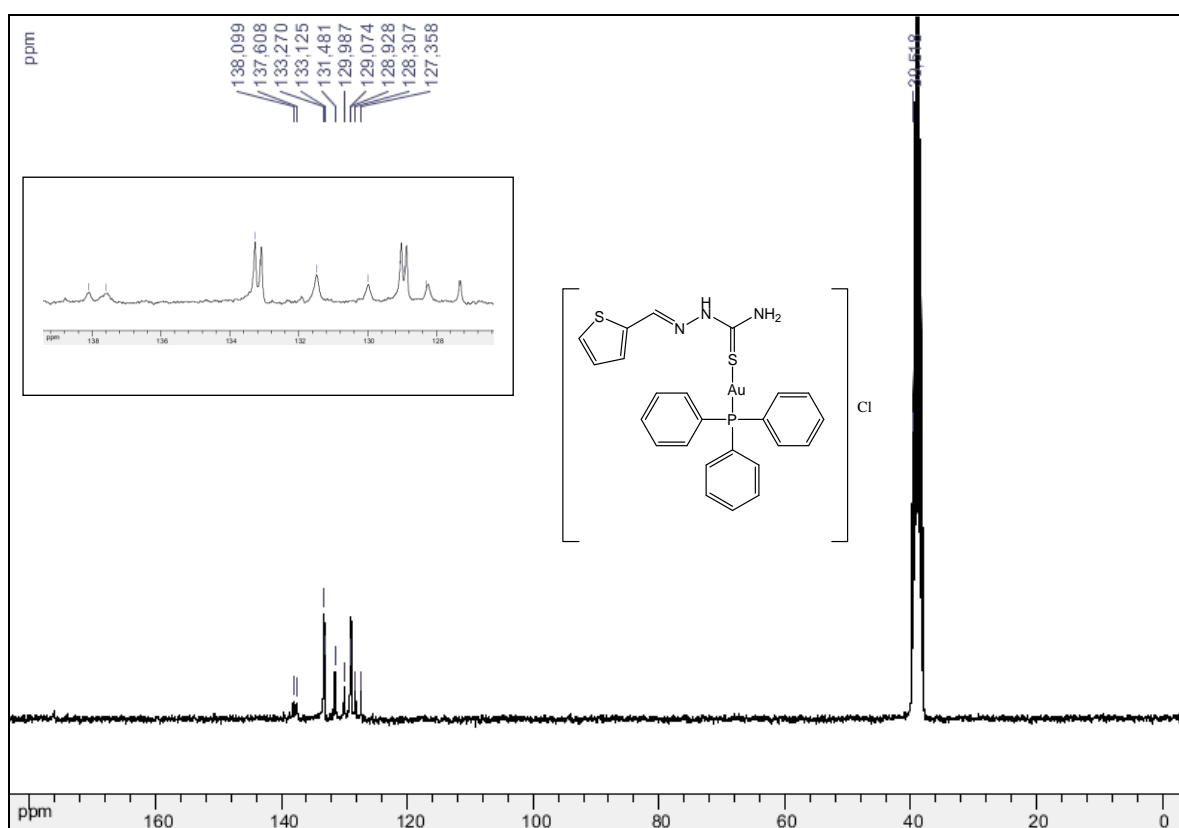


Figura A84. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **27**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

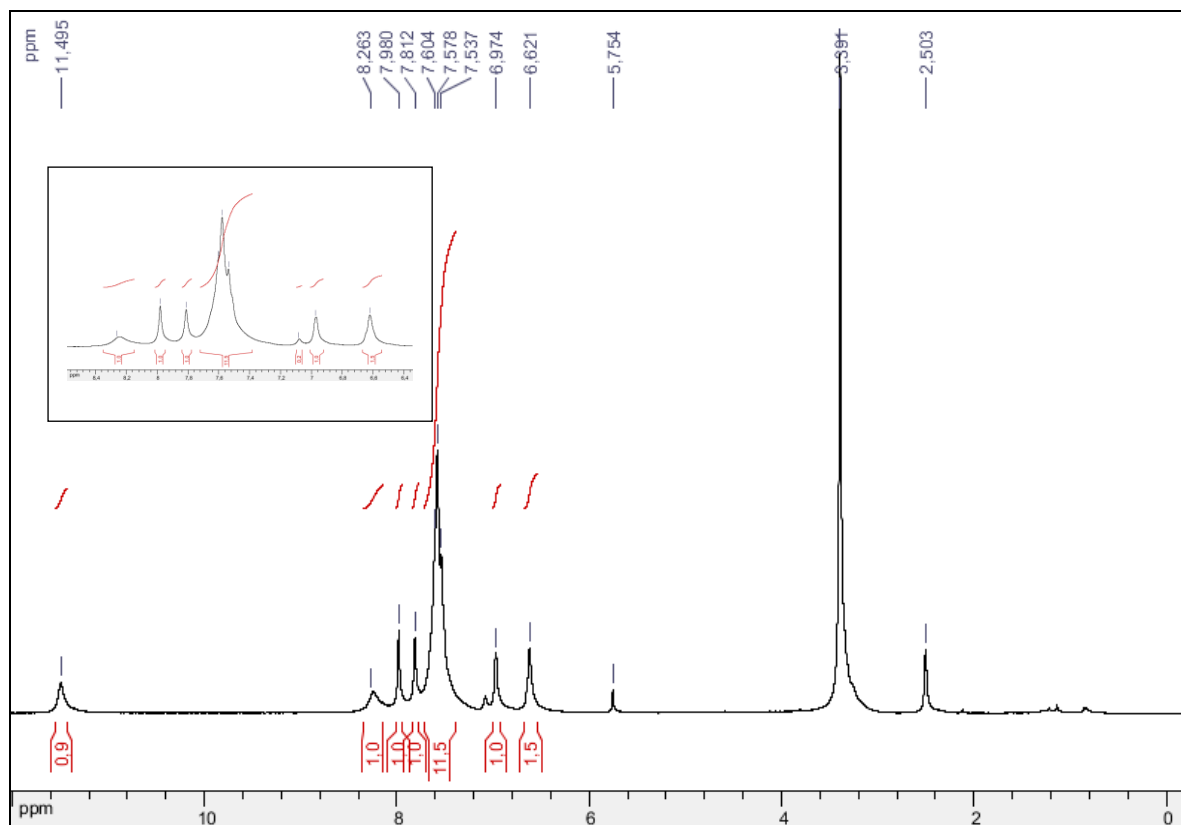


Figura A85. Espectro de RMN de ^1H do composto **28**, ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

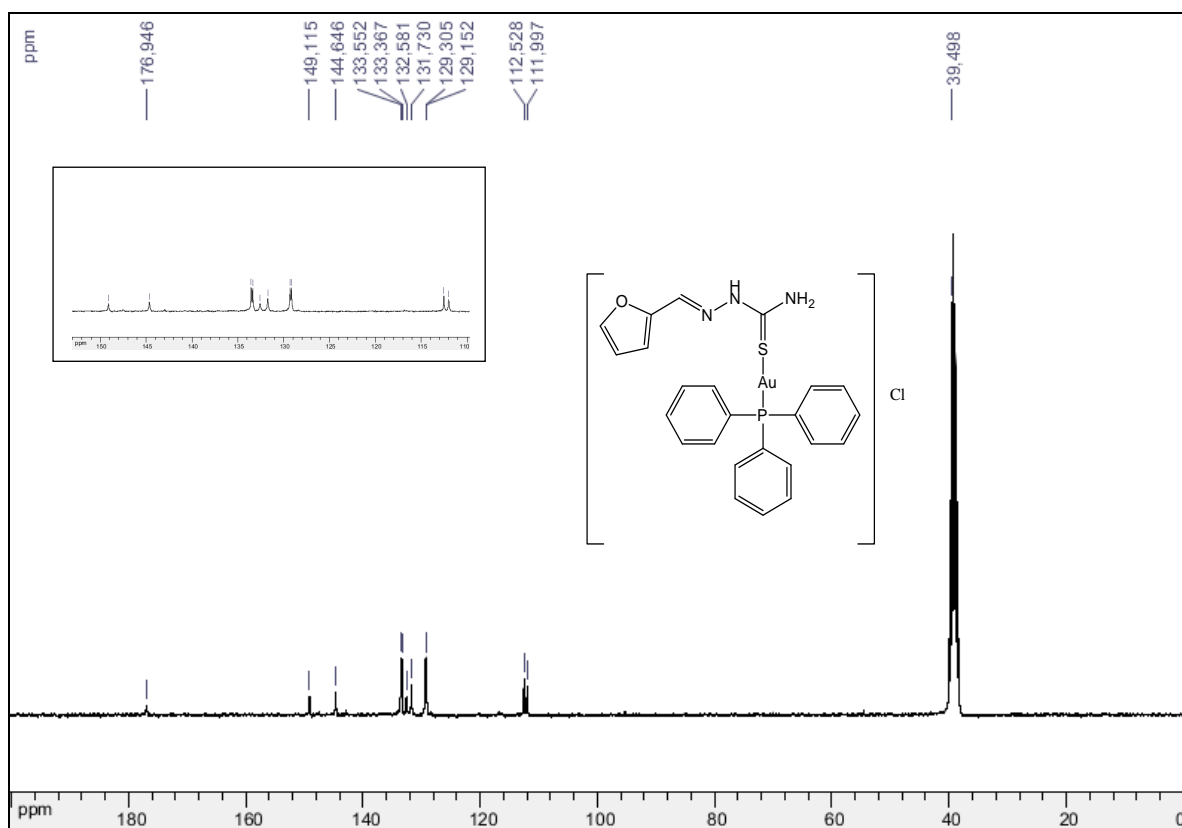


Figura A86. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **28**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

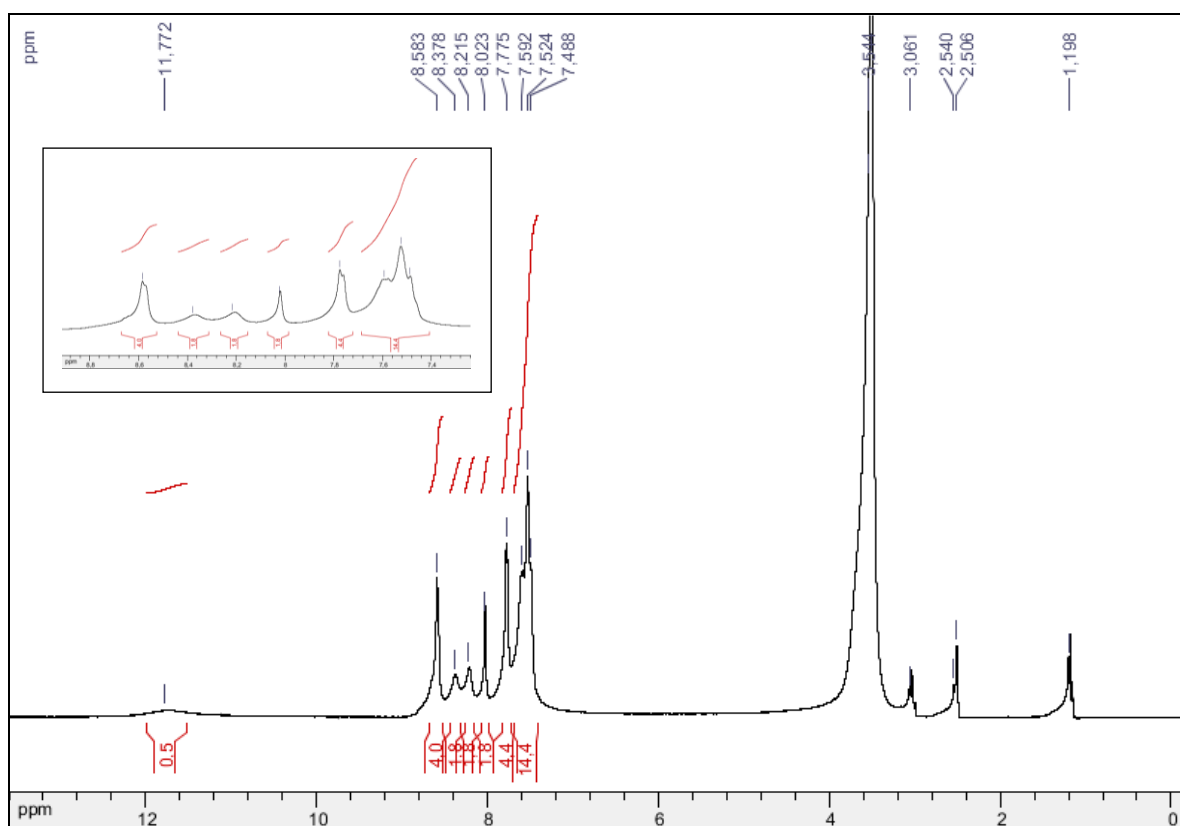


Figura A87. Espectro de RMN de ^1H do composto **29**, ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz)

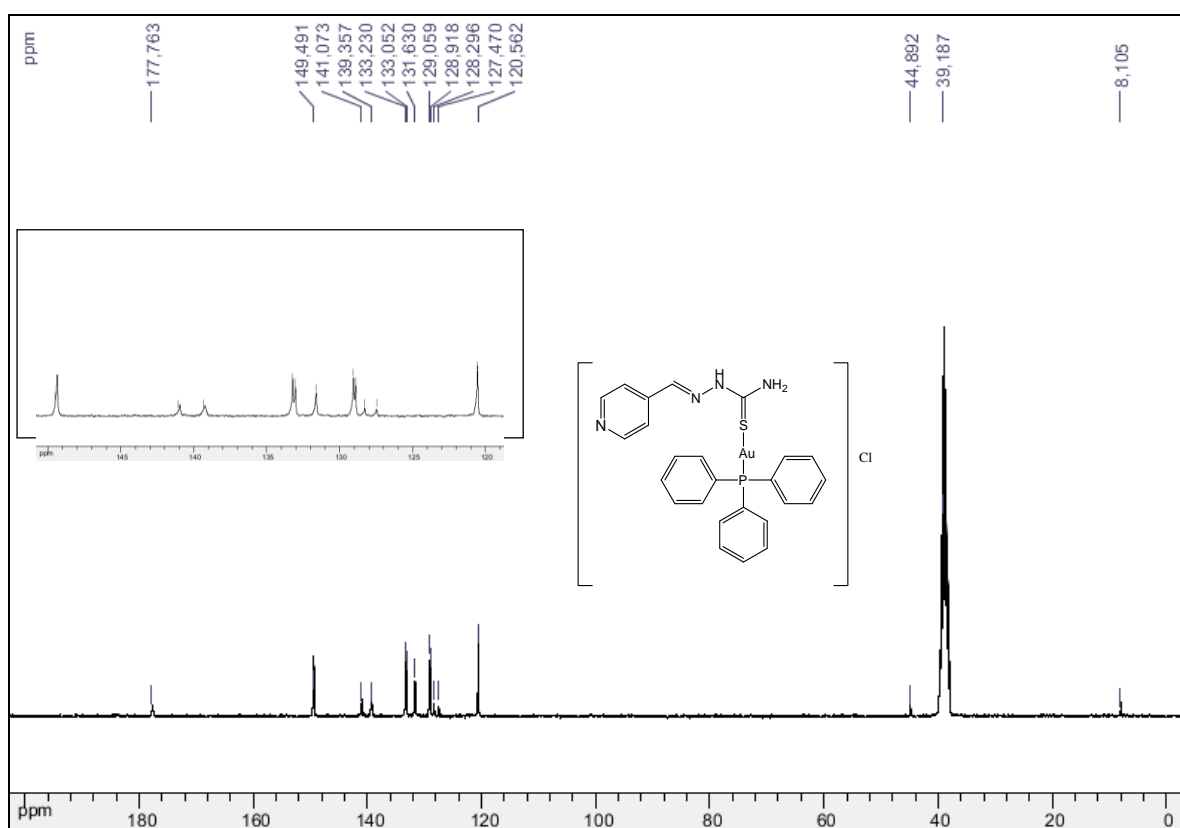


Figura A88. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **29**, ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz)

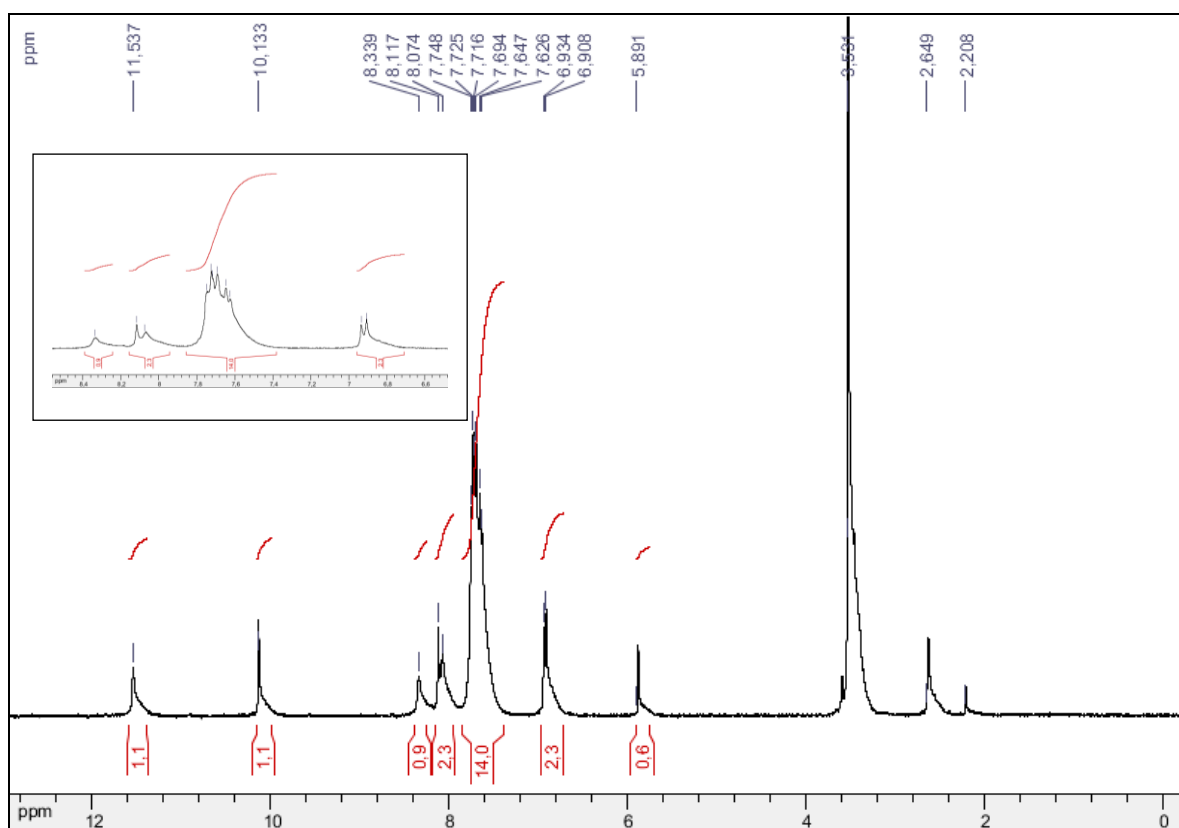


Figura A89. Espectro de RMN de ^1H do composto **30**, (DMSO- d_6 , 300 MHz)

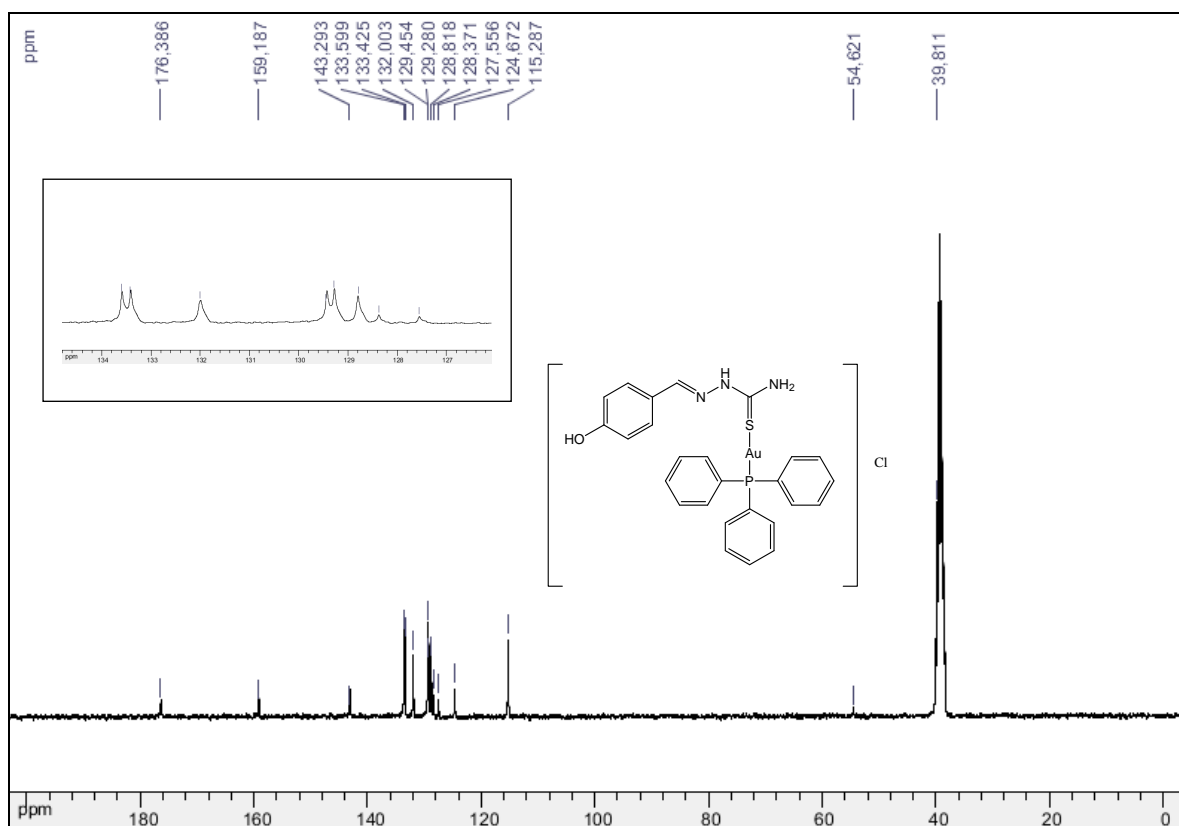


Figura A90. Espectro de RMN de ^{13}C do composto **30**, (DMSO- d_6 , 75 MHz)

Platinum(II) and palladium(II) aryl-thiosemicarbazone complexes: synthesis, characterization, molecular modeling, cytotoxicity, and antimicrobial activity

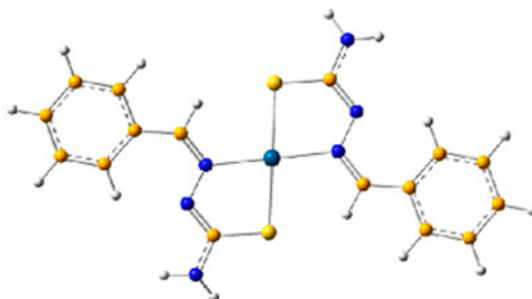
T.T. TAVARES†, D. PASCHOAL†, E.V.S. MOTTA‡, A.G. CARPANEZ†, M.T.P. LOPES§, E.S. FONTES‡, H.F. DOS SANTOS†, H. SILVA†, R.M. GRAZUL† and A.P.S. FONTES*†

†Departamento de Química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brazil

‡Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brazil

§Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

(Received 19 September 2013; accepted 1 February 2014)



Platinum(II) and palladium(II) complexes $[ML_2]$ have been isolated from reaction of K_2PtCl_4 or K_2PdCl_4 and ligands (L) derived from thiosemicarbazones. The complexes were characterized by elemental analysis, Raman, IR, and NMR spectroscopy. In addition, quantum mechanical calculations were used to predict their structures and spectroscopic properties. For the first time, theoretical calculations using ^{195}Pt NMR data were used to support the suggested structures. The results indicate that the thionic sulfur and the azomethine nitrogen are bonded to the metal ion in a *trans* configuration. Antibacterial activities and cytotoxicities of the complexes to B16-F10 and CT26.WT cell lines were also investigated. Some of the complexes demonstrated superior cytotoxic activity compared to cisplatin.

Keywords: Thiosemicarbazones; Pt(II) and Pd(II) complexes; Cytotoxicity; Molecular modeling

1. Introduction

The majority of potential antitumor metal complexes are structural analogs of cisplatin. However, due to severe side effects and other undesirable properties [1, 2], there has been a

*Corresponding author. Email: ana.fontes@ufjf.edu.br

decrease in the number of compounds based on the cisplatin structure. This has motivated the search for complexes presenting novel structures and promising activity, mainly those with the ability to overcome cisplatin resistance [3].

Metal coordination to biologically active molecules can be used as a strategy to enhance activity and overcome resistance. For instance, metal complexes of thiosemicarbazones are often more active than the free ligand, or even act as a vehicle for activation of the ligand as the cytotoxic agent [2, 3]. The coordination chemistry of thiosemicarbazones has generated interest for their variable donor ability, structural diversity, and biological applications [4, 5]. Thiosemicarbazones are among the most potent inhibitors of ribonucleotide reductase activity. This enzyme catalyzes the synthesis of DNA and is responsible for maintaining the balanced supply of deoxyribonucleotides required for DNA synthesis and repair. Strong positive correlation has been established between ribonucleotide reductase activity and anti-tumor activity [6]. Platinum(II) and palladium(II) complexes with thiosemicarbazones are particularly attractive because of their antitumor [7], antibacterial [8], antiviral [9], and cytotoxic activities [10, 11].

The combination of thiosemicarbazones with platinum(II) and palladium(II) can also produce synergistic inhibition of tumor growth and may lead to improvements in the efficacy of cancer chemotherapy [4, 12, 13]. Palladium complexes with thiosemicarbazones show antitumor activities and some are also active in cell lines resistant to cisplatin, presenting decreased nephrotoxicity [14, 15].

Thiosemicarbazones may incorporate heterocyclic or aromatic rings. Due to their biological activities, such molecules have attracted interest. They have been previously described to present nematocidal, insecticidal, antibacterial, antifungal, antiviral, and anti-inflammatory activities, especially for furan and thiophene side groups [16].

The coordination chemistry of metal complexes with thiosemicarbazones has been intensively investigated. Usually they bind to a metal ion via dissociation of the hydrazine proton, as a bidentate N, S donor, forming a five-membered chelate ring [17]. The ligands may feature more than two binding sites, depending on the precursor aldehyde, and on the tautomeric equilibrium of the thiosemicarbazone.

As part of our continuing investigations on metal complexes as anticancer [18, 19] and antimicrobial [20, 21] agents, we report herein the synthesis, characterization, and cytotoxic/antimicrobial activity of palladium(II) and platinum(II) complexes containing thiosemicarbazone ligands. The compounds were characterized by Raman, IR, and NMR (^1H , ^{13}C , ^{195}Pt) spectroscopy and elemental analysis, in addition to quantum mechanical calculations.

2. Experimental

2.1. Materials and methods

All reagents and solvents were used as obtained from commercial sources (Aldrich Sigma) without purification. The thiosemicarbazones were prepared according to previously reported methods [22].

Melting points were determined with a MQAPF-Microquímica hot-stage apparatus. Elemental analyses were performed at the University of São Paulo, Brazil. IR spectra were obtained on a Bomem FT IR MB-102 spectrometer as KBr pellets. Fourier-transform Raman spectroscopy was carried out using a Bruker RFS 100 instrument equipped with an

Nd³⁺/YAG laser operating at 1064 nm in the near infrared with a CCD detector cooled with liquid nitrogen with an average of 1000 scans and a spectral resolution of 4 cm⁻¹. ¹H NMR (300 MHz), ¹³C NMR (75 MHz), and ¹⁹⁵Pt NMR (64 MHz) spectra were recorded on a Bruker spectrometer by dissolving the complexes in DMSO-d₆. The chemical shifts are expressed as δ (in ppm) from internal reference standards, TMS (¹H and ¹³C NMR) and K₂PtCl₆ (¹⁹⁵Pt NMR). Mass spectra were obtained on an AXIMA MALDI-TOF-TOF Shimadzu Biotech equipment. A nitrogen laser ($\lambda_{\text{max}} = 337$ nm) was employed for excitation in a α cyano matrix. 200 scans were accumulated with 20 repetitions each.

2.2. Synthesis of ligands

The thiosemicarbazone ligands were prepared according to the literature procedure [22] (scheme 1). To a hot solution of thiosemicarbazide (31.25 mM) in 50 mL of methanol, a solution of the corresponding aromatic aldehyde (31.25 mM) in 30 mL of methanol was added dropwise. The mixture was stirred and refluxed for 4 h, cooled, and then filtered. The volume of the filtrate was reduced and kept in a refrigerator. After several hours, yellow or white solids were obtained, isolated by filtration, washed with cold ethanol, and dried under vacuum. **(a)** (C₈H₉N₃S), white solid, yield = 62%, m.p. 158–160 °C; **(b)** (C₉H₁₁ON₃S), white solid, yield = 82%, m.p. 174–175 °C; **(c)** (C₆H₇N₃S₂), pale yellow solid, yield = 74%, m.p. 189–190 °C; **(d)** (C₆H₇ON₃S), pale yellow solid, yield = 61%, m.p. 152–153 °C; **(e)** (C₇H₈N₄S), beige solid, yield = 88%, m.p. 217–219 °C; **(f)** (C₈H₉ON₃S), beige solid, yield = 65%, m.p. 237–238 °C.

2.3. Synthesis of complexes

A suspension of potassium tetrachloroplatinate or potassium tetrachloropalladate (0.5 mM) in methanol (10 mL) was added with stirring to a solution of the corresponding ligand (1 mM) in methanol (10 mL) containing triethylamine (2 mM; scheme 2). The solution was refluxed for 24 h for the palladium complexes. For the platinum complexes, reflux was maintained between 10 and 20 days. The complete consumption of the starting material was evidenced by thin-layer chromatography (TLC; eluent: 9:1 dichloromethane/methanol). The precipitate thus formed was collected by filtration and dried in vacuum. Yields: **(1)** 74%, **(2)** 42%, **(3)** 64%, **(4)** 61%, **(5)** 67%, **(6)** 31%, **(7)** 40%, **(8)** 79%, **(9)** 70%, **(10)** 87%, **(11)** 61%, **(12)** 66%.

(1) IR ν_{max} KBr (cm⁻¹): 3420, 3274, 1598, 1586, 1025, 847; Raman (cm⁻¹): 1578, 1556, 1180, 872, 433, 400. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ : 7.79 m, 2H, (NH₂); 7.78, 7.44 (m, 6H, Ph), 8.14 (s, 1H, HC=N); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) δ : 132.38, 132.32, 130.70, 128.29, 128.10 and 11.32 (C, Ph); 143.36 (HC=N); 176.16 (C-S); ¹⁹⁵Pt NMR (64 MHz, DMSO-d₆) δ : -3126. Anal. Calcd for C₁₆H₁₆N₆S₂Pt (%): C, 34.85; H, 2.90; N, 15.25. Found: C, 34.72; H, 3.02; N, 14.71. MS (MALDI): m/z Calcd for [C₁₆H₁₇N₆S₂Pt] [M + H]⁺ Calcd (552.1) found 552.5.

(2) IR ν_{max} KBr (cm⁻¹): 3468, 3359, 1603, 1563, 1012, 856; Raman (cm⁻¹): 1585, 1537, 1165, 869, 486, 400. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ : 3.83 (s, 3H, CH₃); 7.33 (s, 2H, NH₂); 8.18, 8.15, 6.99, 6.96 (dd, 6H, Ph), 7.72 (s, 1H, HC=N); ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) δ : 160.91, 134.59, 125.43 and 113.49 (C, Ph); 154.16 (HC=N); 175.08 (C-S); ¹⁹⁵Pt NMR (64 MHz, DMSO-d₆) δ : -3143. Anal. Calcd for C₁₈H₂₀N₆S₂O₂Pt (%): C, 35.35; H, 3.27; N, 13.03. Found: C, 35.31; H, 3.50; N, 13.75. MS (MALDI): m/z Calcd for [C₁₈H₂₁N₆S₂O₂Pt] [M + H]⁺ Calcd (612.1) found 612.2.

(3) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3461, 3358, 1599, 1572, 1062, 813. Raman (cm^{-1}): 1578, 1522, 1083, 857, 456, 388. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.34 (s, 2H, NH_2); 8.07, 7.94, 7.64, 7.15 (dd, 4H, Ph), 8.11 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 149.42, 141.89, 140.34, 132.44 (C, Ph); 153.01 ($\text{HC}=\text{N}$); 182.04 (C-S); ^{195}Pt NMR (64 MHz, DMSO- d_6) δ : -3012. Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{S}_4\text{Pt}$ (%): C, 25.58; H, 2.13; N, 14.92. Found: C, 25.79; H, 2.18; N, 14.15. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_6\text{S}_4\text{Pt}] [\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd (564.0) found 564.5.

(4) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3405, 3295, 1608, 1588, 1091, 862. Raman (cm^{-1}): 1590, 1503, 1146, 823, 452, 418. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.56 (s, 2H, NH_2); 7.77, 7.76, 7.70, 6.75 (dd, 4H, Ph), 7.90 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 146.07, 141.76, 121.54, 121.54 and 113.03 (C, Ph); 147.69 ($\text{HC}=\text{N}$); 175.79 (C-S); ^{195}Pt NMR (64 MHz, DMSO- d_6) δ : -2999. Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pt}$ (%): C, 27.12; H, 2.26; N, 15.49. Found: C, 27.16; H, 2.42; N, 15.82. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pt}] [\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd (532.0) found 532.3.

(5) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3417, 3288, 1632, 1589, 1040, 859. Raman (cm^{-1}): 1593, 1541, 1154, 850, 418, 384. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.07 (s, 2H, NH_2); 8.69, 8.36, 7.85, 7.68, 7.61, 7.38 (m, 5H, Ph), 8.08 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 151.96, 138.49, 125.19 (C, Ph); 150.11 ($\text{HC}=\text{N}$); 178.19 (C-S); ^{195}Pt NMR (64 MHz, DMSO- d_6) δ : -2932. Anal. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_8\text{S}_2\text{Pt}$ (%): C, 30.38; H, 2.74; N, 20.25. Found: C, 31.31; H, 3.11; N, 22.30. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_8\text{S}_2\text{Pt}] [\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd (554.1) found 554.1.

(6) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3426, 3321, 1598, 1574, 1025, 827. Raman (cm^{-1}): 1560, 1537, 1169, 869, 414, 384. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.22 (s, 2H, NH_2); 8.06, 8.03, 6.81, 6.78 (m, 6H, Ph), 7.65 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 160.13, 135.13, 124.32, 115.22 (C, Ph); 135.16 ($\text{HC}=\text{N}$); 174.87 (C-S); ^{195}Pt NMR (64 MHz, DMSO- d_6) δ : -2931. Anal. Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pt}$ (%): C, 32.93; H, 2.74; N, 14.41. Found: C, 31.80; H, 2.55; N, 13.97. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pt}] [\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd (584.1) found 584.3.

(7) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3452, 3330, 1615, 1574, 1023, 868. Raman (cm^{-1}): 1596, 1574, 1173, 874, 470, 405. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.27 (m, 2H, NH_2); 7.66, 7.58, 7.37, 6.79 (m, 6H, Ph), 7.37 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 132.24, 130.62, 130.03, 127.29 (C, Ph); 155.02 ($\text{HC}=\text{N}$); 172.81 (C-S); Anal. Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{S}_2\text{Pd}$ (%): C, 41.52; H, 3.83; N, 18.17. Found: C, 39.92; H, 3.91; N, 17.27. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{S}_2\text{Pd}] [\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd (463.1) found 463.5.

(8) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3458, 3336, 1609, 1566, 1018, 827. Raman (cm^{-1}): 1593, 1571, 1173, 880, 422, 396. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 3.79 (s, 3H, CH_3); 6.66 (s, 2H, NH_2); 7.56, 7.53, 6.88, 6.85 (dd, 6H, Ph), 7.38 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 160.84, 131.46, 124.40, 112.24 (C, Ph); 154.76 ($\text{HC}=\text{N}$); 171.48 (C-S). Anal. Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pd} \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ (%): C, 41.12; H, 4.32; N, 15.15. Found: C, 40.08; H, 4.16; N, 15.12. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pd}] [\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd (523.0) found 523.3.

(9) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3443, 3281, 1598, 1572, 1057, 825. Raman (cm^{-1}): 1578, 1576, 1146, 857, 418, 317. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.13 (s, 2H, NH_2); 7.87, 7.86, 7.11, 7.10 (dd, 4H, Ph), 7.58 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 135.58, 133.95, 132.89, 126.56 (C, Ph); 146.78 ($\text{HC}=\text{N}$); 173.07 (C-S). Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{S}_4\text{Pd}$ (%): C, 30.35; H, 2.53; N, 17.71. Found: C, 30.32; H, 2.68; N, 17.29. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_6\text{S}_4\text{Pd}] [\text{M} + \text{H}]^+$ Calcd (474.9) found 475.1.

(10) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3478, 3303, 1609, 1592, 1082, 889. Raman (cm^{-1}): 1585, 1560, 1150, 828, 425, 381. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.34 (s, 2H, NH_2); 7.62, 7.64, 7.18, 6.70, 6.69 (dd, 4H, Ph), 7.84 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 146.09, 140.85, 121.21, 113.32 (C, Ph); 147.17 ($\text{HC}=\text{N}$); 174.57 (C-S). Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pd}$ (%): C, 32.55; H, 2.71; N, 18.99. Found: C, 32.77; H, 2.91; N, 18.90. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pd}]^+$ Calcd (443.0) found 443.3.

(11) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3470, 3410, 1619, 1593, 1027, 865. Raman (cm^{-1}): 1593, 1574, 1199, 857, 444, 392. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.25 (s, 2H, NH_2); 8.65, 8.63, 8.19, 7.66, 7.63, 7.55 (m, 5H, Ph), 8.21 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 138.31, 137.87, 125.29, 125.09 (C, Ph); 147.27 ($\text{HC}=\text{N}$); 176.60 (C-S). Anal. Calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_8\text{S}_2\text{Pd}$ (%): C, 36.18; H, 3.01; N, 24.12. Found: C, 35.82; H, 2.86; N, 23.15. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_8\text{S}_2\text{Pd}]^+$ Calcd (465.0) found 465.4.

(12) IR ν_{\max} KBr (cm^{-1}): 3392, 3305, 1600, 1598, 1029, 816. Raman (cm^{-1}): 1588, 1512, 1176, 805, 414, 343. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 6.98 (s, 2H, NH_2); 7.99, 7.97, 6.97, 6.76 (m, 6H, Ph), 7.14 (s, 1H, $\text{HC}=\text{N}$); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 160.08, 135.10, 123.85, 115.28 (C, Ph); 153.99 ($\text{HC}=\text{N}$); 173.36 (C-S). Anal. Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pd}$ (%): C, 38.83; H, 3.24; N, 16.99. Found: C, 38.06; H, 3.18; N, 16.97. MS (MALDI): m/z Calcd for $[\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_6\text{S}_2\text{O}_2\text{Pd}]^+$ Calcd (495.0) found 495.3.

2.4. Cytotoxicity assay

Cytotoxic activities were investigated against the following tumor cell lines: B16-F10 – mouse metastatic skin melanoma, CT26.WT – colon cancer cells (Ludwig Institute of Cancer Research – São Paulo – Brazil), and the non-tumor cell line BHK-21 – Baby Hamster Kidney (Centro Panamericano de Febre Aftosa – Rio de Janeiro – Brazil). All cell lines were propagated in RPMI 1640 culture medium at pH 7.4, supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS), HEPES (4.0 mM), NaHCO_3 (14.0 mM), ampicillin (0.27 mM), and streptomycin (0.06 mM).

Cells were harvested by trypsinization and seeded in 96-well tissue culture plates (100 μL /well) at different densities according to the cell line (0.5×10^3 – 2×10^3 viable cells/well) and incubated at 37 °C in a humidified atmosphere containing 5% CO_2 for 24 h. Stock solutions of the test substances in DMSO were serially diluted in cell culture medium (<1% DMSO). After drug exposure for 72 h at 37 °C and 5% CO_2 , cells were incubated with MTT (0.01 M in water – 10 μL /well) for 4 h at 37 °C and 5% CO_2 . MTT is metabolized by viable cells resulting in a violet product that, after being solubilized in 100 μL of DMSO, can be quantified through colorimetric assay using an ELISA reader (absorbance at 570 nm).

The negative control (100% value of viability) was obtained with cells exposed to RPMI 1640 medium supplemented with 10% FBS. Positive controls (cisplatin) were also used against these cell lines.

The raw data were normalized to the untreated control cells and set relative to the metabolic activity of the viable treated cells. IC_{50} values were calculated by four parametric non-linear regression using Graph Pad Prism 5.0 software.

2.5. Antimicrobial assay

The samples were evaluated against the bacterial strains *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Shigella dysenteriae* (ATCC 13313), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *typhimurium* (ATCC 13311), *Escherichia coli* (ATCC 10536), and *Enterobacter cloacae* (ATCC 23355).

The MIC of each sample was determined using broth microdilution techniques for bacteria (NCCLS, 2002). MIC values were determined in Mueller-Hinton broth (MHB). Bacterial strains were cultured overnight at 37 °C in Brain Heart Infusion agar. Sample stock solutions were twofold diluted from 200 to 1.56 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (final volume = 80 μL) and a final DMSO concentration $\leq 1\%$. Then, MHB (100 μL) was added onto 24 microplates. Finally, 20 μL of 10^6 CFU/mL (values of 0.08–0.10 at 625 nm, according to McFarland turbidity standards) of standardized bacterial suspensions were inoculated onto microplates and the test was performed with a volume of 200 μL . Plates were incubated at 37 °C for 24 h. The same tests were performed simultaneously for growth control (MHB + bacteria) and sterility control (MHB + extract). The MIC values were calculated as the highest dilution showing complete inhibition of the tested strain. Chloramphenicol (100–0.78 $\mu\text{g mL}^{-1}$) was used as positive control [23].

2.6. Calculations

Quantum mechanical calculations using density functional theory (DFT) were used to predict structures and spectroscopic properties of the Pt(II) and Pd(II)-thiosemicarbazone complexes. The geometries for the *cis* and *trans* isomers were optimized in the gas phase at the B3LYP level [24] with the 6-31+G(d) basis set used for hydrogen and heavy elements, except for the metal for which the LanL2DZ [25] effective core potential was set for core electrons with its balanced double-zeta basis set for valence electrons [26]. This calculation scheme is abbreviated as B3LYP/LanL2DZ/6-31+G(d) and was recently evaluated for cisplatin reactivity [27]. The same level of theory was used for vibrational frequency calculation in order to characterize the structures as true minima on the potential energy surface (all harmonic frequencies real) as well as to analyze the vibrational normal modes. NMR predictions were also accomplished for ^1H , ^{13}C , and ^{195}Pt nuclei in order to assist the experimental assignments. The gage-independent atomic orbital method implemented by Wolinski, Hilton and Pulay [28] was used for calculation of magnetic shielding constants (σ) and the chemical shifts (δ), obtained on a δ -scale relative to the TMS (^1H and ^{13}C) and K_2PtCl_6 (^{195}Pt). For Pd(II) complexes, with only ^1H and ^{13}C nuclei active, the B3LYP/LanL2DZ/6-311++G(2df,2pd)// level of calculation was used with solvent effect (DMSO) included through the IEFPCM continuum model [29]. The double slash signifies that the geometries were those calculated at B3LYP/LanL2DZ/6-31+G(d) level. For Pt(II), in which the ^{195}Pt nuclei is also active, a distinct methodology was applied. The B3LYP level was used accounting for Douglas–Kroll–Hess (DKH) fourth-order relativistic calculations including spin-orbit terms [30]. The basis set for all atoms was the NMR-TZPP-DKH, which was specifically constructed for ^{195}Pt NMR prediction [31]. This calculation scheme is abbreviated as B3LYP-DHKSO/NMR-TZPP-DKH//. All calculations were carried out using the Gaussian 09 suite of programs [32].

3. Results and discussion

3.1. Structures and spectroscopic characterization

The thiosemicarbazones used as ligands were prepared by the classical method that consists of condensation of the aldehyde and thiosemicarbazide [22]. They were characterized using IR, ^1H , and ^{13}C NMR and by comparison with the data reported in the literature [33, 34].

Structures for Pd(II) and Pt(II) complexes with benzaldehyde thiosemicarbazone have been described by Hernández and collaborators [35]. They found that Pd forms a bis-chelated complex whereas the Pt complex is tetranuclear. To the best of our knowledge, the other complexes are new, although different structures with the same ligands have been described. For example, Lobana and coworkers [36] have described a palladium complex with triphenylphosphine- and thiophene thiosemicarbazone-coordinated tridentate through the N, S, and C. Antelo *et al.* [37] reported the study of palladium and platinum bimetallic compounds with *p*-hydroxyphenyl thiosemicarbazone.

We were not able to obtain crystals for X-ray diffraction, therefore definitive solid-state structures could not be obtained. Nonetheless, gas-phase geometries were predicted with the aid of DFT calculations. The metal : ligand 1 : 2 stoichiometry was observed from elemental analysis with the thiosemicarbazone in the *Z* form. The *cis* and *trans* forms are presented in figure 1 (for the benzene analog) with the main structural data quoted in table S1 and given as Supplementary materials (see online supplemental material at <http://dx.doi.org/10.1080/00958972.2014.900664>). The *trans* isomer was more stable than the *cis* isomer, regardless of the ligand derivative, with Gibbs free energy difference $\sim 3 \text{ kcal M}^{-1}$ (Pt complexes) and $\sim 1 \text{ kcal M}^{-1}$ (Pd complexes). The kinetics for formation of *cis* and *trans* isomers also favors the *trans* form. Using a simpler model with $\text{R}=\text{CH}_3$ in scheme 2, the free-energy barrier was 4 kcal M^{-1} lower for the reaction leading to the *trans* isomer than the corresponding process for the *cis* complex in methanol solution at 298.15 K. Therefore, the theoretical analysis presented here is focused on the *trans* isomer with some data for the *cis* form given as comparison. The *trans* complexes were planar with a slightly distorted square-planar geometry around the metal. The M–N and M–S bond lengths (M=Pt or Pd) were predicted as 2.07 and 2.37 Å, respectively, and the S–M–N angle was predicted to be 82° (see table S1). These values are in agreement with X-ray data reported for the Pd(II) complex of *m*-cyanobenzaldehyde thiosemicarbazone which were found to be 2.05, 2.30 Å, and 82.8° , respectively [35].

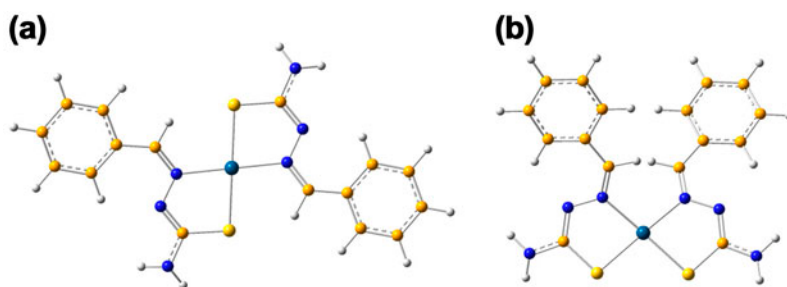
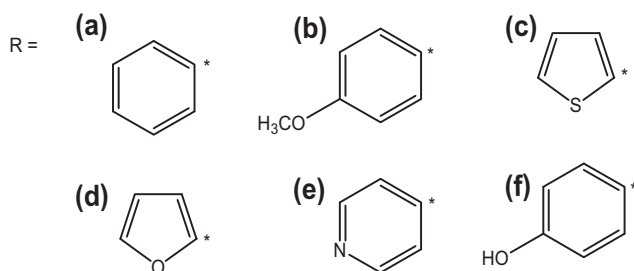
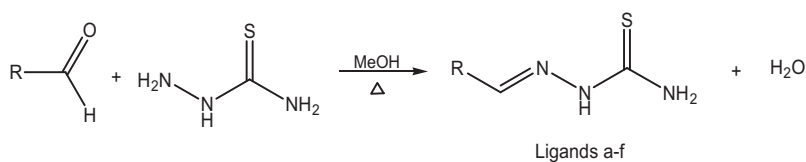
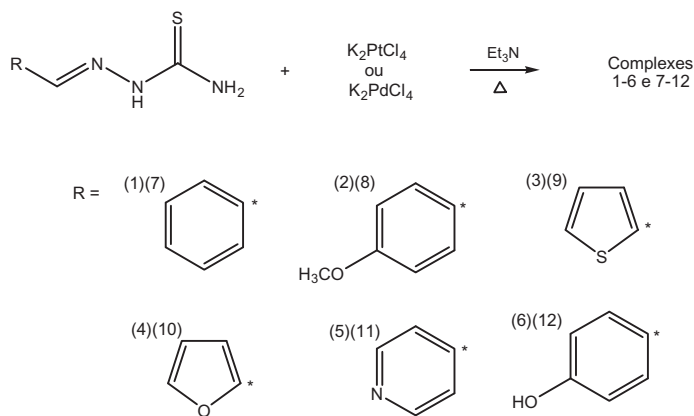


Figure 1. B3LYP/LanL2DZ/6-31+G(d) optimized geometries for *trans* (a) and *cis* (b) forms of **1**.



Scheme 1.

The experimental IR spectra of the free ligands showed broad bands at 3145 cm^{-1} assigned to N–H stretch, which disappear in spectra of the complexes indicating deprotonation of the HN-CS. A strong band was observed at 1605 cm^{-1} for the free ligands due to $\nu(\text{C}=\text{N})$ [38]. Theoretically, two transitions were calculated at 1688 cm^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{N})$ – very weak) and 1666 cm^{-1} ($\delta(\text{NH}_2)$ – very strong). Theoretical frequencies in this region are overestimated and it is common to scale those using linear factors. Herein, we preferred to keep values without scaling, as the purpose is to assist the vibrational assignment and not reproduce exactly the vibrational frequencies. Theoretical IR calculations also predicted an intense transition at $\sim 1577\text{ cm}^{-1}$ due to the H–NCS in-plane deformation, which could be



Scheme 2.

useful to follow deprotonation upon complexation. Experimentally, for the complexes, the band at $\sim 1605\text{ cm}^{-1}$ (free ligand) was shifted to lower frequencies ($\sim 1578\text{ cm}^{-1}$) suggesting coordination through the imine nitrogen in a bis-chelate mode [39]. The calculated values for $\nu(\text{C}=\text{N})$ ranged from 1630 to 1653 cm^{-1} , with the lowest predicted for the pyridine analogs (**5** and **11**) and the highest frequency calculated for the furan derivatives (**4** and **10**). Note that a shift to lower frequencies was observed due to metal coordination to nitrogen. As discussed previously for the free ligand, the $\delta_{\text{ip}}(\text{NH}_2)$ mode, calculated at $\sim 1665\text{ cm}^{-1}$ for the complexes (the same frequency as the ligand), is more intense than $\nu(\text{C}=\text{N})$. A very intense transition was calculated at $1544\text{--}1571\text{ cm}^{-1}$ assigned to $\nu(\text{SC}=\text{N})$. Therefore, focusing on the theoretical IR in the $1500\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ region, two intense bands were predicted for the free ligand and complexes. For the free ligand, the bands were centered at 1577 cm^{-1} ($\delta_{\text{ip}}(\text{H-NCS})$) and 1666 cm^{-1} ($\delta(\text{NH}_2)$); while for the complexes, they were found at $\sim 1560\text{ cm}^{-1}$ ($\nu(\text{SC}=\text{N})$) and $\sim 1667\text{ cm}^{-1}$ ($\delta_{\text{ip}}(\text{NH}_2)$). The IR assignment of the first band is distinct for the ligand and complex due to deprotonation upon coordination. The $\text{SC}=\text{N}$ stretch was calculated at a fairly high frequency due to double-bond character of this bond (see figure 1). The next set of intense IR bands was found around 1340 cm^{-1} and assigned mainly to $\nu(\text{C-NH}_2)$. For ligands, this same mode was calculated around 1290 cm^{-1} . Experimentally, $\nu(\text{C}=\text{S})$ was observed as medium bands at $1090\text{--}835\text{ cm}^{-1}$ (free ligands) and at lower frequencies ($\sim 1025\text{--}813$) on coordination of the thiocarbonyl sulfur to platinum(II) or palladium(II). The $\nu(\text{C}=\text{S})$ mode was calculated at $\sim 770\text{ cm}^{-1}$ (free ligands) and $\sim 670\text{ cm}^{-1}$ (complexes) with very low intensity. These IR data are in agreement with those observed for thiosemicarbazone complexes [35]. The calculated vibrational frequencies and assignments are given in table S2 as Supplementary materials.

In Raman spectra, $\nu(\text{C}=\text{N})$ was predicted to be very intense at 1634 cm^{-1} coupled to $\nu(\text{C}=\text{C})$ of the aromatic ring. A set of weak bands was observed around 1500 cm^{-1} due to $\delta_{\text{ip}}(\text{CH-Ar})$ with the most intense transition within this set assigned to $\delta_{\text{ip}}(\text{C-H})$ at $\sim 1450\text{ cm}^{-1}$. The stretching mode $\nu(\text{HC}=\text{C})$ was also active in the Raman spectrum at $\sim 1235\text{ cm}^{-1}$ as well as the $\nu(\text{N}=\text{N})$ vibration at $\sim 1183\text{ cm}^{-1}$. Metal-ligand modes were also predicted in Raman at $\sim 535\text{ cm}^{-1}$ ($\nu(\text{M}=\text{N})$) and $\sim 317\text{ cm}^{-1}$ ($\nu(\text{M}=\text{S})$) with very low intensity. Experimentally these M-L bands were observed around 440 and 380 cm^{-1} , respectively.

The NMR spectra of the thiosemicarbazones and their platinum(II) and palladium(II) complexes were recorded in DMSO-d_6 . In the $^1\text{H-NMR}$ spectra of the ligands, signals of the $=\text{N-NH}$ protons were observed as a singlet at $\delta 11.4$. This is indicative of the predominance of the thione form in the *E* configuration [40]. This signal disappeared in $^1\text{H NMR}$ spectra of the complexes due to deprotonation of $=\text{N-NH}$, which indicates the formation of the complexes. The signal of the $\text{HC}=\text{N}$ protons which appeared as a singlet at $\delta 8.1$ in spectra of the ligands (calculated at $\delta 10.4$) showed an upfield shift after complexation, which indicates coordination of the imine nitrogen to the metal [41]. The calculated values range from $\delta 7.40\text{--}8.10$ (Pt complexes) and $6.87\text{--}7.53$ (Pd complexes), which agree satisfactorily with the experimental data. The signals of the aromatic protons of the complexes were observed at $\delta 7.1\text{--}8.3$, and they did not suffer relevant changes compared to the free ligands. The NH_2 signal in the ligands appeared as doublets centered at $\delta 8.1$ due to non-equivalence of the amine protons, attributed to restricted rotation around the C-NH_2 bond (thiocarbonyl carbon and terminal amine nitrogen) due to its partial-double-bond character [42]. In spectra of the complexes, this signal was observed at $\delta 7.5$.

In $^{13}\text{C NMR}$ spectra of the complexes, the signals of the $\text{HC}=\text{N}$ group occur at $\delta 154$. The $\text{C}=\text{S}$ signal, observed at $\delta 173$, is characteristic of this group [43], while the aromatic carbons were observed in the $\delta 154\text{--}114$ region. The calculated values for $\text{HC}=\text{N}$ and $\text{C}=\text{S}$

were slightly overestimated (~5%), the average chemical shifts found at 160 and 185 ppm, respectively.

Theoretical calculations concerning the predicted ^{195}Pt NMR spectra were used for the first time [31]. In ^{195}Pt NMR spectra of the complexes, a signal around $\delta -3000$ was observed, expected for coordination of platinum to two sulfurs and two nitrogens [44]. The calculated values were obtained for both the *cis* and *trans* complexes in order to support the predominance of the *trans* isomer. The agreement with experimental results was much better for the *trans* structure, with an average absolute deviation of approximately 283 ppm (~10%), whereas for the *cis* isomer, it was 622 ppm (~20%). According to our previous study [31], where the methodology was developed and tested for ^{195}Pt NMR prediction, the average deviation was ~60 ppm, with maximum error for a set of 27 molecules equal to 150 ppm. The shift predicted for *cis* and *trans* signals in the present study (~300 ppm) is higher than our confidence limit, therefore, the level of theory applied here might be satisfactory to distinguish between isomeric forms.

3.2. Cytotoxic activity

The cytotoxicities of the complexes were evaluated in comparison with cisplatin in two tumor cell lines: colon cancer cells (CT26.WT) and melanoma (B16-F10). The complexes were also examined for their cytotoxic properties on one normal, i.e., non-tumor kidney cell line (BHK-21). The tumor cells were chosen to represent two different tumor types, melanoma and carcinoma, and to also assess the activity in cell lines of different embryonic origin such as epithelial and fibroblast. This was done in an effort to overcome and control any differences. The third cell line is a normal cell, which was used to evaluate the selectivity index, allowing comparison of the cytotoxicity of the compounds in tumor and normal cells.

Table 1. Cytotoxic activities against tumor cell lines (B16-F10 and CT26.WT) and non-tumor cell lines (BHK). IC₅₀ ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*.

Compound	B16-F10 ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*	SI**	CT26.WT ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*	SI**	BHK-21 ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)*
Ligand a	>100	NA	2.2 ± 2.1	NA	>100
Ligand b	>100	NA	2.7 ± 1.7	19.6	53.1 ± 4.1
Ligand c	>100	NA	1.0 ± 0.7	66.3	66.3 ± 1.3
Ligand d	>100	NA	2.6 ± 2.7	NA	>100
Ligand e	>100	NA	8.6 ± 0.4	NA	>100
Ligand f	>100	NA	1.6 ± 0.7	NA	>100
Complex 1	3.6 ± 0.6	4.3	4.4 ± 3.4	3.5	15.5 ± 2.9
Complex 2	0.4 ± 0.3	83.7	<0.1	335.0	33.5 ± 2.1
Complex 3	12.3 ± 3.7	4.1	9.6 ± 0.4	5.3	50.9 ± 14.9
Complex 4	0.4 ± 0.3	151.0	0.6 ± 0.4	100.7	60.4 ± 3.2
Complex 5	11.4 ± 1.4	NA	2.0 ± 1.1	NA	>100
Complex 6	<0.1	NA	0.5 ± 0.2	NA	>100
Complex 7	1.7 ± 0.6	10.6	2.7 ± 0.4	6.7	18.1 ± 5.1
Complex 8	<0.1	NA	<0.1	NA	16.3 ± 2.1
Complex 9	<0.1	NA	0.4 ± 0.3	16.5	6.6 ± 1.1
Complex 10	<0.1	NA	0.9 ± 0.4	3.11	2.8 ± 0.4
Complex 11	1.4 ± 0.6	68.9	3.6 ± 1.0	26.8	96.5 ± 6.5
Complex 12	1.9 ± 0.4	52.6	15.4 ± 8.5	NA	>100
Cisplatin	0.9 ± 0.7	43.6	<0.1	392.0	39.2 ± 1.0

*SD (standard deviation of triplicate of two independent experiments).

**SI (selectivity index).

IC₅₀ values, calculated from the concentration response curves obtained after 72 h drug treatment employing the MTT test, are shown in table 1. Some compounds presented equal or superior activity when compared to cisplatin.

The free ligands, in B16F10 cell line, did not show any toxicity; however, they were toxic to the CT26.WT cells and showed a high selectivity index in comparison to the normal BHK-21 cell.

Complexes **1–12** were cytotoxic against B16F10 cell while the free ligands were not. Especially for platinum complexes, **2**, **4**, and **6** were 10-fold more potent and 20-fold more selective than the others. All of the palladium complexes showed a high selectivity index. To the CT26.WT cell line, the complex cytotoxicities were very similar to the free ligands. However, platinum compounds **2**, **4**, and **6** and palladium compounds **8**, **9**, and **11** showed a high selectivity index.

The formation of the complexes significantly improved their cytotoxicity in tumor cells, especially for the B16-F10 cell line, without showing toxicity to normal cells (BHK21), improving the selectivity index for most of the complexes.

3.3. Antibacterial activity

The antibacterial activities for all complexes were evaluated in six different bacterial strains and compared to chloramphenicol (table S3). Complexes **1** and **7** showed better activity in *S. aureus* (45 and 14 μM, respectively) than chloramphenicol (64 μM) for this strain. The same complexes were also active against *S. dysenteriae* (90 and 54 μM) compared to the same positive control (64 μM). All other compounds did not show antibacterial activity against the tested strains.

Complexes **1** and **7** present the same *R* substituent in the thiosemicarbazone, a benzyl ring, which could be important to establish structure–activity relationships.

4. Conclusion

Potential anticancer Pt(II) and Pd(II) thiosemicarbazone complexes were prepared. The structures of the synthesized complexes were elucidated on the basis of their spectroscopic properties and analytical techniques in addition to quantum mechanical calculations. Theoretical calculations suggest the *trans* configuration of the complexes.

Despite previous reports that many Pd(II) and Pt(II) complexes exhibit antibacterial and antifungal activity [45–47], even complexes with thiosemicarbazones [48, 49], the present compounds did not show significant antibacterial activity.

Nonetheless, the complexes described herein were more cytotoxic than the corresponding free ligands in the tested cell lines, some of them exhibiting activity superior to cisplatin. The development of potential anticancer metal complexes is relevant considering that relatively few of these are in clinical use currently. Platinum complexes are classical antitumor agents and many of them show significant cytotoxicity [50, 51]. On the other hand, although several palladium compounds exhibit antiproliferative properties [52–55], none are approved for commercial distribution yet and it is important to design complexes that are potentially active against cancer.

Acknowledgments

The authors wish to thank CNPq, FAPEMIG and CAPES for financial supports and fellowships. This work is a collaborative research project with members of the Rede Mineira de Química (RQ-MG), supported by FAPEMIG.

References

- [1] C.F.J. Barnard, M.J. Cleare, P.C. Hydes. *Chem. Brit.*, **22**, 1001 (1986).
- [2] F. Zunino, G. Savi, A. Pasini. *Cancer Chemoth. Pharm.*, **18**, 180 (1986).
- [3] A.E. Liberta, D.X. West. *BioMetals*, **5**, 121 (1992).
- [4] H. Beraldo, D. Gambino. *Mini-Rev. Med. Chem.*, **4**, 31 (2004).
- [5] H. Beraldo. *Quim. Nova*, **27**, 461 (2004).
- [6] D. Kovala-Demertzi, M.A. Demertzis, E. Filiou, A.A. Pantazaki, P.N. Yadav, J.R. Miller, Y.F. Zheng, D.A. Kyriakidis. *BioMetals*, **16**, 411 (2003).
- [7] L. Feun, M. Modiano, K. Lee, J. Mao, A. Marini, N. Savaraj, P. Plezia, B. Almassian, E. Colacino, J. Fischer, S. MacDonald. *Cancer Chemoth. Pharm.*, **50**, 223 (2002).
- [8] N.C. Kasuga, K. Sekino, M. Ishikawa, A. Honda, M. Yokoyama, S. Nakano, N. Shimada, C. Koumo, K. Nomiya. *J. Inorg. Biochem.*, **96**, 298 (2003).
- [9] Y. Teitz, D. Ronen, A. Vansover, T. Stematsky, J.L. Riggs. *Antivir. Res.*, **24**, 305 (1994).
- [10] N. Karali. *Eur. J. Med. Chem.*, **37**, 909 (2002).
- [11] T.S. Lobana, R. Sharma, G. Bawa, S. Khanna. *Coord. Chem. Rev.*, **253**, 977 (2009).
- [12] K.O.S. Ferraz, G.M.M. Cardoso, C.M. Bertollo, E.M. Souza-Fagundes, N. Speziali, C.L. Zani, I.C. Mendes, M.A. Gomes, H. Beraldo. *Polyhedron*, **30**, 315 (2011).
- [13] Z. Afrasiabi, E. Sinn, S. Padhye, S. Dutta, S. Padhye, C. Newton, C.E. Anson, A.K. Powell. *J. Inorg. Biochem.*, **95**, 306 (2003).
- [14] A.G. Quiroga, J.M. Perez, E.I. Montero, D.X. West, C. Alonso, C. Navarro-Ranninger. *J. Inorg. Biochem.*, **75**, 293 (1999).
- [15] C.E.P. Goncales, D. Araldi, R.B. Panatieri, J.B.T. Rocha, G. Zeni, C.W. Nogueira. *Life Sci.*, **76**, 2221 (2005).
- [16] S.B. Novakovic, G.A. Bogdanovic, V.M. Leovac. *Inorg. Chem. Commun.*, **8**, 9 (2005).
- [17] T. Rosu, E. Pahontu, S. Pasculescu, R. Georgescu, N. Stanica, A. Curaj, A. Popescu, M. Leabu. *Eur. J. Med. Chem.*, **45**, 1627 (2010).
- [18] T.T. Tavares, G.F. Teixeira, C.M. Lopes, W.T.G. Novato, H. Silva, M.T.P. Lopes, M.V. De Almeida, R.M. Grazul, H.F. Dos Santos, A.P.S. Fontes. *J. Inorg. Biochem.*, **115**, 13 (2012).
- [19] H. Silva, A.C.A. Silva, F.O. Lemos, R.L. Monte-Neto, A.P.S. Fontes, M.T.P. Lopes, F. Frezard. *Anti-Cancer Drugs*, **24**, 131 (2013).
- [20] L.M.M. Vieira, M.V. de Almeida, H.A. de Abreu, H.A. Duarte, R.M. Grazul, A.P.S. Fontes. *Inorg. Chim. Acta*, **362**, 2060 (2009).
- [21] L.M.M. Vieira, M.V. de Almeida, M.C.S. Lourenco, F. Bezerra, A.P.S. Fontes. *Eur. J. Med. Chem.*, **44**, 4107 (2009).
- [22] W. Yi, R.H. Cao, Z.Y. Chen, L. Yu, L. Ma, H.C. Song. *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 1273 (2009).
- [23] National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Approved standard M100-512, Vol. 22, (2002).
- [24] A.D. Becke. *J. Chem. Phys.*, **98**, 5648 (1993).
- [25] P.J. Hay, W.R. Wadt. *J. Chem. Phys.*, **82**, 299 (1985).
- [26] T.H. Dunning Jr., P.J. Hay. In *Modern Theoretical Chemistry*, H.F. Schaefer III (Ed.), Vol. 3, pp. 1–28, Springer, New York, NY (1976).
- [27] D. Paschoal, B.L. Marcial, J.F. Lopes, W.B. De Almeida, H.F. Dos Santos. *J. Comput. Chem.*, **33**, 2292 (2012).
- [28] K. Wolinski, J.F. Hilton, P. Pulay. *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, 8251 (1990).
- [29] G. Scalmani, M.J. Frisch. *J. Chem. Phys.*, **132**, 114110 (2010).
- [30] G. Jansen, B.A. Hess. *Phys. Rev. A*, **39**, 6016 (1989).
- [31] D. Paschoal and H.F. Dos Santos, in preparation.
- [32] M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H.P. Hratchian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J.A. Montgomery, Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi,

- C. Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, A.D. Daniels, O. Farkas, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, J. Cioslowski, D.J. Fox. *Gaussian 09, Revision A.02*, Gaussian, Inc., Wallingford, CT (2009).
- [33] R.P. Tenório, A.J.S. Góes, J.G. de Lima, A.R. de Faria, A.J. Alves, T.M. de Aquino. *Quim. Nova*, **28**, 1030 (2005).
- [34] W.S. Hong. *J. Organomet. Chem.*, **689**, 277 (2004).
- [35] W. Hernández, J. Paz, A. Vaisberg, E. Spodine, R. Richter, L. Beyer. *Bioinorg. Chem. Appl.*, **2008**, 690952 (2008).
- [36] T.S. Lobana, P. Kumari, R.J. Butcher, T. Akitsu, Y. Aritake, J. Perles, F.J. Fernandez, M.C. Vegas. *J. Organomet. Chem.*, **701**, 17 (2012).
- [37] J.M. Antelo, L. Adrio, M.T. Pereira, J.M. Ortigueira, J.J. Fernández, J.M. Vila. *Cryst. Growth Des.*, **10**, 700 (2010).
- [38] A.H. Al-Kubaisi. *Bull. Korean Chem. Soc.*, **25**, 37 (2004).
- [39] I.G. Santos, A. Hagenbach, U. Abram. *Dalton Trans.*, 677 (2004).
- [40] A.A. Ali, H. Nimir, C. Aktas, V. Huch, U. Rauch, K.-H. Schafer, M. Veith. *Organometallics*, **31**, 2256 (2012).
- [41] H.S. Seleem, A.A. Emara, M. Shebl. *J. Coord. Chem.*, **58**, 1003 (2005).
- [42] T.S. Lobana, Rekha, B.S. Sidhu, A. Castineiras, E. Bermejo, T. Nishioka. *J. Coord. Chem.*, **58**, 803 (2005).
- [43] M.S. Bakkar, M. Yamin, Siddiqi, M.S. Monshi, *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.*, **33**, 1157 (2003).
- [44] E. Gabano, E. Marengo, M. Bobba, E. Robotti, C. Cassino, M. Botta, D. Osella. *Coord. Chem. Rev.*, **250**, 2158 (2006).
- [45] M.N. Patel, P.A. Dosi, B.S. Bhatt. *J. Coord. Chem.*, **65**, 3833 (2012).
- [46] M.A. Carvalho, B.C. Souza, R.E.F. Paiva, F.R.G. Bergamini, A.F. Gomes, F.C. Gozzo, W.R. Lustrì, A.L.B. Formiga, G. Rigatto, P.P. Corbi. *J. Coord. Chem.*, **65**, 1700 (2012).
- [47] A.C. Moro, A.C. Urbaczek, E.T. de Almeida, F.R. Pavan, C.Q.F. Leite, A.V.G. Netto, A.E. Mauro. *J. Coord. Chem.*, **65**, 1434 (2012).
- [48] M. Tyagi, S. Chandra. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **184**, 778 (2009).
- [49] P.I.S. Maia, A. Graminha, F.R. Pavan, C.Q.F. Leite, A.A. Batista, E.S. Lang, J. Ellena, S.S. Lemos, H.S.S. Araújo, V.M. Deflon. *J. Braz. Chem. Soc.*, **21**, 1177 (2010).
- [50] C. Gao, F. Fei, T. Wang, B. Yang, S. Gou, J. Yang, L. Liao. *J. Coord. Chem.*, **66**, 1068 (2013).
- [51] K.S.O. Ferraz, G.F. Silva, F.M. Costa, B.M. Mendes, B.L. Rodrigues, R.G. dos Santos, H. Beraldo. *BioMetals*, **1**, 10 (2013).
- [52] L. Ma, J. Zhang, F. Zhang, C. Chen, L. Li, S. Wang, S. Li. *J. Coord. Chem.*, **65**, 3160 (2012).
- [53] J. Zhang, L. Ma, F. Zhang, Z. Zhang, L. Li, S. Wang. *J. Coord. Chem.*, **65**, 239 (2012).
- [54] J. Zhang, F. Zhang, L. Wang, J. Du, S. Wang, S. Li. *J. Coord. Chem.*, **65**, 2159 (2012).
- [55] K.O.S. Ferraz, G.M.M. Cardoso, C.M. Bertollo, E.M.S. Fagundes, N. Speziali, I.C. Mendes, M.A. Gomes, H. Beraldo. *Polyhedron*, **30**, 315 (2011).