



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

COMPLEXOS DE COBRE(II) E NÍQUEL(II) DERIVADOS DE
DITIOCARBAZATOS: SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO*

CÁSSIA DE QUEIROZ OLIVEIRA CAVALCANTE

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. CLAUDIA CRISTINA GATTO

BRASÍLIA-DF, BRASIL

2023



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TESE DE DOUTORADO

COMPLEXOS DE COBRE(II) E NÍQUEL(II) DERIVADOS DE
DITIOCARBAZATOS: SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO
DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO*

Tese apresentada ao Instituto de
Química da Universidade de
Brasília, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutora em
Química.

CÁSSIA DE QUEIROZ OLIVEIRA CAVALCANTE

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. CLAUDIA CRISTINA GATTO

BRASÍLIA-DF, BRASIL

2023

*Dedico este trabalho aos meus
pais, que com tanto amor me
mostraram o verdadeiro
significado da palavra dedicação.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus por me proporcionar tantas oportunidades na vida e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho. A vida é mesmo um enorme desafio, no qual aprendi que o mais importante é tentar ser feliz e buscar a evolução.

Agradeço imensamente aos meus pais, que são as melhores pessoas que eu poderia ter do meu lado. Eu sei que vocês fizeram tudo por mim, a minha gratidão é eterna. Agradeço ao Marcos, pelo companheirismo de tantos anos, acompanhando a minha jornada desde o início e me ajudando em tudo que pode, você sabe que pode contar comigo. Agradeço também aos meus primos, Carol e Samuel, que se tornaram irmãos ao longo desses anos.

Crescer também está relacionado com as pessoas que encontramos ao longo nosso caminho, então gostaria de agradecer a minha orientadora Claudia, por sua amizade e ensinamentos. Você é uma pessoa incrível. Agradeço aos meus colegas do Lasic, aos mais jovens e aos que já seguiram seus caminhos, eu realmente aprendi muito com vocês. Eu agradeço também aos meus amigos do curso de química pelo compartilhamento de ideias e por tantas histórias.

Por fim, deixo meus agradecimentos à Universidade de Brasília, ao Instituto de Química, seu corpo técnico e a todos os docentes que contribuíram na minha formação ao longo desses anos. Também agradeço à CAPES, CNPQ e FAPDF pelo financiamento das pesquisas.

*“Seja menos curioso sobre as pessoas
e mais curioso sobre as ideias.*

Marie Curie

RESUMO

O presente trabalho relata a síntese de quatro ditiocarbazatos (HL^1 , HL^2 , H_2L^3 e H_2L^4), sendo os dois últimos inéditos; e oito novos complexos metálicos, sendo quatro complexos de cobre(II) $[Cu(L^1)Cl]$ (1), $[Cu(L^1)Br]$ (2), $[Cu(L^2)Cl]$ (3) e $[Cu(L^2)Br]$ (4), e quatro complexos de níquel(II), $[Ni(L^3)PPh_3]$ (5), $[Ni(L^3)Py]$ (6), $[Ni(L^4)PPh_3]$ (7) e $[Ni(L^4)Py]$ (8). As estruturas cristalinas dos complexos de Cu(II) foram elucidadas pela difração de raios X de monocristal, a qual mostrou uma geometria quadrada distorcida para os centros metálicos, em que os ligantes se coordenaram pelo sistema NNS e um halogênio (Cl^- ou Br^-) completa a esfera de coordenação. Os dados de espectrometria de massas indicaram a presença de $[Cu(L^1)(DMF)]^+$ e $[Cu(L^2)(DMF)]^+$ e fragmentações características dos compostos. O método composto da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) B97-3c revelou boa concordância entre os dados teóricos e experimentais. Ligações de hidrogênio e interações do tipo empilhamento $\pi \cdots \pi$ foram observadas pela análise da Superfície de Hirshfeld. Os resultados da atividade antitumoral avaliada frente a células U251 revelaram que os ditiocarbazatos livres apresentam alta atividade *in vitro*, que é aumentada após a complexação com o cobre, com valores de IC50 calculados na faixa de 0,13-0,70 μM . Na segunda seção são descritas as estruturas cristalinas do ligante (H_2L^3) e dos complexos (5)-(8). Os resultados revelaram que os complexos apresentam geometria quadrada, na qual o ditiocarbazato se coordena ao átomo de Ni(II) de forma tridentada, e uma molécula de trifenilfosfina ou piridina atuam como coligante. Os dados da espectrometria de massas mostraram a presença em solução dos íons moleculares $[M+H]^+$ e fragmentações características. Os ligantes livres e os complexos nesta seção foram testados frente a quatro linhagens cancerosas (NALM-6, 697, U251 e MDA-MB-231), onde, de forma geral, os melhores resultados foram observados para o complexo (6), com valores de IC50 estimados em 8,5 μM , 30,3 μM , 23,3 μM e 10,5 μM , para as quatro linhagens, respectivamente. Ademais, o estudo de *docking molecular* permitiu uma avaliação do modo de ligação predominante de cada composto com proteínas conhecidas, no qual observa-se uma boa concordância entre a sequência de inibição observada experimentalmente e os valores de pontuação observados para os compostos.

Palavras-chave: Complexos de cobre(II), complexos de níquel(II), ditiocarbazatos, estruturas cristalinas, espectrometria de massas, superfície de Hirshfeld, atividade antitumoral.

ABSTRACT

The current work reports the synthesis and investigation by physical-chemistry and spectroscopic methods of four dithiocarbazates HL^1 , HL^2 , H_2L^3 and H_2L^4 and eight novel metal complexes, which four Cu(II) complexes $[Cu(L^1)Cl]$ (1), $[Cu(L^1)Br]$ (2), $[Cu(L^2)Cl]$ (3) and $[Cu(L^2)Br]$ (4), explored in detail in section 1; and four Ni(II) complexes, $[Ni(L^3)PPh_3]$ (5), $[Ni(L^3)Py]$ (6), $[Ni(L^4)PPh_3]$ (7) and $[Ni(L^4)Py]$ (8), explored in detail in section 2. The crystal structures of Cu(II) complexes were elucidated by single crystal X-ray diffraction, which showed distorted square planar geometry to the metal centers, which tridentate ligands coordinated by *NNS* system and an additional halogen (Cl^- or Br^-) complete the coordination sphere. Mass spectrometry data indicated the presence of $[Cu(L^1)(DMF)]^+$ and $[Cu(L^2)(DMF)]^+$ and characteristic fragmentation of the compounds. The Density Functional Theory (DFT) B97-3c indicated that the results are in agreement with the experimental data. Hydrogen bonds and π - π stacking interactions were observed by the Hirshfeld surface. The biological activity of the compounds was evaluated against human glioma cells (U251) and the results revealed that free dithiocarbazates present high antitumor activity in vitro, which is increased after complexation with copper, whose IC_{50} values were calculated between 0.13-0.70 μM . In section 2, the crystal structures of the H_2L^3 and the (5)-(8) complexes are described. The results showed square planar geometry to the metal centers, which dithiocarbazates tridentate and a triphenylphosphine or pyridine molecule as coligand. The mass spectrometry data indicated the presence of the molecular ions $[M+H]^+$ and characteristic fragmentations of the compounds, which indicated the same behavior of the compounds as a solid and in solution. The ligands and complexes in this section were tested against four cancer cell lines (NALM-6, 697, U251 and MDA-MB-231), where, in general, the best results were observed for the complex (6), with IC_{50} values estimated at 8.5 μM , 30.3 μM , 23.3 μM and 10.5 μM for the four cell lines, respectively. Furthermore, the molecular docking study allowed an evaluation of the predominant binding mode of each compound with proteins of known structures, in which a good agreement was observed between the inhibition sequence observed experimentally and the score values observed for the compounds.

Keywords: Copper(II) complexes, nickel(II) complexes, dithiocarbazates, crystal structures, mass spectrometry, Hirshfeld surface, anticancer activity.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS.....	xv
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1. DITIOCARBAZATOS: FÓRMULA GERAL, PROPRIEDADES, MUDANÇAS ESTRUTURAIS E ATIVIDADE BIOLÓGICA	3
1.2. COMPLEXOS DE COBRE(II).....	12
1.3. COMPLEXOS DE NÍQUEL(II)	15
2. OBJETIVOS.....	20
3. PARTE EXPERIMENTAL	22
3.1. Reagentes e Solventes	22
3.2. Métodos de Caracterização	22
3.2.1. Difração de Raios X de Monocristal.....	22
3.2.2. Análise da Superfície de Hirshfeld (HS)	25
3.2.3. Ponto de Fusão (p.f.).....	25
3.2.4. Análise Elementar (CHN).....	26
3.2.5. Espectrometria de Massas (UHPLC-MS/MS)	26
3.2.6. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ¹ H).....	26
3.2.7. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FT-IR).....	27
3.2.8. Espectroscopia de Absorção molecular na Região do Ultravioleta-Visível (UV- Vis)	27
3.3. Cálculos teóricos por meio da Teoria do Funcional da Densidade (DFT)	27
3.4. Estudo da atividade citotóxica	28
3.4.1. Cultura celular	28
3.4.2. Tratamento e análise da viabilidade celular	28
3.4.3. Morfologia celular	29
3.4.4. Análise de dados	29
3.4.5. Doking Molecular	29
3.5. Síntese dos agentes complexantes.....	32
3.5.1. Síntese do agente complexante 2-acetilpiridina-S-p-bromobenzil-ditiocarbazato (HL ¹)	32
3.5.2. Síntese do agente complexante 2-acetilpiridina-S-p-nitrobenzil-ditiocarbazato (HL ²)	33
3.5.3. Síntese do agente complexante 1,1,1-trifloro-2,4-pentadiona-S-p-bromobenzil- ditiocarbazato (H ₂ L ³)	33

3.5.4. Síntese do agente complexante 1,1,1-trifloro-2,4-pentadiona-S-p-nitrobenzil-ditiocarbazato (H_2L^4).....	34
3.6. Síntese dos complexos metálicos	35
3.6.1. Síntese do complexo $[Cu(L^1)Cl]$ (1).....	35
3.6.2. Síntese do complexo $[Cu(L^1)Br]$ (2).....	35
3.6.3. Síntese do complexo $[Cu(L^2)Cl]$ (3).....	35
3.6.4. Síntese do complexo $[Cu(L^2)Br]$ (4).....	36
3.6.5. Síntese do complexo $[Ni(L^3)PPh_3]$ (5).....	36
3.6.6. Síntese do complexo $[Ni(L^3)Py]$ (6).....	37
3.6.7. Síntese do complexo $[Ni(L^4)PPh_3]$ (7).....	37
3.6.8. Síntese do complexo $[Ni(L^4)Py]$ (8).....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1. LIGANTES DITIOCARBAZATOS DERIVADOS DA 2-ACETILPIRIDINA E SEUS COMPLEXOS DE COBRE(II).....	40
4.1.1. Teoria do Funcional da Densidade (DFT) – otimização das geometrias de HL^1 e HL^2	41
4.1.2. Análise Estrutural dos Complexos (1)-(4)	42
4.1.3. Teoria do Funcional da Densidade (DFT) – otimização das geometrias dos complexos (1)-(4).....	50
4.1.4. Análise da Superfície de Hirshfeld dos complexos (1)-(4)	51
4.1.5. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FT-IR).....	53
4.1.6. Espectrometria de massas - ESI(+)-MS(/MS).....	55
4.1.7. Ressonância Magnética Nuclear de 1H	58
4.1.8. Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)	61
4.1.9. Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i> dos ligantes HL^1 , HL^2 e complexos (1)-(4)...64	64
4.2. COMPLEXOS DE NÍQUEL(II) DERIVADOS DA 1,1,1-TRIFLUORO-2,4-PENTANODIONA.....	68
4.2.1. Análise Estrutural do ligante H_2L^3	69
4.2.2. Análise Estrutural dos Complexos (5)-(8).....	71
4.2.3. Análise da Superfície de Hirshfeld de H_2L^3 e dos complexos (5)-(8).....	78
4.2.4. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FT-IR).....	80
4.2.5. Espectrometria de Massas – ESI(+)-MS(/MS).....	83
4.2.6. Ressonância Magnética Nuclear de 1H	87
4.2.7. Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)	94
4.2.8. Avaliação da citotoxicidade <i>in vitro</i> dos ligantes H_2L^3 , H_2L^4 e complexos (5)-(8).....	96
4.2.9. Estudo de docking molecular	100
5. CONCLUSÕES.....	108

6. REFERÊNCIAS.....	113
APÊNDICE I: TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE (DFT).....	120
APÊNDICE II: GRÁFICOS DE IMPRESSÕES DIGITAIS PARA OS COMPLEXOS (1)-(4).....	121
APÊNDICE III: ESPECTROS OBTIDOS A PARTIR DA ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PARA HL^2 E PARA OS COMPLEXOS (2)-(4).....	123
APÊNDICE IV: GRÁFICOS DE IMPRESSÕES DIGITAIS PARA O LIGANTE H_2L^3 E PARA OS COMPLEXOS (5)-(8).....	125
APÊNDICE V: ESPECTROS OBTIDOS A PARTIR DA ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PARA H_2L^4 E PARA OS COMPLEXOS (6)-(8).....	128
APÊNDICE VI: INTERAÇÕES OBSERVADAS NOS COMPLEXOS (5) e (7).....	130
APÊNDICE VII: ARTIGOS PUBLICADOS.....	132

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de ação da cisplatina no DNA. (Adaptado). ²²	3
Figura 2. Estrutura geral dos ditiocarbazatos. R ₁ , R ₂ e R ₃ podem ser H, grupos alquila ou arila. 4	4
Figura 3. Representação do equilíbrio tautomérico dos ditiocarbazatos.	4
Figura 4. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos a) [Ni(PPh ₃)(L)] e (b) [Pd(PPh ₃)(L)]. ⁴⁵	5
Figura 5. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de ferro(III) caracterizados derivados do S-metil-ditiocarbazato e diferentes cetonas ou aldeídos. ⁴⁶	7
Figura 6. Porcentagem relativa das mudanças morfológicas em células A549 após 24h de incubação com ligantes HL ¹ -HL ⁴ adaptado de Sohtun et al. ⁴⁶	8
Figura 7. Esquema de síntese do ligante e seus complexos adaptado de Yusof et al. ⁴⁷	8
Figura 8. Representação da estrutura cristalina e molecular do complexo de níquel(II) elucidado por Yusof et al. ⁴⁷	9
Figura 9. Estrutura da 2-acetil-piridina.	9
Figura 10. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de cobre(II) derivados dos ligantes formados pela 2-acetil-piridina e S-metil-ditiocarbazato ou S-benzil-ditiocarbazato. ⁴⁸	10
Figura 11. Representação da estrutura cristalina e molecular do ligante formado pela condensação de 4,4,4-trifluoro-1-(2-tienil)-1,3-butanodiona com S-benzilditiocarbazato. ⁵⁰	11
Figura 12. Formas isoméricas de cadeia aberta e fechada dos ditiocarbazatos derivados de β-dicetonas.....	11
Figura 13. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de cobre(II) derivados do S-metil-ditiocarbazato. ⁶⁰	13
Figura 14. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de cobre(II) derivados do ligante formado pela 2-formil-piridina e S-alil-ditiocarbazato. ⁶¹	14
Figura 15. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de níquel(II) sintetizados por Lima et al. ⁶⁵	16
Figura 16. Representação da estrutura cristalina e molecular do complexo de níquel(II) derivado do S-benzil-ditiocarbazato. ⁶⁸	17
Figura 17. Geometrias otimizadas para os ligantes HL ¹ e HL ² pelo método B97-3c.	41
Figura 18. Estrutura cristalina e molecular do complexo [Cu(L ¹)Cl] (1) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.	43
Figura 19. Estrutura cristalina e molecular do complexo [Cu(L ¹)Br] (2) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.	43
Figura 20. Representação da geometria quadrada para os complexos (1) e (2).....	45
Figura 21. Representação das interações de empilhamento π···π (representadas por linhas pontilhadas) para os complexos (1) e (2).	45
Figura 22. a) Representação da cela unitária do complexo (1) no plano cristalográfico bc. b) Diagrama para o grupo espacial P $\bar{1}$ extraído da International Tables for Crystallography. ⁹⁸	46
Figura 23. a) Representação da cela unitária do complexo (2) no plano cristalográfico bc. b) Diagrama para o grupo espacial P2 ₁ /n. extraído da International Tables for Crystallography. ⁹⁸	46
Figura 24. Estrutura cristalina e molecular do complexo [Cu(L ²)Cl] (3) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.	47
Figura 25. Estrutura cristalina e molecular do complexo [Cu(L ²)Br] (4) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.	47
Figura 26. Representação das interações de empilhamento π···π (representadas por linhas pontilhadas) para os complexos (3) e (4).	48

Figura 27. Representação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (linhas pontilhadas) observadas para o complexo (3).	49
Figura 28. Representação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (linhas pontilhadas) observadas para o complexo (4).	49
Figura 29. Representação das celas unitárias dos complexos (3) e (4) no plano cristalográfico <i>bc</i> e diagrama para o grupo espacial $P2_1/c$ extraído da <i>International Tables for Crystallography</i> . ⁹⁸	50
Figura 30. Sobreposição das estruturas cristalinas obtidas pela análise de difração de raios X (linha) e pelo cálculo teórico B97-3c (tubo) para os complexos (1-4).	51
Figura 31. Superfícies de Hirshfeld para os complexos (1)-(4) mapeados na função d_{norm}	52
Figura 32. Superfícies de Hirshfeld para os complexos (1)-(4) mapeados na função shape index.	52
Figura 33. Porcentagens das contribuições mais importantes presentes nos gráficos de impressão digital para os complexos (1)-(4).	53
Figura 34. Espectro de FT-IR para o ligante HL^1	53
Figura 35. Espectro de FT-IR para o complexo (1).	54
Figura 36. Espectros de ESI-MS para os complexos (1)-(4).	56
Figura 37. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (1).	56
Figura 38. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (2).	57
Figura 39. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (3).	57
Figura 40. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (4).	58
Figura 41. Espectro de RMN 1H para HL^1 (em DMSO- D_6 , 7T).	58
Figura 42. Espectro de RMN 1H para HL^2 (Em DMSO- D_6 , 7T).	60
Figura 43. Espectros eletrônicos dos compostos HL^1 , (1) e (2) em MeOH, DMF e DMSO na concentração de 2×10^{-5} mol.L $^{-1}$	61
Figura 44. Espectros eletrônicos dos compostos HL^2 , (3) e (4) em MeOH, DMF e DMSO na concentração de 2×10^{-5} mol.L $^{-1}$	63
Figura 45. Espectros eletrônicos dos complexos (1)-(4) em DMF e DMSO na concentração de 2×10^{-3} mol.L $^{-1}$	64
Figura 46. Avaliação dos efeitos citotóxicos pelo ensaio MTT. A) Comparação entre a viabilidade da cultura de células tratadas apenas com DMSO 0,01% e aquelas sem nenhum tratamento; nenhuma diferença significativa foi encontrada. B) Medição da viabilidade celular após 72h de tratamento com sais 40 μ M; nenhuma diferença significativa foi encontrada. C) e D). Curvas dose-resposta dos ligantes HL^1 e HL^2 e complexos (1)-(4) frente a células U251 após 72 h de exposição.	65
Figura 47. Curvas concentração-resposta dos ligantes HL^1 e HL^2 em células U251 após 72h de exposição.	66
Figura 48. Análise de efeitos tóxicos em diferentes concentrações de HL^1 , HL^2 e seus complexos contra células U251 (A e B).	66
Figura 49. Micrografias de culturas de células U251 tratadas (72 h) com 20 μ M dos compostos.	67
Figura 50. Estrutura cristalina e molecular do ligante H_2L^3 com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.	69
Figura 51. Representação das ligações de hidrogênio intramoleculares e interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ (representadas por linhas pontilhadas) em H_2L^3	70
Figura 52. a) Representação da cela unitária do ligante H_2L^3 no plano cristalográfico <i>bc</i> . b) Diagrama para o grupo espacial $P2_1/c$ extraído da <i>International Tables for Crystallography</i> . ⁹⁸ ..	71
Figura 53. Estrutura cristalina e molecular do complexo (5) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.	72

Figura 54. Estrutura cristalina e molecular do complexo (7) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.....	72
Figura 55. Representação das celas unitárias dos complexos (5) e (7) no plano cristalográfico bc e diagrama para o grupo espacial $P2_12_12_1$ extraído da International Tables for Crystallography. ⁹⁸	74
Figura 56. Estrutura cristalina e molecular do complexo (6) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.....	75
Figura 57. Estrutura cristalina e molecular do complexo (8) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.....	75
Figura 58. Representação das ligações de hidrogênio não clássicas observadas nos complexos (6) e (8).....	76
Figura 59. Representação das celas unitárias dos complexos (6) e (8) no plano cristalográfico bc e diagrama para o grupo espacial $P2_1/n$ extraído da International Tables for Crystallography. ⁹⁸	77
Figura 60. Superfície de Hirshfeld para o ligante H_2L^3 mapeada na função d_{norm}	78
Figura 61. Superfície de Hirshfeld para o ligante H_2L^3 mapeada na função shape index.	78
Figura 62. Superfície de Hirshfeld para os complexos (5)-(8) mapeadas na função d_{norm}	79
Figura 63. Porcentagens das contribuições mais importantes presentes nos gráficos de impressão digital para o ligante H_2L^3 e para os complexos (5)-(8).....	80
Figura 64. Espectro de FT-IR para o ligante H_2L^3	80
Figura 65. Espectro de FT-IR para o complexo (5).	81
Figura 66. Estrutura proposta para o ligante H_2L^4	83
Figura 67. Espectros de ESI-MS para os ligantes H_2L^3 e H_2L^4	83
Figura 68. Espectro de ESI-MSMS para o ligante H_2L^3	84
Figura 69. Espectro de ESI-MSMS para o ligante H_2L^4	84
Figura 70. Espectro de ESI-MS para os complexos (5)-(8).	85
Figura 71. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (5).....	85
Figura 72. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (6).....	86
Figura 73. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (7).....	86
Figura 74. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (8).....	87
Figura 75. Espectro de RMN 1H para H_2L^3 (em DMSO- D_6 , 7T).	88
Figura 76. Espectro de RMN 1H para H_2L^4 (em DMSO- D_6 , 7T).	89
Figura 77. Espectro de RMN 1H para o complexo (5) (em DMSO- D_6 , 7T).....	91
Figura 78. Espectro de RMN 1H para o complexo (7) (em DMSO- D_6 , 7T).....	91
Figura 79. Espectro de RMN 1H para o complexo (6) (em DMSO- D_6 , 7T).....	93
Figura 80. Espectro de RMN 1H para o complexo (8) (em DMSO- D_6 , 7T).....	93
Figura 81. Espectros eletrônicos dos compostos HL^3 , (5) e (6) em MeOH e DMSO.	95
Figura 82. Espectros eletrônicos dos compostos HL^4 , (7) e (8) em MeOH e DMSO.....	95
Figura 83. Avaliação dos efeitos citotóxicos pelo ensaio MTT/resazurina. O asterisco indica viabilidade celular significativamente diferente do respectivo controle - DMSO. DMSO a 0,01% não afetou a viabilidade celular de nenhuma linhagem celular.	97
Figura 84. Curvas concentração-resposta de todos os compostos testados em cada linhagem celular após 72 h de exposição.	99
Figura 85. Resultados de docking molecular para a linhagem NALM-6. (A) Regiões dos sítios ativos do ligante UDP e do inibidor DI-39 e principais resíduos da enzima dCK. (B) Representação 2D das interações feitas entre o melhor composto classificado, complexo (6), e o sítio ativo. (C) Principais resíduos (mais próximos) do sítio ativo do receptor (distância até 6,0 Å) e todos os 6 compostos estudados.....	102

Figura 86. Resultados de docking molecular para a linhagem 697. (A) Regiões dos sítios ativos de ligação dos sítios de conexão A e B do complexo proteína-DNA (7DW5). (B) Representação 2D das interações feitas entre o melhor inibidor classificado, complexo (8), e o sítio ativo. (C) Principais resíduos mais próximos de ambos os sítios ativos do receptor 7DW5 (distância até 6,0 Å) e todos os 6 compostos estudados.....103

Figura 87. Resultados de *docking* molecular para a linhagem U251. (A) As regiões dos sítios ativos de ligação da proteína CDK6 quinase (6OQO). (B) Representação 2D das interações feitas entre o melhor inibidor classificado, complexo (6), e o sítio ativo. (C) Principais resíduos mais próximos de ambos os sítios ativos do receptor 6OQO (distância até 6,0 Å) e todos os 6 compostos estudados.....104

Figura 88. Resultados de docking molecular para a linhagem MDA-MB-231. (A) Regiões de sítios ativos de ligação da proteína AC (6VJ3). (B) Representação 2D das interações feitas entre o melhor inibidor classificado, complexo (6), e os resíduos do sítio ativo do receptor. (C) Principais resíduos mais próximos de ambos os sítios ativos do receptor 6VJ3 (distância até 6,0 Å) e todos os 6 compostos estudados.....106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados da coleta de intensidades e do refinamento das estruturas cristalinas dos complexos [Cu(L ¹)Cl] (1), [Cu(L ¹)Br] (2), [Cu(L ²)Cl] (3) e [Cu(L ²)Br] (4).	23
Tabela 2. Dados da coleta de intensidades e do refinamento das estruturas cristalinas do ligante H ₂ L ³ e complexos [Ni(L ³)PPh ₃] (5), [Ni(L ³)Py] (6), [Ni(L ⁴)PPh ₃] (7) e [Ni(L ³)Py] (8).....	24
Tabela 3. Principais comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) teóricos para HL ¹ e HL ²	42
Tabela 4. Principais comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) para os complexos (1-4).....	44
Tabela 5. Bandas de estiramento e dobramento (em cm ⁻¹) dos principais modos de vibração presentes nos espectros dos agentes complexantes HL ¹ , HL ² e seus complexos (1)-(4).....	54
Tabela 6. Dados esperados e observados no espectro de RMN ¹ H para HL ¹	59
Tabela 7. Dados esperados e observados no espectro de RMN ¹ H para HL ²	60
Tabela 8. Resultados da análise de espectroscopia eletrônica para os compostos HL ¹ , HL ² , (1)-(4) em concentração de 2x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹	62
Tabela 9. Resultados obtidos na análise de espectroscopia eletrônica para os complexos (1)-(4) em concentração de 2x10 ⁻³ mol.L ⁻¹	64
Tabela 10. Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para H ₂ L ³	70
Tabela 11. Comprimentos e Ângulos de ligação selecionados para os compostos derivados da 1,1,1-trifloro-2,4-pentanodiona.	73
Tabela 12. Bandas de estiramento e deformação (cm ⁻¹) dos modos normais de vibração selecionados para H ₂ L ³ , H ₂ L ⁴ e para os complexos (5)-(8).	81
Tabela 13. Dados do espectro de RMN ¹ H para H ₂ L ³	88
Tabela 14. Dados do espectro de RMN ¹ H para H ₂ L ⁴	90
Tabela 15. Dados do espectro de RMN ¹ H para o complexo (5).....	92
Tabela 16. Dados do espectro de RMN ¹ H para o complexo (7).....	92
Tabela 17. Dados do espectro de RMN ¹ H para o complexo (6).....	93
Tabela 18. Dados do espectro de RMN ¹ H para o complexo (8).....	94
Tabela 19. Resultados da análise de espectroscopia eletrônica para os compostos H ₂ L ³ , H ₂ L ⁴ , (5)-(8) em concentração de 2x10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹	95
Tabela 20. Valores de IC ₅₀ % em µM (estimados por regressão não linear dos dados de viabilidade celular).....	96
Tabela 21. Valores de afinidade de ligação/pontuação* calculados através da função de pontuação ASP para os compostos obtidos para cada tipo de célula.	100
Tabela 22. Comparação da sequência de maior atividade biológica (menores valores de IC ₅₀ calculados experimentalmente) e de maiores valores de pontuação (teóricos).	101

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

697	Linhagem celular de leucemia
A549	Linhagem celular de câncer de pulmão humano
AC	Enzima anidrase carbônica
ASPC-1	Linhagem celular de câncer de pâncreas humano
BSA	Albumina de Soro Bovino
BxPc-3	Linhagem celular de câncer de pâncreas humano
Células aderentes	Necessitam de adesão a uma superfície de contato para que possam iniciar a sua proliferação
Células não aderentes	São cultivadas em suspensão no meio
CHN	Análise elementar de Carbono, Nitrogênio e Hidrogênio
CDK4	Quinase dependente de ciclina 4
CDK6	Quinase dependente de ciclina 6
DMF	N,N-dimetilformamida
DI – 39	Tipo de inibidor de dCK
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DFT	Teoria do Funcional da Densidade
DUX4	Proteína <i>double homeobox 4</i>
dCK	Desoxicitidina quinase humana
ERG _{ALT}	Tipo de transcrição anormal do gene ERG na Leucemia
FT-IR	Infravermelho por transformada de Fourier
Função ASP	Astex Statistical Potential
HL ¹	2-acetilpiridina-S-p-bromobenzil-ditiocarbazato
HL ²	2-acetilpiridina-S-p-nitrobenzil-ditiocarbazato
H ₂ L ³	1,1,1-trifloro-2,4-pentadiona-S-p-bromobenzil-ditiocarbazato
H ₂ L ⁴	1,1,1-trifloro-2,4-pentadiona-S-p-nitrobenzil-ditiocarbazato
HCT116	Linhagem celular de câncer de cólon
HepG2	Linhagem celular de câncer de fígado
IC ₅₀	Concentração necessária para inibir 50% de células
<i>J</i>	Constante de acoplamento dos núcleos de ¹ H na RMN
MDA-MB-231	Linhagem de câncer de mama sem receptor de estrogênio
MCF7	Linhagem celular de câncer de mama

MeOH	Metanol
NALM-6	Linhagem celular de leucemia
NIJ	Inibidor para gliomas
m/z	Razão massa/carga
PANC-1	Linhagem celular de câncer de pâncreas humano
p.f.	Ponto de fusão
py	Piridina
RMN de ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1
RSCB	Banco de dados de proteínas
TCLM	Transferência de carga ligante-metal
TMS	Tetrametilsilano
UV-Vis	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível
U251	Linhagem celular de glioma
UDP	Uridina-5'-difosfato
WI38	Linhagem celular não-tumoral
δ	Deslocamento químico
δ_{py}	Deformação angular da piridina
ϵ	Absortividade molar
ν	Estiramento
τ	Parâmetro de Addison
τ_4	Parâmetro de Okuniewski

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A Química Bioinorgânica é um ramo da Química que estuda o papel dos metais em sistemas biológicos.¹ Desde os trabalhos de Paul Ehrlich, que usou um composto organoarsênico no tratamento da sífilis²; e posteriormente a descoberta da cisplatina³, que possui ação antitumoral⁴, no final da década de 60, muitos compostos metálicos têm se tornado uma alternativa para o tratamento de doenças como o câncer, muitas infecções bacterianas e algumas micoses.⁵⁻¹¹

O câncer é o nome dado a um conjunto de doenças que causam o crescimento desordenado das células em um ou mais órgãos ou tecidos¹, sendo uma das principais causas de mortes de pessoas no mundo. Em 2018, ocorreram cerca de 9,6 milhões de mortes pelos mais de 100 tipos de tumores já relatados e estima-se que este número possa chegar a 13 milhões em 2030.¹² A quimioterapia é um dos principais tratamentos utilizados e muitos dos medicamentos utilizados contém centros metálicos em seu sítio ativo, alguns destes com muitos efeitos colaterais. Com isso, a busca de novos fármacos com uma maior seletividade é de extrema importância.^{12,13}

Os metais presentes nos princípios ativos dos fármacos possuem potencial de interagir com as biomoléculas muitas vezes de maneiras únicas e por distintos mecanismos de ação. Essa capacidade dos centros metálicos se dá principalmente porque são ótimos ácidos de Lewis, bem como devido à sua capacidade de formação de diferentes geometrias moleculares ou ainda por sua capacidade de participar de reações de troca de ligantes, redox ou catalítica.^{1,5,14,15} Para exemplificar a interação biológica de um fármaco que possui um metal em sua estrutura, podemos citar o mecanismo de ação da cisplatina, $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ ¹⁶, resumido na Figura 1.

De acordo com o observado em estudos publicados ao longo das últimas décadas, um possível mecanismo de ação da cisplatina foi avaliado da seguinte forma: devido às altas concentrações de Cl^- no plasma, ao entrar na corrente sanguínea, a espécie neutra, $\text{cis-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, permanece de tal forma até a entrada dentro da célula. Uma vez dentro da célula, onde a concentração de Cl^- é baixa, existe a formação de aqua-complexos. O complexo catiônico formado $\text{cis-}[\text{PtCl}(\text{NH}_3)_2\text{H}_2\text{O}]^+$ interage assim com as bases de Lewis presentes no DNA. De forma específica, diversos estudos apontam a ligação da platina(II) ao N7 do anel imidazol da guanina. A complexação faz com que a hélice se curve e desenrole levando assim a célula a morte, porém o principal problema de fármacos como a cisplatina é que eles podem causar muitos efeitos colaterais.¹⁶⁻¹⁸

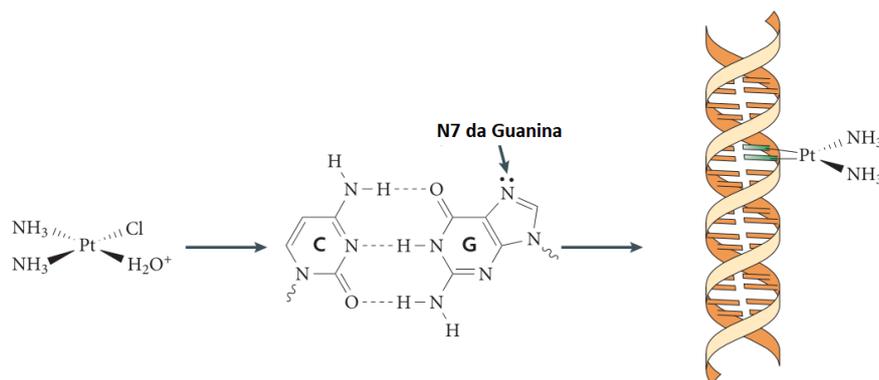


Figura 1. Mecanismo de ação da cisplatina no DNA. (Adaptado).²²

Com relação à busca por novos compostos bioativos com menos respostas paralelas às esperadas, os ditiocarbazatos têm ganhado destaque nos últimos anos. Estes agentes complexantes são compostos orgânicos muito versáteis para a formação de quelatos estáveis com diferentes geometrias, já que podem ter em sua estrutura átomos doadores como oxigênio, nitrogênio ou enxofre, podendo se coordenar a diferentes centros metálicos de forma neutra, mono ou dianiônica.¹⁹⁻²⁴

Muitos estudos mostram estes compostos livres ou complexados apresentando atividades antibacterianas, antifúngicas ou antitumorais frente a diferentes células cancerosas.²⁵⁻³⁰ Muitos dos complexos derivados dos ligantes ditiocarbazatos tem a sua ação potencializada com relação ao ligante livre dependendo do centro metálico escolhido.^{31,32}

Como exemplo, complexos de cobre(II) ou níquel(II) quadrados formados a partir destes agentes complexantes já apresentaram atividade frente a bactérias como *Escherichia coli* ou *Salmonella typhi*^{33,34} que causam infecções intestinais ou frente a fungos como o *Candida albicans*, causador da candidíase.^{34,35} Ademais, outros complexos de cobre(II) e níquel(II) apresentam atividade antitumoral frente a células de diferentes tipos de câncer, como o de mama ou cervical. Alguns destes compostos apresentam ainda resultados promissores contra linhagens celulares resistentes a drogas, bem como frente a linhagens indicativas de câncer invasivo.³⁶⁻³⁸

1.1. DITIOCARBAZATOS: FÓRMULA GERAL, PROPRIEDADES, MUDANÇAS ESTRUTURAIS E ATIVIDADE BIOLÓGICA

Os ditiocarbazatos são compostos orgânicos que possuem a forma geral representada na Figura 2. Os ditiocarbazatos são classificados como bases de Schiff, uma grande classe de compostos orgânicos que se caracterizam pela presença de um grupo imínico ($R_2C=NR'$). O processo sintético para obtenção de bases de Schiff ocorre através de uma reação de

condensação entre uma amina e uma cetona ou aldeído. Os ditiocarbazatos formados podem ser modificados em seus grupos R_1 , R_2 e R_3 , levando a diferentes possibilidades e sítios de coordenação como a forma mono, bi, tri ou polidentada.³⁹⁻⁴²

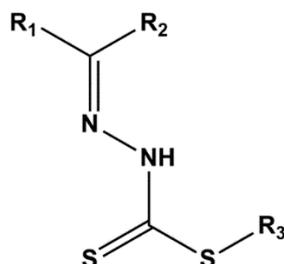


Figura 2. Estrutura geral dos ditiocarbazatos. R_1 , R_2 e R_3 podem ser H, grupos alquila ou arila.

Os ditiocarbazatos tendem a formar complexos estáveis com os centros metálicos, principalmente devido a sua capacidade quelante, além de possuírem em sua estrutura átomos como o enxofre e o nitrogênio capazes de se ligarem a diferentes metais através de seus pares de elétrons livres. Ademais, os ditiocarbazatos apresentam em solução um equilíbrio tiona-tiol, exemplificado na Figura 3, que possibilita a coordenação ao centro metálico por um dos tautômeros.^{43,44}

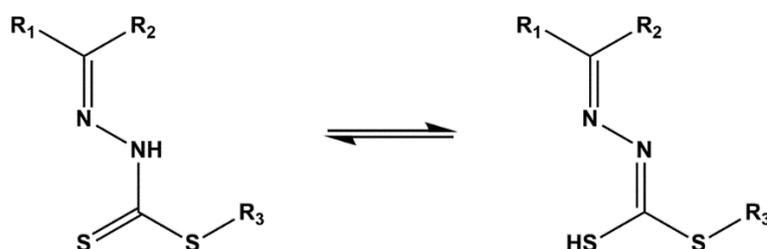


Figura 3. Representação do equilíbrio tautomérico dos ditiocarbazatos.

Muitos trabalhos publicados trazem estes ligantes orgânicos, mesmo livres, apresentando diferentes aplicações biológicas, sendo que a complexação pode ou não potencializar tal atividade observada. Muitos estudos recentes indicam ainda os possíveis mecanismos de ação dos compostos, com análises detalhadas das interações biológicas, e estas são essenciais para entender e auxiliar na síntese de novos complexos, principalmente com relação a alterações estruturais dos próprios ditiocarbazatos ou na escolha do centro metálico.

Como exemplo, podemos citar o trabalho de Elsayed e colaboradores publicado em 2021.⁴⁵ Neste estudo, foram elucidados complexos metálicos de rutênio(II), níquel(II), paládio(II) e platina(II) derivados do ligante formado a partir do 2,4-dihidroxibenzaldeído e do S-metilditiocarbazato, onde dois dos complexos tiveram a sua estrutura cristalina elucidada por difração de raios X de monocristal, conforme ilustrado na Figura 4.

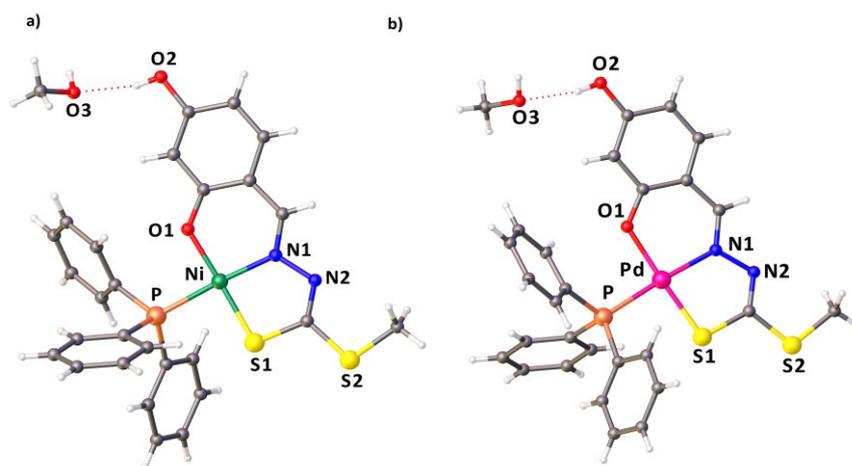


Figura 4. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos a) $[\text{Ni}(\text{PPh}_3)(\text{L})]$ e (b) $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)(\text{L})]$.⁴⁵

Nos dois complexos, o ligante ditiocarbazato se coordenou de forma dianiônica e tridentada pelo sistema *ONS* e uma molécula de trifenilfosfina completa a esfera de coordenação. Ambos complexos cristalizam no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/c$, com o centro metálico em uma geometria quadrada levemente distorcida e uma molécula de metanol como solvente de cristalização.⁴⁵

Além da síntese e caracterização, o ligante ditiocarbazato e os complexos metálicos relatados nesse mesmo estudo foram avaliados com relação à sua atividade biológica, incluindo testes com relação à sua capacidade de interação com biomoléculas, avaliação de sua atividade antioxidante, estudo da atividade citotóxica *in vitro* frente a diferentes linhagens de células tumorais, além de uma investigação do mecanismo que levaria à morte das células cancerosas.⁴⁵

O estudo com relação à atividade antioxidante mostrou que a eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) dos complexos é maior do que a do ligante livre, indicando que a quelação ao íon metálico potencializa a atividade. O complexo de rutênio(II) exibiu a maior atividade de eliminação entre todos os compostos ($\text{IC}_{50} = 55 \mu\text{M}$).⁴⁵

Os autores investigaram também a capacidade de ligação do ditiocarbazato livre e dos complexos frente a três diferentes biomoléculas: ctDNA (ácido desoxirribonucleico de timo de bezerro), tRNA (RNA transportador) e BSA (Albumina de Soro Bovino – estrutura com 76% de similaridade com a Albumina de Soro Humano). Os resultados mostraram que a afinidade de interação dos quatro complexos é maior do que a do ligante livre com relação a todas as biomoléculas estudadas, sendo cerca de 2,5–8,0 vezes maior para o ct DNA, de 12–24 vezes para tRNA e de 2–2,5 vezes para BSA.⁴⁵

A capacidade de interação dos compostos com biomoléculas levou os autores a avaliar a sua atividade citotóxica frente a três diferentes linhagens de células cancerosas, além de uma linhagem celular não-tumoral (WI38), pelo teste de MTT (teste baseado na capacidade que células viáveis têm de metabolizar o brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2, 5-difenil-2H-tetrazólio). Os resultados mostraram a seguinte ordem de atividade (quanto menor a IC₅₀, maior a atividade antitumoral):

HepG2 (linhagem celular de câncer de fígado):

Complexo de Ru(II) > Complexo de Pt(II) > Complexo de Ni(II) > Complexo de Pd(II) > Ligante Livre

HCT116 (linhagem celular de câncer de cólon):

Complexo de Ru(II) > Complexo de Pt(II) > Complexo de Ni(II) > Ligante Livre > Complexo de Pd(II)

MCF7 (linhagem celular de câncer de mama):

Complexo de Ni(II) > Complexo de Ru(II) > Complexo de Pt(II) > Ligante livre ≈ Complexo de Pd(II)

Entre todos os compostos estudados por Elsayed e colaboradores, os complexos de Ru(II) e Ni(II) mostraram destacada atividade dependendo da célula cancerosa avaliada, além de apresentarem índices de seletividade comparáveis aos da cisplatina (o índice de seletividade estima se a citotoxicidade do composto testado frente a células cancerosas é maior em relação à linhagem celular saudável). Devido a estes resultados, estes dois complexos foram escolhidos pelos autores para investigar o mecanismo que levaria à morte celular.⁴⁵

Os resultados sugerem que o complexo de níquel(II) induz a morte celular das células MCF7 por apoptose após se ligar ao DNA, além de apresentar uma atividade antioxidante que poderia ajudar na eliminação do excesso de ROS (espécies reativas de oxigênio) e na prevenção de danos às células saudáveis. Já o complexo de rutênio(II) exibiu um bom efeito antiproliferativo contra células HCT116, com indicativos da morte celular por necrose, devido à sua capacidade de desempacotar as duas fitas do DNA levando à morte celular súbita.⁴⁵

Outro estudo publicado em 2020 por Sohtun e colaboradores⁴⁶ mostrou a síntese e caracterização de quatro novos complexos de Fe(III) também derivados do S-metil-ditiocarbazato, porém com diferentes cetonas ou aldeídos. A Figura 5 mostra as representações dos três complexos de ferro(III) que tiveram a sua estrutura cristalina elucidada por difração de raios X de monocristal. Os dados mostram que, em todos os complexos, os dois ligantes ditiocarbazatos estão coordenados ao cátion metálico de forma desprotonada por dois átomos de nitrogênio e um átomo de enxofre, levando a um número de coordenação igual a seis e

geometria octaédrica distorcida. Os complexos de ferro(III) são catiônicos e possuem como contra íons as espécies FeCl_4^- e OH^- , que foram ocultadas da figura para melhor visualização.

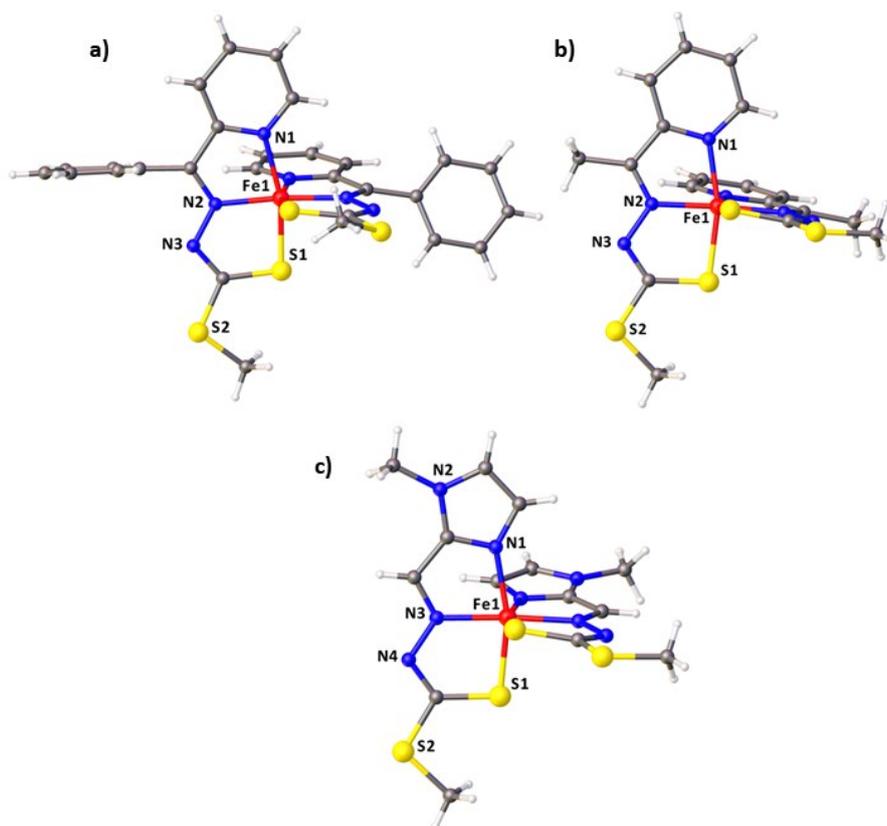


Figura 5. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de ferro(III) caracterizados derivados do S-metil-ditiocarbazato e diferentes cetonas ou aldeídos.⁴⁶

Nesse mesmo estudo foi investigada a citotoxicidade de todos os compostos contra a linhagem de células de câncer de pulmão humano A549, usando o ensaio de MTT. Os resultados mostraram que três dos quatro complexos de ferro(III) sintetizados apresentam maior citotoxicidade do que a cisplatina, usada como droga de referência, sendo que se verifica que a atividade dos complexos aumenta com o aumento do seu potencial redox Fe(III)/Fe(II) . Todavia, os dados mostraram que em geral os ligantes livres apresentam uma maior atividade antitumoral comparada com a dos complexos.⁴⁶

Os estudos envolvendo a investigação do mecanismo que levaria à morte celular revelaram ainda que tanto os ligantes livres como os complexos causam a morte celular por apoptose e que apenas algumas células sofreram morte celular por necrose. A Figura 6 ilustra estes resultados para os quatro ligantes ditiocarbazatos estudados.⁴⁶

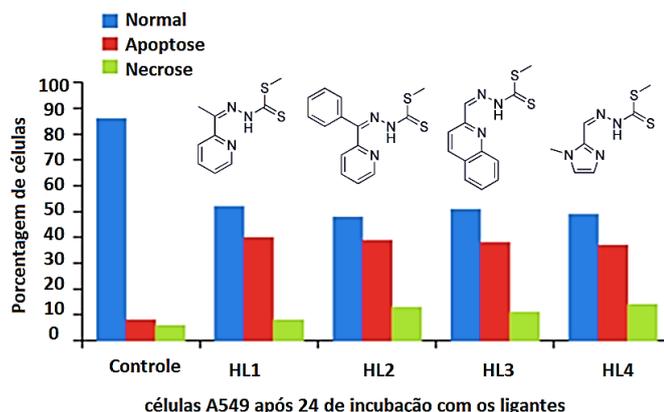


Figura 6. Porcentagem relativa das mudanças morfológicas em células A549 após 24h de incubação com ligantes HL¹-HL⁴ adaptado de Sohtun et al.⁴⁶

Um terceiro trabalho que pode ser citado foi publicado em 2022 por Yusof e colaboradores.⁴⁷ Neste estudo foram sintetizados um novo ligante ditiocarbazato e três novos complexos metálicos de cobre(II), níquel(II) e zinco(II), conforme mostra o esquema ilustrado na Figura 7. Os três complexos têm geometria quadrada e são formados após a coordenação de duas moléculas do ligante ao centro metálico pelos átomos de nitrogênio e enxofre.

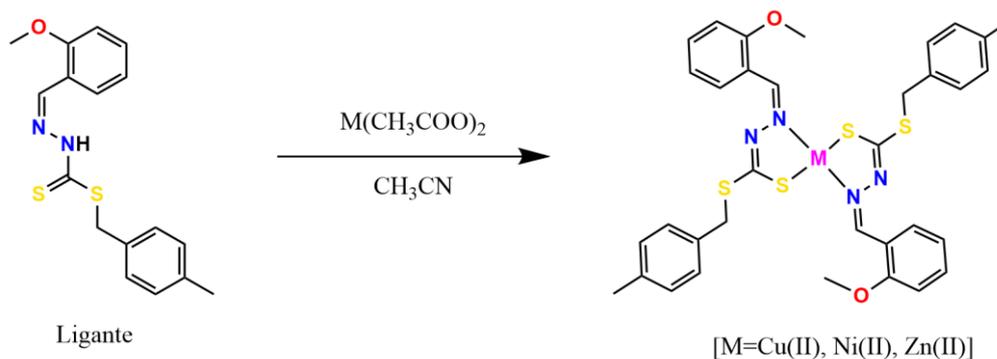


Figura 7. Esquema de síntese do ligante e seus complexos adaptado de Yusof *et al.*⁴⁷

Dentre os compostos, apenas o complexo de Ni(II) teve a sua estrutura elucidada pela difração de raios X de monocristal. A estrutura do complexo é pertencente ao sistema cristalino triclinico de grupo espacial $P\bar{1}$ e tem a sua estrutura cristalina representada na Figura 8.

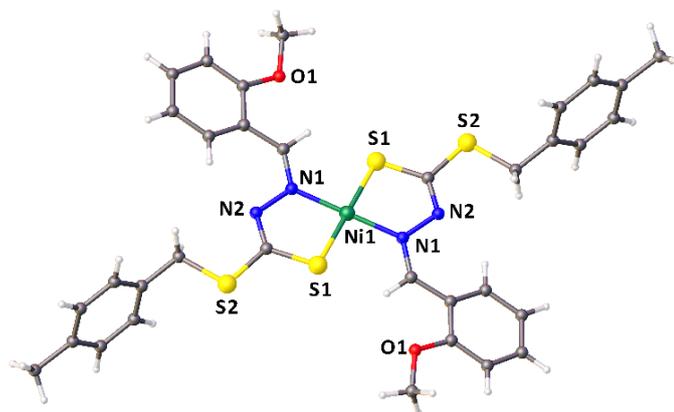


Figura 8. Representação da estrutura cristalina e molecular do complexo de níquel(II) elucidado por Yusof *et al.*⁴⁷

Neste mesmo estudo foi avaliada a atividade citotóxica dos compostos frente a duas linhagens de células de câncer de mama, MCF-7 e MDA-MB-231. Os resultados revelaram que apenas o complexo de Cu(II) exibiu efeitos significativos na inibição do crescimento das linhagens *in vitro*. Os valores de IC₅₀ calculados para este complexo foram de 0,85 μM e 0,37 μM para as duas linhagens respectivamente, sendo valores muito inferiores aos da cisplatina com IC₅₀ 12,0 μM para MDA-MB-231 e de 6,5 μM para MCF-7.⁴⁷

Com o objetivo de investigar o possível mecanismo de ação do complexo de Cu(II), os autores realizaram ainda um estudo de sua interação com o DNA. Os resultados experimentais e os estudos de docking molecular estão de acordo que o composto se liga ao DNA de maneira bastante eficaz por meio de ligações de hidrogênio e interações de van der Waals, com energia de ligação -7,39 kcal/mol.⁴⁷

Sob outra perspectiva, outros trabalhos sugerem que pequenas variações estruturais nos agentes complexantes escolhidos podem resultar em mudanças significativas nas atividades biológicas observadas.³¹ Dessa forma, uma cetona que pode levar a formação de bases de Schiff polidentadas e que é muito usada para a síntese de novos complexos metálicos é a 2-acetilpiridina, representada na Figura 9.

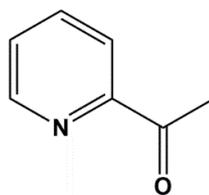


Figura 9. Estrutura da 2-acetil-piridina.

Nesse sentido pode-se citar por exemplo o trabalho de Santra e colaboradores⁴⁸ publicado em 2020, que mostrou a síntese de dois novos complexos de cobre(II) derivados dos ligantes formados pela condensação da 2-acetil-piridina com o S-metil-ditiocarbazato ou S-benzil-ditiocarbazato. Os complexos tiveram a sua estrutura cristalina elucidada por difração de raios X de monocristal e estão apresentados na Figura 10.

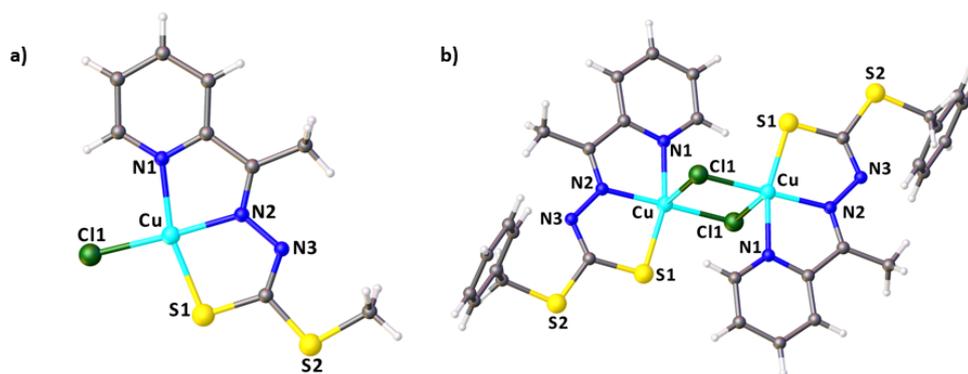


Figura 10. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de cobre(II) derivados dos ligantes formados pela 2-acetil-piridina e S-metil-ditiocarbazato ou S-benzil-ditiocarbazato.⁴⁸

O primeiro composto é um complexo mononuclear de cobre(II) derivado do S-metil-ditiocarbazato que cristalizou no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/n$. O ligante se coordenou pelos átomos NNS e um íon cloreto completa a esfera de coordenação, com geometria quadrada para o centro de Cu(II). O segundo, é um complexo binuclear que cristalizou no sistema cristalino triclinico e grupo espacial $P\bar{1}$, no qual o ligante também se coordenou ao metal de forma tridentada, porém neste caso os íons cloretos estão em ponte unindo dois centros metálicos e formando um complexo binuclear.⁴⁸

Além disso, no mesmo estudo, foi investigada a capacidade dos complexos como modelos biomiméticos da metaloenzima catecol oxidase, que é uma enzima da classe das oxido-redutases, que apresenta em seu sítio ativo um centro binuclear de cobre, sendo encontrada em frutos e vegetais.⁴⁹ Os resultados revelaram que ambos os complexos atuam como bons modelos de catalisadores para investigar a atividade da catecol oxidase, o que sugere a capacidade de interação destes compostos com sistemas biológicos.⁴⁸

Ainda com relação à estrutura dos ditiocarbazatos, uma outra classe de cetonas muito usada na síntese de novos ligantes são as β -dicetonas. Para fins de exemplo, mostramos a estrutura cristalina do ligante formado pela condensação de 4,4,4-trifluoro-1-(2-tienil)-1,3-butanodiona com S-benzilditiocarbazato, a qual foi elucidada por Ali e Mirza em 2011⁵⁰ e está representada

na Figura 11. O composto cristalizou no sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial $Pbc2_1$, com quatro unidades assimétricas por cela unitária.

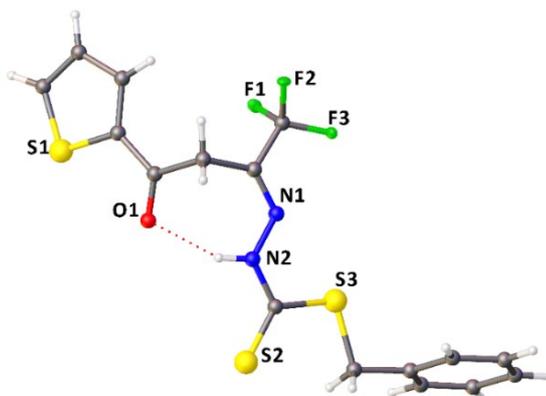


Figura 11. Representação da estrutura cristalina e molecular do ligante formado pela condensação de 4,4,4-trifluoro-1-(2-tienil)-1,3-butanodiona com S-benzilditiocarbazato.⁵⁰

É importante destacar ainda que a classe de ditiocarbazatos derivados de β -dicetonas podem estar predominantemente em sua forma isomérica aberta ou fechada com a formação do anel pirazolínico, como mostrado no esquema geral da Figura 12. Algumas técnicas de caracterização podem ser usadas para diferenciar um dos isômeros como a difração de raios X de monocristal, FT-IR em estado sólido ou a Ressonância magnética nuclear de ^1H em solução.^{44,50}

Após a complexação com um centro metálico, o complexo formado apresenta normalmente o ligante em sua forma isomérica de cadeia aberta.^{44,50} Em relação à atividade biológica, há estudos que indicam que a inserção de halogênios na estrutura podem potencializar os resultados observados, uma vez que a presença destes poderiam estar relacionados ao aumento de eventos inflamatórios causados nas células cancerosas e consequentemente a uma maior citotoxicidade medida pelo método MTT.⁵¹⁻⁵⁵

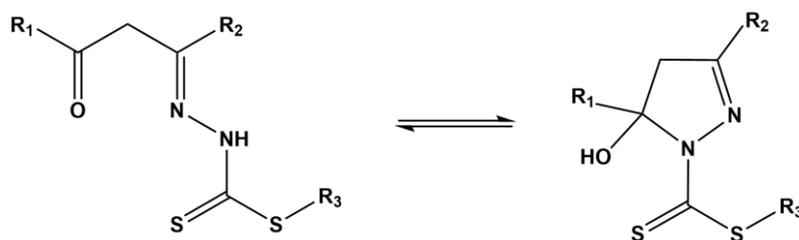


Figura 12. Formas isoméricas de cadeia aberta e fechada dos ditiocarbazatos derivados de β -dicetonas.

Após uma avaliação geral de todos estes trabalhos, destaca-se que, além da importância da parte estrutural do agente complexante escolhido, em alguns trabalhos a escolha do centro

metálico é determinante com relação à atividade biológica observada, podendo esta ser potencializada ou não após a complexação. Com isso, dentre os metais mais investigados destacam-se o cobre e o níquel, que são metais de transição capazes de formar complexos com diferentes geometrias e de grande interesse biológico.

1.2. COMPLEXOS DE COBRE(II)

O cobre é um metal presente em muitas metaloproteínas e metaloenzimas apresentando diferentes funções em muitos processos biológicos. Sua química é dominada principalmente pelo íon Cu(II), cuja configuração eletrônica é $[Ar]3d^9$. Os complexos metálicos de cobre d^9 podem apresentar diferentes geometrias, como por exemplo quadrada, piramidal ou octaédrica com distorção Jahn-Teller. Devido ao caráter de ácido de Lewis de fronteira, o cobre(II) tem afinidade tanto por bases de Lewis duras como por bases de Lewis macias, podendo assim se coordenar a ligantes orgânicos com diferentes átomos doadores como oxigênio, nitrogênio e enxofre e com diferentes números de coordenação, sendo os mais comuns 4, 5 e 6.^{1,56,57}

A busca por novos complexos metálicos de cobre é crescente nos últimos anos, dado que determinados estudos mostram alguns destes compostos com a capacidade de interagir com biomoléculas como o DNA e o RNA.⁵⁷ Neste sentido pode ser citado o uso das casiopeínas, que são complexos de Cu(II), com β -dietonas e aminoácidos, que foram avaliados em diversas linhagens de células tumorais e atualmente estão sendo estudadas em ensaios clínicos de fase I.^{58,59}

Como exemplo de um estudo recente de novos complexos de cobre(II), podemos citar o trabalho de Gou e colaboradores⁶⁰ do ano de 2021. Os autores sintetizaram e elucidaram a estrutura cristalina de três novos complexos de Cu(II) derivados do S-metil-ditiocarbazato, conforme ilustrado na Figura 13.

Os dados mostram que o primeiro complexo (Figura 13, a) cristalizou no sistema cristalino triclinico e grupo espacial $P\bar{1}$, onde o ligante se coordena de forma monoaniônica ao átomo de cobre(II) pelos átomos de nitrogênio piridínico e azometínico e pelo enxofre do tiolato, além de um íon cloreto, que completa a esfera de coordenação, resultando em uma geometria quadrada.⁶⁰

A estrutura cristalina do segundo complexo (Figura 13, b) encontra-se na forma de um dímero centrossimétrico em que cada um dos átomos de cobre(II) adota um número de coordenação igual a cinco. O poliedro de coordenação em torno do centro de Cu1 pode ser descrito como tendo uma geometria pirâmide de base quadrada. O comprimento de ligação apical mais longa Cu1-N3 é de 2,373(2) Å em comparação com as distâncias Cu-N basais

mais curtas [Cu1–N2 = 1,971(18) Å e Cu1–N4 = 2,020(2) Å] está associado ao efeito Jahn-Teller.⁶⁰

O terceiro complexo apresentado nesse estudo cristalizou no sistema monoclinico com o grupo espacial $C2/c$. Conforme mostrado na Figura 13, há dois centros Cu1 com estado de oxidação +2 e adotam uma geometria de coordenação quadrada contendo um ânion brometo e o ligante tridentado no plano basal, já o átomo de Cu2 tem oxidação +1 e com uma geometria trigonal planar, estando coordenado a um ânion Br^- e dois átomos de nitrogênio de dois ligantes. A coexistência de cobre(I) e cobre(II) no mesmo complexo, segundo os autores, indica que o Br^- tem uma capacidade de redução mais forte do que os íons Cl^- e $-\text{NO}_3^-$ podendo promover a redução do cobre.⁶⁰

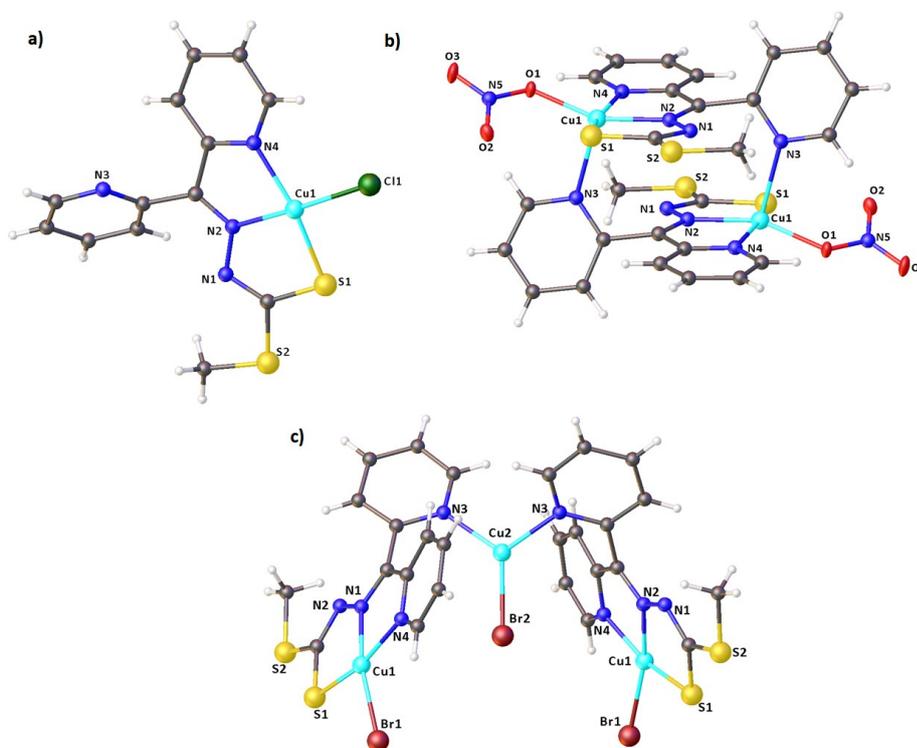


Figura 13. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de cobre(II) derivados do S-metil-ditiocarbazato.⁶⁰

Neste mesmo trabalho, as atividades antitumorais *in vitro* do ligante livre e complexos foram avaliadas pelo ensaio MTT frente a três linhagens de câncer de pâncreas humano, BxPc-3, ASPC-1 e PANC-1. Os resultados mostraram que a coordenação ao centro metálico de cobre aumentou a atividade observada no ligante livre, sendo que os três complexos apresentaram valores de IC_{50} melhores que a cisplatina. Os melhores resultados foram observados para o terceiro complexo, com valores de IC_{50} de $0,74 \pm 0,08 \mu\text{M}$, $0,41 \pm 0,05 \mu\text{M}$ e $0,62 \pm 0,05 \mu\text{M}$

para as três linhagens cancerosas, respectivamente, muito menores dos valores observados para a cisplatina, os quais são de $53,71 \pm 6,14 \mu\text{M}$, $67,23 \pm 6,31$ e $45,16 \pm 4,97$.⁶⁰

Como o terceiro complexo apresentou os melhores resultados, os autores investigaram o seu possível mecanismo de ação. Os dados revelaram que havia uma diminuição dependente da dose na quantidade de citocromo c (proteína associada à membrana interna mitocondrial) nas mitocôndrias das células cancerosas, sugerindo que o tratamento com o complexo de cobre resultava na liberação mitocondrial de citocromo c para o citoplasma celular. Uma vez no citoplasma, o citocromo c iniciaria a ativação da caspase-9, que é a enzima iniciadora da via apoptótica e conseqüentemente a morte celular. Além disso, o estudo sugere que as mitocôndrias localizadas em células tumorais são mais suscetíveis à disfunção mitocondrial do que aquelas em células normais.⁶⁰

Ademais, estudos detalhados mostraram que o complexo de cobre também tem a sua ação antitumoral provocando a ferroptose (tipo de morte celular que provoca inflamação) e alterando múltiplas vias, como a via de sinalização MAPK, que está envolvida em várias funções celulares, e a via de sinalização da interação do receptor de citocina-citocina, que está envolvida na proliferação, diferenciação e imunidade das células. A alteração de todas estas vias pelo complexo provoca a morte das células cancerosas.⁶⁰

Um outro estudo publicado no ano de 2018 por Takjoo e colaboradores⁶¹ tratou da síntese e caracterização de novos complexos metálicos de cobre(II) e cádmio(II) derivados do ligante formado pela 2-formil-piridina e pelo S-alil-ditiocarbazato. Neste trabalho, dois complexos de cobre(II) tiveram a sua estrutura cristalina elucidada pela difração de raios X de monocristal e estão representadas na Figura 14.

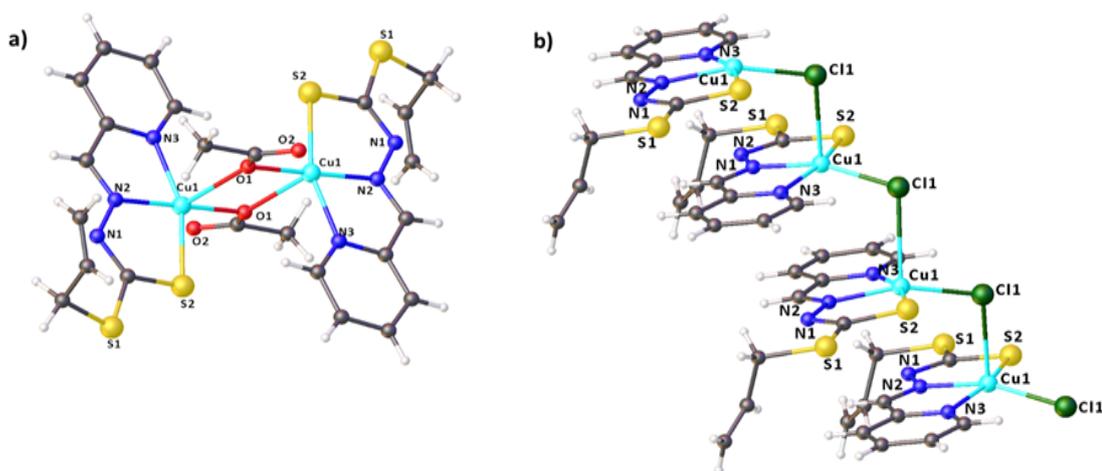


Figura 14. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de cobre(II) derivados do ligante formado pela 2-formil-piridina e S-alil-ditiocarbazato.⁶¹

O primeiro complexo (Figura 14, a) cristalizou no sistema cristalino triclinico e grupo espacial $P\bar{1}$, sendo um dímero centrossimétrico de cobre(II), onde cada molécula do ligante se coordena ao metal de forma tridentada pelos átomos *NNS* e pelos átomos de oxigênio dos grupos acetatos, em ponte. A geometria proposta é de uma pirâmide de base quadrada, na qual o centro metálico está 0,1 Å fora do plano basal, em direção ao oxigênio apical. No complexo foi observado também que a distância entre o átomo de cobre(II) e os dois átomos de O da ponte são diferentes, visto que a ligação entre Cu e o átomo de O basal é 0,4 Å mais curta do que a distância Cu-O apical.⁶¹

O segundo complexo (Figura 14, b) cristalizou no sistema monoclinico, onde cada cobre(II) está coordenado a três sítios básicos do ligante ditiocarbazato desprotonado tendo sua esfera de coordenação de pirâmide de base quadrada completa por dois íons cloreto, os quais se ligam a centros adjacentes de cobre(II) dando origem a uma cadeia polimérica paralela ao eixo c do cristal. A distância intermetálica ao longo da cadeia é de 3,813 Å. Além disso, neste composto a distância entre o cobre(II) e cada íon cloreto também é diferente, sendo a ligação entre o centro metálico e o cloreto basal é 0,5 Å mais curta em comparação com o apical.⁶¹

Todos estes estudos corroboram com a ideia de que a síntese e a caracterização de novos complexos metálicos de cobre são essenciais para entender melhor sua química de coordenação e seu enorme potencial de aplicação nas áreas farmacológica e bioinorgânica.

1.3. COMPLEXOS DE NÍQUEL(II)

Um outro metal que está presente em sistemas biológicos é o níquel. Em 1975, após a descoberta do primeiro papel específico do níquel, no sítio ativo da enzima urease⁶², o níquel tornou-se um importante metal na química bioinorgânica. Pelo menos nove classes de enzimas são agora conhecidas por conter níquel em seus sítios ativos.^{63,64} Além disso, estudos recentes exibem complexos de níquel capazes de interagir com o meio biológico, tornando possível diferentes aplicações neste sentido.^{45,65}

Com configuração eletrônica $[Ar] 3d^8 4s^2$, o níquel tende a formar complexos estáveis com número de coordenação igual a quatro ou seis, levando a esferas de coordenação com diferentes geometrias, como quadrada ou octaédricas. O seu estado de oxidação mais estável é o 2+, levando a uma configuração $3d^8$. Ademais, a geometria quadrada é favorecida para o número de coordenação igual a quatro, pois neste caso os elétrons dos ligantes ocupam os orbitais moleculares de menor energia que estão no plano, d_{xy} , d_{yz} , d_{xz} , d_{z^2} .¹

No que se refere às aplicações biológicas dos complexos de Ni(II), pode ser citado um estudo publicado em 2021 por Lima e Colaboradores⁶⁵ que teve como objetivo a síntese e a

investigação da atividade antitumoral de novos complexos de níquel(II) derivados de dois diferentes ligantes ditiocarbazatos. Os complexos tiveram a sua estrutura cristalina elucidada pela difração de raios X e estão representados na Figura 15.

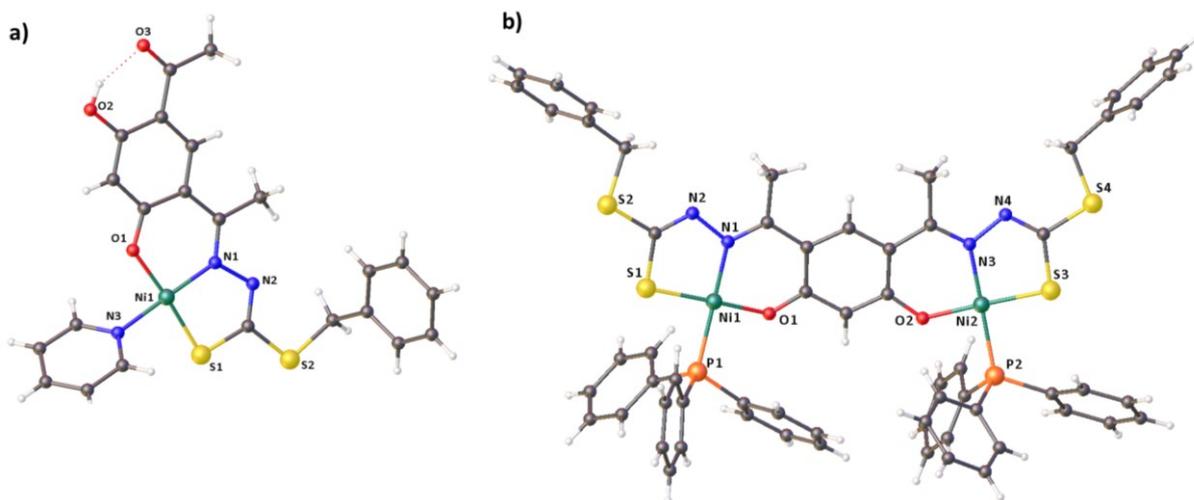


Figura 15. Representação da estrutura cristalina e molecular dos complexos de níquel(II) sintetizados por Lima et al.⁶⁵

O primeiro composto é um complexo mononuclear onde o ligante se coordenou de forma tridentada e di-aniônica ao centro metálico, com uma molécula de piridina como coligante, levando a um número de coordenação igual a quatro e geometria quadrada distorcida para o níquel(II). O segundo composto é um complexo dinuclear, onde o ligante ditiocarbazato se coordenou de forma hexadentada e tetra-aniônica aos centros metálicos, uma molécula de trifenilfosfina completa as esferas de coordenação quadrada levemente distorcidas.⁶⁵

Um outro interessante estudo feito por Lima⁶⁵ foi a análise da superfície de Hirshfeld (HS) para os complexos, a qual mostra informações sobre as interações que estão presentes na formação das suas estruturas cristalinas. Esse estudo permite avaliar qualitativamente um mapa das interações intermoleculares entre moléculas vizinhas. Os resultados mostraram que as interações mais intensas ocorrem via ligações de hidrogênio não usuais como C-H...O, C-H...N e C-H...C.⁶⁵

Ademais, os ligantes livres e os dois complexos de níquel(II) também foram testados frente a linhagem de câncer de mama MDA-MB-231⁶⁵, que é caracterizada como uma linhagem celular sem receptor de estrogênio, podendo inclusive ser indicativa de um câncer de mama invasivo, com potencial para se tornar resistente a drogas.³¹ Os resultados revelaram que todos

os compostos foram ativos frente a células MDA-MB-231, com destaque para o complexo binuclear de níquel(II).⁶⁵ Há estudos que sugerem, por exemplo, que a inserção de grupos como a trifenilfosfina como coligantes podem potencializar a atividade observada.^{66,67} Os autores explicam ainda que apesar da maior citotoxicidade dos ditiocarbazatos quando comparados aos complexos, os dados dos complexos se encaixaram muito bem em um gráfico de dose-resposta comum, sugerindo propriedades farmacológicas mais previsíveis, uma vez que um aumento gradual da atividade biológica pode indicar um mecanismo de ação mais específico, o que torna os complexos os melhores protótipos para estudos futuros.⁶⁵

Em 2018, Zahan e colaboradores⁶⁸ publicaram um artigo relatando a síntese, caracterização e estudo da atividade antitumoral de um novo complexo de níquel(II), o qual tem a sua estrutura está representada na Figura 16.

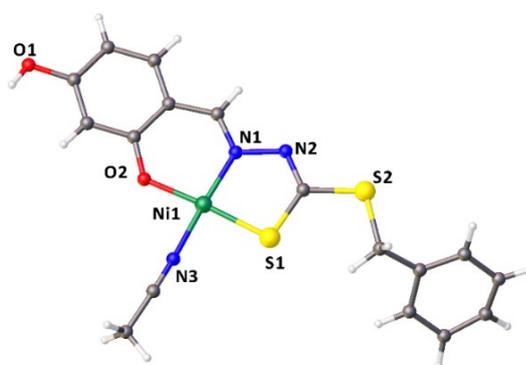


Figura 16. Representação da estrutura cristalina e molecular do complexo de níquel(II) derivado do S-benzil-ditiocarbazato.⁶⁸

O complexo cristalizou no sistema cristalino ortorrômbico e grupo espacial $Pna2_1$, onde o ligante se coordenou pelos átomos *ONS* de forma desprotonada e dianiônica ao centro metálico. Uma molécula de acetonitrila completa a esfera de coordenação e o centro metálico apresenta geometria quadrada levemente distorcida.⁶⁸

Como já exposto, os autores também testaram o ligante livre e o complexo de Ni(II) com relação a inibição do crescimento de células cancerosas de tumor de Ehrlich (tipo de neoplasia correspondente ao adenocarcinoma mamário de camundongo fêmea, usado como modelo). Os resultados do teste *in vitro* (ensaio MTT) revelaram que o ligante e o complexo inibiam o crescimento das células cancerosas de forma dependente da dose. Além disso, os resultados de citotoxicidade *in vivo* em camundongos indicaram que o complexo testado mostrou bons resultados (% de inibição do crescimento celular de 69,36) contra as células, sendo que o complexo de níquel(II) foi mais eficaz do que o ligante livre, indicando um aumento da atividade antitumoral após a complexação.⁶⁸

Ademais, sabe-se que um dos principais problemas dos fármacos usados na quimioterapia atualmente são os seus efeitos colaterais.¹³ Neste sentido, os autores⁶⁸ realizaram um controle dos níveis de algumas enzimas liberadas em caso de lesão hepática, bilirrubina, ureia e creatinina dos camundongos tratados e não tratados com o complexo de níquel(II), os resultados mostraram apenas uma hepatotoxicidade (danos ao fígado) leve. Foram observadas características histológicas normais em ambos rins dos camundongos tratados, portanto, o complexo de níquel não manifestou nefrotoxicidade (danos ao rim). O complexo de níquel(II) estudado não possui também atividade hemolítica (destruição prematura das hemácias por rompimento da membrana plasmática) significativa, o que poderia causar anemia.⁶⁸

Em resumo, os exemplos supracitados destacam a importância do níquel e seus complexos metálicos na bioinorgânica. Dessa forma, o avanço na caracterização de novos compostos e na elucidação de seus mecanismos de ação no organismo são importantes e podem ajudar a encontrar, por exemplo, novos fármacos com menos efeitos colaterais para serem usados na quimioterapia.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo principal a síntese e elucidação estrutural de novos complexos metálicos com ligantes ditiocarbazato e posteriormente testá-los para aplicações na área da bioinorgânica. Para atender tal propósito, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- I. Sintetizar ligantes ditiocarbazatos derivados da 2-acetilpiridina e da 1,1,1-trifloro-2,4-pentanodiona;
- II. Sintetizar complexos metálicos inéditos de cobre(II) e níquel(II) com os ligantes ditiocarbazatos obtidos;
- III. Elucidar as estruturas cristalinas e moleculares dos compostos obtidos por meio da difração de raios X de monocristal, bem como avaliar a presença de arranjos supramoleculares e interações intermoleculares através da Superfície de Hirshfeld;
- IV. Comparar os resultados experimentais com os dados teóricos obtidos pelo método da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) para os ligantes e complexos derivados da 2-acetilpiridina;
- V. Caracterizar todos os produtos por meio de diferentes técnicas de análise, como espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR), espectrometria de massas, análise elementar (CHN), ressonância magnética nuclear de ^1H e espectroscopia de absorção na região do ultravioleta visível (UV-Vis);
- VI. Realizar testes de citotoxicidade dos ditiocarbazatos livres e seus complexos metálicos frente a diferentes linhagens de células tumorais;
- VII. Estudar através de docking molecular para os ligantes e complexos de Ni(II) derivados da 1,1,1-trifloro-2,4-pentanodiona.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes e Solventes

A seguir estão relacionados os reagentes e solventes utilizados em todas as sínteses e em todos os preparos de amostras apresentados nesse trabalho. Os solventes foram obtidos comercialmente pela empresa Vetec e os reagentes pela empresa Sigma-Aldrich.

- 1,1,1-Trifluoro-2,4-pentanodiona ($C_5H_5F_3O_2$) – 98%
- 2-acetilpiridina (C_7H_7NO) – 98%
- Acetanilida (C_8H_9NO) – 99%
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) – 98%
- Álcool etílico (C_2H_6O) – 95%
- Álcool isopropílico (C_3H_8O) – 95%
- Álcool metílico (CH_3OH) – 99,9%
- Brometo de 4-bromobenzil ($C_7H_6Br_2$) – 97,5%
- Brometo de 4-nitrobenzil ($C_7H_6BrNO_2$) – 99%
- Cloreto de cobre(II) anidro ($CuCl_2$) – 98%
- Cloreto de níquel(II) hexahidratado ($NiCl_2 \cdot 6H_2O$) – 97%
- Dicloridrato de hidrazina, ($H_4N_2 \cdot 2HCl$) – 98%
- Dimetilformamida (C_3H_7NO) – 99,8%
- Dimetilsulfoxido (C_2H_6OS) – 99,5%
- Dimetilsulfoxido deuterado (C_2D_6OS) – 99,9%
- Dissulfeto de Carbono (CS_2) – 99%
- Hidróxido de sódio (NaOH) – 98%
- Piridina (C_5H_5N) – 99%
- Tetrametilsilano ($C_4H_{12}Si$) – 99,9%
- Trifenilfosfina ($C_{18}H_{15}P$) – 99%

3.2. Métodos de Caracterização

3.2.1. Difração de Raios X de Monocristal

O equipamento utilizado na técnica de difração de raios X foi um difratômetro SMART APEX II CCD (Charge Coupled Device Detector Bruker), que se encontra na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de Brasília. Este equipamento possui um monocromador de grafite com fonte de radiação de molibdênio Mo- $K\alpha$ (0,71073 Å), mantendo a temperatura de coleta de aproximadamente 296 K. Todas as estruturas foram posteriormente solucionadas através do programa Olex2⁶⁹, com opção de refinamento SHELXS⁷⁰ e finalizadas a partir da opção SHELXL⁷¹ com minimização de Mínimos Quadrados. Os dados das celas unitárias foram obtidos a partir da coleta de três matrizes, cada uma com doze imagens. As imagens das estruturas cristalinas dos complexos e as representações de suas celas unitárias também foram geradas no programa Olex2.⁶⁹ Nas Tabelas 1 e 2 se encontram as informações

da coleta de dados e refinamento das estruturas cristalinas e moleculares analisadas por difração de raios X de monocristal.

Tabela 1. Dados da coleta de intensidades e do refinamento das estruturas cristalinas dos complexos [Cu(L¹)Cl] (1), [Cu(L¹)Br] (2), [Cu(L²)Cl] (3) e [Cu(L²)Br] (4).

Composto	[Cu(L ¹)Cl] (1)	[Cu(L ¹)Br] (2)	[Cu(L ²)Cl] (3)	[Cu(L ²)Br] (4)
Fórmula molecular	C ₁₅ H ₁₃ BrClCuN ₃ S ₂	C ₁₅ H ₁₃ Br ₂ CuN ₃ S ₂	C ₁₅ H ₁₃ ClCuN ₄ O ₂ S ₂	C ₁₅ H ₁₃ BrCuN ₄ O ₂ S ₂
Massa molecular (g mol⁻¹)	478,30	522,76	444,40	488,87
Sistema cristalino	Triclínico	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>c</i>
Parâmetros da cela				
a (Å)	7,407(2)	7,275(3)	8,285(2)	8,245(3)
b (Å)	9,134(3)	15,133(5)	14,117(4)	14,343(5)
c (Å)	13,790(4)	16,024(5)	15,159(4)	15,259(5)
α (°)	103,024(6)	90	90	90
β (°)	101,357(6)	98,344(6)	92,432(5)	92,862(6)
γ (°)	92,190(6)	90	90	90
V (Å³)	887,9(5)	1745,3(10)	1771,5(8)	1802,3(11)
Z	2	4	4	4
Densidade (mg cm⁻³)	1,789	1,989	1,666	1,787
Índices de varredura h, k, l	-8 ≤ h ≤ 8 -10 ≤ k ≤ 10 -16 ≤ l ≤ 16	-8 ≤ h ≤ 8 -18 ≤ k ≤ 18 -19 ≤ l ≤ 19	-10 ≤ h ≤ 10 -17 ≤ k ≤ 17 -19 ≤ l ≤ 18	-10 ≤ h ≤ 10 -18 ≤ k ≤ 18 18 ≤ l ≤ 19
Coefficiente linear de absorção μ (mm⁻¹)	3,866	6,070	1,636	3,672
Correção de absorção	multi-scan	multi-scan	multi-scan	multi-scan
Número de reflexões	20515	39611	19060	19445
Reflexões Independentes/R_{int}	3249/0,089	3240/0,154	3766/0,088	3819/0,120
Método de solução	Direto	Direto	Direto	Direto
Método de refinamento	Método dos mínimos quadrados	Método dos mínimos quadrados	Método dos mínimos quadrados	Método dos mínimos quadrados
Índices de discordância finais R₁/wR₂ [I > 2s(I)]	0,044/0,089	0,049/0,112	0,057/0,148	0,048/0,081
Qualidade do ajuste (F²)	1,024	1,025	1,063	0,993
Densidade eletrônica residual (e.Å⁻³)	0,66 e -0,69	0,59 e -1,09	1,10 e -0,60	0,44 e -0,52
Completude (%)	99,1	99,6	99,8	99,3

Tabela 2. Dados da coleta de intensidades e do refinamento das estruturas cristalinas do ligante H_2L^3 e complexos $[Ni(L^3)PPh_3]$ (5), $[Ni(L^3)Py]$ (6), $[Ni(L^4)PPh_3]$ (7) e $[Ni(L^3)Py]$ (8).

Composto	H_2L^3	$[Ni(L^3)PPh_3]$ (5)	$[Ni(L^3)Py]$ (6)	$[Ni(L^4)PPh_3]$ (7)	$[Ni(L^4)Py]$ (8)
Fórmula molecular	$C_{13}H_{12}BrF_3N_2OS_2$	$C_{31}H_{25}BrF_3N_2NiOPS_2$	$C_{18}H_{15}BrF_3N_3NiOS_2$	$C_{31}H_{25}F_3N_3NiO_3PS_2$	$C_{18}H_{15}F_3N_4NiO_3S_2$
Massa molecular (g mol⁻¹)	413,28	732,24	549,07	698,34	515,17
Sistema cristalino	Monoclínico	Ortorrômbico	Monoclínico	Ortorrômbico	Monoclínico
Grupo espacial	$P2_1/c$	$P2_12_12_1$	$P2_1/n$	$P2_12_12_1$	$P2_1/n$
Parâmetros da cela					
a (Å)	9,809(2)	8,243(13)	4,346(3)	8,187(5)	4,249(6)
b (Å)	8,998(2)	14,951(2)	38,97(3)	14,883(9)	39,312(5)
c (Å)	18,304(4)	25,420(5)	12,785(9)	25,209(15)	12,622(17)
α (°)	90	90	90	90	90
β (°)	91,068(5)	90	96,935(19)	90	98,778(4)
γ (°)	90	90	90	90	90
V (Å³)	1615,2(6)	3132,9(9)	2150(3)	3072(3)	2083,6(5)
Z	4	4	4	4	4
Densidade (mg cm⁻³)	1,700	1,552	1,697	1,510	1,642
Índices de varredura h, k, l	$-11 \leq h \leq 11$ $-10 \leq k \leq 10$ $-22 \leq l \leq 21$	$-10 \leq h \leq 10$ $-17 \leq k \leq 14$ $-31 \leq l \leq 27$	$-5 \leq h \leq 5$ $-46 \leq k \leq 46$ $-15 \leq l \leq 15$	$-9 \leq h \leq 9$ $-17 \leq k \leq 15$ $-30 \leq l \leq 20$	$-5 \leq h \leq 5$ $-47 \leq k \leq 47$ $-15 \leq l \leq 15$
Coefficiente linear de absorção μ (mm⁻¹)	2,835	2,125	2,995	0,876	1,187
Correção de absorção	multi-scan	multi-scan	multi-scan	multi-scan	multi-scan
Número de reflexões	20536	20689	26755	10270	25275
Reflexões Independentes/R_{int}	2975/0,1036	5858/0,158	3886/0,171	5627/0,0852	3772/0,054
Método de solução da estrutura	Direto	Direto	Direto	Direto	Direto
Método de refinamento	Método dos mínimos quadrados	Método dos mínimos quadrados	Método dos mínimos quadrados	Método dos mínimos quadrados	Método dos mínimos quadrados
Índices de discordância finais R_1/wR_2 [$I > 2s(I)$]	0,042/0,079	0,060/0,082	0,042/0,072	0,062/0,079	0,072/0,188
Qualidade do ajuste (F^2)	1,013	0,937	0,752	0,881	1,172
Densidade eletrônica residual (e.Å⁻³)	0,42 e -0,43	0,46 e -0,48	0,47 and -0,57	0,35 e -0,32	0,93 e -0,52
Completude (%)	99,3	99,8	99,7	99,9	99,3

3.2.2. Análise da Superfície de Hirshfeld (HS)

A análise das superfícies de Hirshfeld (HS) e os gráficos de impressão digital 2D foram gerados para as estruturas cristalinas usando CrystalExplorer 17.5⁷², para os quais foram usados os arquivos de informações cristalográficas (CIFs) obtidos a partir da difração de raios X de monocristal.

Com o uso do programa CrystalExplorer 17.5⁷², três principais tipos de dados podem ser avaliados, sendo o primeiro deles a superfície 3D d_{norm} , que mostra um padrão de cores, permitindo avaliar qualitativamente os contatos que mais contribuem para o arranjo supramolecular do composto, sendo que: a cor vermelha indica distâncias menores que a soma dos raios de van der Waals, cor branca contatos próximos e a cor azul as distâncias maiores que soma dos raios van der Waals. Uma outra ferramenta que permite avaliar o arranjo supramolecular das moléculas é a função *shape index*. Esta função indica a presença de interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ pela presença de um par de triângulos vermelhos e azuis na superfície mapeada. Um terceiro dado que pode ser gerado são os gráficos de impressões digitais das moléculas a partir da combinação de gráfico de d_i versus d_e . Esses gráficos bidimensionais são únicos para cada molécula e permitem avaliar as contribuições das interações entre cada par de átomos presentes, mesmo aquelas contribuições mais fracas e distantes.^{73,74}

Diante do exposto, foram obtidos inicialmente d_e e d_i , que correspondem respectivamente à distância da superfície ao átomo mais próximo fora da superfície e à distância da superfície ao átomo mais próximo dentro da superfície. Depois, correlacionando essas duas funções geométricas, foi gerada a superfície (d_{norm}), na qual as distâncias foram normalizadas pelos raios de van der Waals. As superfícies d_{norm} 3D foram mapeadas em uma escala de cor fixa de - 0,2000 Å (vermelho) a 1,4000 Å (azul). Foram obtidos também os gráficos da superfície na função *shape index* (índice de forma). Ademais, os gráficos de impressão digital 2D, que são gráficos de d_i versus d_e , foram obtidos e utilizados para indicar e quantificar os diferentes tipos de contatos intermoleculares que auxiliam na formação do cristal.

3.2.3. Ponto de Fusão (p.f.)

O equipamento digital MQAPF-302 da marca Micro Química disponível no LASIC do Instituto de Química da Universidade de Brasília foi utilizado para medição dos pontos de fusão de todos os compostos.

3.2.4. Análise Elementar (CHN)

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio de todos os compostos foram mensurados através de um equipamento Perkin Elmer/ Series II 2400 analyser do Instituto de Química da Universidade de Brasília, que tem por padrão a acetanilida.

3.2.5. Espectrometria de Massas (UHPLC-MS/MS)

Destaca-se que uma técnica muito usada nas áreas química, bioquímica e farmacêutica para auxiliar na determinação de estruturas e monitorar mudanças nas composições de soluções é a espectrometria de massas, a qual permite avaliar o padrão de massas relativas e fragmentações características dos compostos.^{75,76} Com este objetivo, os espectros de massa ESI-MS e ESI-MSMS foram obtidos no modo positivo com soluções de concentração 50 μ M (metanol/dimetilformamida, razão 99/1% para a maioria dos compostos (que são mais insolúveis) e metanol 100% para os complexos $[\text{Ni}(\text{L}^3)\text{Py}]$ (6) e $[\text{Ni}(\text{L}^3)\text{Py}]$ (8)) em meio ácido (ácido acético 0,1%) e o equipamento utilizado foi um AB Sciex Triple TOF 5600+ espectrômetro. Os valores da tensão e temperatura da fonte foram de 5500 V e 200 °C, respectivamente. Este equipamento também faz parte da lista de equipamentos disponíveis na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de Brasília.

3.2.6. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H)

Uma outra técnica muito usada para a caracterização de novos compostos é a Ressonância Magnética Nuclear de ^1H . Esta técnica é necessária neste trabalho, uma vez que podemos obter informações sobre o número de núcleos magneticamente distintos nas estruturas, fornecendo informações sobre o seu ambiente químico.⁷⁷ É importante destacar que é possível caracterizar complexos de Ni(II) quadrados através da RMN, uma vez que se tratam de complexos diamagnéticos, diferente de complexos de Cu(II) com a mesma geometria. Porém, é comum ocorrer o alargamento de alguns sinais no RMN de ^1H para tais complexos de Ni(II), principalmente por conta de possíveis desvios da geometria quadrada quando o composto está em solução.⁷⁷⁻⁷⁹

Com este objetivo, os espectros de RMN de hidrogênio foram obtidos dissolvendo 10 mg de cada composto com 0,5 mL do solvente dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6). O tetrametilsilano foi utilizado como referência interna. As análises foram feitas em um espectrômetro Bruker Avance IIIHD (600 MHz) da central analítica do IQ-UnB com os

seguintes parâmetros de aquisição: ângulo de pulso: 30°; tempo de aquisição: 2,7263 s; número de varreduras: 8-64. Não houve rotação das amostras durante a análise.

3.2.7. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FT-IR)

Com a finalidade de observar estiramentos e deformações características das ligações dos compostos sintetizados, foram obtidos os espectros de absorção na região do infravermelho para todos os ligantes e complexos utilizando o equipamento FT-IR Varian 640 da central analítica da UnB na faixa de 4000-400 cm^{-1} e resolução de 4 cm^{-1} . As amostras foram preparadas para a análise na forma de pastilhas sólidas contendo a proporção de 1,0 mg de composto para 100,0 mg de KBr

3.2.8. Espectroscopia de Absorção molecular na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Os espectros de absorção molecular na região do ultravioleta-visível dos compostos foram determinados usando soluções com concentrações de $2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes solventes: metanol (MeOH), dimetilformamida (DMF) e dimetilsulfóxido (DMSO). O equipamento utilizado para as análises foi o Espectrofotômetro VARIAN Cary 5000 da central analítica do IQ-UnB. Os espectros foram obtidos com o objetivo de observar se as transições eletrônicas dos espectros dos ditiocarbazatos e seus complexos estão de acordo com compostos semelhantes da literatura, onde são normalmente observadas duas transições características na faixa de 200-400 nm: transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$, sendo esta última menos energética que a primeira (localizadas em comprimentos de onda mais altos).^{1,30,61,80} Após a complexação, muitas vezes também são observadas bandas em aproximadamente 400 nm, que são atribuídas como resultado da transferência de carga do ligante para o centro metálico, $S \rightarrow M(\text{II})$.^{24,80} Em soluções com concentrações mais altas, podem ainda ser observadas, para complexos como os de cobre(II) - d^9 as transições d-d, sendo estas bandas largas e com uma menor intensidade por serem proibidas por Laporte.¹

3.3. Cálculos teóricos por meio da Teoria do Funcional da Densidade (DFT)

Em parceria com o Laboratório de Química Computacional do Instituto de Química da Universidade de Brasília, as geometrias dos ligantes HL¹ e HL² e dos complexos (1)-(4) foram otimizadas usando o método da Teoria do Funcional da Densidade (DFT), função B97-3c.⁸¹ As estruturas eletrônicas baseadas na teoria funcional da densidade de Kohn-Sham têm sido amplamente utilizadas na química para prever a geometria de moléculas, seus espectros e outras

propriedades eletrônicas. Neste sentido o B97-3c é um método DFT recente, desenvolvido especificamente para o cálculo de estruturas em grandes sistemas envolvendo interações não covalentes e metais de transição.⁸¹ O software disponível gratuitamente ORCA 4.2.1^{82,83} foi empregado em todos os cálculos, que foram executados em uma CPU Ryzen 9 3900X de 12 núcleos.

3.4. Estudo da atividade citotóxica

Em parceria com o Laboratório Multidisciplinar de Saúde Humana da Universidade de Brasília, a citotoxicidade dos ligante HL¹, HL² e dos complexos (1)-(4) foi testada contra a linhagem celular de glioma humano U-251 enquanto que a citotoxicidade dos ligantes H₂L³, H₂L⁴ e complexos (5)-(8) foi testada frente a quatro diferentes linhagens celulares: linhagem celular de glioma humano U-251, duas linhagens de células de leucemia, 697 e Nalm-6 e linhagem celular de câncer de mama, MDA-MB-231.

3.4.1. Cultura celular

As células aderentes, U-251 (ATCC TCP-1018) e MDA-MB-231 (ATCC HTB-26), e não aderentes, Nalm-6 (ATCC CRL-3273) e 697 (ATCC TCP-1010), foram cultivadas em placas plásticas de 10 cm de diâmetro, todas sob condições controladas (atmosfera úmida de 5% CO₂ a 37 °C) em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) e Roswell Park Memorial Institute (RPMI), respectivamente. Ambos suplementados com soro fetal bovino 10% (v/v), penicilina (100 UI mL⁻¹) e estreptomicina (100 mg mL⁻¹), o meio das células foram trocados a cada dois a três dias.

3.4.2. Tratamento e análise da viabilidade celular

Para o tratamento, todos os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido e submetidos a diluições seriadas. As concentrações utilizadas nos experimentos variaram de 0 a 2,5 µM de cada composto (HL¹, HL² e complexos 1-4) ou 0,29 µM a 150 µM (H₂L³, H₂L⁴ e complexos 5-8). As células foram plaqueadas em placas de 96 poços e depois expostas aos compostos em concentrações crescentes. A concentração final de DMSO foi de 0,01% em todos os grupos, sendo esta concentração utilizada como controle.

A viabilidade celular foi medida pelo método colorimétrico MTT para células aderentes, e método de redução de resazurina para células não aderentes. O ensaio de MTT baseia-se na capacidade de células viáveis de metabolizar o brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio (MTT), de cor amarela, através de suas desidrogenases mitocondriais e formar

um produto de cor púrpura.^{31,84} Por outro lado, o ensaio da resazurina baseia-se na capacidade de células viáveis metabolizarem este reagente, neste caso a medida é fluorimétrica.⁸⁵

Para o ensaio MTT, as células foram plaqueadas a uma densidade de 11.000 células por poço e tratadas com os compostos. Após 72 horas o meio de cultura foi trocado pela solução de MTT e as placas foram incubadas por duas horas. Em seguida, as células foram lisadas para quantificação espectrofotométrica no comprimento de onda de 595 nm.

Para o ensaio de resazurina, as células foram plaqueadas a uma densidade de 300.000 células por poço e tratadas com os compostos. Após 72, o método fluorimétrico de redução da resazurina foi realizado de acordo com as instruções do fabricante (CellTiter-Blue; Promega).

Em todos os casos, os resultados foram expressos em porcentagem da viabilidade do controle.

3.4.3. Morfologia celular

Com relação à avaliação da morfologia celular dos ligante HL¹, HL² e dos complexos (1)-(4), as células foram observadas usando um microscópio de contraste de fase invertido (NIKON Eclipse TS100). As imagens foram registradas por meio de uma câmera digital. Para avaliar os efeitos dos compostos na forma da célula e na densidade da placa de 10 mil células, foram utilizadas concentrações de 20 µM, Tempo de tratamento: 72h.

3.4.4. Análise de dados

Os dados foram expressos como média ou mediana (de acordo com a distribuição) e submetidos a tratamento analítico. Testes não paramétricos foram utilizados para dados com distribuição não normal. Valores de probabilidade de $p < 0,05$ foram aceitos como indicação de diferença estatisticamente significativa. Regressões não lineares foram usadas para demonstrar os padrões dose-resposta, elas foram realizadas usando os modelos de equações logarítmicas da biblioteca do software Graph Pad Prism. Valores de R^2 superiores a 0,9 foram adotados como satisfatórios.

3.4.5. Doking Molecular

Em parceria com o laboratório de Química Computacional da Universidade de Brasília, foram realizados estudos de *docking* molecular para os ligantes H₂L³ e H₂L⁴ e seus complexos de Ni(II) (5)-(8) com quatro alvos biológicos diferentes. O programa GOLD (*Protein-Ligand Docking Software*),^{86,87} que está incluído no pacote de modelagem molecular computacional do

Centro de Dados Cristalográficos de Cambridge (CCDC), foi usado para modelar a melhor posição e as principais interações observadas.

Programas de *docking* molecular como o GOLD exploram o comportamento de pequenas moléculas no sítio de ligação de uma proteína alvo e executam um algoritmo de busca no qual a conformação do composto é alterada até que a convergência para a energia mínima seja alcançada.^{88,89} Para o presente trabalho, os alvos enzimáticos foram escolhidos do proteoma das mesmas células cancerosas usadas para os ensaios de MTT (NALM-6, 697, U251 e MDA-MB-231). Além disso, a afinidade de ligação, com base nas energias de ligação, foi estimada usando a função de pontuação ASP^{90,91}, também presente no programa GOLD.

Para a linhagem celular NALM-6, o alvo enzimático escolhido foi a desoxicitidina quinase humana (dCK), com mutação C4S-S74E, complexada com UDP (uridina-5'-difosfato) e com o inibidor DI-39. Os dados cristalográficos da estrutura dessa enzima apresentam resolução de 2,09 Å, e estão depositados no banco de dados *RSCB* sob o código 4KCG. A ação desta enzima está relacionada com a regulação da replicação das células de leucemia linfoblástica por meio da participação em uma via alternativa de produção de dNTP's (desoxirribonucleotídeos fosfatados) para a síntese de DNA. A hipótese discutida é que a inibição desta enzima, em combinação com o uso de outros agentes antitumorais, poderia controlar o avanço da doença.⁹² O estudo de *docking* para este receptor foi feito em ensaio duplicado. Um ensaio considera o sítio ativo relacionado com o ligante UDP, e o outro ensaio foi feito centralizando as interações na região do inibidor DI-39, a fim de entender melhor como os ligantes e os complexos do presente trabalho poderiam promover a inibição da enzima dCK.

A fim de definir um alvo adequado para a linhagem celular 697, a estrutura cristalográfica escolhida foi uma proteína de ligação ao DNA, DUX4, ligada com os domínios da imunoglobulina 1 e 2 (DUX4₁₋₁₅₀-DNA_{ERG} HD1-HD2) e com o gene ERG_{ALT}. Estudos apontam que a expressão anormal dessa proteína está relacionada, por exemplo, com a leucemogênese completa em pacientes pediátricos com leucemia linfoblástica aguda.⁹³ A estrutura cristalina deste sistema proteômico está depositada no Banco de Dados de Proteínas RCSB sob o código 7DW5 e apresenta resolução de 2,83 Å. Como este sistema macromolecular não apresenta ligante ou inibidor complexado a ele, a região do sítio ativo escolhida para realizar o estudo de *docking* foi a região da junção de dois monômeros da DUX4₁₋₁₅₀-DNA_{ERG}, na qual foi considerada como centro das coordenadas a posição do resíduo CE1:His78 da cadeia A.

A quinase dependente de ciclina 6 (CDK6) é uma das proteínas responsáveis pela regulação do ciclo celular. Por outro lado, a linhagem cancerosa U251 é um tipo de célula que modificou

seu ciclo quando o glioblastoma se estabeleceu no organismo.⁹⁴ Estudos apontam que as quinases dependentes de ciclina CDK4 e CDK6 formam complexos com ciclinas do tipo D para conduzir a proliferação celular. Além disso, um alvo do complexo D-CDK4,6 é a proteína Rb do retinoblastoma, causando sua inativação.⁹⁵ Como uma das funções da proteína Rb é prevenir o crescimento celular excessivo, a inibição adequada dessas CDKs é um alvo terapêutico para o tratamento do câncer. Neste trabalho selecionamos uma enzima CDK6 complexada com um inibidor potente de penetração no cérebro (NIJ) para realizar o estudo de *docking* relacionado com o proteoma da linhagem U251. A estrutura cristalográfica e as coordenadas deste sistema CDK6 estão depositadas no Banco de Dados de Proteínas sob o código 6OQO e apresentam uma resolução de 1,98 Å.

Estudos mostram que alguns tipos de células cancerosas se diferenciam das células saudáveis através da diminuição do pH extracelular e adaptação do seu metabolismo para sobreviver ao ambiente modificado. Neste sentido, a enzima anidrase carbônica (CA), a qual é expressa na codificação do genoma das células MDA-MB-231, sendo responsável pela catálise do processo de conversão do CO₂ em HCO₃⁻ e H⁺ e pela regulação do pH fora da membrana celular, é superexpressa por alguns tipos de tumores.⁹⁶ Diante do exposto, a fim de avaliar e modelar uma possível via de inibição dessa enzima, a estrutura cristalográfica de CA, complexada com um potente inibidor denominado QYA, depositada no Banco de Dados de Proteínas sob o código 6VJ3 com resolução de 1,35 Å foi utilizada para realizar um dos estudos de *docking* com as células MDA-MB-231.

Após a escolha das proteínas para cada caso, foram realizados estudos *pré-docking*, onde os ligantes originais (UDP, NIJ ou QYA) complexados com as proteínas tiveram as suas posições calculadas para serem utilizadas como padrões durante o estudo e posteriormente comparadas com a melhor posição (conformação de menor energia) obtida para cada um dos compostos estudados. Além disso, foi realizado um estudo sistemático para definir o melhor tamanho da região do sítio ativo de ligação, onde foram consideradas as regiões incluindo todos os resíduos a 8, 10 e 12 Å de distância ao redor da região do ligante original. Foi observado que o melhor ajuste e conformação tanto para os ligantes originais das proteínas quanto para os ligantes H₂L³, H₂L⁴ e complexos (5)-(8) foram na região do sítio de ligação considerando todos os resíduos com 12 Å de distância.

Ademais, uma medida que também pode ser usada para avaliar o processo de *docking* é o desvio quadrático médio (RMSD) entre a melhor posição ajustada para os compostos testados e as coordenadas cristalográficas dos ligantes originais. Os valores de desvios quadráticos

médios de ligação com relação ao melhor composto testado para cada linhagem foram calculados como 0,2 Å para o ligante UDP (estrutura cristalográfica 4KCG da proteína das células NALM-6); nenhum valor para a estrutura cristalográfica 7DW5 da proteína de 697 células, uma vez que esta estrutura não possui nenhum ligante complexado a ela; 0,48 Å para o ligante NIJ (estrutura cristalográfica 6OQO da proteína das células U251); e 0,56 Å para o ligante QYA (estrutura cristalográfica 6VJ3 da proteína de células MDA-MB-231).

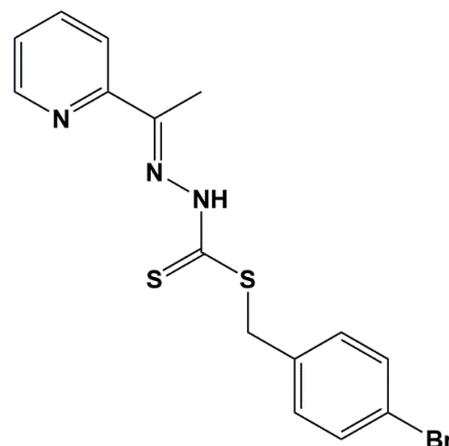
Após esses rigorosos procedimentos e boa validação do protocolo^{86,87}, foram realizados os estudos de *docking* dos ligantes H₂L³ e H₂L⁴ e seus complexos de Ni(II) (5)-(8) através do programa GOLD.

3.5. Síntese dos agentes complexantes

A síntese dos ligantes ditiocarbazatos foi baseada em estudos publicados anteriormente^{31,97}, porém com algumas modificações em algumas etapas da síntese por conta da indisponibilidade de um dos reagentes da síntese original (hidrazina monohidratada).

3.5.1. Síntese do agente complexante 2-acetilpiridina-S-p-bromobenzil-ditiocarbazato (HL¹)

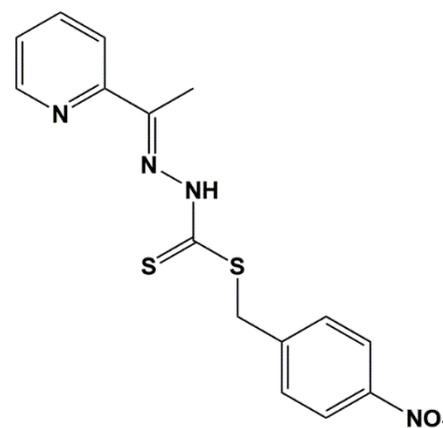
A síntese do agente complexante HL¹ foi realizada em quatro etapas conforme descrito a seguir. Em um balão de fundo redondo foram adicionados 314,9 mg (3 mmol) de dicloridrato de hidrazina, previamente dissolvidos em 10,0 mL de etanol 95% a uma solução de 359,91 mg (9 mmol) de NaOH em 20,0 mL de etanol 95%, sob agitação e banho de gelo por 1h. Em seguida foram adicionados 0,18 mL (3 mmol) de dissulfeto de carbono gota a gota ao meio reacional. Após 1 hora e com o meio reacional em temperatura ambiente, foram adicionados 750,0 mg de brometo de 4-bromobenzil dissolvidos em 10 mL de etanol. Na última etapa foi realizada uma reação de condensação com 0,34 mL (3 mmol) de 2-acetilpiridina, sendo que a etapa de condensação foi feita em refluxo e banho de óleo, a 150 °C, por 1h. Imediatamente após o fim da reação, obteve-se um sólido de coloração amarela, que foi filtrado da solução mãe. Rendimento: 90% (1030 mg). Ponto de Fusão: 149 °C. Análise Elementar (%): C,47,37; H, 3,71; N, 11,05; (valores teóricos), C, 47,11; H, 3,25; N, 10,85. (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (v/cm⁻¹): ν(C=S) 1245,



$\nu(\text{C-S})$ 782, $\nu(\text{N-H})$ 2991, $\nu(\text{N-N})$ 1065, $\nu(\text{C=N})$ 1584, $\delta(\text{Py})$ 627. RMN ^1H (DMSO- d_6 δ , ppm): 2,47 (s, 3H, CH_3); 4,49 (s, 2H, S-CH_2); anel aromático 7,39 (m, 2H, $-\text{CH}^{11}_{\text{Ar}}=$), 7,52 (m, 2H, $-\text{CH}^{12}_{\text{Ar}}=$); anel piridínico: 7,45 (ddd, $J_{\text{orto}}=4,7$ Hz, $J_{\text{orto}}=7,7$ Hz, $J_{\text{meta}}=1,1$ Hz, H, $-\text{CH}^2_{\text{py}}=$), 7,86 (td, $J_{\text{orto}}=7,7$ Hz, $J_{\text{meta}}=1,8$ Hz, H, $-\text{CH}^3_{\text{py}}=$), 8,03 (d, $J_{\text{orto}}=7,7$ Hz, H, $-\text{CH}^4_{\text{py}}=$), 8,62 (ddd, $J_{\text{orto}}=4,7$ Hz, $J_{\text{meta}}=1,8$ Hz, $J_{\text{para}}=1,1$ Hz, H, $-\text{CH}^1_{\text{py}}=$); 12,67 (s, H, N-H). UV-vis (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 333$ nm. UV-vis (DMF): $\lambda_{\text{max}} = 331$ nm. UV-Vis (DMSO): $\lambda_{\text{max}} = 339$ nm.

3.5.2. Síntese do agente complexante 2-acetilpiridina-S-p-nitrobenzil-ditiocarbazato (HL^2)

Para a síntese do ligante 2-acetilpiridina-S-p-nitrobenzil-ditiocar-bazato (HL^2), foram realizadas as mesmas etapas da síntese do ligante HL^1 com uma variação na terceira etapa, onde ao invés de se adicionar brometo de 4-bromobenzil, foram adicionados 648 mg (3 mmol) do brometo de 4-nitrobenzil dissolvidos em 10 mL de etanol. Imediatamente após o fim da reação, obteve-se um sólido de coloração amarela, que foi filtrado da solução mãe. Rendimento: 92% (960 mg). Ponto de Fusão: 135°C. Análise Elementar (%): C, 52,01; H, 4,07;

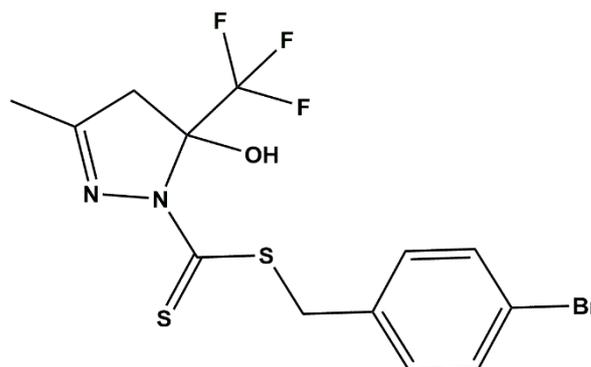


N, 16,17 (valores teóricos), C, 51,58; H, 3,66; N, 15,77 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (ν/cm^{-1}): $\nu(\text{C=S})$ 1281, $\nu(\text{C-S})$ 781, $\nu(\text{N-H})$ 3162, $\nu(\text{N-N})$ 1064, $\nu(\text{C=N})$ 1599, $\nu(\text{C=N})_{\text{py}}$ 1562 $\delta(\text{Py})$ 622, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{ass}}$ 1516, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{sim}}$ 1324/1344. RMN ^1H (DMSO- d_6 δ , ppm): 2,47 (s, 3H, CH_3); 4,67 (s, 2H, S-CH_2); anel aromático: 7,71 (m, 2H, $-\text{CH}^{11}_{\text{Ar}}=$), 8,19 (m, 2H, $-\text{CH}^{12}_{\text{Ar}}=$); anel piridínico: 7,46 (ddd, $J_{\text{orto}}=4,8$ Hz, $J_{\text{orto}}=7,8$ Hz, $J_{\text{meta}}=1,1$ Hz, H, $-\text{CH}^2_{\text{py}}=$), 7,86 (td, $J_{\text{orto}}=7,8$ Hz, $J_{\text{meta}}=1,8$ Hz, H, $-\text{CH}^3_{\text{py}}=$), 8,05 (dt, $J_{\text{orto}}=7,8$ Hz, $J_{\text{meta}}=1,2$ Hz, H, $-\text{CH}^4_{\text{py}}=$), 8,63 (ddd, $J_{\text{orto}}=4,8$ Hz, $J_{\text{meta}}=1,8$ Hz, $J_{\text{para}}=1,2$ Hz, H, $-\text{CH}^1_{\text{py}}=$); 12,76 (s, H, N-H). UV-vis (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 274$ nm. UV-vis (DMF): $\lambda_{\text{max}} = 276$ e 301 nm. UV-vis (DMSO): $\lambda_{\text{max}} = 294$ e 337.

3.5.3. Síntese do agente complexante 1,1,1-trifloro-2,4-pentadiona-S-p-bromobenzil-ditiocarbazato (H_2L^3)

A síntese do agente complexante H_2L^3 foi realizada em quatro etapas, primeiramente foram adicionados 314,9 mg (3 mmol) de dicloridrato de hidrazina, previamente dissolvidos em 10,0 mL de etanol 70%, em meio básico (9 mmol de NaOH em 20,0 mL de etanol 95%) sob agitação e banho de gelo por 1h. Em seguida foram adicionados 0,18 mL (3 mmol) de dissulfeto de

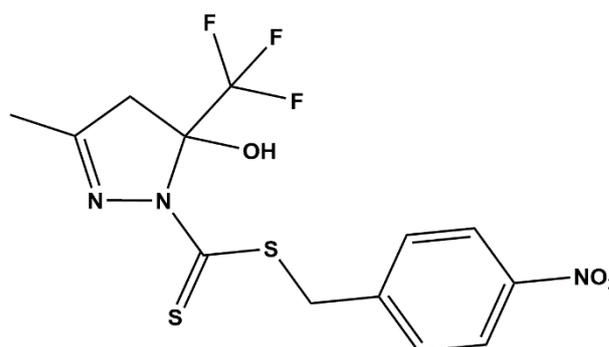
carbono gota a gota ao meio reacional. Após 1 hora e com o meio reacional em temperatura ambiente, foram adicionados 750,0 mg (3 mmol) de brometo de 4-bromobenzil dissolvidos em 10 mL de álcool isopropílico. Na última etapa foi realizada uma reação de condensação com 0,35 mL (3 mmol) de 1,1,1-trifloro-2,4-pentadiona, sendo que a etapa de condensação foi feita em banho de óleo e



refluxo, a 150 °C, por 4h. Obteve-se cristais amarelo-claros que foram filtrados da solução mãe, após lenta evaporação do solvente. Rendimento: 63% (780,5 mg). Ponto de Fusão: 85°C. Análise Elementar (%): C, 37,78; H, 2,93; N, 6,78 (valores teóricos), C, 37,73; H, 2,69; N, 6,66 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (ν/cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{S})$ 1300, $\nu(\text{C}-\text{S})$ 734, $\nu(\text{O}-\text{H})$ 3199, $\nu(\text{N}-\text{N})$ 1113, $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1643, $\nu(\text{C}-\text{F})$ 1200-1137, $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1588 e 1486. RMN ^1H (DMSO- d_6 δ , ppm): 2,05 (s, 3H, CH_3); 3,32 (d, $^2J = 19,8$ Hz, H, CH_2); 3,64 (d, $^2J = 19,8$ Hz, H, CH_2); 4,30 (d, $^2J = 13,9$ Hz, H, $\text{S}-\text{CH}_2$); 4,35 (d, $^2J = 13,9$ Hz, H, $\text{S}-\text{CH}_2$); anel aromático: 7,34 (d, $J_{\text{orto}} = 8,4$ Hz, 2H, $-\text{CH}^9_{\text{Ar}}=$), 7,51 (d, $J_{\text{orto}} = 8,4$ Hz, 2H, $-\text{CH}^{10}_{\text{Ar}}=$), 8,26 (s, H, O-H). ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ (teórico/experimental, m/z) = 412,9605/412,9595.

3.5.4. Síntese do agente complexante 1,1,1-trifloro-2,4-pentadiona-S-p-nitrobenzil-ditiocarbazato (H_2L^4)

Para a síntese do agente complexante 1,1,1-trifloro-2,4-pentadiona-S-p-nitrobenzil-ditiocarbazato (H_2L^4), foram realizadas as mesmas etapas da síntese do ligante H_2L^3 com uma variação na terceira etapa, onde ao invés de se adicionar brometo de 4-bromobenzil, foram adicionados 648 mg (3 mmol) do brometo de 4-nitrobenzil dissolvidos em 10 mL de álcool isopropílico. Obteve-se um



material cristalino de coloração amarela que foi filtrado da solução mãe, após lenta evaporação do solvente. Rendimento: 89% (1009,2 mg). Ponto de Fusão: 87°C. Análise Elementar (%): C, 41,15; H, 3,19; N, 11,07 (valores teóricos); C, 40,86; H, 2,89; N, 11,56. (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (ν/cm^{-1}): $\nu(\text{C}=\text{S})$ 1310, $\nu(\text{C}-\text{S})$ 732, $\nu(\text{O}-\text{H})$ 3151, $\nu(\text{N}-\text{N})$ 1113, $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1636, $\nu(\text{C}-\text{F})$ 1205-1138, $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1596 e 1446, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{ass}}$ 1515, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{sim}}$ 1344. RMN ^1H (DMSO- d_6 δ , ppm): 2,06 (s, 3H, CH_3); 3,32 (d, $^2J = 19,8$ Hz, H, CH_2); 3,65 (d, $^2J = 19,8$

Hz, H, CH₂); 4,49 (d, ²J = 14,3 Hz, H, S-CH₂); 4,55 (d, ²J = 14,3 Hz, H, S-CH₂); anel aromático: 7,65 (d, *J*_{orto} = 8,8 Hz, 2H, -CH⁹_{Ar=}), 8,18 (d, *J*_{orto} = 8,8 Hz, 2H, -CH¹⁰_{Ar=}), 8,33 (s, H, O-H). ESI-MS [M+H]⁺ (teórico/experimental, m/z) = 380,0350/380,0348.

3.6. Síntese dos complexos metálicos

3.6.1. Síntese do complexo [Cu(L¹)Cl] (1)

O ligante HL¹ (0,1 mmol, 38,1 mg) foi dissolvido em 5 mL de clorofórmio e adicionado a uma solução de CuCl₂ (0,1 mmol, 13,4 mg) em 5 mL de metanol em um balão de fundo redondo. A mistura ficou em agitação e refluxo (150 °C) por 2 h. Um precipitado verde se formou imediatamente após o fim da reação e foi filtrado e recristalizado em 2 mL de dimetilformamida. Cristais verdes apropriados para a difração de raios X de monocristal foram obtidos após lenta evaporação do solvente. Rendimento: 67% (32,0 mg); Ponto de Decomposição: acima de 202 °C. Análise Elementar (%): 37,66; H, 2,74; N, 8,78 (valores teóricos), 38,02; H, 2,55; N, 8,73 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (v/cm⁻¹): ν(C-S) 782, ν(N-N) 1036, ν(C=N) 1588, ν(C=N_{Py}) 1561, δ(Py) 652. UV-vis (MeOH): λ_{max} = 329 e 404 nm. UV-vis (DMF): λ_{max} = 327 e 405 nm. UV-vis (DMSO): λ_{max} = 328 e 404 nm. ESI-MS [Cu(L¹)(DMF)]⁺ (teórico/experimental, m/z) = 513,9558/513,9556.

3.6.2. Síntese do complexo [Cu(L¹)Br] (2)

Para a síntese do complexo (2), foi usado o mesmo procedimento descrito para o complexo (1), porém usando CuBr₂ (0,1 mmol, 22,3 mg) ao invés de CuCl₂. O precipitado verde formado ao final da reação foi filtrado e recristalizado em 2 mL de dimetilformamida. Cristais verdes apropriados para a difração de raios X de monocristal foram obtidos após lenta evaporação do solvente. Rendimento: 59% (31,0 mg); Ponto de Decomposição: acima de 203 °C. Análise Elementar (%): C, 34,46; H, 2,51; N, 8,04 (valores teóricos), C, 34,22; H, 2,33; N, 8,14 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (v/cm⁻¹): ν(C-S) 776, ν(N-N) 1030, ν(C=N) 1585, ν(C=N_{Py}) 1580/1563, δ(Py) 626/648. UV-vis (MeOH): λ_{max} = 330 e 404 nm. UV-vis (DMF): λ_{max} = 320 e 402 nm. UV-vis (DMSO): λ_{max} = 328 e 402 nm. ESI-MS [Cu(L¹)(DMF)]⁺ (teórico/experimental, m/z) = 513,9558/513,9546.

3.6.3. Síntese do complexo [Cu(L²)Cl] (3)

Para a síntese do complexo (3), foi usado o mesmo procedimento descrito para o complexo (1), porém usando o ligante HL² (0,1 mmol, 34,6 mg) ao invés de HL¹. O precipitado verde formado ao final da reação foi filtrado e recristalizado em 2 mL de dimetilformamida. Um

precipitado verde foi filtrado e recristalizado em 2 mL de dimetilformamida. Cristais verdes apropriados para a difração de raios X de monocristal foram obtidos após lenta evaporação do solvente. Rendimento: 60% (26,6 mg); Ponto de decomposição: acima de 207 °C. Análise Elementar (%): C, 40,54; H, 2,95; N, 12,61 (valores teóricos), 40,44; H, 2,71; N, 12,39 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (ν/cm^{-1}): $\nu(\text{C-S})$ 781, $\nu(\text{N-N})$ 1033, $\nu(\text{C=N})$ 1592, $\nu(\text{C=N}_{\text{Py}})$ 1562, $\delta(\text{Py})$ 627, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{ass}}$ 1517, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{sim}}$ 1344. UV-vis (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 264$ and 401 nm. UV-vis (DMF): $\lambda_{\text{max}} = 289$ and 404 nm. UV-vis (DMSO): $\lambda_{\text{max}} = 323$ e 403. ESI-MS $[\text{Cu}(\text{L}^2)(\text{DMF})]^+$ (teórico/experimental, m/z) = 481,0304/481,0286.

3.6.4. Síntese do complexo $[\text{Cu}(\text{L}^2)\text{Br}]$ (4)

Para a síntese do complexo (4), foi usado o mesmo procedimento descrito para o complexo (3), porém usando CuBr_2 (0,1 mmol, 22,3 mg) ao invés de CuCl_2 . O precipitado verde formado ao final da reação foi filtrado e recristalizado em 2 mL de dimetilformamida. Cristais verdes apropriados para a difração de raios X de monocristal foram obtidos após lenta evaporação do solvente. Rendimento: 58% (28,1 mg); Ponto de Decomposição: acima de 208 °C. Análise Elementar (%): C, 36,85; H, 2,68; N, 11,46 (valores teóricos), C, 36,49; H, 2,34; N, 11,94 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (ν/cm^{-1}): $\nu(\text{C-S})$ 780, $\nu(\text{N-N})$ 1032, $\nu(\text{C=N})$ 1593, $\nu(\text{C=N}_{\text{Py}})$ 1567, $\delta(\text{Py})$ 618, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{ass}}$ 1517, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{sim}}$ 1344. UV-vis (MeOH): $\lambda_{\text{max}} = 265$ e 401 nm. UV-vis (DMF): $\lambda_{\text{max}} = 272$ e 400 nm. UV-vis (DMSO): $\lambda_{\text{max}} = 324$ e 401 nm. ESI-MS $[\text{Cu}(\text{L}^2)(\text{DMF})]^+$ (teórico/experimental, m/z) = 481,0304/481,0264.

3.6.5. Síntese do complexo $[\text{Ni}(\text{L}^3)\text{PPh}_3]$ (5)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,2 mmol (52,4 mg) de trifetilfosfina (PPh_3) previamente dissolvidos em 5 mL de MeOH e 0,1 mmol (23,7 mg) de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 5 mL de MeOH, sob refluxo por 20 minutos. Após este tempo, foi adicionado 0,1 mmol (41,3 mg) do ligante H_2L^3 dissolvido em 5 mL de metanol, sendo que a reação seguiu por mais 1 h, em refluxo. Um precipitado vermelho escuro foi filtrado após o final da reação, o qual foi recristalizado em uma mistura de 2 mL de dimetilformamida e 2 mL de metanol. Cristais vermelhos apropriados para a difração de raios X de monocristal foram obtidos após lenta evaporação dos solventes. Rendimento: 72% (52,3 mg). Ponto de Fusão: 134 °C. Análise Elementar (%): C, 50,85; H, 3,44; N, 3,83 (valores teóricos), C 50,07; H 3,43; N 4,41. (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (ν/cm^{-1}): $\nu(\text{C-S})$ 745, $\nu(\text{N-N})$ 1096, $\nu(\text{C=N})$ 1599, $\nu(\text{C-F})$ 1182-1137, $\nu(\text{C=C})$ 1529 e 1483, $\nu(\text{Ni-PPh}_3)$ 693. RMN ^1H (DMSO- d_6 δ , ppm): 2,41 (s, 3H, CH_3); 4,28 (s, 2H, S- CH_2); 5,89 (s, H, CH); aromáticos: 7,31 (d, $^3J_{\text{orto}} = 8,44$ Hz, 2H, –

$\text{CH}^9_{\text{Ar}=\text{}}, 7,44\text{-}7,33$ (m, 17H, $-\text{CH}^{10}_{\text{Ar}=\text{}}$ e H da PPh_3). ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ (teórico/experimental, m/z) = 730,9713/730,9730.

3.6.6. Síntese do complexo $[\text{Ni}(\text{L}^3)\text{Py}]$ (6)

Em um balão de fundo redondo foram adicionados 0,2 mmol (16 μL) de piridina (Py) em uma solução de 0,1 mmol (23,7 mg) de $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 5 mL de MeOH, sob refluxo por 20 minutos. Após este tempo, foi adicionado 0,1 mmol (41,3 mg) do ligante H_2L^3 dissolvido em 5 mL de metanol, sendo que a reação seguiu por mais 1h, em refluxo. Um precipitado vermelho escuro foi filtrado da solução e recristalizado em 3mL de dimetilformamida. Cristais vermelhos apropriados para a difração de raios X de monocristal foram obtidos após lenta evaporação do solvente. Rendimento: 65% (35,6 mg). Ponto de Fusão: 142 °C. Análise Elementar C, 39,38; H, 2,75; N, 7,65 (valores teóricos), C, 39,33; H, 2,57; N, 7,55 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (v/cm^{-1}): $\nu(\text{C}-\text{S})$ 760, $\nu(\text{N}-\text{N})$ 1070, $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1606, $\nu(\text{C}-\text{F})$ 1192-1114, $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1528 e 1485, $\delta(\text{Py})$ 689. RMN ^1H (DMSO- d_6 δ , ppm): 1,44 (s, 3H, CH_3); 4,03 (s, 2H, S- CH_2); 4,89 (s, H, CH); aromáticos: 7,34 (d, $^3J_{\text{orto}} = 8,07$ Hz, 2H, $-\text{CH}^9_{\text{Ar}=\text{}}$), 7,52 (d, $^3J_{\text{orto}} = 8,07$ Hz, 2H, $-\text{CH}^{10}_{\text{Ar}=\text{}}$) 8,12-7,97 (m, 3H, H da Py), 10,46 (s, 2H, H da Py). ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ (teórico/experimental, m/z) = 547,9224/547,9243.

3.6.7. Síntese do complexo $[\text{Ni}(\text{L}^4)\text{PPh}_3]$ (7)

Para a síntese do complexo (7), foi usado o mesmo procedimento descrito para o complexo (5), porém usando o ligante H_2L^4 (0,1 mmol, 37,9 mg) ao invés de H_2L^3 . Um precipitado vermelho escuro foi filtrado após o final da reação, o qual foi recristalizado em uma mistura de 2 mL de dimetilformamida e 2mL de metanol. Cristais vermelhos apropriados para a difração de raios X de monocristal foram obtidos após lenta evaporação dos solventes. Rendimento: 86% (60,0 mg). Ponto de Fusão: 167 °C. Análise Elementar (%): C, 53,52; H, 3,61; N, 6,02 (valores teóricos), C, 53,56; H, 3,53; N, 6,17 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (v/cm^{-1}): $\nu(\text{C}-\text{S})$ 747, $\nu(\text{N}-\text{N})$ 1096, $\nu(\text{C}=\text{N})$ 1598, $\nu(\text{C}-\text{F})$ 1179-1139, $\nu(\text{C}=\text{C})$ 1479, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{ass}}$ 1515, $\nu(\text{NO}_2)_{\text{sim}}$ 1342, $\nu(\text{Ni}-\text{PPh}_3)$ 693. RMN ^1H (DMSO- d_6 δ , ppm): 2,39 (s, 3H, CH_3); 4,43 (s, 2H, S- CH_2); 5,58 (s, H, CH); aromáticos: 7,44-7,73 (m, 17H, $-\text{CH}^9_{\text{Ar}=\text{}}$ e H da PPh_3), 8,18 (d, $^3J_{\text{orto}} = 8,44$ Hz, 2H, $-\text{CH}^{10}_{\text{Ar}=\text{}}$). ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ (teórico/experimental, m/z) = 698,0459/698,0463.

3.6.8. Síntese do complexo [Ni(L⁴)Py] (8)

Para a síntese do complexo (8), foi usado o mesmo procedimento descrito para o complexo (6), porém usando o ligante H₂L⁴ (0,1 mmol, 37,9 mg) ao invés de H₂L³. Um precipitado vermelho escuro foi filtrado ao final da reação e recristalizado em 3mL de dimetilformamida. Cristais vermelhos apropriados para a difração de raios X de monocristal foram obtidos após lenta evaporação do solvente. Rendimento: 74% (38,3 mg). Ponto de Fusão: 194 °C. Análise Elementar (%): C, 41,97; H, 2,93; N, 10,88 (valores teóricos), 42,33; H, 2,80; N, 10,86 (valores experimentais). FT-IR – bandas selecionadas (v/cm⁻¹): v(C–S) 759, v(N–N) 1068, v(C=N) 1604, v(C–F) 1190-1113, v(C=C) 1486, v(NO₂)_{ass} 1516, v(NO₂)_{sim} 1342, δ(Py) 689. RMN ¹H (DMSO-d₆ δ, ppm): 1,23 (s, 3H, CH₃); 4,09 (s, 2H, S-CH₂); 4,71 (s, H, CH); aromáticos: 7,67 (d, ³J_{orto} = 8,44 Hz, 2H, –CH⁹_{Ar=}), 8,13 (m, H, H da Py), 8,21 (d, ³J_{orto} = 8,44 Hz, 2H, –CH¹⁰_{Ar=}) 8,27 (s, 2H, H da Py), 11,14 (s, 2H, H da Py). ESI-MS [M+H]⁺ (teórico/experimental, m/z) = 514,9969/514,9952.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

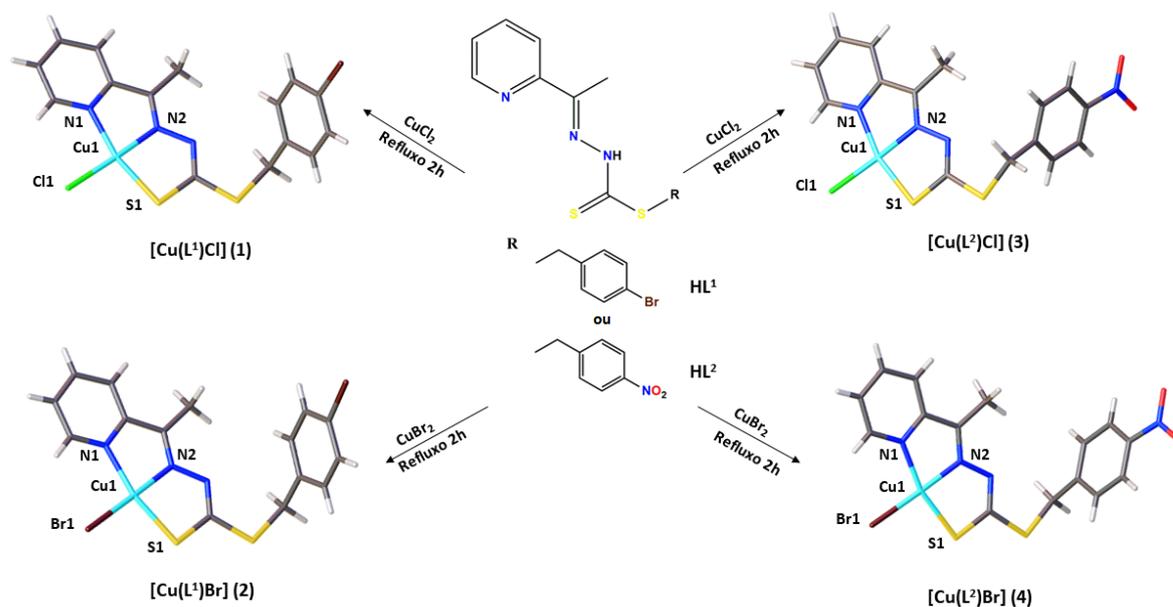
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste presente trabalho serão apresentadas a síntese e caracterização de novos complexos metálicos derivados de agentes complexantes da classe dos ditiocarbazatos. Os resultados foram divididos em duas seções, a primeira delas corresponde aos ligantes ditiocarbazatos derivados da 2-acetilpiridina e seus complexos de cobre(II) e a segunda aos ligantes derivados da 1,1,1-trifluoro-2,4-pentanodiona e seus complexos de níquel(II).

Dentre os compostos estudados, os ligantes HL¹ e HL² foram sintetizados com base em um estudo já publicado³¹, porém como houve uma variação na sua síntese (seção 3.4) e também como as suas estruturas cristalinas não estão descritas na literatura, eles foram completamente caracterizados por um conjunto de técnicas que corroboram com os resultados observados anteriormente.³¹ Já os ligantes H₂L³ e H₂L⁴ e os oito complexos obtidos são inéditos, dos quais nove compostos tiveram suas estruturas cristalinas elucidadas por difração de raios X de monocristal. Os compostos estudados foram caracterizados por diferentes técnicas de análise, como a espectrometria de massas e espectroscopia vibracional na região do infravermelho, dentre outras, que serão descritas com detalhes ao longo deste capítulo.

4.1. LIGANTES DITIOCARBAZATOS DERIVADOS DA 2-ACETILPIRIDINA E SEUS COMPLEXOS DE COBRE(II)

Nesta seção serão apresentados os resultados com relação aos complexos de cobre(II) derivados dos ligantes HL¹ e HL², conforme ilustrado no Esquema 1.



Esquema 1. Esquema de síntese dos complexos de cobre(II) derivados da 2-acetilpiridina.

Os compostos apresentados neste tópico foram caracterizados por espectrometria de massas, espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta-visível e ressonância magnética de ^1H . Além disso, os quatro complexos inéditos de cobre(II) tiveram a sua estrutura cristalina e molecular elucidada por difração de raios X de monocristal, além do arranjo supramolecular avaliado por meio de um estudo de interações através da Superfície de Hirshfeld. Todos os compostos também foram estudados utilizando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT). De forma geral são observados bons rendimentos nas sínteses, tanto para os ligantes (90-94%) como para os complexos (58-72%). Ademais, a citotoxicidade dos compostos foi avaliada frente a linhagem de glioma humano U-251.

4.1.1. Teoria do Funcional da Densidade (DFT) – otimização das geometrias de HL¹ e HL²

Com a finalidade de estudar as estruturas dos agentes complexantes HL¹ e HL² e compará-las com os comprimentos e ângulos de ligação dos complexos formados, estas foram totalmente otimizadas pelo método DFT semi-empírico B97-3c, sendo que as estruturas mais estáveis estão ilustradas na Figura 15. Os resultados mostraram que o isômero *E* é o mais provável para os dois ditiocarbazatos, com relação à ligação C6-N2. Os dados teóricos também indicam que o tautômero tiona é o mais estável, evidenciado pelo comprimento da ligação S1-C8, que tem um maior caráter de ligação dupla, cujo comprimento é de 1,64115 Å e 1,64012 Å, respectivamente para HL¹ e HL². Esses dois resultados estão de acordo com os dados experimentais de ressonância magnética nuclear de ^1H e com os dados da espectroscopia vibracional na região do infravermelho, que serão discutidos nas seções 4.1.5 e 4.1.7.

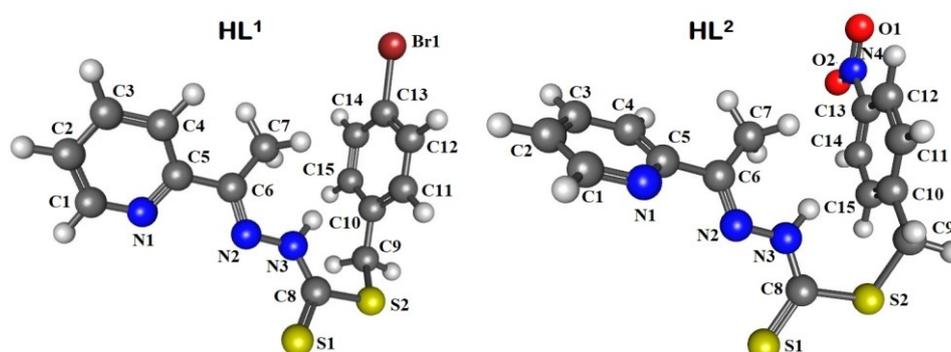


Figura 17. Geometrias otimizadas para os ligantes HL¹ e HL² pelo método B97-3c.

Os resultados revelaram ainda que a estrutura mais estável para HL¹ e HL² está em uma conformação quase planar, com uma rotação na parte final das moléculas. Todos os resultados

estão em concordância com dados experimentais já publicados e também com ligantes similares da literatura.^{31,61} Por exemplo, estão de acordo com um estudo teórico publicado por Takjoo e colaboradores em 2011⁸⁰, no qual a geometria otimizada para o agente complexante formado pela 2-formilpiridina com S-alil-ditiocarbazato indica que a forma tiona é mais estável do que a tiol em 14,65 kcal/mol, explicado por uma forte ligação de hidrogênio intramolecular entre o N(3)-H e o N1 da piridina, dando origem a um anel de seis membros, o que também pode ocorrer para HL¹ e HL², visto a semelhança das estruturas.

A Tabela 3 mostra os principais ângulos e comprimentos de ligação teóricos para os ditiocarbazatos HL¹ e HL².

Tabela 3. Principais comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) teóricos para HL¹ e HL².

	Comprimentos de ligação (Å)		Ângulos de ligação (°)		
	HL ¹	HL ²		HL ¹	HL ²
N1-C5	1,34121	1,34103	N1-C5-C6	117,4	117,3
C5-C6	1,47737	1,47758	C5-C6-N2	115,7	115,7
C6-N2	1,28901	1,28867	C6-N2-N3	117,4	117,5
N2-N3	1,34991	1,35030	N2-N3-C8	121,2	121,1
N3-C8	1,36188	1,36162	N3-C8-S1	126,8	126,8
C8-S1	1,64115	1,64012	N3-C8-S2	115,8	115,8
C8-S2	1,77916	1,78001	S1-C8-S2	117,4	117,3

4.1.2. Análise Estrutural dos Complexos (1)-(4)

O complexo [Cu(L¹)Cl] (1) cristalizou no sistema cristalino triclinico e grupo espacial $P\bar{1}$ (número 2 da *International Tables for Crystallography*)⁹⁸ com simetria de Laue $\bar{1}$. Cada unidade assimétrica apresenta uma molécula desprotonada do ligante HL¹, coordenada ao átomo de cobre(II) de forma tridentada através dos átomos de nitrogênio da piridina, nitrogênio azometínico e enxofre da tionila, além disso um íon cloreto completa a esfera de coordenação do íon metálico.

Já o complexo [Cu(L¹)Br] (2) cristalizou no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/n$ (número 14 da *International Tables for Crystallography*) com simetria de Laue 2/m. Neste complexo o ligante HL¹ também se coordenou de forma tridentada ao centro metálico pelo sistema *NNS*, porém com um íon brometo atuando como coligante e completando a esfera de coordenação. As Figuras 18 e 19 mostram as estruturas cristalinas e moleculares dos complexos [Cu(L¹)Cl] (1) e [Cu(L¹)Br] (2).

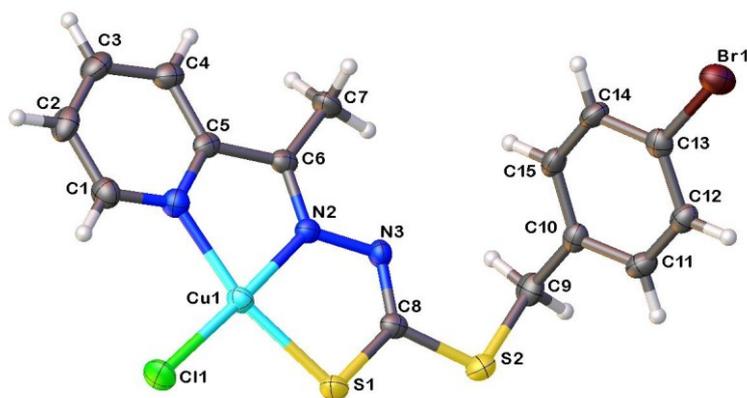


Figura 18. Estrutura cristalina e molecular do complexo $[\text{Cu}(\text{L}^1)\text{Cl}]$ (1) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

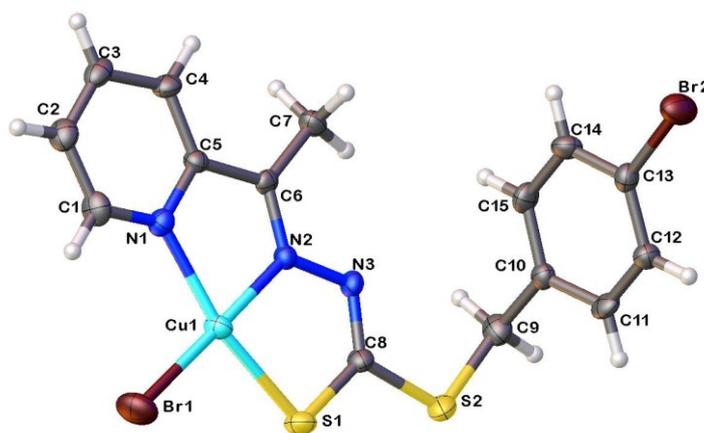


Figura 19. Estrutura cristalina e molecular do complexo $[\text{Cu}(\text{L}^1)\text{Br}]$ (2) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

Diferentemente do apontado para HL^1 livre, os resultados da difração de raios X de monocristal mostram que, com a complexação, a molécula do ligante é desprotonada no N3 e se coordena ao átomo de Cu(II) por seu tautômero tiol, o que fica evidenciado pelo alongamento da ligação C8-S1 que foi de 1,64115 Å em HL^1 (valor calculado por DFT) para 1,726(5) para (1) e de 1,723(8) para (2), nos complexos, que passou a ter um maior caráter de ligação simples. Além disso, observa-se um encurtamento da ligação N3-C8, que passou a ter um maior caráter de dupla ligação, com comprimentos de 1,302(6) e de 1,304(9), para (1) e (2), em comparação a 1,36188 Å para o ligante HL^1 livre (valor calculado por DFT).

A Tabela 4 mostra os principais ângulos e comprimentos de ligação para os complexos de cobre(II) estudados. Os comprimentos de ligação do centro metálico com os átomos

doadores *NNS* do ligante HL¹ para os complexos (1) e (2) estão entre 1,946(4) Å e 2,026(6) Å para as ligações Cu-N e 2,236(2) e 2,242(15) Å para as ligações Cu-S, sendo estas distâncias semelhantes aos comprimentos de ligação para outros complexos de Cu(II) semelhantes já relatados na literatura.^{48,61} O comprimento da ligação Cu(1)-Cl(1) de 2,208(15) Å em (1) e Cu(1)-Br(1) de 2,331(14) Å em (2) estão de acordo com a faixa encontrada para outros complexos de Cu(II).^{48,61,74,99}

Tabela 4. Principais comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) para os complexos (1-4).

Comprimentos de Ligação (Å)				
	(1)	(2)	(3)	(4)
Cu1-N1	2,006(4)	2,026(6)	2,027(5)	2,012(4)
Cu1-N2	1,946(4)	1,965(6)	1,955(5)	1,957(4)
Cu1-S1	2,242(15)	2,236(2)	2,254(17)	2,249(16)
Cu1-X	2,208(15)	2,331(14)	2,243(15)	2,341(10)
S1-C8	1,726(5)	1,723(8)	1,726(6)	1,713(5)
N3-C8	1,302(6)	1,304(9)	1,303(7)	1,301(6)
C6-N2	1,298(5)	1,305(9)	1,293(7)	1,294(6)
Ângulos de ligação (°)				
	(1)	(2)	(3)	(4)
S1-Cu1-X	97,79(6)	96,27(7)	97,44(6)	96,71(5)
N2-Cu1-S1	84,51(12)	84,65(18)	84,81(14)	84,58(13)
N2-Cu1-X	177,68(12)	179,05(18)	177,42(14)	178,05(13)
N2-Cu1-N1	80,23(16)	80,0(2)	80,04(19)	80,46(17)
N1-Cu1-S1	164,54(12)	164,60(18)	164,55(14)	164,62(13)
N1-Cu1-X	97,49(13)	99,05(18)	97,78(14)	98,34(13)

A geometria posposta para os átomos de cobre(II) nos dois complexos é a quadrada distorcida, conforme as representações da Figura 20. As geometrias observadas estão de acordo com o parâmetro de Okuniewski (τ_4)¹⁰⁰, e foram calculados através da seguinte fórmula:

$$\tau_4 = \frac{360^\circ - (\alpha + \beta)}{360^\circ - 2\theta}$$

Onde α e β são os dois maiores ângulos do poliedro de coordenação e $\theta = \cos^{-1}(-1/3) \cong 109,5^\circ$. Valores de τ_4 próximos de 0 indicam geometria quadrada e valores próximos de 1, indicam geometria tetraédrica.

No caso dos complexos (1) e (2), os valores calculados foram de $\tau_4 = 0,126$ para (1) e $\tau_4 = 0,116$ para (2), indicando uma leve distorção mas consistentes com as geometrias quadradas observadas e as descritas na literatura.^{19,48,101,102} A distorção é observada envolvendo os ângulos entre os átomos N1-Cu1-S1 e N2-Cu1-X1 (onde X = Cl e Br para (1) e (2) respectivamente), com o valores de 164,54(12)° e 177,68(12)° no complexo (1) e 164,60(18)° e 179,05(18)° no complexo (2).

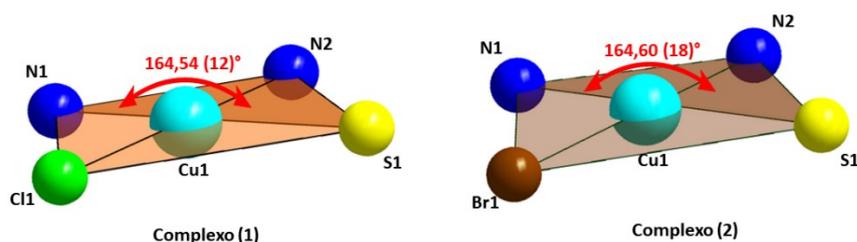


Figura 20. Representação da geometria quadrada para os complexos (1) e (2).

Pelos dados da difração de raios X de monocristal foi observado que os grupos Br-benzil de duas unidades assimétricas mostram interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ com uma distância de 3,995(5) Å entre os centróides e deslocamento de 2,021(11) Å no complexo (1) e distância de 3,939(1) Å e deslocamento de 1,754(1) Å no complexo (2), conforme ilustrado na Figura 21.

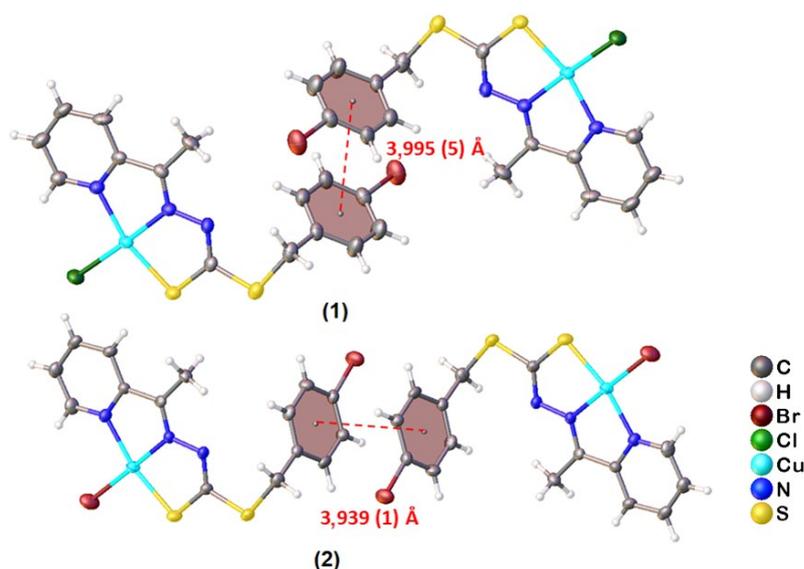


Figura 21. Representação das interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ (representadas por linhas pontilhadas) para os complexos (1) e (2).

Ademais, para o complexo $[\text{Cu}(\text{L}^1)\text{Br}]$ (2), foram observadas ligações de hidrogênio intermoleculares não clássicas entre o Br2 e H7a com distância de 2,933 (15) Å, além de uma interação intramolecular entre H1 e Br1 com distância de 2,870(12) Å, ambas menores que a soma dos raios de van der Waals dos átomos Br e H (3,05 Å). Estas interações também apresentam um papel significativo no arranjo estrutural, contribuindo na organização da estrutura cristalina.^{31,74,103}

As Figuras 22 e 23 mostram respectivamente as celas unitárias para os complexos (1) e (2) e as representações gráficas da *International Table of Crystallography*.⁹⁸

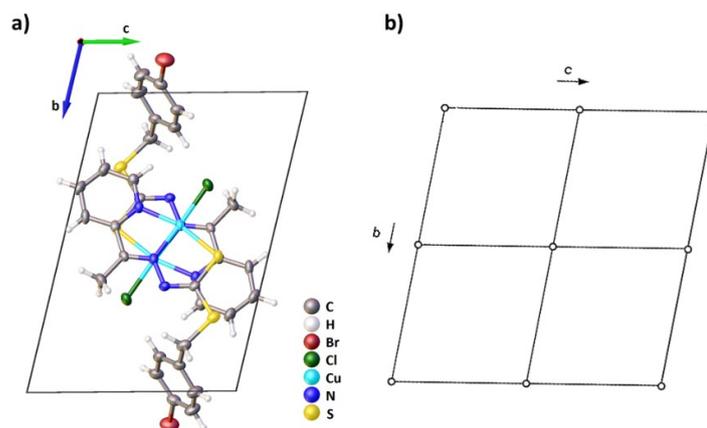


Figura 22. a) Representação da cela unitária do complexo (1) no plano cristalográfico bc . b) Diagrama para o grupo espacial $P\bar{1}$ extraído da *International Tables for Crystallography*.⁹⁸

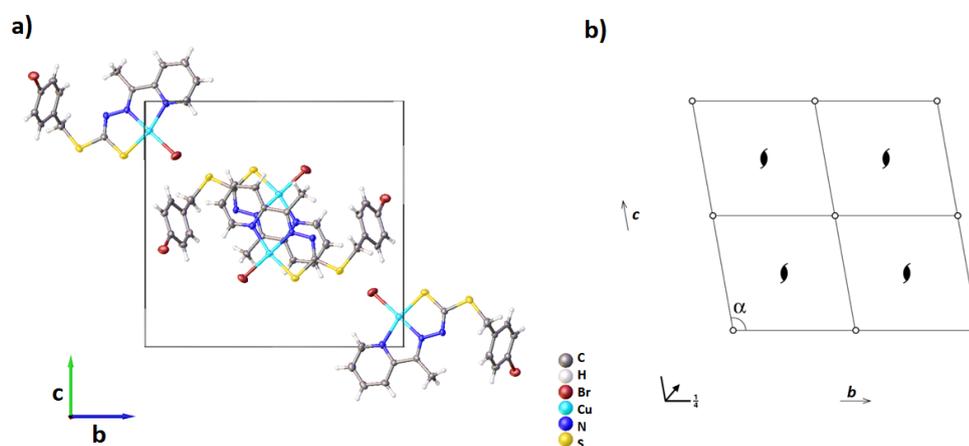


Figura 23. a) Representação da cela unitária do complexo (2) no plano cristalográfico bc . b) Diagrama para o grupo espacial $P2_1/n$, extraído da *International Tables for Crystallography*.⁹⁸

Os resultados mostram os operadores de simetria existentes nas celas unitárias referentes a cada grupo espacial. Para o complexo (1), é possível observar as duas unidades assimétricas e apenas o centro de inversão como operador de simetria. No complexo (2) podem ser observadas as quatro unidades assimétricas presentes na cela unitária. Além disso, é possível observar os três operadores de simetria presentes: centro de inversão, eixo helicoidal 2_1 paralelo ao eixo cristalográfico a e planos de deslizamento paralelos ao plano bc na direção da diagonal da cela.

Os complexos $[\text{Cu}(\text{L}^2)\text{Cl}]$ (3) e $[\text{Cu}(\text{L}^2)\text{Br}]$ (4), derivados do ligante HL^2 , são isoestruturais e também tiveram a sua estrutura elucidada pela difração de raios X de monocristal e estão representados nas Figuras 24 e 25. Em cada complexo há uma molécula do ligante que se coordenou de maneira desprotonada ao átomo de cobre(II) e pelo sistema de átomos doadores NNS , além de um íon Cl^- ou Br^- que completam a esfera de coordenação em (3) e (4), respectivamente.

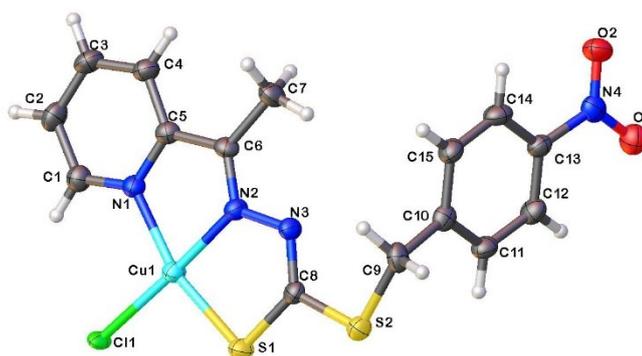


Figura 24. Estrutura cristalina e molecular do complexo $[\text{Cu}(\text{L}^2)\text{Cl}]$ (3) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

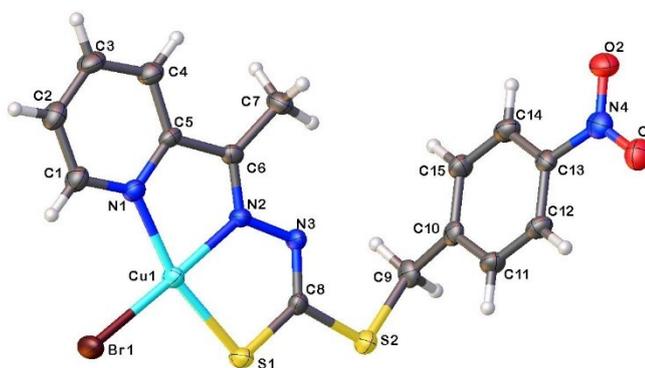


Figura 25. Estrutura cristalina e molecular do complexo $[\text{Cu}(\text{L}^2)\text{Br}]$ (4) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

Os complexos se cristalizaram no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/c$ (número 14 da *International Tables for Crystallography*)⁹⁸, com simetria de Laue 2/m e 4 unidades assimétricas por cela unitária. Nos dois complexos, o ligante HL^2 se coordenou por seu isômero *E* e tautômero tiol, o que pode ser observado pelo alongamento do comprimento da ligação C8-S1 com relação ao valor teórico calculado para HL^2 livre (Tabelas 3 e 4), que passou a ter um maior caráter de ligação simples. Observa-se também um encurtamento do comprimento de ligação N3-C8, que passou a ter um maior caráter de dupla ligação. As distâncias e ângulos para ambos complexos estão dispostos na Tabela 4 e estão de acordo com compostos semelhantes já reportados na literatura.^{48,99}

De forma semelhante aos complexos (1) e (2), a geometria proposta para os complexos (3) e (4) é a quadrada levemente distorcida. A distorção pode ser observada pelos ângulos de ligação entre os átomos N2-Cu1-Cl1 de $177,42(14)^\circ$ e N1-Cu1-S1 de $164,55(14)^\circ$ para (3); e de N2-Cu1-Br1 de $178,05(15)^\circ$ e N1-Cu1-S1 de $164,62(13)^\circ$ para (4), ambos diferentes de

180°. A leve distorção pode ser explicada pela rigidez estrutural do ligante HL². Os valores calculados do parâmetro de Okuniewski (τ_4)¹⁰⁰ foram de $\tau_4 = 0,128$ para (3) e $\tau_4 = 0,130$ para (4), consistentes com as geometrias quadrada observada experimentalmente.

Para os complexos (3) e (4) também foram observadas interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ entre os grupos NO₂-benzil finais das moléculas do ligante, com uma distância de 3,748(1) Å entre os centróides e deslocamento de 1,403(1) Å para o complexo (3) e distância de 3,733(1) Å e deslocamento de 1,406(1) Å para o complexo (4), conforme ilustrado na Figura 26.

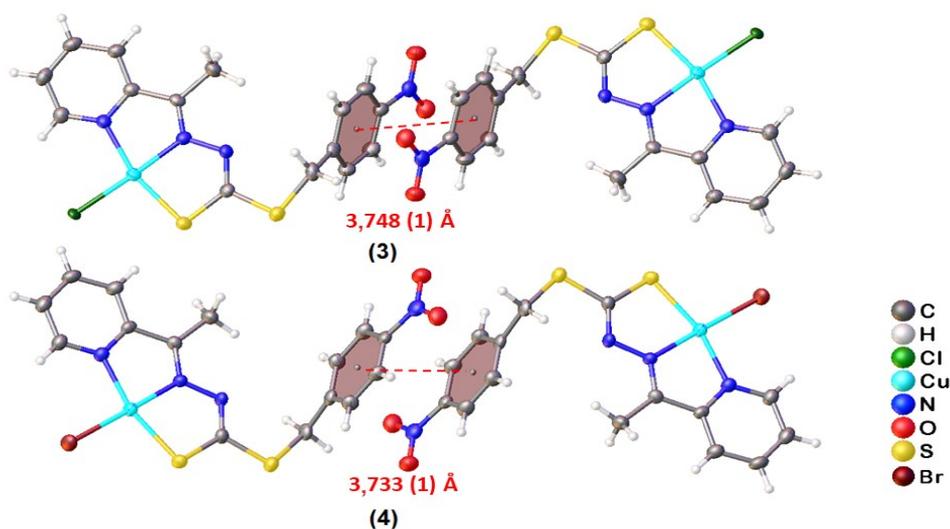


Figura 26. Representação das interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ (representadas por linhas pontilhadas) para os complexos (3) e (4).

Os dados da difração de raios X de monocristal também mostram ligações de hidrogênio intermoleculares não clássicas entre O2 e H4 da molécula adjacente com uma distância de 2,407(5) Å e entre O2 e H9b com distância de 2,428(5) Å, além de ligações de hidrogênio intramoleculares entre os átomos H1 e Cl1 com a distância de 2,799(15) Å para o complexo (3). No complexo (4) são observadas interações intermoleculares entre O2 e H4 com distância de 2,377(4) Å e entre O2 e H9a com 2,461(5) Å; também é observada uma ligação de hidrogênio intramolecular entre os átomos H1 e Br1 com a distância de 2,870(6) Å, o que favorece à organização da estrutura no cristal. As Figuras 27 e 28 ilustram essas interações intra e intermoleculares observadas nos complexos (3) e (4).

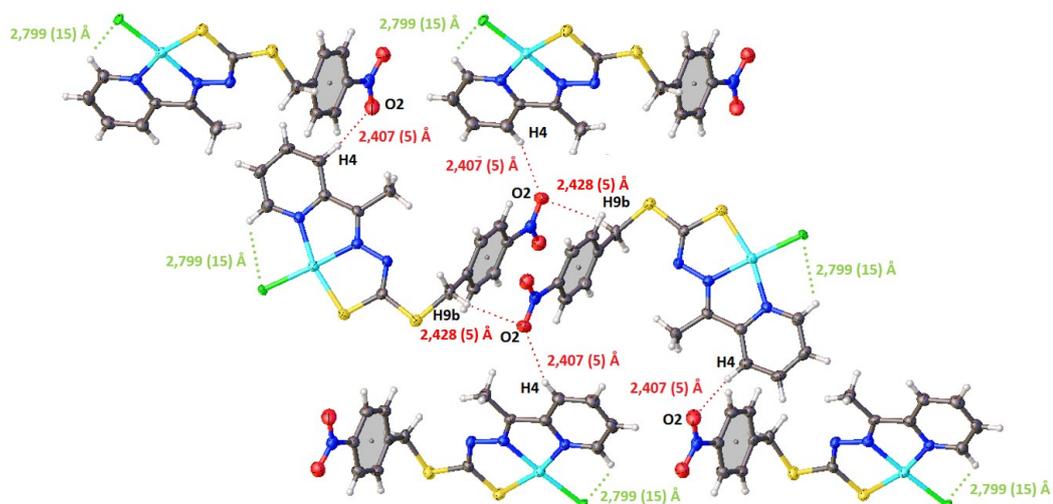


Figura 27. Representação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (linhas pontilhadas) observadas para o complexo (3).

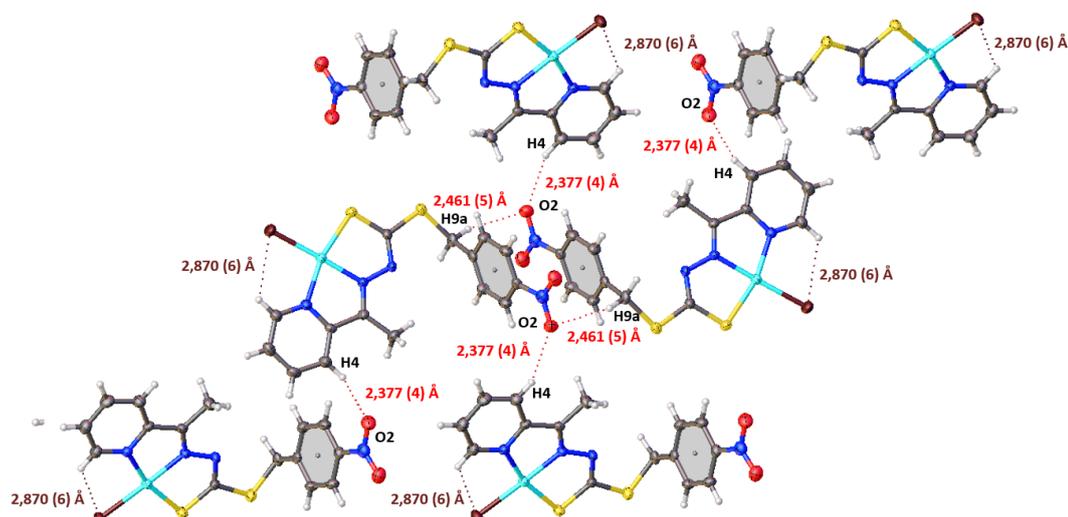


Figura 28. Representação das ligações de hidrogênio intra e intermoleculares (linhas pontilhadas) observadas para o complexo (4).

As células unitárias para os complexos (3) e (4) bem como o diagrama para o grupo espacial $P2_1/c$ extraído da *International Tables for Crystallography*⁹⁸ estão dispostos na Figura 29. Comparando as representações, é possível observar a presença dos elementos de simetria para esse grupo que são o centro de inversão, eixo helicoidal 2_1 paralelo ao eixo cristalográfico b e planos de deslizamento paralelos ao plano ac na direção do eixo c . É possível ainda observar para ambos complexos as quatro unidades assimétricas presentes nas células unitárias.

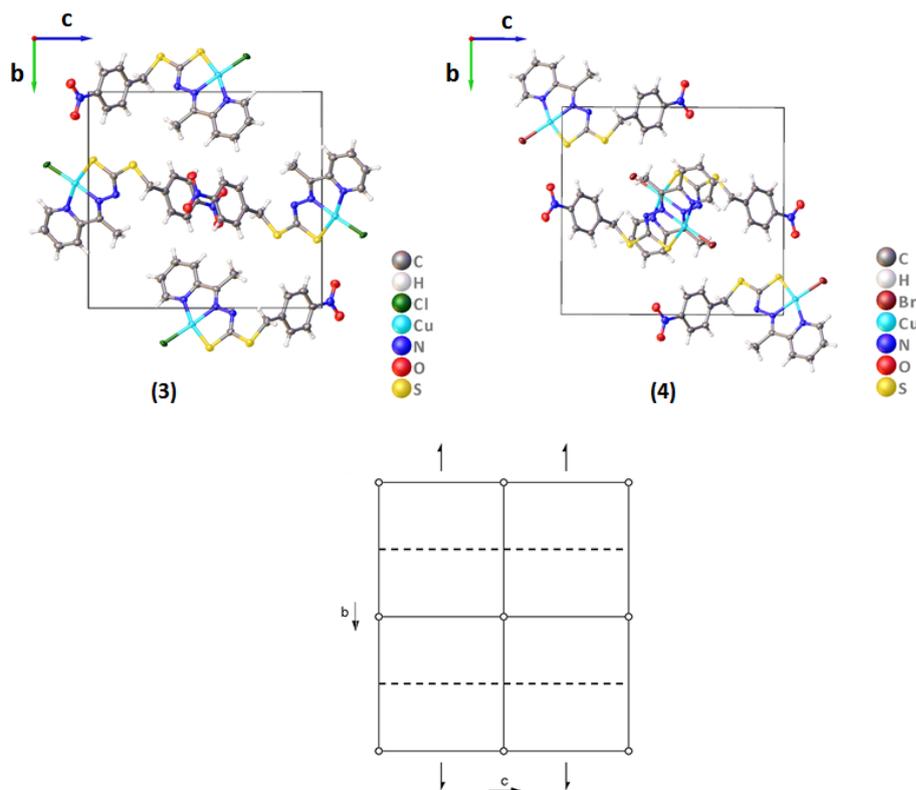


Figura 29. Representação das células unitárias dos complexos (3) e (4) no plano cristalográfico bc e diagrama para o grupo espacial $P2_1/c$ extraído da *International Tables for Crystallography*.⁹⁸

4.1.3. Teoria do Funcional da Densidade (DFT) – otimização das geometrias dos complexos (1)-(4)

Assim como para os ligantes livres, os complexos tiveram as suas estruturas otimizadas pelo método DFT semi-empírico B97-3c⁸¹, com a finalidade de comparar os dados obtidos. De acordo com os resultados, foi possível observar boa concordância entre os dados teóricos e experimentais, conforme ilustrado na Figura 30 e na Tabela AI (apêndice I).

Considerando todos os comprimentos de ligação, as diferenças entre os valores calculados e experimentais para todos os complexos foram menores que 0,051 Å com um desvio médio absoluto de 0,023 Å (1,2%). Já em relação a todos os ângulos de ligação selecionados, os desvios estão dentro dos valores esperados para o método, com desvio médio absoluto de 0,64° (0,6%) e todas as diferenças entre os resultados teóricos e experimentais menores do que 1,2°.

A diferença entre os resultados teóricos e experimentais é maior na parte final das moléculas, quando comparado com os desvios mais próximos da esfera de coordenação, o que pode ser claramente observado na Figura 30. Essa observação pode ser explicada devido às interações intermoleculares já discutidas na seção 4.1.3, pois essas interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ e ligações de hidrogênio não clássicas que estão presentes na formação da rede cristalina

dos complexos, não são consideradas no cálculo teórico, onde as estruturas são otimizadas no vácuo e a zero Kelvin e considerando a molécula isolada.

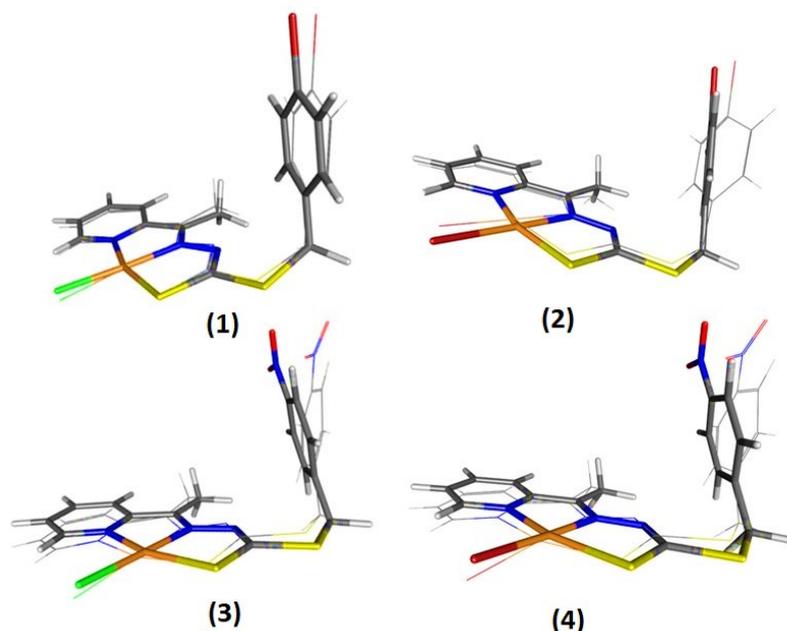


Figura 30. Sobreposição das estruturas cristalinas obtidas pela análise de difração de raios X (linha) e pelo cálculo teórico B97-3c (tubo) para os complexos (1-4).

4.1.4. Análise da Superfície de Hirshfeld dos complexos (1)-(4)

Com o objetivo de mapear as interações que auxiliam no empacotamento da rede cristalina de cada composto, foram obtidas as superfícies de Hirshfeld para os complexos (1)-(4). A Figura 31 mostra a representação das interações entre as moléculas vistas na superfície d_{norm} . As figuras são apresentadas apenas com a superfície de frente, pois no verso não se observa nenhuma interação.

É possível observar para o complexo (1) a presença de ligações de hidrogênio não clássicas entre $S \cdots H-C$, $C \cdots H-C$ e $Cl \cdots H-C$, enquanto que para o complexo (2), observa-se regiões vermelhas indicando ligações de hidrogênio não usuais entre $C \cdots H-C$ e $Br \cdots H-C$. Ademais, pode-se notar que os contatos vermelhos observados nas superfícies d_{norm} dos complexos (3) e (4) são bem similares, já que os dois complexos são isoestruturais, além disso, ambas indicam a presença de ligação de hidrogênio não clássica entre os átomos $O \cdots H-C$, as quais também foram observadas e discutidas em detalhes e ilustradas nas Figuras 27 e 28 da seção 4.1.3.

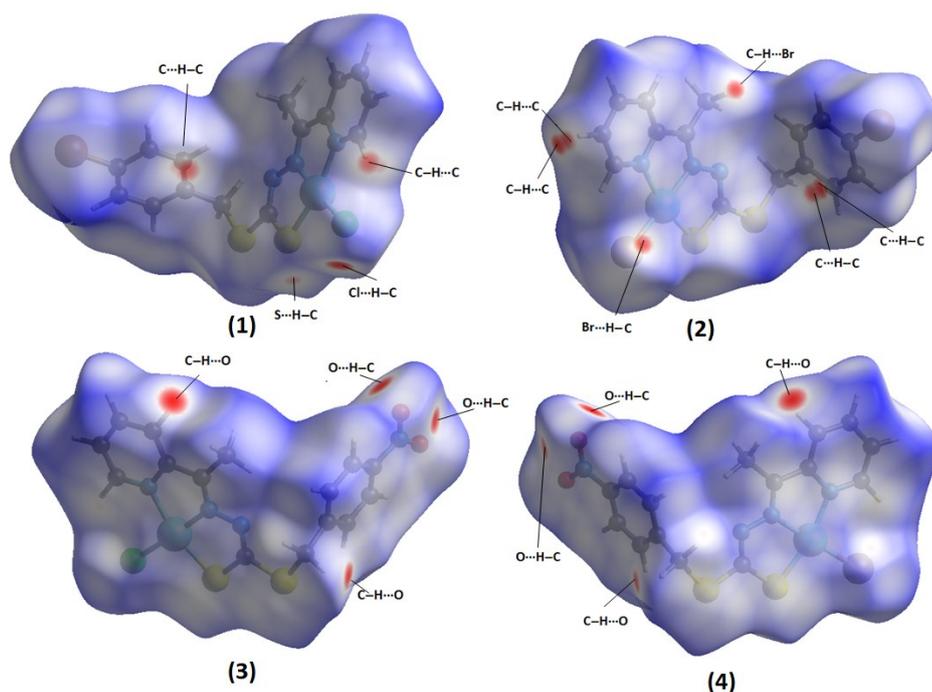


Figura 31. Superfícies de Hirshfeld para os complexos (1)-(4) mapeados na função d_{norm} .

Uma outra ferramenta que permite avaliar o arranjo supramolecular das moléculas é a função *shape index* (índice de forma). Esta função indica a presença de interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ pela presença de um par de triângulos vermelhos e azuis na superfície mapeada.^{73,74} A Figura 32 mostra as superfícies *shape index* para os complexos (1)-(4), em que todos indicam a presença desse tipo de interação $\pi \cdots \pi$ entre os anéis da porção final dos ditiocarbazatos, conforme destacado nas imagens, todas estas de acordo com o discutido na seção 4.1.3.

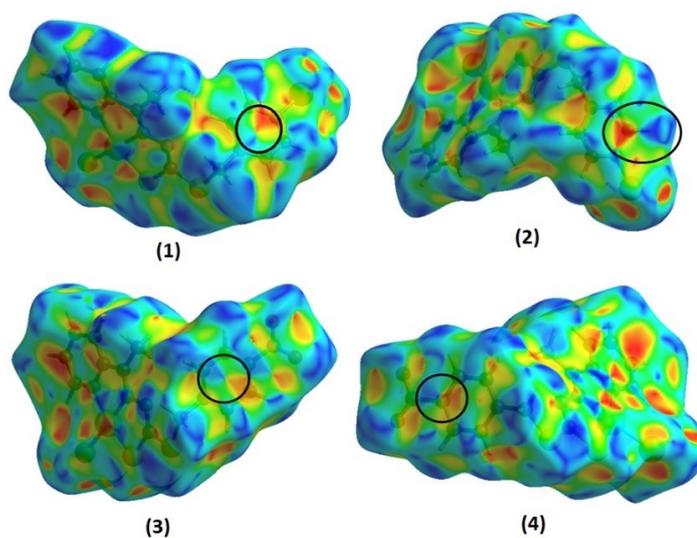


Figura 32. Superfícies de Hirshfeld para os complexos (1)-(4) mapeados na função *shape index*.

Um terceiro dado que pode ser gerado no programa CrystalExplorer 17.5⁷² são os gráficos de impressões digitais das moléculas a partir da combinação de gráfico de d_i versus d_e . Os gráficos de impressões digitais para os complexos estão dispostos nas Figuras AII.1-AII.4 do apêndice II, e a Figura 33 mostra um resumo gráfico das principais contribuições observadas para os complexos (1)-(4), onde é possível observar que as maiores contribuições para os complexos (1) e (2) são do tipo H...H e H...X, onde X= Cl⁻ ou Br⁻. E para os complexos (3) e (4), os resultados mostram que as maiores contribuições são H...H, H...X, onde X= Cl⁻ ou Br⁻ e H...O.

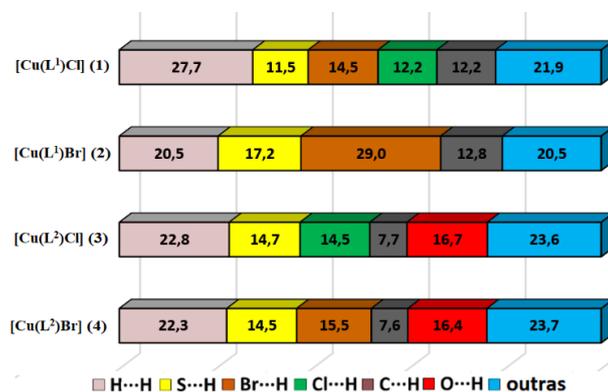


Figura 33. Porcentagens das contribuições mais importantes presentes nos gráficos de impressão digital para os complexos (1)-(4).

4.1.5. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FT-IR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho médio (4000 e 400 cm^{-1}) para o ligante HL¹ e complexo (1) estão dispostos nas Figuras 34 e 35 e para o ligante HL² e complexos (2)-(4) nas figuras AIII1-AIII4 do apêndice III, sendo que todos os resultados estão resumidos na Tabela 5.

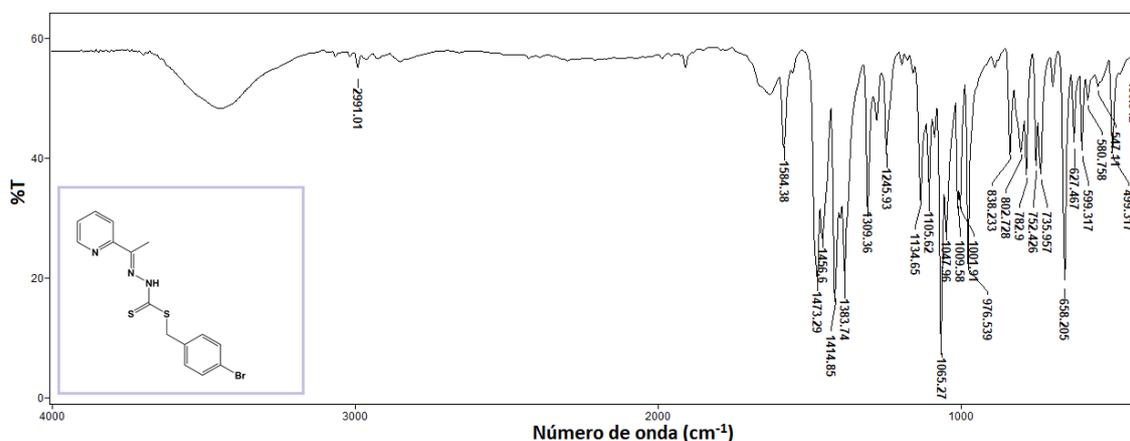


Figura 34. Espectro de FT-IR para o ligante HL¹.

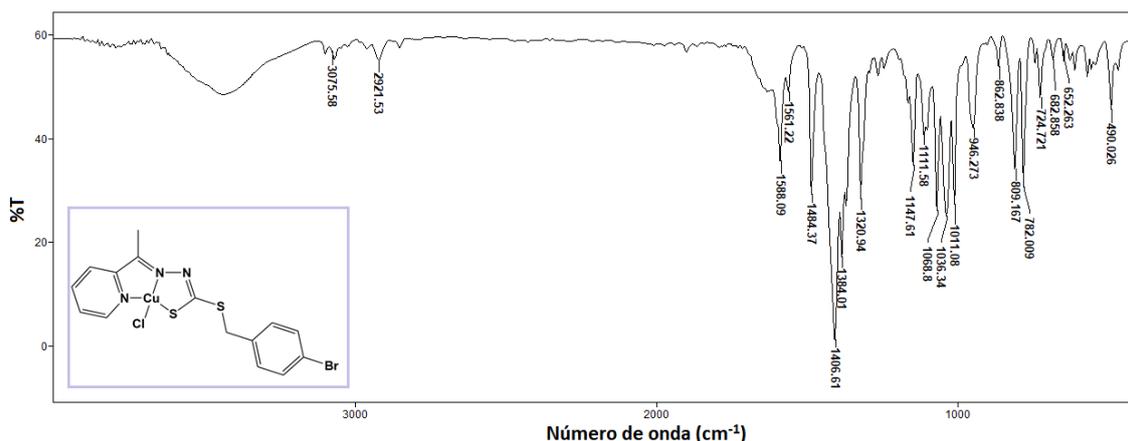


Figura 35. Espectro de FT-IR para o complexo (1).

Tabela 5. Bandas de estiramento e dobramento (em cm^{-1}) dos principais modos de vibração presentes nos espectros dos agentes complexantes HL^1 , HL^2 e seus complexos (1)-(4).

	HL^1	HL^2	(1)	(2)	(3)	(4)
$\nu(\text{C}=\text{S})$	1245	1281	-	-	-	-
$\nu(\text{C}-\text{S})$	782	781	782	776	781	780
$\nu(\text{CSS})$	1105	1108	946	945	946	945
$\nu(\text{N}-\text{H})$	2991	3162	-	-	-	-
$\nu(\text{N}-\text{N})$	1065	1064	1068	1066	1065	1065
$\nu(\text{C}=\text{N})$	1584	1599	1588	1585	1592	1593
$\nu(\text{C}=\text{N})_{\text{py}}$	*	1562	1561	1563	1562	1567
$\nu(\text{NO}_2)_{\text{as}}$	-	1516	-	-	1517	1517
$\nu(\text{NO}_2)_{\text{sim}}$	-	1344	-	-	1344	1344
$\delta(\text{Py})$	627	622	652	648	647	646

Legenda: (-) não se aplica e (*) banda não observada.

Um dos principais objetivos da análise é comparar os espectros dos ligantes em sua forma livre e coordenados aos íons cobre(II). A primeira evidência da complexação é o desaparecimento da banda correspondente ao estiramento $\nu(\text{N}-\text{H})$, presente apenas no espectro dos ligantes livres, o que está de acordo com a difração de raios X de monocristal, que mostrou que os ligantes se coordenaram ao átomo de cobre(II) de forma desprotonada (desprotonação do átomo N3) e por seu tautômero tiol.^{31,42} Além disso, no espectro dos dois ligantes livres, a ausência de vibração de estiramento $\nu(\text{S}-\text{H})$ no intervalo de $2600\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$ sugere que no estado sólido apenas o tautômero tiona está presente, como previsto nas estruturas otimizadas pelo método DFT.^{45,61}

A banda correspondente ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{S})$ aparece nos espectros dos ligantes livres entre $1245\text{-}1281\text{ cm}^{-1}$, em concordância com um estudo apresentado por Takjoo em 2018⁶¹, em que a banda em 1283 cm^{-1} foi atribuída a este estiramento no espectro do ligante derivado da 2-formilpiridina e S-alil-ditiocarbazato. Foi observado também o desaparecimento dessa

banda no espectro dos complexos (1)-(4), o que está de acordo com o enfraquecimento da ligação C=S, que ganhou um maior caráter de ligação simples após a coordenação S-Cu(II).^{30,42,104}

Uma outra banda também relacionada à função ditiocarbazato dos compostos é o estiramento assimétrico $\nu(\text{CSS})$, que é observado entre 1105-1108 cm^{-1} nos ligantes livres e vai a menores números de onda nos complexos, sendo observado entre 945-946 cm^{-1} , estando de acordo com compostos similares e indicando também a coordenação pelo enxofre.^{20,32,80}

Ademais podemos observar outras bandas de estiramento e deformação características da estrutura de HL¹ e HL² e seus complexos. Por exemplo, as bandas em aproximadamente 1600 cm^{-1} são referentes ao estiramento da ligação $\nu(\text{C}=\text{N})_{\text{Py}}$ do anel piridínico e bandas entre 620-650 cm^{-1} são referentes às deformações do anel piridínico, esta última aparece em valores mais altos de número de onda nos complexos em comparação com os ligantes livres, o que pode indicar a coordenação ao centro metálico, em concordância com outros estudos já descritos na literatura.^{31,48,60,61}

Na porção final do ligante HL² e complexos (3) e (4), são observados ainda bandas referentes aos estiramentos simétricos $\nu(\text{NO}_2)_{\text{sim}}$ e assimétrico $\nu(\text{NO}_2)_{\text{as}}$ do grupo nitro.^{31,77} Além do mais, bandas características dos estiramentos $\nu(\text{C}=\text{N})$, $\nu(\text{N}-\text{N})$ e $\nu(\text{C}-\text{S})$ foram observadas nos espectros de todos os compostos em valores de acordo com estruturas semelhantes já publicadas, corroborado as estruturas propostas da análise de difração de raios X de monocristal.^{31,48,60,61}

4.1.6. Espectrometria de massas - ESI(+)-MS(/MS)

Com a finalidade de observar as reais espécies presentes em solução, foram obtidos os espectros de massas com ionização por eletrospray no modo positivo ESI(+)-MS(/MS) para os quatro complexos de cobre(II) estudados (1)-(4). Não foram obtidos espectros para HL¹ e HL² livres, porque esta análise já está bem descrita na literatura para ambos agentes complexantes.³¹

A Figura 36 mostra os espectros ESI(+)-MS para os quatro complexos, onde é possível observar que a distribuição isotópica está de acordo com o esperado¹⁰⁵ para as espécies $[\text{Cu}(\text{L}^1)\text{DMF}]^+$ e $[\text{Cu}(\text{L}^2)\text{DMF}]^+$. A observação do pico após a troca dos coligantes Cl⁻ ou Br⁻ por uma molécula de solvente (DMF) é possível neste caso já que parte das moléculas podem fazer a troca e levar a formação de uma espécie carregada positivamente (detectável pelo método), mantendo o átomo de cobre(II) com um número de coordenação igual a quatro, que é estável. A perda dos grupos Cl⁻ ou Br⁻ em complexos de cobre(II) semelhantes já foram observadas por outros estudos já publicados na literatura.^{48,99}

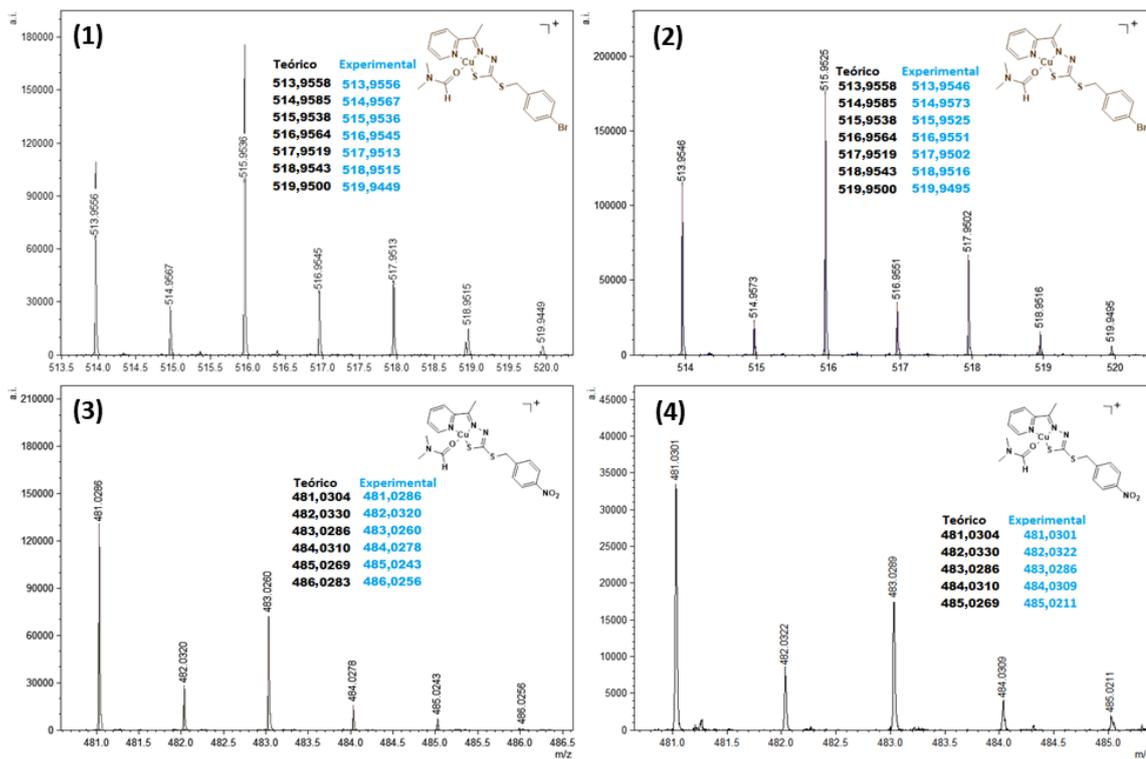


Figura 36. Espectros de ESI-MS para os complexos (1)-(4).

Também foram obtidos os espectros ESI(+)-MSMS (Figuras 37-40) para os quatro complexos de cobre(II), com a finalidade de se obter maiores informações estruturais sobre os compostos.

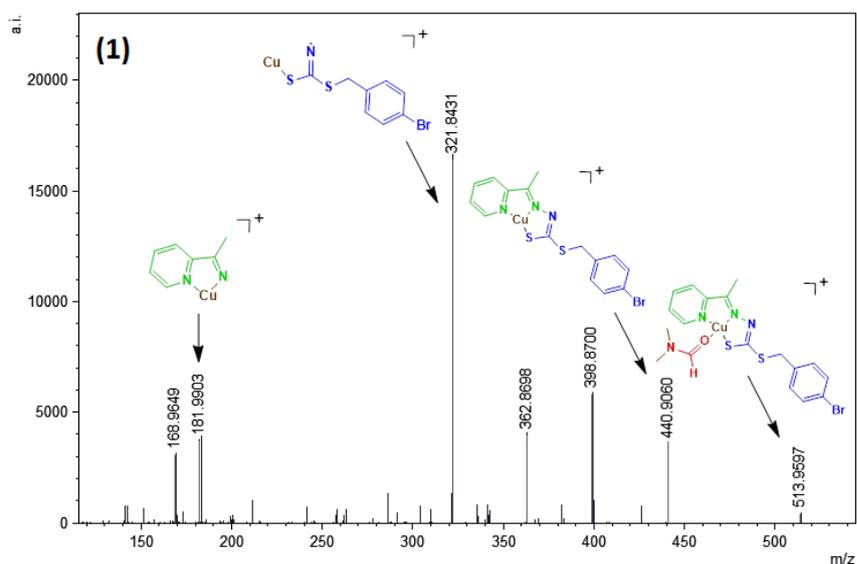


Figura 37. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (1).

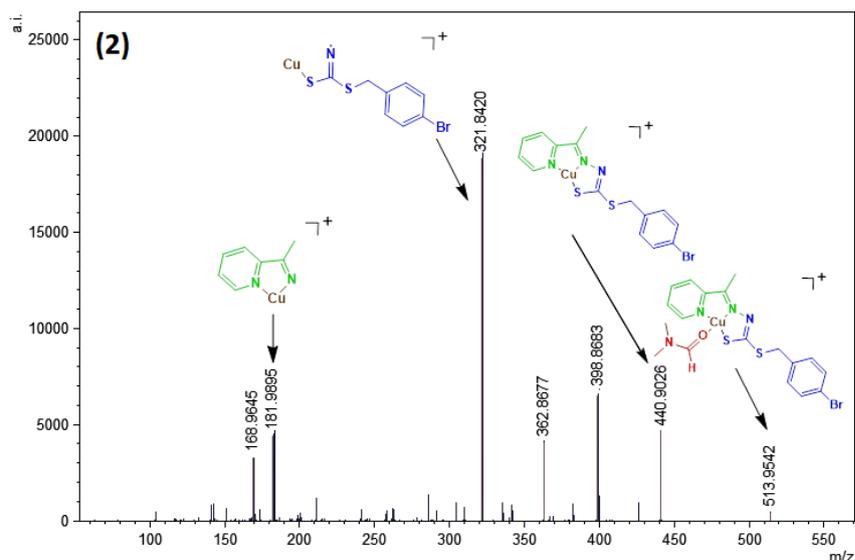


Figura 38. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (2).

Para os dois complexos derivados do ligante HL^1 , complexos (1) e (2), são observados os picos em $m/z = 513$, correspondentes à espécie $[Cu(L^1)DMF]^+$, a primeira perda de massa corresponde ao próprio solvente, levando a formação da espécie $[Cu(L^1)]^+$ em $m/z = 440$. O pico base em $m/z = 321$ é observado após a quebra da ligação N2-N3 do ligante, no qual sugerimos que a fração final do ligante está coordenada ao cobre(II) de forma monoaniônica. A quebra da ligação N2-N3 ainda possibilita a observação, em menor proporção, da espécie em $m/z = 181$, correspondente a uma fração do ligante HL^1 coordenada ao Cu(II).

As Figuras 39 e 40 mostram, respectivamente, os espectros ESI(+)-MSMS obtidos para os complexos (3) e (4).

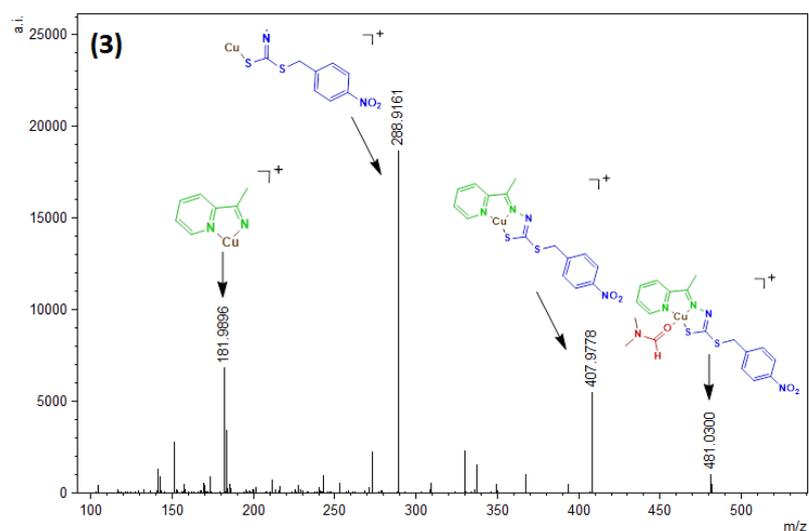


Figura 39. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (3).

De forma semelhante aos dois complexos anteriores, foram observadas as espécies $[\text{Cu}(\text{L}^2)\text{DMF}]^+$ e $[\text{Cu}(\text{L}^2)]^+$, em $m/z = 481$ e $m/z = 407$, respectivamente. O pico base em $m/z = 288$ e o pico em $m/z = 181$ correspondem respectivamente a fração final e fração cetônica do ligante HL^2 após a quebra da ligação N2-N3.

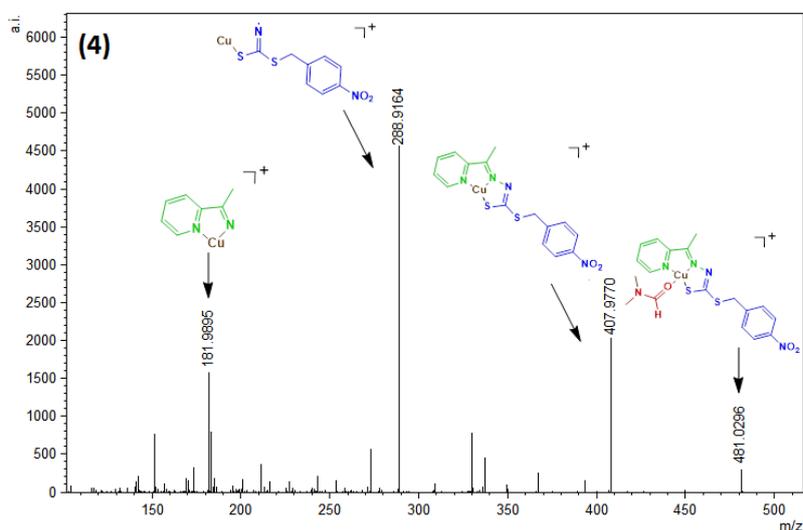


Figura 40. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (4).

4.1.7. Ressonância Magnética Nuclear de ^1H

Devido a algumas adaptações na síntese dos ligantes³¹, para avaliar as estruturas dos produtos, foram obtidos os espectros de ressonância magnética de ^1H para os dois ditiocarbazatos livres. Não foi possível obter os espectros para os complexos de cobre(II), uma vez que não são compostos paramagnéticos, o que impossibilita a análise. Os espectros para HL^1 e HL^2 (600 Hz, DMSO-d_6) estão representados nas Figuras 41 e 42, respectivamente.

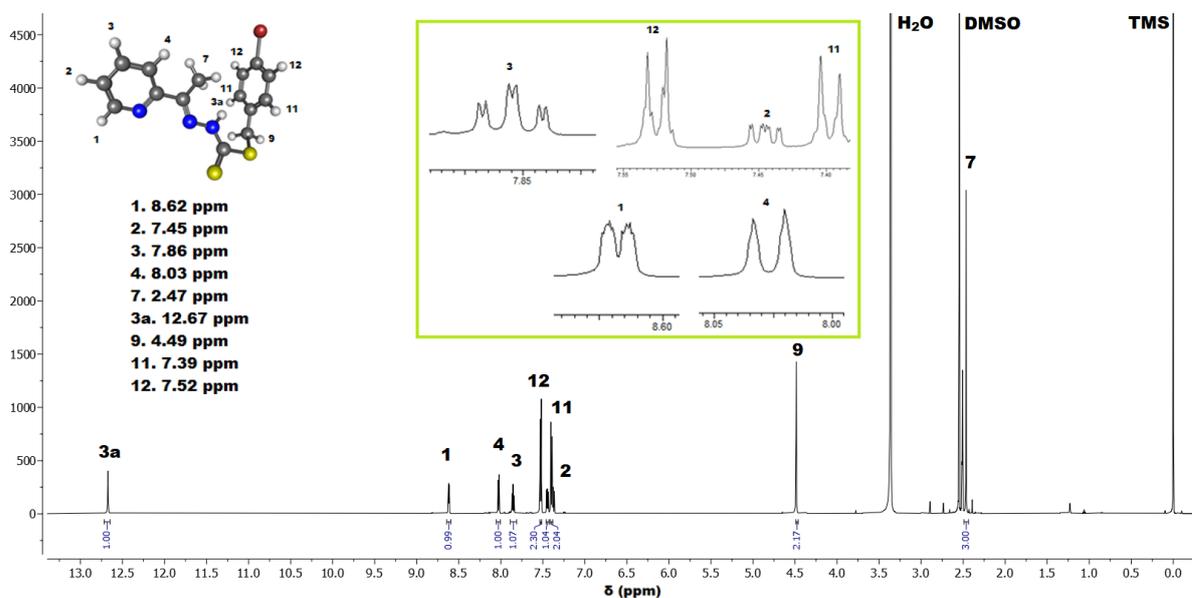


Figura 41. Espectro de RMN ^1H para HL^1 (em DMSO-D_6 , 7T).

A Tabela 6 mostra um resumo dos dados obtidos para HL¹, sendo possível perceber que tanto os valores das integrais como os padrões das multiplicidades e as constantes de acoplamento estão de acordo com o esperado^{31,77} para a estrutura proposta.

Tabela 6. Dados esperados e observados no espectro de RMN ¹H para HL¹.

δ (ppm)	Multiplicidade observada	Integral	J esperado ⁷⁷ (Hz)	J observado (Hz)	Atribuição
2,47	simpleto	3	-	-	7 (CH ₃)
4,49	simpleto	2	-	-	9 (S-CH ₂)
7,39	multiplete	2	-	-	11 (-CH ¹¹ _{Ar=})
7,45	duplo duplo	1	³ J _{H1-H2} =4,9-5,7	³ J _{H1-H2} =4,8 Hz	2 (-CH ² _{py=})
	duplete		³ J _{H2-H3} =7,2-8,5	³ J _{H2-H3} =7,4 Hz	
7,52	multiplete	2	⁴ J _{H2-H4} =1,4-1,9	⁴ J _{H2-H4} =1,1 Hz	12 (-CH ¹² _{Ar=})
			³ J _{H2-H3} =7,2-8,5	³ J _{H2-H3} = 7,4 Hz	
7,86	duplo duplo	1	³ J _{H3-H4} =7,2-8,5	³ J _{H3-H4} = 8,1 Hz	3 (-CH ³ _{py=})
	duplete		⁴ J _{H1-H3} =1,6-2,0	⁴ J _{H1-H3} =1,8 Hz	
			⁵ J _{H1-H4} =0,7-1,1	⁵ J _{H1-H4} = 1,1 Hz	
8,03	duplo triplete	1	⁴ J _{H2-H4} =1,4-1,9	⁴ J _{H2-H4} = 1,1 Hz	4 (-CH ⁴ _{py=})
			³ J _{H3-H4} =7,2-8,5	³ J _{H3-H4} = 8,1 Hz	
8,62	duplo duplo	1	³ J _{H1-H2} =4,9-5,7	³ J _{H1-H2} = 4,8 Hz	1 (-CH ¹ _{py=})
	duplete		⁴ J _{H1-H3} =1,6-2,0	⁴ J _{H1-H3} =1,8 Hz	
			⁵ J _{H1-H4} =0,7-1,1	⁵ J _{H1-H4} =1,1 Hz	
12,67	simpleto	1	-	-	3a (N-H)

Legenda: - (não aplicável) e n.o. (não observado).

O sinal mais blindado em 2,47 ppm corresponde aos átomos de hidrogênio da metila, e o simpleto em 4,49 ppm pode ser atribuído aos átomos de hidrogênio do grupo (S-CH₂). Os multipletos em 7,39 ppm e 7,52 ppm têm um padrão esperado para anéis aromáticos p-substituídos⁷⁷, não são magneticamente equivalentes, e podem ser atribuídos aos hidrogênios H11 e H12 da fração final do ditiocarbazato.

Os sinais dos quatro átomos de hidrogênio do anel piridínico aparecem em uma faixa de 7,45-8,62 ppm, característica de átomos de hidrogênio aromáticos⁷⁷, sendo possível observar diferentes intensidades nos valores das constantes de acoplamento entre os átomos de hidrogênio que estão em posição orto, meta ou para. Além disso, é observado um simpleto em 12,67 ppm que pode ser atribuído ao hidrogênio H3a ligado ao nitrogênio da tioamida.

A Tabela 7 mostra um resumo dos dados esperados e observados para o ligante HL². Semelhantemente a HL¹, é possível observar que os sinais mais blindados em 2,47 ppm e 4,67 ppm correspondem aos hidrogênios dos grupos CH₃ e S-CH₂, respectivamente. Os sinais característicos em 7,71 ppm e 8,19 ppm podem ser atribuídos aos átomos de hidrogênio do anel aromático p-substituído, estes por sua vez são mais desblindados do que em HL¹, por conta do grupo NO₂, que é um grupo retirador.⁷⁷

Os sinais do anel piridínico aparecem como duplo duplo duplete ($-\text{CH}^1_{\text{py}}=$), duplo duplo duplete ($-\text{CH}^2_{\text{py}}=$), triplo duplete ($-\text{CH}^3_{\text{py}}=$) e duplo triplo ($-\text{CH}^4_{\text{py}}=$) em uma faixa de deslocamento químico de 7,46-8,62 ppm e com constantes de acoplamento de acordo com os valores esperados.⁷⁷ Ademais é observado também o sinal em 12,76 ppm, correspondente ao hidrogênio N-H.

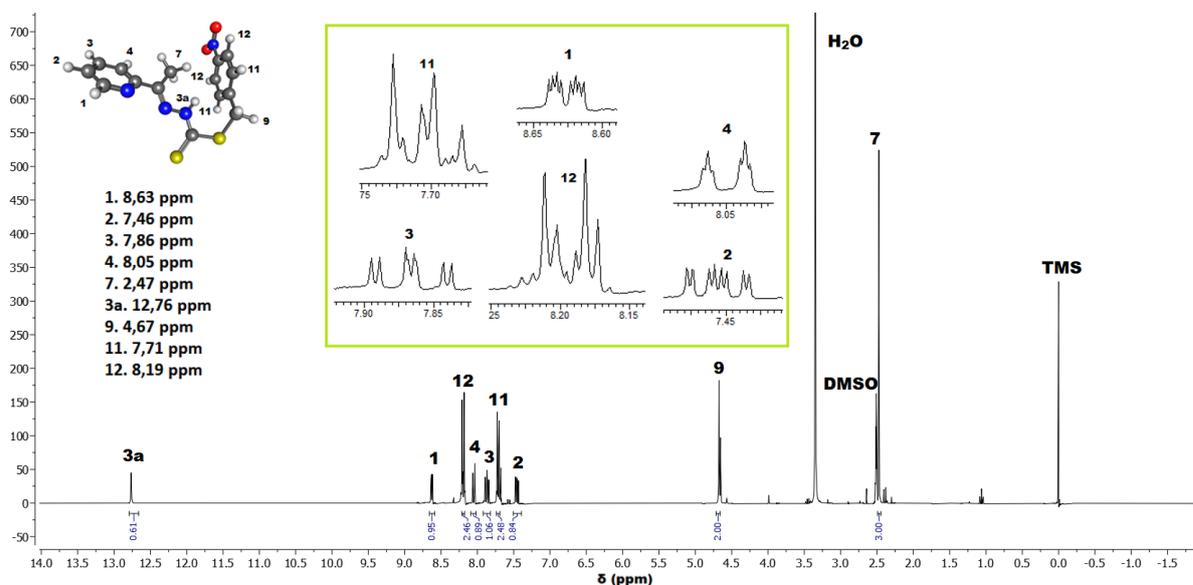


Figura 42. Espectro de RMN ^1H para HL^2 (Em DMSO-D_6 , 7T).

Tabela 7. Dados esperados e observados no espectro de RMN ^1H para HL^2 .

δ (ppm)	Multiplicidade observada	Integral	J esperado ⁷⁷ (Hz)	J observado (Hz)	Atribuição
2,47	simpleto	3	-	-	7 (CH_3)
4,67	simpleto	2	-	-	9 (S-CH_2)
7,46	duplo duplo duplete	1	$^3J_{\text{H1-H2}}=4,9-5,7$ $^3J_{\text{H2-H3}}=7,2-8,5$ $^4J_{\text{H2-H4}}=1,4-1,9$	$^3J_{\text{H1-H2}}=4,8$ Hz $^3J_{\text{H2-H3}}=7,8$ Hz $^4J_{\text{H2-H4}}=1,1$ Hz	2 ($-\text{CH}^2_{\text{py}}=$)
7,71	multiplete	2	-	-	11 ($-\text{CH}^{11}_{\text{Ar}}=$)
7,86	triplo duplete	1	$^3J_{\text{H2-H3}}=7,2-8,5$ $^3J_{\text{H3-H4}}=7,2-8,5$ $^4J_{\text{H1-H3}}=1,6-2,0$	$^3J_{\text{H2-H3}}=7,8$ Hz $^3J_{\text{H3-H4}}=7,8$ Hz $^4J_{\text{H1-H3}}=1,8$ Hz	3 ($-\text{CH}^3_{\text{py}}=$)
8,05	duplo triplo	1	$^5J_{\text{H1-H4}}=0,7-1,1$ $^4J_{\text{H2-H4}}=1,4-1,9$ $^3J_{\text{H3-H4}}=7,2-8,5$	$^5J_{\text{H1-H4}}=1,1$ Hz $^4J_{\text{H2-H4}}=1,1$ Hz $^3J_{\text{H3-H4}}=7,8$ Hz	4 ($-\text{CH}^4_{\text{py}}=$)
8,19	multiplete	2	-	-	12 ($-\text{CH}^{12}_{\text{Ar}}=$)
8,62	duplo duplo duplete	1	$^3J_{\text{H1-H2}}=4,9-5,7$ $^4J_{\text{H1-H3}}=1,6-2,0$ $^5J_{\text{H1-H4}}=0,7-1,1$	$^3J_{\text{H1-H2}}=4,8$ Hz $^4J_{\text{H1-H3}}=1,8$ Hz $^5J_{\text{H1-H4}}=1,1$ Hz	1 ($-\text{CH}^1_{\text{py}}=$)
12,76	simpleto	1	-	-	3a (N-H)

Legenda: - (não aplicável) e n.o. (não observado).

4.1.8. Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Com o objetivo de observar as transições eletrônicas presentes para os compostos, foram obtidos espectros de absorção molecular na região do ultravioleta-visível para os dois ditiocarbazatos livres (HL^1 e HL^2) e para os quatro complexos de cobre(II) (1)-(4) em diferentes solventes: metanol (MeOH), dimetilformamida (DMF) e dimetilsulfóxido (DMSO).

A Figura 43 mostra os espectros obtidos para HL^1 e seus complexos (1) e (2), e a Tabela 8 mostra um resumo dos resultados.

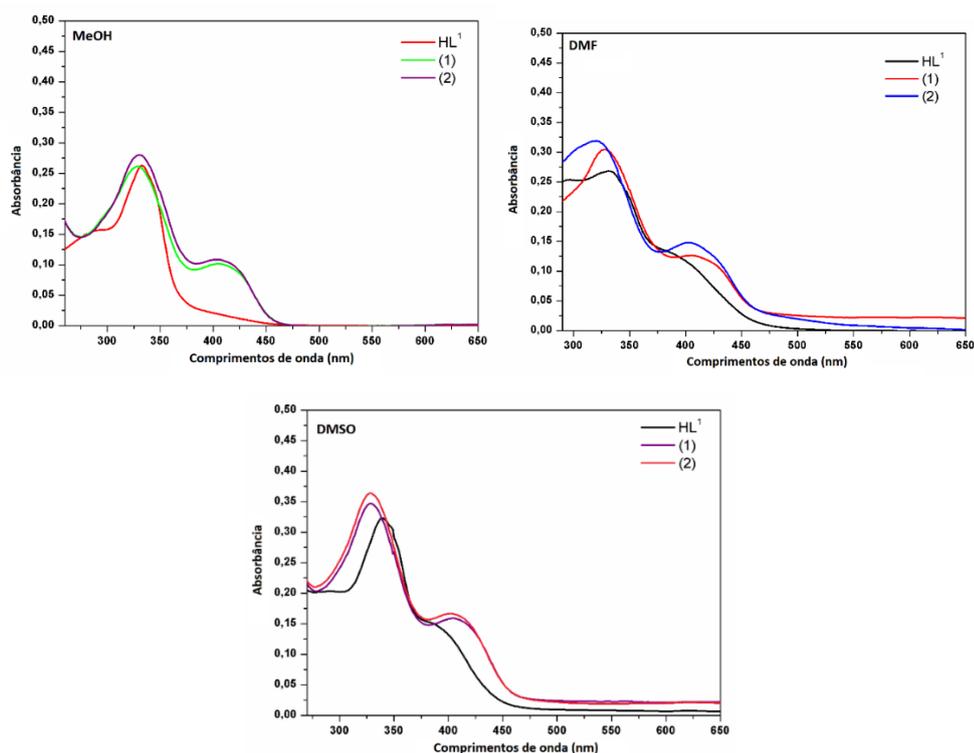


Figura 43. Espectros eletrônicos dos compostos HL^1 , (1) e (2) em MeOH, DMF e DMSO na concentração de 2×10^{-5} mol.L⁻¹.

Foi observado um comportamento similar nos três solventes testados. No espectro do ligante livre são observadas bandas em 333 nm em MeOH, 331 nm em DMF e 339 nm em DMSO, que pode ser atribuída à transição eletrônica $n \rightarrow \pi^*$, já atribuída em outros estudos à presença de anéis aromáticos na estrutura.^{30,43,80} Nos solventes apróticos (DMF e DMSO) são observadas pequenos ombros nos espectros dos ligantes livres com máximos em 379 nm nos dois solventes, que podem ser atribuídos à transição $n \rightarrow \pi^*$, a qual pode estar relacionada à presença de átomos doadores S e N na estrutura do ditiocarbazato.^{43,80} No espectro de HL^1 livre foi possível ainda observar, no solvente MeOH, uma banda em 294 nm que pode ser atribuída a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo azometínico.³⁰

Ademais, após a complexação é observado um deslocamento hipsocrômico da banda $n \rightarrow \pi^*$ nos três solventes, para ambos os complexos (1) e (2). O deslocamento variou entre $\Delta = 3-11$ nm e pode estar associado à coordenação do ligante HL¹ ao átomo de cobre(II).^{30,43,80} Uma segunda evidência da complexação é o surgimento de uma banda entre 402-405 nm, que pode ser resultado da transferência de carga $S \rightarrow Cu(II)$ (TCLM), em concordância com a coordenação ao centro metálico por esse sítio, o que também está de acordo com as estruturas propostas.

Tabela 8. Resultados da análise de espectroscopia eletrônica para os compostos HL¹, HL², (1)-(4) em concentração de 2×10^{-5} mol.L⁻¹.

	Solvente	$\pi \rightarrow \pi^{*a}$ e $n \rightarrow \pi^{*a}$	Log ϵ^b	TCLM ^a	Log ϵ^b
HL ¹	MeOH	294 e 333	3,89 e 4,12	-	-
	DMF	331	4,13	-	-
	DMSO	339	4,21	-	-
(1)	MeOH	329	4,12	404	3,71
	DMF	327	4,18	405	3,80
	DMSO	328	4,24	404	3,90
(2)	MeOH	330	4,15	404	3,73
	DMF	320	4,20	402	3,87
	DMSO	328	4,26	402	3,92
HL ²	MeOH	274	4,23	-	-
	DMF	276 e 301	4,36 e 4,40	-	-
	DMSO	294 e 337	4,21 e 4,23	-	-
(3)	MeOH	264	4,08	401	3,66
	DMF	289	4,46	404	3,96
	DMSO	323	4,34	403	3,89
(4)	MeOH	265	4,30	401	3,66
	DMF	272	4,30	400	3,78
	DMSO	324	4,31	401	3,88

a) Valores em nm;

b) $\epsilon = A/cl$, onde A é a absorvância, c é a concentração da amostra (2×10^{-5} mol.L⁻¹) e l é o caminho ótico (1 cm).

A Figura 44 mostra os espectros obtidos para HL² e seus complexos (3) e (4), com resultados também resumidos na Tabela 8. No espectro de HL² livre foi possível observar, no solvente MeOH, uma banda em 274 nm que pode ser atribuída a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da fração ditiocarbazato.³⁰ Já no solvente DMF as transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ foram observadas em 276 nm para o ligante livre e em 289 nm e 272 nm para os complexos.²⁴ No solvente DMSO por sua vez foi possível observar de forma mais clara duas bandas em 294 nm e 337 nm, sendo que a primeira última pode ser atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ devido a presença do grupo azometínico, e a última pode ser referente à transição $n \rightarrow \pi^*$ do anel aromático p-substituído.^{24,77}

Após a complexação, no solvente DMSO pode ser observado de forma mais evidente o deslocamento hipsocrômico da banda correspondente à transição $n \rightarrow \pi^*$, que se deslocou $\Delta = 14$ nm no complexo (3) e $\Delta = 13$ nm no complexo (4), o que pode ser um indicativo da formação do complexo.^{30,43,80} Ademais, nos três solventes é observado o surgimento da banda TCLM entre 400-403 nm, que pode ser atribuída transferência de carga $S \rightarrow Cu(II)$, também em concordância com a estrutura proposta.^{24,80}

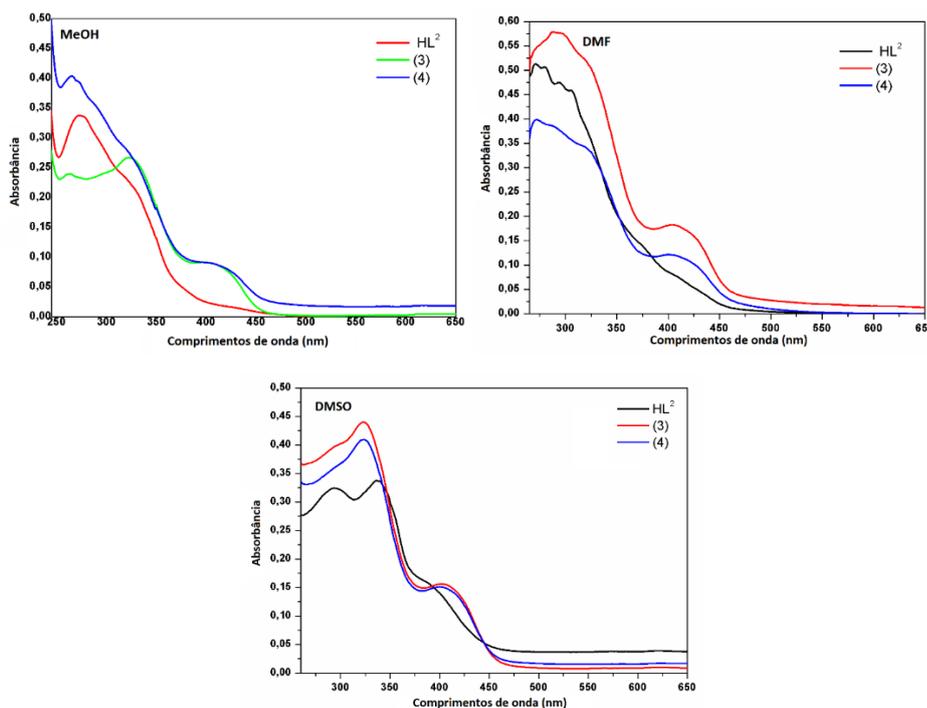


Figura 44. Espectros eletrônicos dos compostos HL^2 , (3) e (4) em MeOH, DMF e DMSO na concentração de $2 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.

Com a finalidade de observar as transições d-d nos complexos de cobre(II), também foram obtidos espectros em uma maior concentração ($2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) nos solventes DMF e DMSO, nos quais os compostos foram mais solúveis. A Figura 45 mostra os espectros obtidos, e os resultados estão resumidos na Tabela 9.

Para todos os quatro complexos de cobre(II) foram observadas bandas de transição d-d na faixa de 616-630 nm em DMF e de 643-652 nm em DMSO, de acordo com um ambiente quadrado plano do íon cobre d^9 e em concordância com o observado para complexos similares de cobre (II) já descritos na literatura.^{24,30,61,102} Ademais, é importante destacar que os resultados observados em solução estão de acordo com as estruturas propostas em estado sólido pela difração de raios X de monocristal e demais técnicas discutidas.

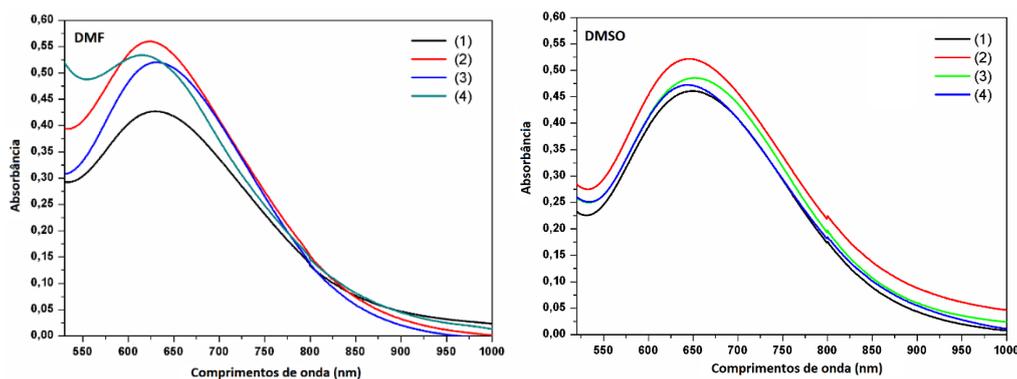


Figura 45. Espectros eletrônicos dos complexos (1)-(4) em DMF e DMSO na concentração de 2×10^{-3} mol.L⁻¹.

Tabela 9. Resultados obtidos na análise de espectroscopia eletrônica para os complexos (1)-(4) em concentração de 2×10^{-3} mol.L⁻¹.

	d-d ^a (DMF)	Log ε	d-d ^a (DMSO)	Log ε
(1)	629	2,33	650	2,36
(2)	623	2,45	645	2,42
(3)	630	2,42	652	2,39
(4)	616	2,43	643	2,37

a) Valores em nm;

4.1.9. Avaliação da citotoxicidade *in vitro* dos ligantes HL¹, HL² e complexos (1)-(4).

A citotoxicidade dos ligantes HL¹, HL² livres, dos sais de Cu(II) de partida e dos complexos (1)-(4) foi avaliada *in vitro* frente a células de glioblastoma humano, linhagem U251. A medição da citotoxicidade foi realizada pelo ensaio MTT em culturas tratadas com concentrações crescentes dos compostos após 72 h de incubação. DMSO foi usado como transportador a 0,01% e os resultados indicaram que ele não era tóxico nesta concentração (Fig. 46A). Os sais iniciais (CuCl₂ e CuBr₂) também não apresentaram atividade contra as células tumorais, mesmo em altas concentrações (Fig. 46B). Por outro lado, os ligantes e complexos estudados foram ativos frente às células U251 (Fig. 46C e D).

É possível observar que todos os compostos mostraram atividade citotóxica em uma baixa faixa de concentração, o que indica alta eficiência como potenciais fármacos. Os valores estimados de IC₅₀ para os compostos testados são: HL¹ $0,13 \pm 0,04$ μM, HL² $0,7 \pm 0,24$ μM, (1) não calculável, (2) $0,16 \pm 0,04$ μM, (3) $0,25 \pm 0,03$ μM e (4) $0,14 \pm 0,04$ μM.

Observa-se, de forma geral, que houve uma melhora na citotoxicidade dos complexos referentes aos ditiocarbazatos livres (Fig. 44C e D), porém o complexo (1) não se encaixou muito bem em um gráfico dose-resposta comum (esse padrão é importante, pois sugere

propriedades farmacológicas mais previsíveis). O mesmo pode ser dito do HL², mas esse ligante apresentou menor toxicidade, pois as maiores concentrações não foram capazes de diminuir a viabilidade celular na mesma proporção que todos os outros compostos. O complexo (2) apresentou comportamento tóxico semelhante ao seu ligante HL¹, porém foi menos tóxico em baixas concentrações e mais tóxico em altas concentrações, como esperado para fins terapêuticos. Por outro lado, ambos os complexos (3) e (4) foram mais eficiente do que seu ligante HL², como claramente observado no gráfico (Fig. 44D). Os valores calculados de IC₅₀ confirmam isso.

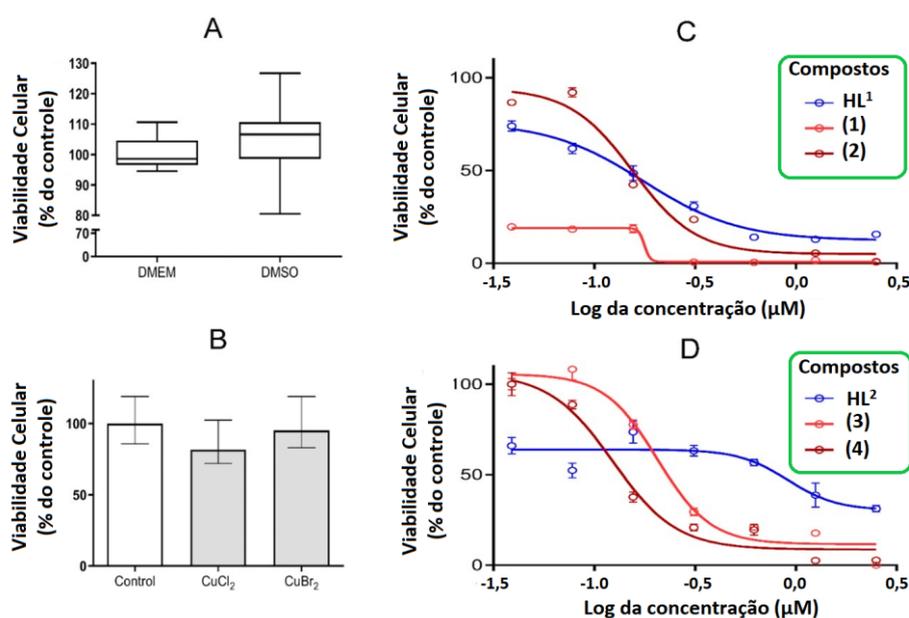


Figura 46. Avaliação dos efeitos citotóxicos pelo ensaio MTT. **A)** Comparação entre a viabilidade da cultura de células tratadas apenas com DMSO 0,01% e aquelas sem nenhum tratamento; nenhuma diferença significativa foi encontrada. **B)** Medição da viabilidade celular após 72h de tratamento com os sais metálicos a 40 μM; nenhuma diferença significativa foi encontrada. **C) e D).** Curvas dose-resposta dos ligantes HL¹ e HL² e complexos (1)-(4) frente a células U251 após 72 h de exposição.

Se compararmos os resultados para os dois ligantes HL¹ e HL² livres, os dados mostram que ambos são ativos frente à linhagem celular U251, porém, indicam também que alterações nos grupos -R nas moléculas de ditiocarbazato afetam sua atividade, já que o substituinte -Br no anel aromático ao invés do grupo -NO₂ potencializou a atividade observada, uma vez que o ligante HL¹ apresenta melhores resultados que HL², como pode ser observado na Figura 47. Neste sentido, há estudos que indicam que a presença de átomos moderadamente

eletronegativos, como bromo ou iodo, na posição *orto* ou *para* do anel aromático pode ser responsável pela maior citotoxicidade medida pelo teste MTT.⁵⁵

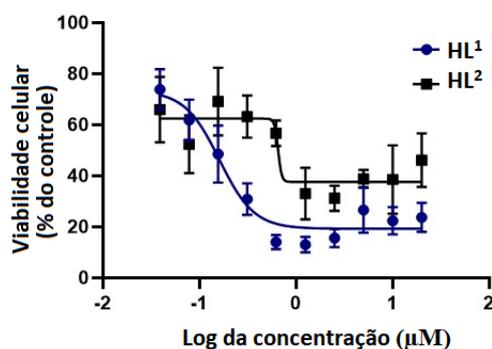


Figura 47. Curvas concentração-resposta dos ligantes HL¹ e HL² em células U251 após 72h de exposição.

Todos os complexos de Cu(II) mostraram atividade mais intensa contra as células tumorais do que os ligantes livres em altas concentrações, conforme ilustrado na Figura 48.

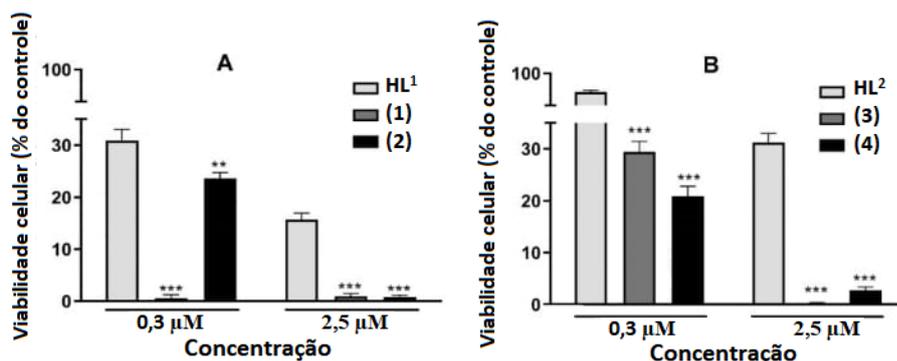


Figura 48. Análise de efeitos tóxicos em diferentes concentrações de HL¹, HL² e seus complexos contra células U251 (A e B).

Para efeito de comparação, na concentração de 2,5 µM, os ligantes livres HL¹ e HL² reduziram o número de células viáveis para 15,21% e 30,02% respectivamente, enquanto seus complexos derivados de Cu(II) reduziram as células viáveis a um valor entre 0%–1,74%. Além disso, o complexo (2) derivado do ligante HL¹ apresentaram potencial antitumoral mais promissor do que os complexos (4) derivado do ligante HL², o que pode ser observado, por exemplo, pelo número de células viáveis na concentração de 2,5 µM, que foi reduzido para 0,5% no complexo (2) e para 1,74% no complexo (4).

Além disso, os complexos (1)-(4) foram capazes de promover a morte celular, confirmada por microscopia de contraste de fase, mas os ligantes HL¹ e HL² preservaram a forma celular e a densidade celular, em uma aparente contradição se o ensaio MTT for considerado. Este efeito

foi observado mesmo quando a concentração foi aumentada para 20 μM , conforme imagens ilustradas na Figura 49. Uma hipótese razoável é que os ligantes livres interferem na função das mitocôndrias e reduzem a viabilidade celular medida no teste MTT, mas não na forma ou na extensão necessária para promover a morte celular após 72 h.

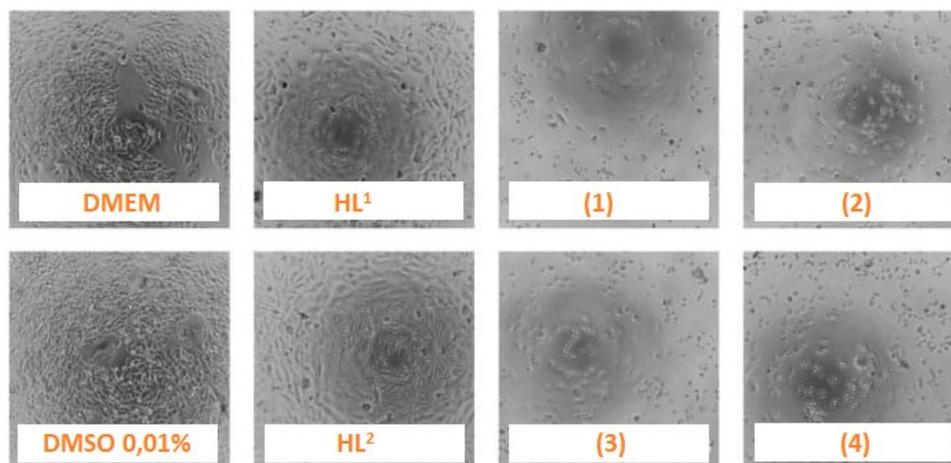


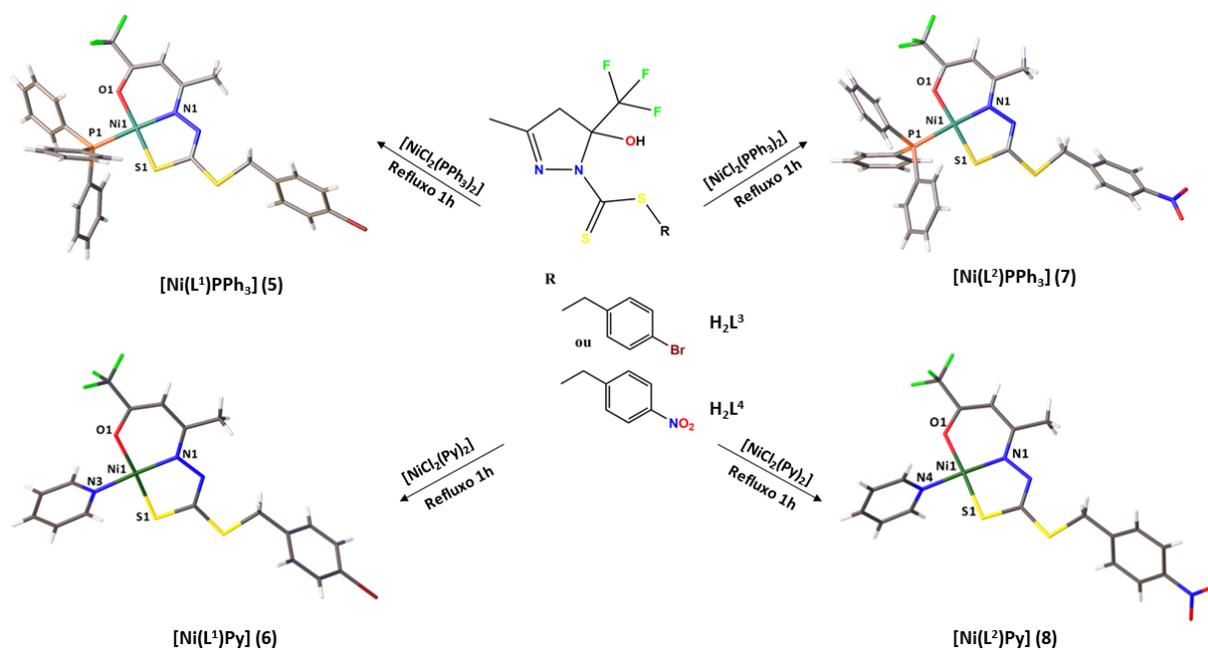
Figura 49. Micrografias de culturas de células U251 tratadas (72 h) com 20 μM dos compostos.

De forma geral, os dados indicam que a complexação com o cobre(II) e as diferentes substituições –R na estruturas dos ligantes podem modificar a atividade dos compostos. Em outros estudos já reportados foi demonstrada a ação antitumoral de complexos com bromo e cobre na estrutura, onde o cobre tem um papel no bloqueio do desenvolvimento e disseminação do câncer e o bromo parece estar relacionado à perda da estabilidade da microhélice do DNA e promoção de eventos inflamatórios, que podem ser explorados terapêuticamente.^{53,106,107}

Os resultados observados no presente trabalho reforçam a importância de estudos da atividade citotóxica para novos complexos de cobre, e estão de acordo com outros compostos testados *in vitro* para triagem de fármacos antitumorais, como exemplo, podemos citar 4-BrPh e $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{DAAUPicH}_{-1})(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ ^{108,109}, $\{[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{L})(\text{Cl})] (1), [\text{Cu}_2^{\text{II}}(\text{L})_2(\text{NO}_3)_2] (2), \text{e } [\text{Cu}_2^{\text{II}}-\text{Cu}^{\text{I}}(\text{L})_2(\text{Br})_3]_3\}$ ⁶⁰, alguns deles em modelos experimentais de glioblastoma. Como fins de exemplo dos possíveis alvos desses compostos, o complexo dissulfiram/cobre tem demonstrado atividade antitumoral pela inibição da via PI3K/mTOR¹¹⁰, que é uma das vias principais da regulação, crescimento e desenvolvimento celular. Estudos apontam que alterações moleculares da via de sinalização RTK/PI3K/Akt/mTOR são características típicas de gliomas e sua inibição é um alvo importante.¹¹¹

4.2. COMPLEXOS DE NÍQUEL(II) DERIVADOS DA 1,1,1-TRIFLUORO-2,4-PENTANODIONA

Neste capítulo serão apresentados dois agentes complexantes derivados da 1,1,1-trifluoro-2,4-pentanodiona, H_2L^3 e H_2L^4 , e seus quatro complexos de níquel(II), todos inéditos. Destes compostos sintetizados, o ligante H_2L^3 e os quatro complexos (5)-(8) tiveram as suas estruturas cristalinas elucidadas pela análise de difração de raios X de monocristal, conforme ilustrado no Esquema 2. Todos os compostos apresentaram bons rendimentos (63-89%). É importante destacar que para a síntese de H_2L^3 e H_2L^4 foi realizada uma alteração com relação ao uso de alguns solventes, conforme descrito na seção 3.5. Isso se deu porque observou-se um aumento do rendimento da síntese após o uso de etanol 70% e álcool isopropílico para solubilização de alguns reagentes, uma vez que o uso destes solventes aumentava a solubilidade do meio. Todos os produtos desta seção foram caracterizados por espectrometria de massas, espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta-visível e ressonância magnética de 1H . Também foram analisadas todas as interações presentes em seus arranjos cristalinos, utilizando a análise da Superfície de Hirshfeld. Além disso, os ligantes livres e os complexos foram testados frente a quatro diferentes linhagens de células cancerosas U251, 697, Nalm-6 e MDA-MB-231.



Esquema 2. Esquema de síntese dos complexos de níquel(II) (5)-(8), derivados da 1,1,1-trifluoro-2,4-pentanodiona.

4.2.1. Análise Estrutural do ligante H₂L³

De acordo com a resolução da estrutura pela análise da difração de raios X de monocristal, o ligante H₂L³ cristalizou no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial *P2₁/c* (número 14 da *International Tables for Crystallography*)⁹⁸, com quatro unidades assimétricas por cela unitária. A estrutura cristalina e molecular de H₂L³ encontra-se representada na Figura 50.

É importante destacar que os ditiocarbazatos derivados de β-dicetonas podem estar predominantemente em sua forma isomérica aberta ou fechada. No caso do ligante H₂L³, a estrutura foi formada na última etapa da síntese descrita na seção 3.4.3, após o primeiro ataque nucleofílico do N(1) do intermediário formado no meio reacional à carbonila distante ao grupo CF₃ da 1,1,1-trifloro-2,4-pentanodiona e posterior ataque do N(2) à carbonila próxima ao grupo CF₃ levando à formação da estrutura ciclizada, semelhante a outros compostos da literatura.^{44,50,112,113} Uma outra característica dos ditiocarbazatos é que estes apresentam um equilíbrio tiona-tiol em solução, porém é possível observar que H₂L³ se cristalizou em seu tautômero tiona, evidenciado principalmente pelo comprimento das ligações C(6)-S(1) de 1,665(4) Å, que possui um maior caráter de ligação dupla, e C(6)-N(2) de 1,347(4) Å, que possui um maior caráter de ligação simples. Estes valores são muito semelhantes a compostos similares, como é o caso do ligante 1-fenil-1,3-butanodiona-S-benzil-ditiocarbazato sintetizado por Sousa¹¹², que apresentou os seguintes comprimentos para as mesmas ligações: C(6)-S(1) de 1,679(5) Å e C(6)-N(2) de 1,353(6) Å.

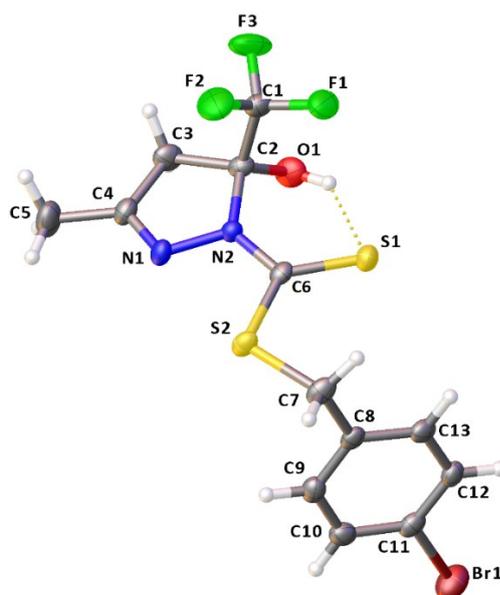


Figura 50. Estrutura cristalina e molecular do ligante H₂L³ com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

Como esperado, os ângulos de ligação observados entre C1-C2-O1 de 110,8(3)°, C1-C2-C3 de 109,7(3)°, C1-C2-N2 de 110,3(3)° e C3-C2-O1 de 111,0(3)° indicam que o C2 tem hibridização sp^3 , sendo todos ângulos próximos de 109,5°. A estrutura do ligante mostra ainda que cada anel da estrutura (C2-C3-C4-N1-N2) e (C8-C9-C10-C11-C12-C13) é quase plano, porém são torcidos um em relação ao outro. O ângulo entre os planos médios dos anéis é de 99,43(13)°. A Tabela 10 mostra os principais ângulos e comprimentos de ligação observados para este agente complexante.

Tabela 10. Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para H_2L^3 .

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
N1-C4	1,279(4)	C3-C4-N1	114,6(3)
C4-C3	1,487(5)	C4-N1-N2	107,6(3)
C3-C2	1,520(5)	N1-N2-C2	112,3(3)
C2-O1	1,382(4)	N2-C2-C3	101,0(3)
C2-N2	1,491(4)	N2-C6-S1	122,8(3)
N1-N2	1,407(4)	N2-C6-S2	112,1(2)
N2-C6	1,347(4)	C1-C2-O1	110,8(3)
C6-S1	1,665(4)	C1-C2-C3	109,7(3)
C6-S2	1,748(4)	C1-C2-N2	110,3(3)
C1-C2	1,523(5)	C3-C2-O1	111,0(3)

Pelos dados da difração de raios X de monocristal foi possível observar ainda a presença de uma ligação de hidrogênio intramolecular entre o S1 e H1 com distância de 2,439(11) Å, sendo menor que a soma dos raios de van der Waals dos átomos S e H (3,00 Å), além de uma interação de empilhamento $\pi \cdots \pi$, com uma distância de 3,866(1) Å entre os centróides e deslocamento de 1,755(1) Å. Estas interações apresentam um papel importante no arranjo estrutural e ajudam na organização da estrutura cristalina de H_2L^3 . A Figura 51 ilustra os dois tipos de interações observados em H_2L^3 .

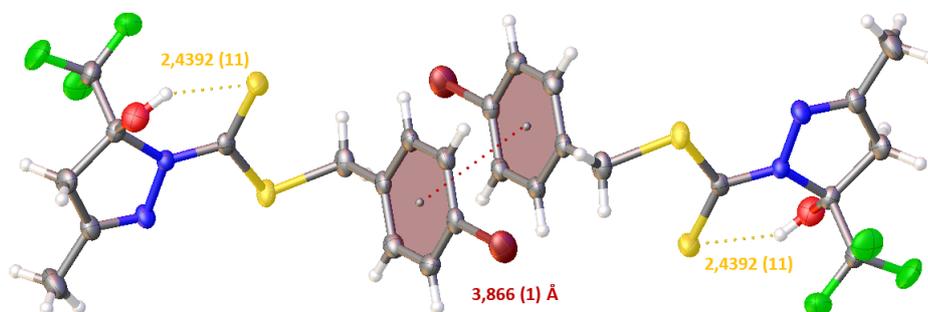


Figura 51. Representação das ligações de hidrogênio intramoleculares e interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ (representadas por linhas pontilhadas) em H_2L^3 .

A cela unitária para o ligante H_2L^3 bem como o diagrama para o grupo espacial $P2_1/c$ extraído da *International Tables for Crystallography*⁹⁸ estão dispostos na Figura 52. Comparando as representações, é possível observar as quatro unidades assimétricas presentes na cela unitária, além da presença dos elementos de simetria centro de inversão, eixo helicoidal 2_1 paralelo ao eixo cristalográfico b e planos de deslizamento paralelos ao plano ac na direção do eixo c .

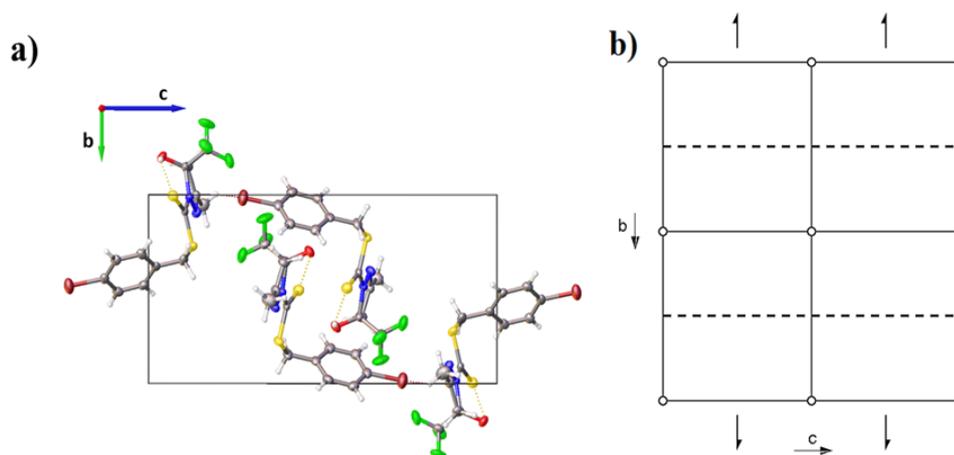


Figura 52. a) Representação da cela unitária do ligante H_2L^3 no plano cristalográfico bc . b) Diagrama para o grupo espacial $P2_1/c$ extraído da *International Tables for Crystallography*.⁹⁸

4.2.2. Análise Estrutural dos Complexos (5)-(8)

Os complexos $[Ni(L^3)PPh_3]$ (5) e $[Ni(L^4)PPh_3]$ (7), derivado da 1,1,1-trifloro-2,4-pentanodiona, foram analisados e elucidados por difração de raios X e estão representado nas Figuras 53 e 54 respectivamente, onde todos os átomos estão numerados exceto os átomos de hidrogênio. Os dois compostos são isoestruturais e cristalizaram no sistema cristalino ortorrômbico, grupo espacial $P2_12_12_1$ (número 19 da *International Tables for Crystallography*⁹⁸), com 4 unidades assimétricas por cela unitária.

Uma molécula do ligante H_2L^3 ou H_2L^4 se coordena ao centro de Ni(II) pelos átomos *ONS* de forma desprotonada e dianiônica, sendo que a esfera de coordenação quadrada é completa por uma coordenação adicional ao átomo P1 de uma molécula de trifenilfosfina. Destaca-se que ambos ligantes se coordenaram ao centro metálico em sua forma isomérica aberta, onde os anéis quelatos de seis e cinco membros estabelecidos são quase planos, contudo ocorre uma torção na parte final dos ditiocarbazatos, com o ângulo de torção entre os planos dos anéis (Ni1-N1-N2-C6-S1) e (C8-C9-C10-C11-C12-C3) igual a $121,0(5)^\circ$ em (5) e $123,2(3)^\circ$ em (7).

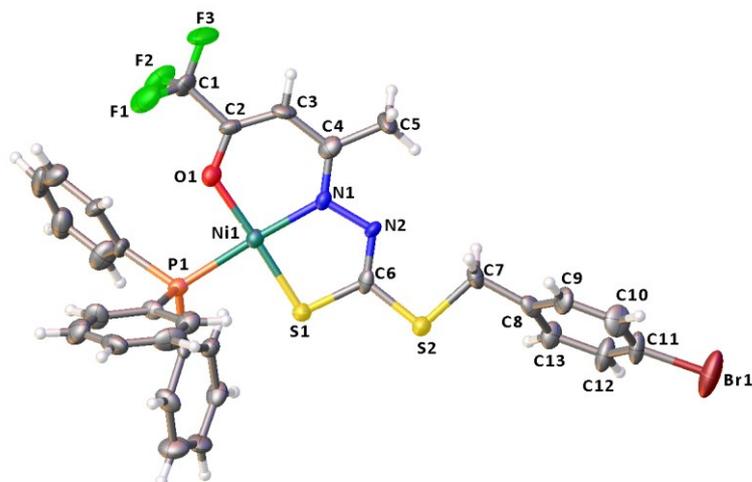


Figura 53. Estrutura cristalina e molecular do complexo (5) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

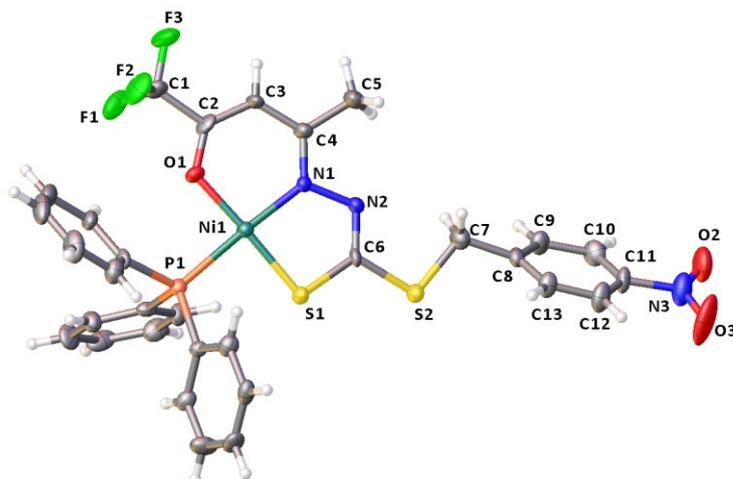


Figura 54. Estrutura cristalina e molecular do complexo (7) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

A Tabela 11 mostra um resumo dos principais comprimentos e ângulos de ligação para todos os compostos apresentados nesta seção.

Nos complexos (5) e (7), ocorre a mudança do tauômero tiona no ligante livre para o tiol após a desprotonação do N2 dos ligantes e coordenação ao átomo de Ni(II). No complexo (5) este comportamento é evidenciado principalmente por um alongamento da ligação C(6)-S(1) de 1,665(4) Å no ligante livre para 1,748(15) Å no complexo e um encurtamento da ligação C(6)-N(2) 1,347(4) Å no ligante livre para 1,292(17) Å no complexo, que ganharam um maior caráter de ligação simples e ligação dupla, respectivamente. Este mesmo comportamento é observado para o complexo (7) e para outros complexos de níquel(II) já reportados na literatura,

como é o caso do complexo quadrado de Ni(II) derivado do ligante formado pela condensação do 2,4-dihidroxibenzaldeído e do S-metil-ditiocarbazato, que também tem trifenilfosfina como um coligante e foi elucidado por Elsayed e colaboradores⁴⁵, o qual observam-se os seguintes comprimentos para as mesmas ligações: C(6)-S(1) de 1,743(2) Å e C(6)-N(2) de 1,275(3) Å.

Tabela 11. Comprimentos e Ângulos de ligação selecionados para os compostos derivados da 1,1,1-trifloro-2,4-pentanodiona.

Comprimentos de ligação (Å)				
	(5)	(6)	(7)	(8)
O1-Ni1	1,852(6)	1,861(3)	1,845(6)	1,857(5)
N1-Ni1	1,910(8)	1,876(4)	1,885(7)	1,866(5)
S1-Ni1	2,130(3)	2,147(2)	2,128(3)	2,146(2)
P1-Ni1	2,223(3)	-	2,216(3)	-
N*-Ni1	-	1,915(4)	-	1,923(6)
C2-C3	1,368(14)	1,359(6)	1,357(13)	1,357(9)
C6-S2	1,746(11)	1,761(5)	1,764(10)	1,756(7)
N2-C6	1,287(11)	1,300(5)	1,285(11)	1,302(8)
C6-S1	1,741(11)	1,726(5)	1,727(10)	1,724(7)
C4-N1	1,337(12)	1,316(5)	1,321(11)	1,325(8)
C2-O1	1,283(11)	1,296(5)	1,279(11)	1,288(8)
Ângulos de ligação (°)				
	(5)	(6)	(7)	(8)
S1-Ni1-P1	89,59(12)	-	89,43(11)	-
S1-Ni1-N1	87,4(3)	88,15(13)	87,6(3)	88,26(17)
S1-Ni1-O1	177,3(2)	174,35(10)	177,5(2)	174,23(17)
P1-Ni1-N1	176,0(3)	-	176,5(3)	-
P1-Ni1-O1	88,2(2)	-	88,6(2)	-
O1-Ni1-N1	94,7(3)	95,75(16)	94,3(3)	95,6(2)
O1-Ni1-N*	-	86,70(15)	-	86,7(2)
N1-Ni1-N*	-	176,64(18)	-	177,3(2)
S1-Ni1-N*	-	89,59(12)	-	89,55(17)
C1-C2-O1	112,6(11)	113,0(5)	111,8(10)	112,5(6)
C1-C2-C3	119,7(11)	120,1(5)	120,6(10)	120,2(6)
C3-C2-O1	127,8(11)	126,9(5)	127,7(10)	127,2(6)

Uma outra diferença observada após a complexação é a desprotonação do C3 dos ligantes e posterior formação de uma dupla ligação entre C2-C3, evidenciado principalmente pelo seu encurtamento, onde a distância medida foi de 1,521(5) Å para H₂L³ livre e de 1,368(14) Å e 1,357(13) Å para os complexos (5) e (7), respectivamente. É possível observar na literatura comportamento semelhante para um complexo de Cu(II) derivado do ligante formado pela condensação da 4,4,4-trifluoro-1-(2-tienil)-1,3-butanodiona com o S-benzilditiocarbazato, a qual apresentou os valores de 1,501(17) Å para ligação correspondente no ligante livre e de 1,397(3) Å após a desprotonação e formação do complexo.⁵⁰

Como já mencionado, os complexos (5) e (7) são isoestruturais e apresentam uma geometria quadrada levemente distorcida. A distorção pode ser observada pelos ângulos de ligação entre os átomos S1-Ni1-O1 e P1-Ni1-N1 que variam entre 176,5-177,5°, sendo um pouco diferentes de 180°. As geometrias propostas estão de acordo com o parâmetro de Okuniewski (τ_4)¹⁰⁰ onde os valores encontrados foram de 0,043 para o complexo (5) e de 0,042 para o complexo (7), muito próximos de zero, indicativo da geometria quadrada. Destaca-se também que os comprimentos das ligações em torno da esfera de coordenação são muito próximos nos dois complexos visto sua similaridade, com variações entre 0,004 e 0,036 Å.

Pela análise de difração de raios X de monocristal foram observadas ainda interações intermoleculares fracas entre o átomo O1 e o átomo H17 da molécula de trifetilfosfina com distância de 2,638(10) Å para o complexo (5) e 2,613(7) Å para o complexo (7). Também são observadas interações entre N2-H12 da porção final do ditiocarbazato com distâncias de 2,624(12) Å para (5) e 2,736(8) Å para (7), sendo que todas essas interações apresentam valores de distâncias de ligação menores que a soma dos raios de van der Waals dos átomos envolvidos (O e H: 2,67 Å; N e H: 2,75). Estes contatos ajudam na estabilização da estrutura e formação da rede cristalina e estão ilustradas, para melhor visualização, nas Figuras AVI.1 e AVI.2 do apêndice IV.

A Figura 55 ilustra a cela unitária dos complexos (5) e (7).

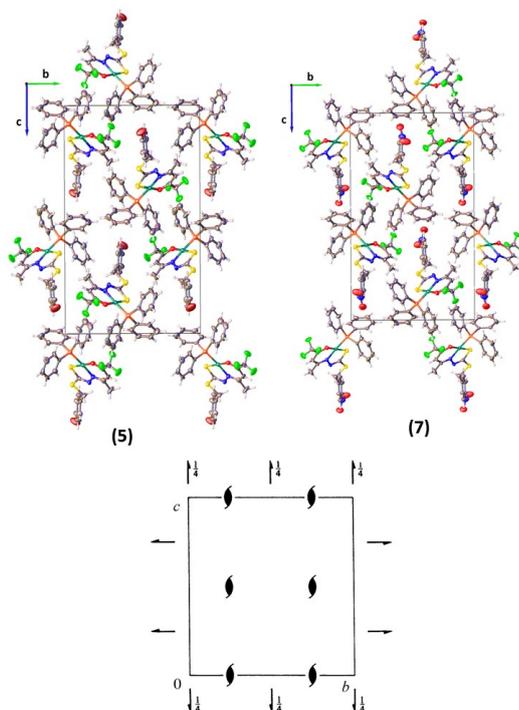


Figura 55. Representação das celas unitárias dos complexos (5) e (7) no plano cristalográfico *bc* e diagrama para o grupo espacial $P2_12_12_1$ extraído da *International Tables for Crystallography*.⁹⁸

A cela unitária dos complexos é composta por quatro unidades assimétricas. Observa-se que, de acordo com o referencial, há a presença dos eixos helicoidais 2_1 paralelos aos três eixos cristalográficos esperado para o grupo $P2_12_12_1$.

Os outros dois complexos que tiveram a sua estrutura elucidada pela difração de raios X de monocristal foram os complexos $[\text{Ni}(\text{L}^3)\text{Py}]$ (6) e $[\text{Ni}(\text{L}^4)\text{Py}]$ (8), os quais são ilustrados nas Figuras 56 e 57, respectivamente. Estes complexos cristalizaram no sistema cristalino monoclinico e grupo espacial $P2_1/n$ (número 14 da *International Tables for Crystallography*)⁹⁸, com simetria de Laue $2/m$ e 4 unidades assimétricas por cela unitária.

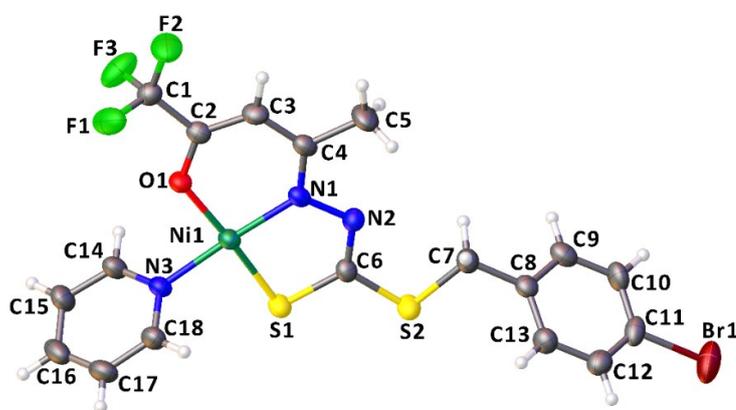


Figura 56. Estrutura cristalina e molecular do complexo (6) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

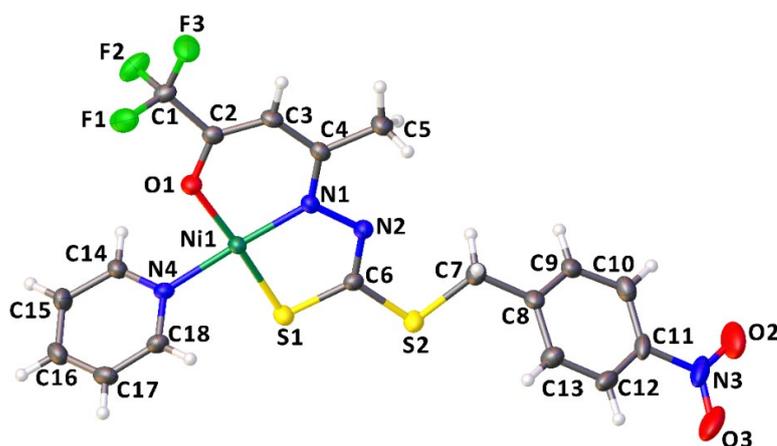


Figura 57. Estrutura cristalina e molecular do complexo (8) com elipsóides térmicos representados em um nível de probabilidade de 30%.

De forma semelhante aos anteriores, nos complexos (6) e (8), uma molécula do ligante se coordenou ao átomo de Ni(II) de forma tridentada pelos átomos de oxigênio, nitrogênio e enxofre, todavia, neste caso, uma molécula de piridina completa a esfera de

coordenação. A geometria proposta para ambos complexos é a geometria quadrada, com uma leve distorção evidenciada pelos ângulos das ligações S1-Ni1-O1 e P1-Ni1-N1 (Tabela 11). As geometrias propostas estão de acordo com o parâmetro de Okuniewski (τ_4)¹⁰⁰ onde os valores calculados foram de 0,064 para (2) e 0,060 para (4).

Destaca-se que cada ditiocarbazato se coordenou ao átomo de níquel(II) em sua forma isomérica aberta, no qual ocorre uma torção na parte final da molécula. Ademais, assim como ocorre nos outros complexos apresentados nesta seção, cada ligante se coordena ao centro metálico através de seu tautômero tiol, após a desprotonação de N2 e alongamento da ligação C(6)-S(1) e encurtamento da ligação C(6)-N(2). Ocorre também a desprotonação do C3 e posterior formação de uma dupla ligação C2-C3, cujo comprimento medido foi de 1,359(6) Å para o complexo (6) e de 1,357(9) Å para o complexo (8).

Os dados de difração de raios X também mostram uma interação intermolecular entre C(14)-H(14)···F(1) com uma distância de 2,414(3) Å no complexo (2) e 2,397(5) Å no complexo (4), conforme ilustrado na Figura 58.

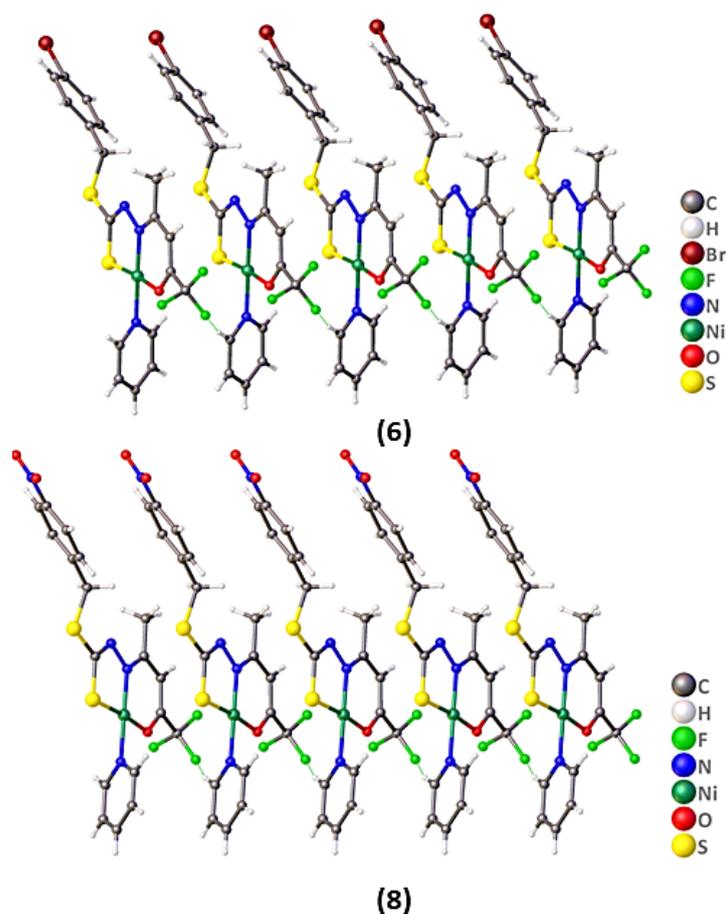


Figura 58. Representação das ligações de hidrogênio não clássicas observadas nos complexos (6) e (8).

A cela unitária dos complexos (6) e (8) está ilustrada na Figura 59 juntamente com o diagrama extraído da *International Table for Crystallography*.⁹⁸ Observa-se que, de acordo com o referencial para o grupo $P2_1/n$ há a presença dos seguintes elementos de simetria: centro de inversão, eixo helicoidal 2_1 paralelo ao eixo cristalográfico a e planos de deslizamento paralelos ao plano bc na direção da diagonal da cela.

Sob outra perspectiva, é importante destacar ainda que nos quatro complexos (5)-(8), os ligantes se coordenam ao centro de Ni(II) através de seu isômero E . Os comprimentos de ligação observados estão entre 1,866(5) e 1,910(8) Å para Ni1-N1, de 2,128(3) e 2,147(2) Å para Ni1-S1, e de 1,845(6) Å e 1,861(3) Å para Ni1-O1, e essas distâncias são semelhantes aos comprimentos de ligação relatados na literatura para outros complexos semelhantes de Ni(II).^{31,40,68,114,115} O comprimento de ligação Ni(1)-P(1) é 2,223(3) Å em (5) e 2,216(3) Å em (7), de acordo com a faixa encontrada para complexos de Ni(II).^{45,65} Além disso, o comprimento da ligação Ni-N com o átomo de nitrogênio da piridina é 1,915(4) Å em (6) e 1,923(6) Å em (8), e os resultados concordam com compostos relacionados.³²

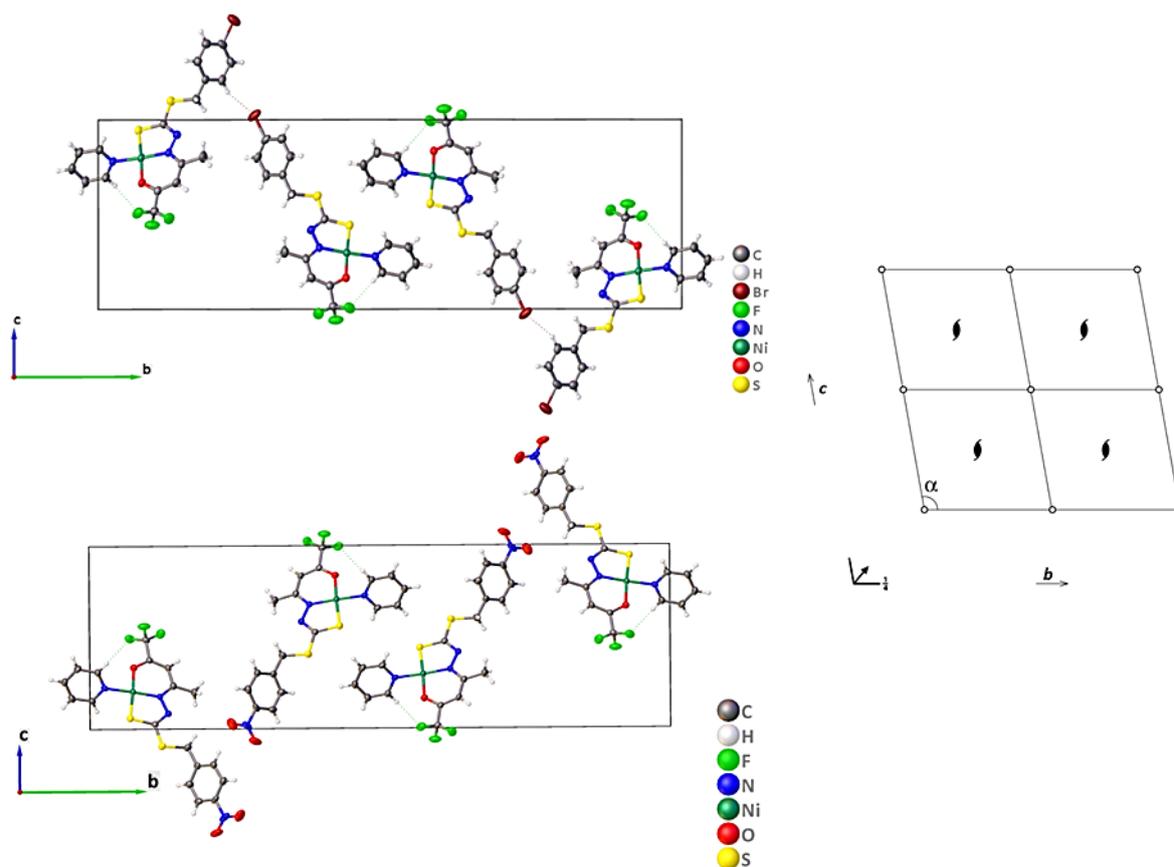


Figura 59. Representação das celas unitárias dos complexos (6) e (8) no plano cristalográfico bc e diagrama para o grupo espacial $P2_1/n$ extraído da *International Tables for Crystallography*.⁹⁸

4.2.3. Análise da Superfície de Hirshfeld de H_2L^3 e dos complexos (5)-(8).

Com o objetivo de analisar as interações presentes na formação dos complexos, os arquivos CIF (arquivos de informação cristalográfica) obtidos a partir da resolução das estruturas pela difração de raios X de monocristal do ligante H_2L^3 e dos complexos (5)-(8) foram usados para gerar as superfícies de Hirshfeld na função d_{norm} pelo programa CrystalExplorer 17.5⁷².

A análise da superfície de Hirshfeld na função d_{norm} para o ligante H_2L^3 não mostra interações fortes entre os átomos, apenas regiões praticamente brancas e azuis, sendo um indicativo que as interações que ajudam na formação da rede cristalina são de natureza mais fraca, conforme ilustra a Figura 60.^{74,97}

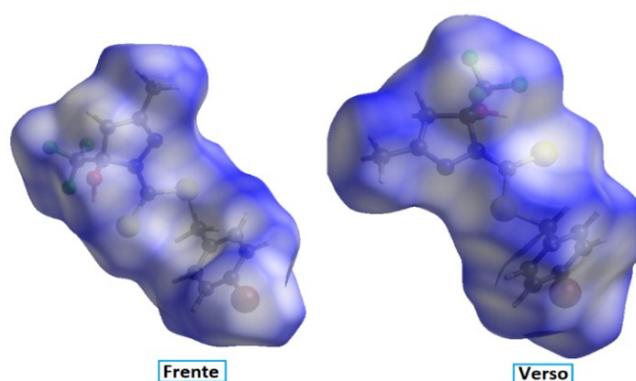


Figura 60. Superfície de Hirshfeld para o ligante H_2L^3 mapeada na função d_{norm} .

Em contrapartida, através da análise do mapeamento de sua superfície na função *shape index* (índice de forma) foi observado que na rede cristalina do ligante H_2L^3 há interações de empilhamento $\pi \cdots \pi$ entre os anéis finais da função ditiocarbazato, com uma distância de 3,866(1) Å entre os centróides, de acordo com o que foi discutido na seção 4.2.1. Esta função indica a presença destas interações pela presença de um par de triângulos vermelhos e azuis^{73,74}, conforme destacado na Figura 61.

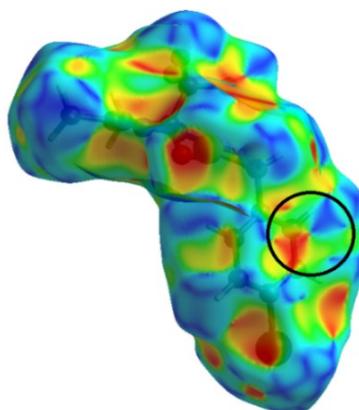


Figura 61. Superfície de Hirshfeld para o ligante H_2L^3 mapeada na função *shape index*.

Já a superfície na função d_{norm} para os complexos (5)-(8) mostram regiões vermelhas, indicativas de interações intermoleculares mais fortes em comparação com o ligante livre, conforme mostrado na Figura 62. Tais interações puderam ser identificadas como sendo ligações de hidrogênio não clássicas entre os átomos. Essas interações podem ser identificadas como ligações de hidrogênio não clássicas O...H-C e N...H-C em (5), O...H-C em (7) e F...H-C em (6) e (8), o que está de acordo com os observados pela difração de raios X de monocristal.

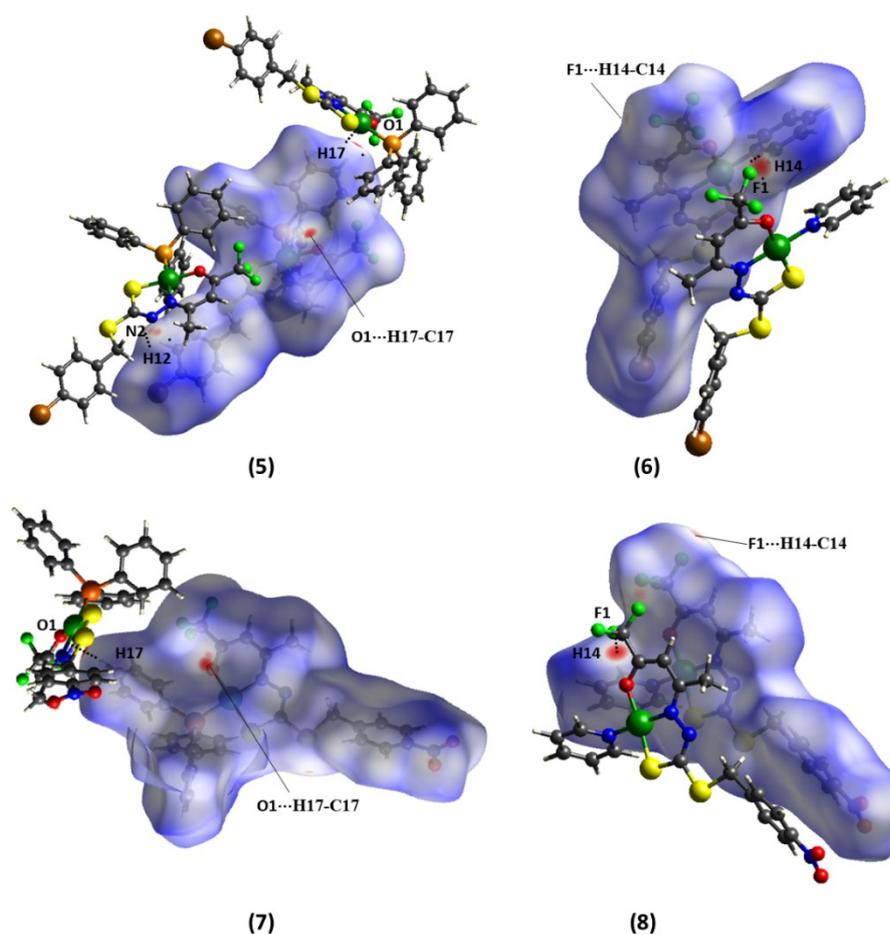


Figura 62. Superfície de Hirshfeld para os complexos (5)-(8) mapeadas na função d_{norm} .

Foram obtidos também os gráficos de impressões digitais para os compostos, dispostos nas Figuras IV1-IV5 do apêndice IV, com a finalidade de obter dados quantitativos sobre os contatos (mesmo aqueles distantes) que mais contribuem para a formação da rede cristalina. As porcentagens de contribuição referentes aos gráficos de impressões digitais estão resumidas graficamente na Figura 63, indicando as porcentagens de contribuição de cada par de átomos no ligante H_2L^3 e nos complexos (5)-(8). É possível observar também que a mudança do substituinte final do ditiocarbazato ($-\text{NO}_2$ ou $-\text{Br}$) altera parcialmente as porcentagens em cada

par (5) e (7) ou (6) e (8), embora haja entre os complexos uma similaridade estrutural. As maiores contribuições das interações são entre H...H, C...H, O...H, Br...H e F...H para os compostos estudados, com porcentagens de interação entre 1,9% e 38,2 %.

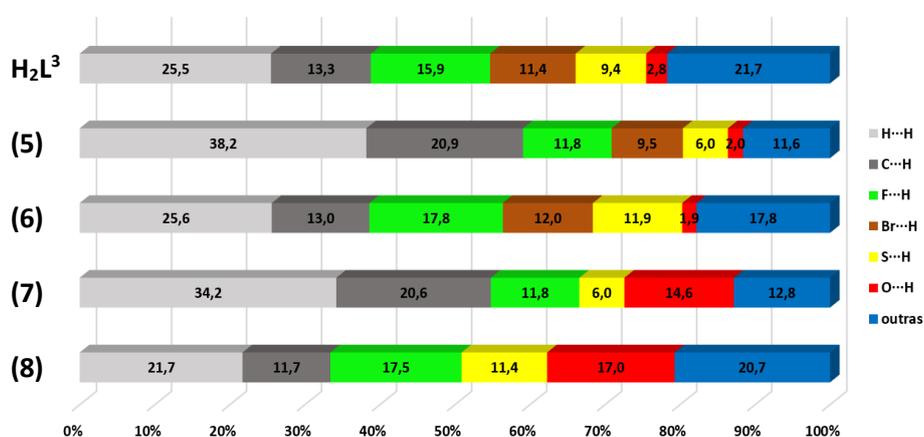


Figura 63. Porcentagens das contribuições mais importantes presentes nos gráficos de impressão digital para o ligante H₂L³ e para os complexos (5)-(8).

4.2.4. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (FT-IR)

Os espectros vibracionais na Região do Infravermelho para o agente complexante H₂L³ e complexo (5) estão dispostos nas Figuras 64 e 65 e para H₂L⁴ e para os complexos (6)-(8) estão dispostos nas Figuras AV1-AV4 do apêndice V. As principais bandas de estiramentos e deformações para os compostos estão resumidas na Tabela 12.

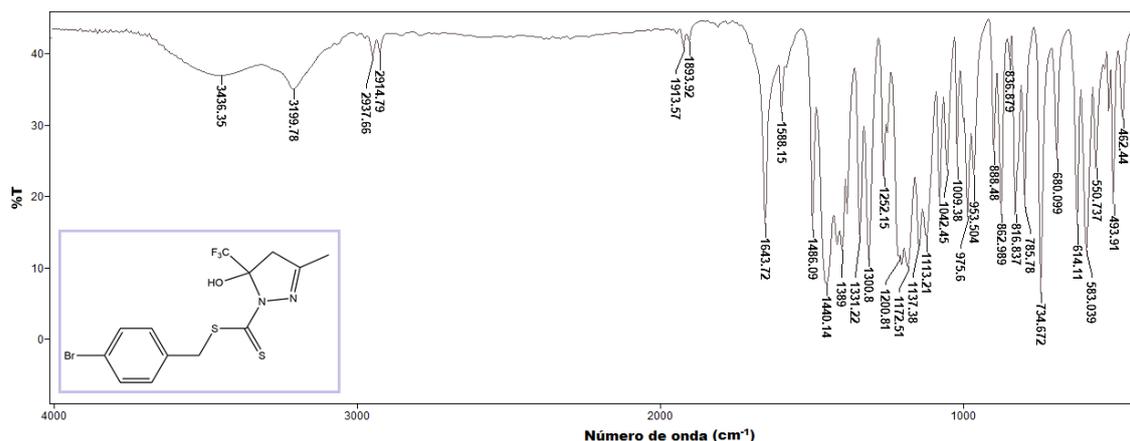


Figura 64. Espectro de FT-IR para o ligante H₂L³.

Comparando os espectros dos ligantes livres e de seus complexos, pode-se observar o desaparecimento da banda referente ao estiramento $\nu(\text{O-H})$, que aparece em 3199 cm^{-1} e 3151 cm^{-1} para H₂L³ e H₂L⁴, respectivamente, isso ocorre porque os ligantes se coordenam ao centro metálico em sua forma aberta e desprotonada. Uma outra banda que sofre alteração é

correspondente ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{S})$, identificado como a banda entre $1200\text{-}1205\text{ cm}^{-1}$ nos ligantes livres, que não aparece no espectro dos complexos, já que esta ligação ganha um maior caráter de ligação simples após a coordenação do átomo de enxofre com o $\text{Ni}(\text{II})$. Este resultado está de acordo com o observado pela análise de difração de raios X, em que os ligantes mudam de tautômero tiona para tiol após a complexação e estão duplamente desprotonados. Este mesmo comportamento é observado para compostos similares já descritos na literatura.^{31,44,45,116}

Ainda com relação às evidências coordenação $\text{S-Ni}(\text{II})$, há uma diminuição do número de onda da banda observada entre $1042\text{-}1048\text{ cm}^{-1}$ nos espectros dos ligantes livres, que pode ser atribuída ao estiramento assimétrico $\nu(\text{CSS})$, para uma faixa de $908\text{-}914\text{ cm}^{-1}$ no espectro dos complexos. Essa variação também é observada em outros trabalhos.^{116,117}

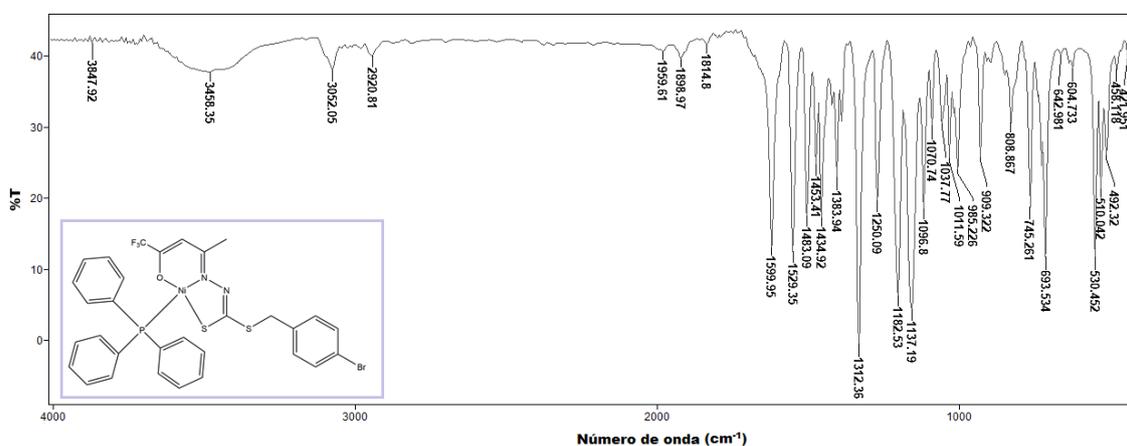


Figura 65. Espectro de FT-IR para o complexo (5).

Tabela 12. Bandas de estiramento e deformação (cm^{-1}) dos modos normais de vibração selecionados para H_2L^3 , H_2L^4 e para os complexos (5)-(8).

	H_2L^3	H_2L^4	(5)	(6)	(7)	(8)
$\nu(\text{C}=\text{S})$	1200	1205	-	-	-	-
$\nu(\text{C}-\text{S})$	734	732	745	760	747	759
$\nu(\text{CSS})$	1042	1048	909	914	908	914
$\nu(\text{O}-\text{H})$	3199	3151	-	-	-	-
$\nu(\text{N}-\text{N})$	1113	1113	1096	1114	1096	1113
$\nu(\text{C}=\text{N})$	1643	1636	1599	1606	1598	1604
$\nu(\text{C}-\text{F})$	1172-1137	1176-1137	1182-1137	1192-1146	1179-1139	1190-1146
$\nu(\text{C}=\text{C})$	1588	1596	1529	1528	*	*
	1486	1446	1483	1485	1479	1486
$\nu(\text{NO}_2)_{\text{as}}$	-	1515	-	-	1515	1516
$\nu(\text{NO}_2)_{\text{sim}}$	-	1344	-	-	1342	1342
$\delta(\text{Py})$	-	-	-	689	-	689
$\nu(\text{Ni}-\text{PPh}_3)$	-	-	693	-	693	-

Legenda: (-) não se aplica e (*) banda não observada.

Uma outra banda envolvida na esfera de coordenação que sofre alteração após a complexação é atribuída ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ azometínico, que é observada em menores números de onda nos espectros dos complexos, com uma variação de 32-43 cm^{-1} , sendo uma indicação da coordenação N-Ni(II), o alongamento da ligação C=N também foi observado pela difração de raios X de monocristal (1,279(4) para H_2L^3 livre e 1,316(5)-1,337(12) para (5) e (6).^{44,45} O espectro de um complexo de níquel(II) semelhante aos complexos (5) e (7), elucidado por Elsayed⁴⁵, mostrou bandas em 1629 cm^{-1} para o estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ no ligante livre, que diminui para 1618 cm^{-1} no complexo.

São observadas bandas em 689 cm^{-1} no espectro dos complexos (6) e (8), em que há uma molécula de piridina coordenada ao centro metálico, e elas podem ser atribuídas ao dobramento $\delta(\text{Py})$.^{31,48,60} Há por exemplo um estudo que identifica essa banda em 691 cm^{-1} para um complexo de Ni(II) que tem piridina como coligante.⁶⁵

São identificadas também bandas nos espectros de (5) e (7) em 693 cm^{-1} , que possuem trifenílfosfina em sua esfera de coordenação, as quais foram observadas em 690 cm^{-1} em um complexo com trifenílfosfina elucidado por Lima⁶⁵ e foram atribuídas como sendo referente ao estiramento $\nu(\text{Ni}-\text{PPh}_3)$, elas são portanto um indicativo da formação da estrutura proposta elucidada pela difração de raios X.

Com relação à parte estrutural dos ditiocarbazatos, são observadas bandas intensas na faixa 1100-1250 cm^{-1} nos espectros, as quais podem ser atribuídas ao estiramento $\nu(\text{C}-\text{F})$ do grupo CF_3 .^{77,118} Também são observados os estiramentos assimétricos e simétricos do grupo nitro - NO_2 nos espectros de H_2L^4 , (7) e (8), que aparecem como bandas intensas em aproximadamente 1500 cm^{-1} e 1340 cm^{-1} .^{31,77} Ainda com relação à estrutura dos agentes complexantes, são observadas bandas referentes aos estiramentos $\nu(\text{C}-\text{S})$, $\nu(\text{N}-\text{N})$ e $\nu(\text{C}=\text{C})$ para todos os compostos.^{44,45,116,77}

Em suma, os dados estão de acordo com o observado para os ligantes ditiocarbazatos que atuam como moléculas doadoras tridentadas por meio dos átomos de oxigênio, nitrogênio e enxofre. Ainda se observa a coordenação com o centro metálico de uma molécula de piridina ou trifenílfosfina completando a esfera de coordenação. A Figura 66 mostra a estrutura sugerida para o ligante H_2L^4 . Destaca-se que a estrutura foi proposta com base em sua similaridade à estrutura de H_2L^3 , elucidada pela difração de raios X de monocristal, e também de acordo com os dados de espectrometria de massas e de ressonância magnética nuclear de ^1H , que serão discutidas nas próximas seções.

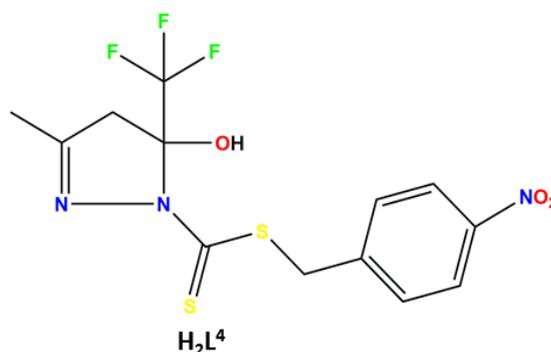


Figura 66. Estrutura proposta para o ligante H_2L^4 .

4.2.5. Espectrometria de Massas – ESI(+)-MS/(MS)

Com o objetivo de observar as reais espécies presentes em solução e assim obter dados que possam contribuir para a caracterização dos novos compostos, foram obtidos os espectros de massas com ionização por eletrospray no modo positivo ESI(+)-MS/(MS) para os ligantes H_2L^3 e H_2L^4 e para os quatro complexos de níquel(II) estudados (5)-(8). A Figura 67 mostra os espectros de massas ESI(+)-MS para os dois ligantes livres, e os resultados mostram que ambos apresentam picos referentes às distribuições isotópicas de acordo com o esperado¹⁰⁵ para os íons $[M + H]^+$.

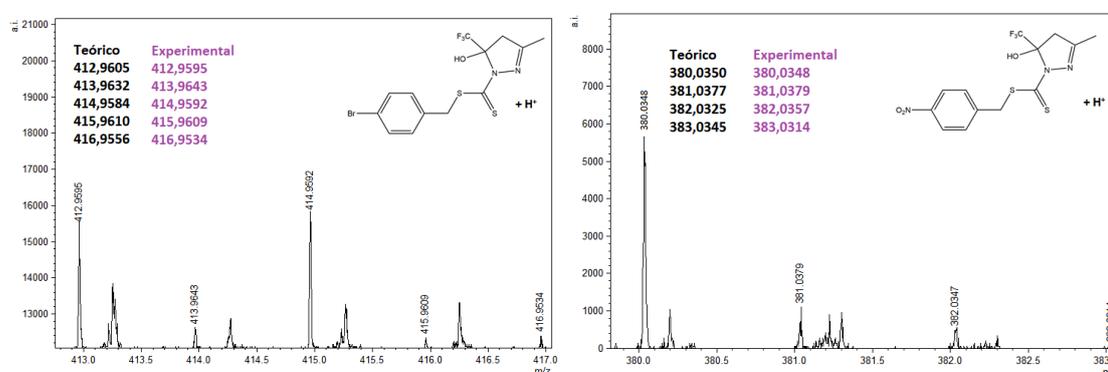


Figura 67. Espectros de ESI-MS para os ligantes H_2L^3 e H_2L^4 .

Como já indicado, a técnica de espectrometria de massas pode auxiliar na caracterização dos compostos, principalmente através da obtenção dos espectros ESI(+)-MSMS, os quais são apresentados nas Figuras 68 e 69 para os ditiocarbazatos livres.

O primeiro pico em $m/z = 412$ ou $m/z = 380$ correspondem à espécie $[M+H]^+$ do íon molecular no espectro de H_2L^3 e H_2L^4 , respectivamente. Já o pico em $m/z = 211$ que aparece em ambos os espectros, ocorre após a primeira perda de massa e pode ser atribuída a saída do grupo S-benzila, que seguida de uma perda de ácido tiocianico (HSCN) forma a espécie destacada em $m/z = 152$ e seguida da perda da espécie C_2HF_3O forma o fragmento em $m/z =$

114. É possível observar ainda um pico em $m/z = 168$ (H_2L^3) ou $m/z = 136$ (H_2L^4) correspondentes a um fragmento da porção final dos compostos.^{32,119}

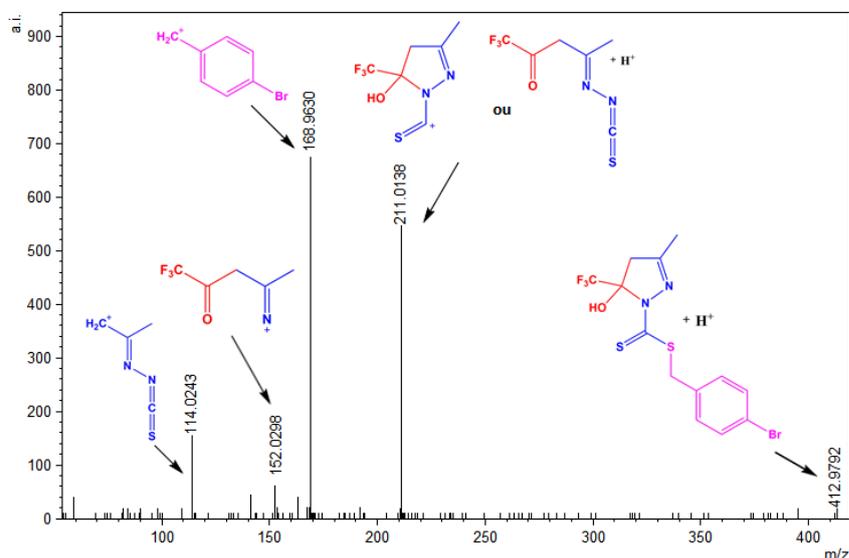


Figura 68. Espectro de ESI-MSMS para o ligante H_2L^3 .

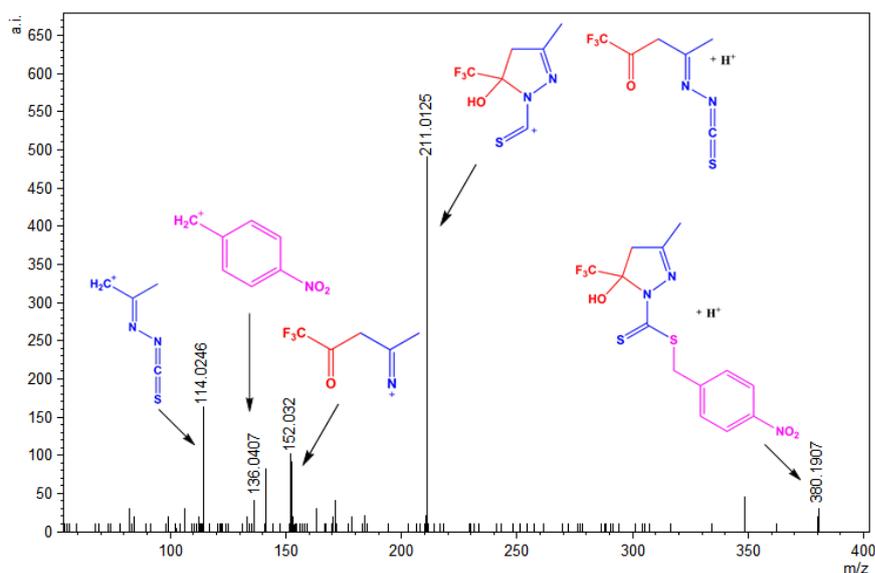


Figura 69. Espectro de ESI-MSMS para o ligante H_2L^4 .

A Figura 70 mostra os espectros de massas ESI(+)-MS para os complexos (5)-(8), e semelhante aos didiocarbazatos livres, os resultados mostram picos das distribuições isotópicas experimentais de acordo com o esperado¹⁰⁵ para os íons moleculares.

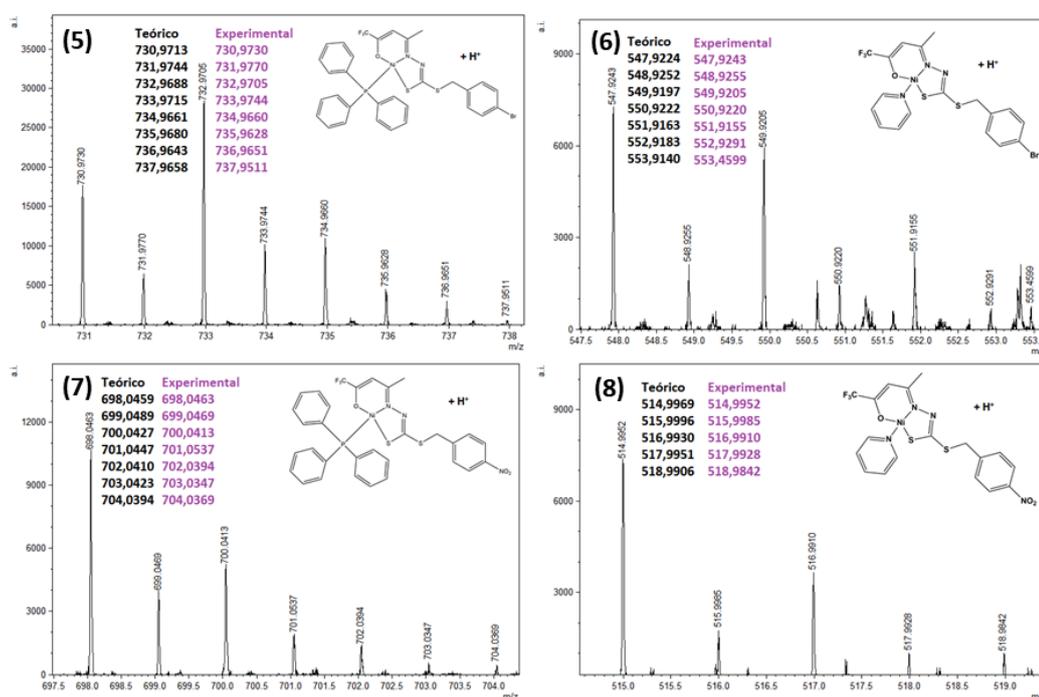


Figura 70. Espectro de ESI-MS para os complexos (5)-(8).

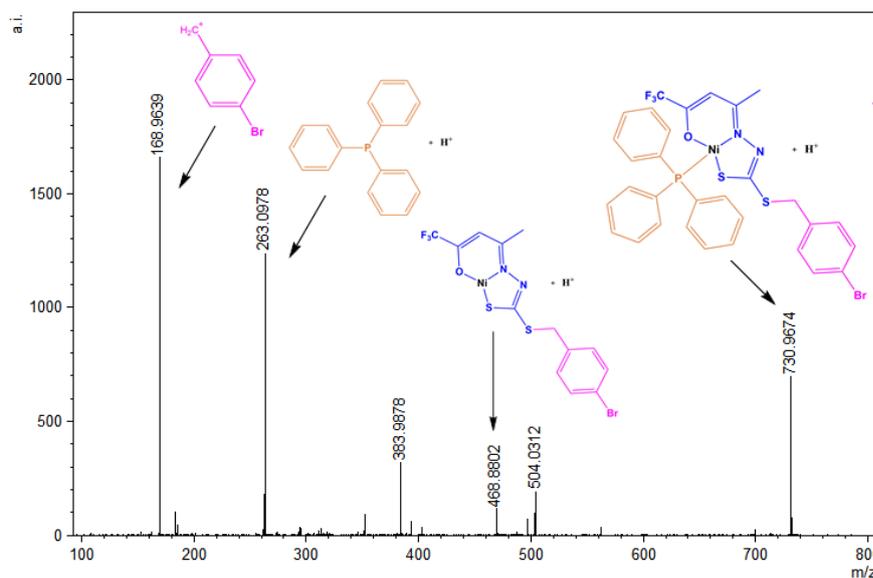


Figura 71. Espectro de ESI-MS/MS para o complexo (5)

O espectro de ESI(+)-MS/MS para o complexo (5) está representado na Figura 71, sendo possível identificar a presença da espécie $[M+H]^+$ em $m/z = 730$. O pico em $m/z = 468$ pode ser identificado como o fragmento formado após a perda de uma molécula de trifetilfosfina, sendo que o pico em $m/z = 263$ corresponde à própria molécula de PPh_3 protonada. O pico base em $m/z = 168$ corresponde a um fragmento da porção final do ligante H_2L^3 , também identificado como o pico base no espectro do ligante livre.⁴⁵

Um comportamento semelhante é observado em solução para o complexo (6), o qual tem seu espectro de ESI-MSMS ilustrado na Figura 72. O pico em $m/z = 547$ corresponde ao íon molecular, sendo que o pico em $m/z = 468$ pode ser identificado após a perda de uma molécula de piridina. O pico base corresponde a um fragmento da porção final do ligante H_2L^3 e o pico em $m/z = 80$ corresponde à espécie $(Py)^+$.

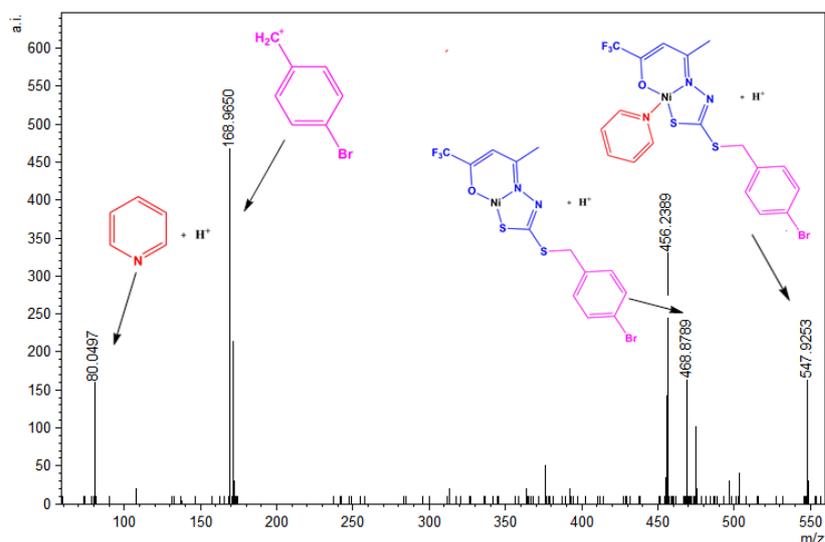


Figura 72. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (6).

As Figuras 73 e 74 mostram os espectros de ESI-MSMS para os complexos (7) e (8) derivados do ligante H_2L^4 .

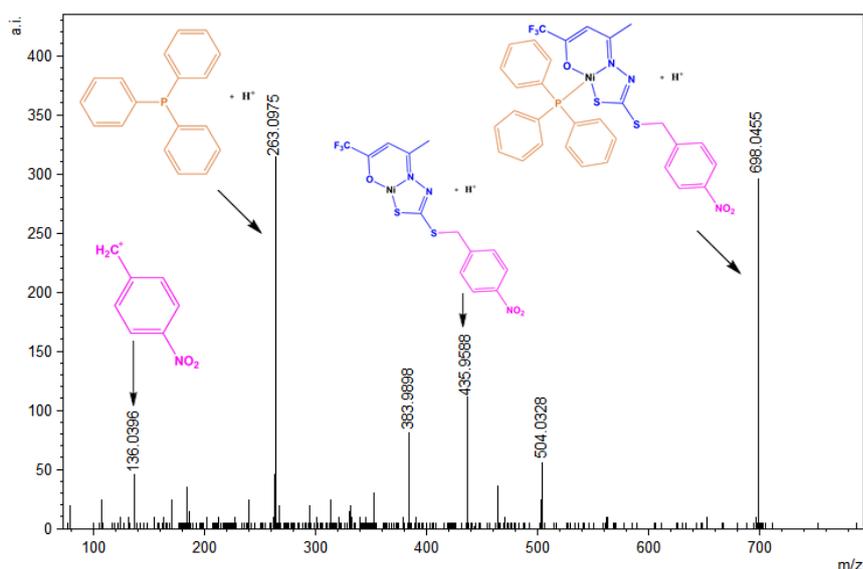


Figura 73. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (7).

Em ambos complexos é possível observar um comportamento similar em solução. Observa-se o primeiro pico correspondente ao íon molecular $[M+H]^+$ em $m/z = 698$ no complexo (7) e

$m/z = 514$ no complexo (8). São observados também a perda do coligante para a formação de espécies $[\text{Ni}(\text{L}^4)]^+$ em $m/z = 435$. São observados ainda fragmentos da trifenilfosfina protonada em $m/z = 263$ para o complexo (7) e da espécie $(\text{Py})^+$ para o complexo (8). Ademais é observado um fragmento da parte final do ligante H_2L^4 em ambos espectros em $m/z = 136$.

Os resultados observados na espectrometria de massas para os dois ditiocarbazatos livres e para os quatro complexos de níquel(II) corroboram com as outras técnicas de caracterização e sugerem as mesmas estruturas presentes em estado sólido e em solução.

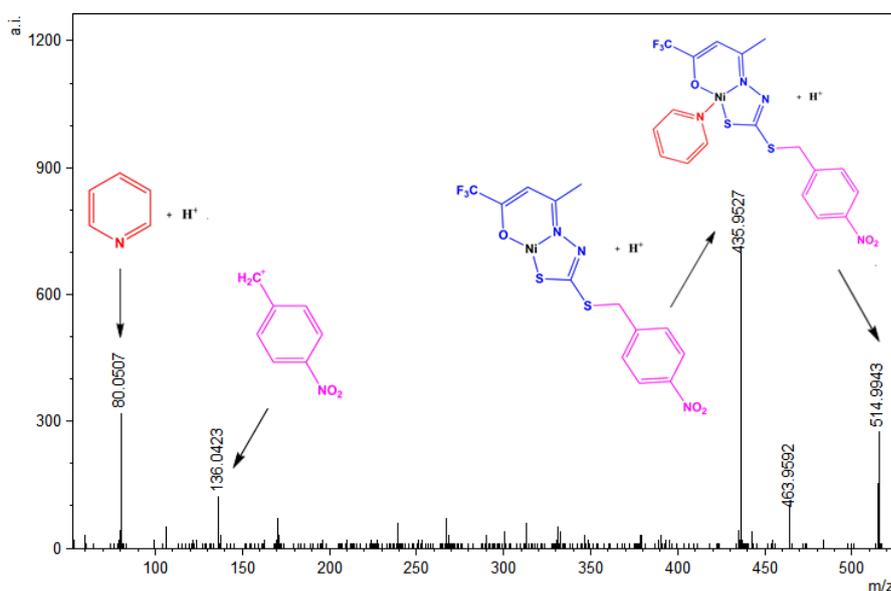


Figura 74. Espectro de ESI-MSMS para o complexo (8).

4.2.6. Ressonância Magnética Nuclear de ^1H

Conforme já indicado, ditiocarbazatos derivados de β -dicetonas podem estar predominantemente em sua forma isomérica cíclica ou acíclica. Estes podem inclusive terem comportamento distinto em estado sólido e em solução, e a RMN de ^1H pode ser usada para indicar a espécie predominante no equilíbrio.⁴⁴ Com este objetivo, foi obtido o espectro de RMN de ^1H para o ligante H_2L^3 , conforme mostrado na Figura 75, com dados resumidos na Tabela 13.

Destaca-se inicialmente que há dois indicativos de que a espécie predominante é a forma isomérica fechada, tal como ocorre em estado sólido, pois há dupletos em 3,32 ppm e 3,64 ppm que podem ser atribuídos aos átomos de hidrogênio H3a e H3b com constante de acoplamento igual a $^2J = 19,8$ Hz e sendo observados também dupletos em 4,35 ppm e 4,30 ppm que podem ser atribuídos aos hidrogênios H7a e H7b da parte final do ligante com constante de acoplamento igual a $^2J = 13,9$ Hz. Este comportamento é semelhante ao observado por Sousa¹¹²

o qual descreveu ligantes derivados de β -dicetonas, que estavam predominantemente fechados em solução e são diferentes, por exemplo, do ligante descrito por Mirza⁵⁰, o qual estava em sua forma aberta e estes sinais apareciam no espectro como dois simpletos.

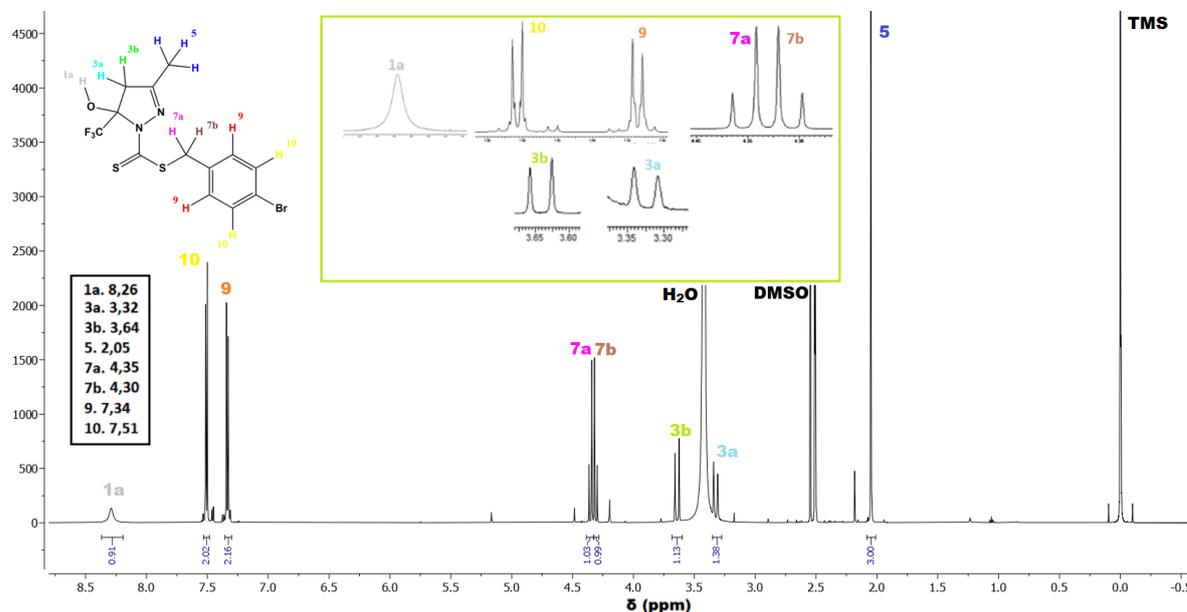


Figura 75. Espectro de RMN ^1H para H_2L^3 (em DMSO-D_6 , 7T).

Tabela 13. Dados do espectro de RMN ^1H para H_2L^3 .

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,05	simpleto	3	-	5 (CH ₃)
3,32	dupleto	1	$^2J_{\text{H}3\text{a}-\text{H}3\text{b}} = 19,8$ Hz	3a (CH ₂)
3,64	dupleto	1	$^2J_{\text{H}3\text{a}-\text{H}3\text{b}} = 19,8$ Hz	3b (CH ₂)
4,30	dupleto	1	$^2J_{\text{H}7\text{a}-\text{H}7\text{b}} = 13,9$ Hz	7b (S-CH ₂)
4,35	dupleto	1	$^2J_{\text{H}7\text{a}-\text{H}7\text{b}} = 13,9$ Hz	7a (S-CH ₂)
7,34	dupleto	2	$^3J_{\text{H}9-\text{H}10} = 8,44$ Hz	9 (-CH ⁹ _{Ar=})
7,51	dupleto	2	$^3J_{\text{H}9-\text{H}10} = 8,44$ Hz	10 (-CH ¹⁰ _{Ar=})
8,26	simpleto	1	-	1a (O-H)

A diferença do ambiente químico de cada par de átomos de hidrogênio H3a/H3b e H7a/H7b pode ser explicada se compararmos o efeito da estrutura cíclica em cada núcleo. O hidrogênio H3b aparece em um valor de deslocamento químico maior que o H3a, pois com a rigidez da estrutura, H3b poderia estar mais desblindado por estar mais próximo (mesmo plano) de um

grupo contendo um átomo mais eletronegativo, como é o caso do grupo -OH. No caso dos átomos de hidrogênio H7a/H7b, o efeito de anisotropia do anel aromático pode influenciar na maior desblindagem do hidrogênio que se encontra em um menor ângulo (mais próximo) com relação ao plano do anel aromático. Uma sugestão para esta possibilidade de rigidez da estrutura é a presença de uma ligação de hidrogênio não clássica entre um dos hidrogênios e o enxofre do grupo C=S do ditiocarbazato, cuja distância medida pela difração de raios X de monocristal foi de 2,6635 (11) Å para H7a...S=C, sendo menor que a soma dos raios de van der Wals dos dois átomos.^{77,118}

É possível observar ainda no espectro, em uma faixa característica, os dupletos correspondentes aos átomos de hidrogênio aromáticos H9 e H10, com constante de acoplamento igual a $^3J = 8,4$ Hz.^{31,77} Ademais, podem ser identificados os átomos de hidrogênio H5 da metila pelo simpleto em 2,05 ppm, além de um sinal mais alargado em 8,26 ppm que pode ser atribuído ao H1a ligado ao oxigênio.

Dado à similaridade estrutural entre os dois ligantes, o espectro de RMN de ^1H para o ligante H_2L^4 mostra o mesmo padrão que para H_2L^3 , conforme ilustra a Figura 76, com dados resumidos na Tabela 14.

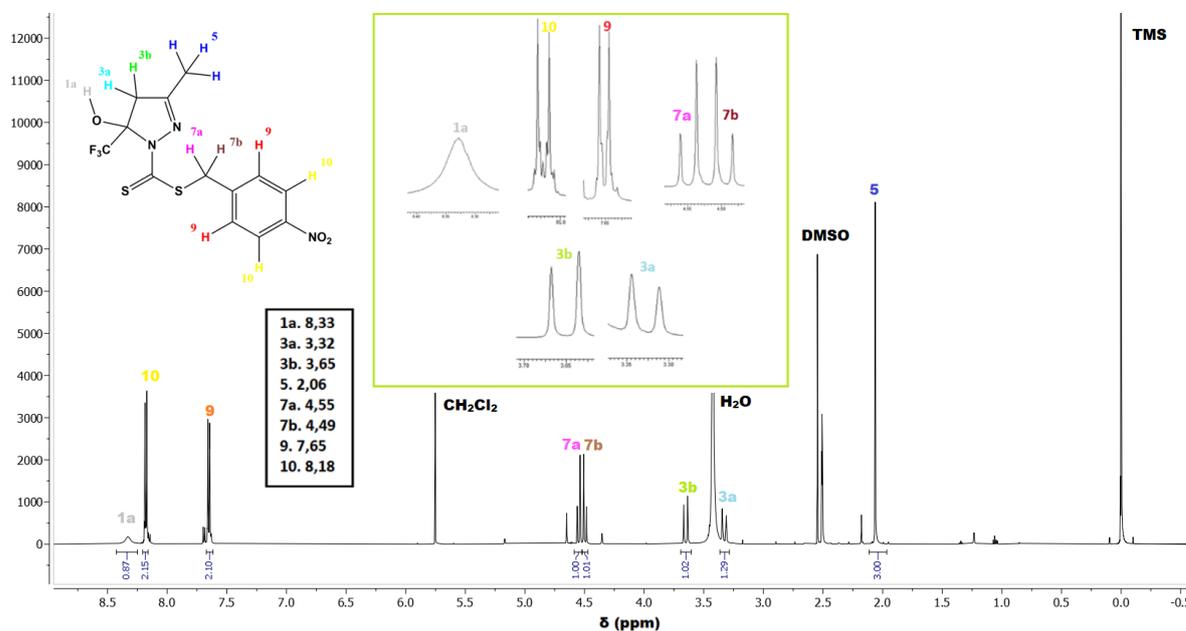


Figura 76. Espectro de RMN ^1H para H_2L^4 (em DMSO-D_6 , 7T).

O sinal mais blindado do espectro corresponde aos três átomos de hidrogênio H5 da metila. São observados dois dupletos em 3,32 ppm e 3,65 ppm, atribuídos aos átomos de hidrogênio H3a e H3b do grupo $-\text{CH}_2-$, cuja constante de acoplamento medida foi de 19,8 Hz. Os átomos

de hidrogênio H7a e H7b são correspondentes aos dupletos em 4,49 ppm e 4,55 ppm, com $^2J = 14,3$ Hz. Os sinais dos átomos de hidrogênio H9 e H10 aromáticos aparecem em um maior deslocamento químico em comparação com H₂L³, em 7,65 ppm e 8,18 ppm, isso porque o grupo -NO₂ ligado ao anel aromático é um grupo retirador e faz com que estes átomos de hidrogênio fiquem mais desblindados.⁷⁷ O sinal observado em 8,33 ppm pode ser atribuído ao H1a da hidroxila.

Tabela 14. Dados do espectro de RMN ¹H para H₂L⁴.

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,06	simpleto	3	-	5 (CH ₃)
3,32	dupleto	1	$^2J_{H3a-H3b} = 19,8$ Hz	3a (CH ₂)
3,65	dupleto	1	$^2J_{H3a-H3b} = 19,8$ Hz	3b (CH ₂)
4,49	dupleto	1	$^2J_{H7a-H7b} = 14,3$ Hz	7b (S-CH ₂)
4,55	dupleto	1	$^2J_{H7a-H7b} = 14,3$ Hz	7a (S-CH ₂)
7,65	dupleto	2	$^3J_{H9-H10} = 8,8$ Hz	9 (-CH ⁹ _{Ar})
8,18	dupleto	2	$^3J_{H9-H10} = 8,8$ Hz	10 (-CH ¹⁰ _{Ar})
8,33	simpleto	1	-	1a (O-H)

De forma geral, os resultados observados para os dois ditiocarbazatos livres estão em concordância com as outras técnicas de caracterização anteriormente discutidas tanto em estado sólido como em solução, além de estarem de acordo com outros ligantes similares já relatados em outros estudos semelhantes.^{44,112}

As Figuras 77 e 78 mostram os espectros de RMN de ¹H para os complexos (5) e (7), com dados resumidos nas Tabelas 15 e 16, que serão discutidos em conjunto, dado a sua semelhança estrutural.

Os simpletos que aparecem na faixa 2,39-2,41 ppm, para os dois complexos, podem ser atribuídos aos átomos de hidrogênio H5 das metilas. Os átomos de hidrogênio H7 do grupo CH₂, diferentemente dos ligantes livres, aparecem nos complexos como um sinal alargado integrando para 2H em 4,28 ppm no complexo (5) e 4,43 ppm no complexo (7). Com a desprotonação do ligante para a coordenação ao íon níquel(II), são observados sinais em 5,89 ppm e 5,58 ppm para (5) e (7), respectivamente, que podem ser atribuídos ao hidrogênio 3H do

grupo CH, além disso, observa-se a ausência de sinal em aproximadamente 8,30 ppm, indicando a desprotonação do O-H.

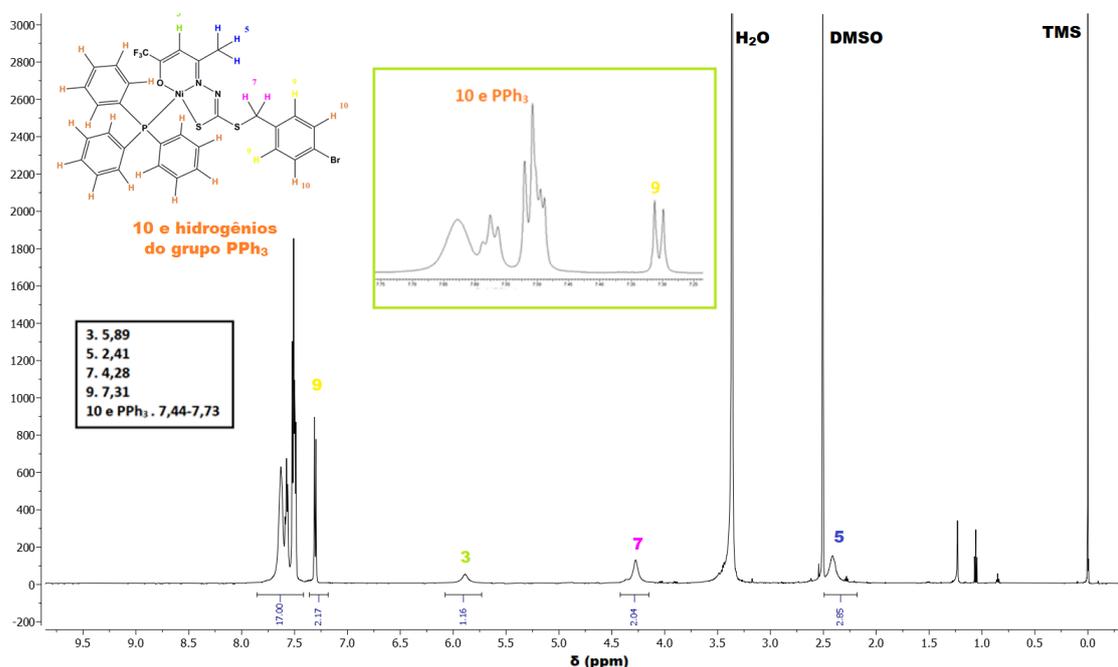


Figura 77. Espectro de RMN ^1H para o complexo (5) (em DMSO-D_6 , 7T).

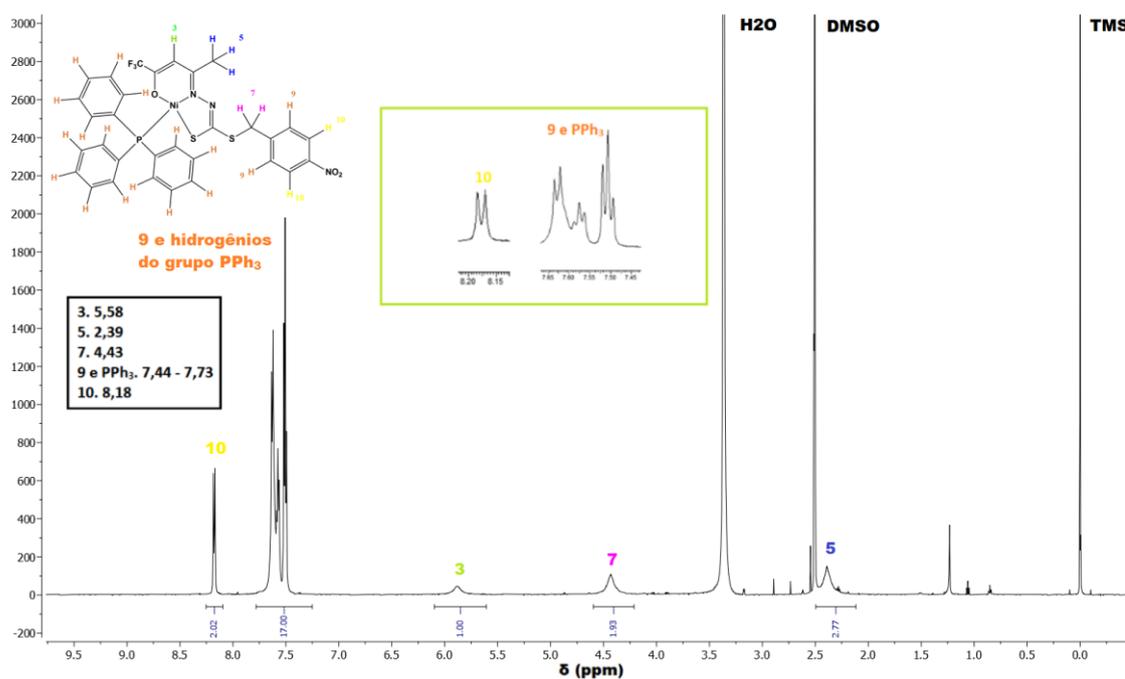


Figura 78. Espectro de RMN ^1H para o complexo (7) (em DMSO-D_6 , 7T).

Os átomos de hidrogênio aromáticos, tanto da fração final dos ditiocarbazatos quanto da trifenilfosfina são correspondentes aos sinais entre 7,31-8,18 ppm, de acordo com o esperado⁷⁷, sendo que a integral dos sinais é proporcional aos hidrogênios das estruturas propostas. Ademais, sinais atribuídos aos átomos de hidrogênio da trifenilfosfina aparecem como

multipletos em outros ditiocarbazatos da literatura em deslocamentos químicos semelhantes como descrito por Lima⁶⁵ para um complexo de níquel(II) com trifenilfosfina, cujo deslocamento ficou entre 7,45-7,70 ppm e descrito por Elsayed⁴⁵ que elucidou um complexo cujos átomos de hidrogênio do grupo PPh₃ foram atribuídos aos sinais entre 7,24–7,70 ppm.

Tabela 15. Dados do espectro de RMN ¹H para o complexo (5).

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,41	simpleto	3	-	5 (CH ₃)
4,28	simpleto	2	-	7 (S-CH ₂)
5,89	simpleto	1	-	3 (CH)
7,31	dupleto	2	${}^3J_{H9-H10} =$ 8,4 Hz	9 (-CH ⁹ _{Ar=})
7,44-7,33	multipletos	17	-	10 (-CH ¹⁰ _{Ar=}) e H (PPh ₃)

Tabela 16. Dados do espectro de RMN ¹H para o complexo (7).

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
2,39	simpleto	3	-	5 (CH ₃)
4,43	simpleto	2	-	7 (S-CH ₂)
5,58	simpleto	1	-	3 (CH)
7,44-7,73	multipletos	17	-	9 (-CH ⁹ _{Ar=}) e H (PPh ₃)
8,18	dupleto	2	${}^3J_{H9-H10} =$ 8,4 Hz	10 (-CH ¹⁰ _{Ar=})

Os espectros de RMN de ¹H para os complexos (6) e (8), que apresentam uma molécula de piridina como coligante, estão apresentados nas Figuras 79 e 80, com dados resumidos nas Tabelas 17 e 18.

Os dois complexos apresentam espectros semelhantes. Os simpletos entre 1,23-1,82 ppm são atribuídos aos átomos de hidrogênio do grupo CH₃; os simpletos entre 4,09-4,14 ppm são atribuídos aos átomos de hidrogênio do grupo S-CH₂ e os sinais em 5,28 ppm para o complexo (6) e 4,71 ppm para o complexo (8), integrando para 1H, são atribuídos aos átomos de hidrogênio do grupo CH, já que ocorre a desprotonação do ligante para coordenação.

Adicionalmente são observados os sinais dos átomos de hidrogênio do anel aromático final dos ditiocarbazatos como dois dupletos em uma faixa característica⁷⁷, conforme constam nas Tabelas 18 e 19, com constantes de acoplamento igual a ${}^3J = 8,1$ e 8,4 Hz para os complexos (6) e (8), respectivamente. Os átomos de hidrogênio da piridina podem ser atribuídos aos sinais

mais desblindados do espectro, que aparecem na faixa 8,05-11,14 ppm, estando de acordo com compostos similares da literatura.^{65,116}

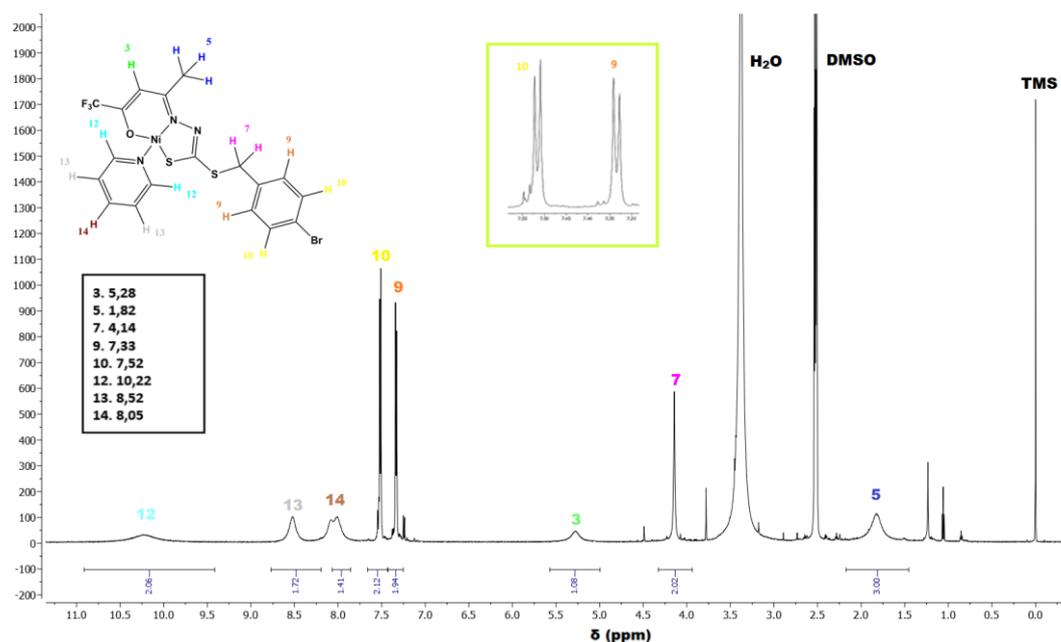


Figura 79. Espectro de RMN ¹H para o complexo (6) (em DMSO-D₆, 7T).

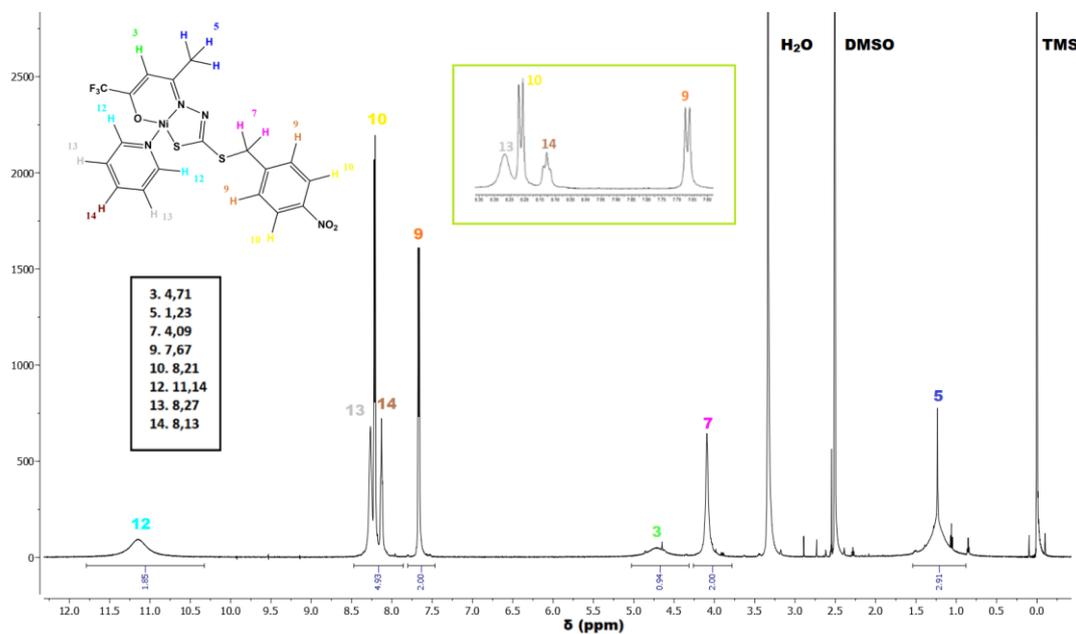


Figura 80. Espectro de RMN ¹H para o complexo (8) (em DMSO-D₆, 7T).

Tabela 17. Dados do espectro de RMN ¹H para o complexo (6).

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
1,82	simpleto	3	-	5 (CH ₃)
4,14	simpleto	2	-	7 (S-CH ₂)
5,28	simpleto	1	-	3 (CH)

7,33	dupleteo	2	$^3J_{H9-H10} = 8,1 \text{ Hz}$	9 ($-\text{CH}^9_{\text{Ar}=\text{}}$)
7,52	dupleteo	2	$^3J_{H9-H10} = 8,1 \text{ Hz}$	10 ($-\text{CH}^{10}_{\text{Ar}=\text{}}$)
8,05	multipleteo	1	-	14 (Py)
8,52	simpleto	2	-	13 (Py)
10,22	simpleto	2	-	12 (Py)

Tabela 18. Dados do espectro de RMN ^1H para o complexo (8).

δ (ppm)	Multiplicidade	Integral	J (Hz)	Atribuição
1,23	simpleto	3	-	5 (CH_3)
4,09	simpleto	2	-	7 (S- CH_2)
4,71	simpleto	1	-	3 (CH)
7,67	dupleteo	2	$^3J_{H9-H10} = 8,4 \text{ Hz}$	9 ($-\text{CH}^9_{\text{Ar}=\text{}}$)
8,13	multipleteo	1	-	14 (Py)
8,21	dupleteo	2	$^3J_{H9-H10} = 8,4 \text{ Hz}$	10 ($-\text{CH}^{10}_{\text{Ar}=\text{}}$)
8,27	simpleto	2	-	13 (Py)
11,14	simpleto	2	-	12 (Py)

4.2.7. Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

Foram obtidos os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível para os ligantes H_2L^3 e H_2L^4 livres e para os quatro complexos de Ni(II), (5)-(8) em dois diferentes solventes: metanol e dimetilsulfóxido. As Figuras 81 e 82 mostram os espectros obtidos para H_2L^3 e seus complexos (5) e (6) e para H_2L^4 e seus complexos (7) e (8), respectivamente. A Tabela 19 mostra um resumo dos resultados obtidos.

Nos espectros de absorção dos ligantes livres H_2L^3 e H_2L^4 , é possível observar bandas correspondentes à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo azometina em torno de 275-297 nm em MeOH e em torno de 284-302 nm em DMSO.^{80,120} No espectro do ligante H_2L^3 também são observadas bandas em 238 nm e 389 nm em MeOH e 258 nm e 396 nm em DMSO, que já foram atribuídas como sendo transições $\pi \rightarrow \pi^*$ de grupos aromáticos e $n \rightarrow \pi^*$ da porção ditiocarbazato, respectivamente.^{116,120} Nos espectros dos complexos, é possível observar um deslocamento hipsocrômico da banda $\pi \rightarrow \pi^*$ correspondente à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da azometina, que diminui para a faixa de 259-268 nm em MeOH e 265-271 nm em DMSO, o que é um indicativo da coordenação do grupo ao átomo de Ni(II), conforme já indicado na difração de raios X de monocristal e nas demais técnicas apresentadas ao longo desta seção.⁶⁵

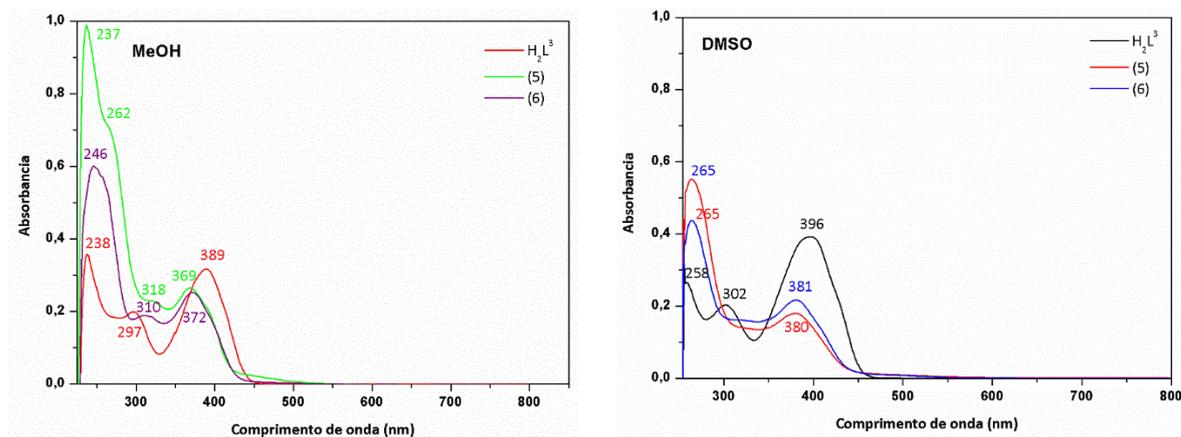


Figura 81. Espectros eletrônicos dos compostos HL^3 , (5) e (6) em MeOH e DMSO.

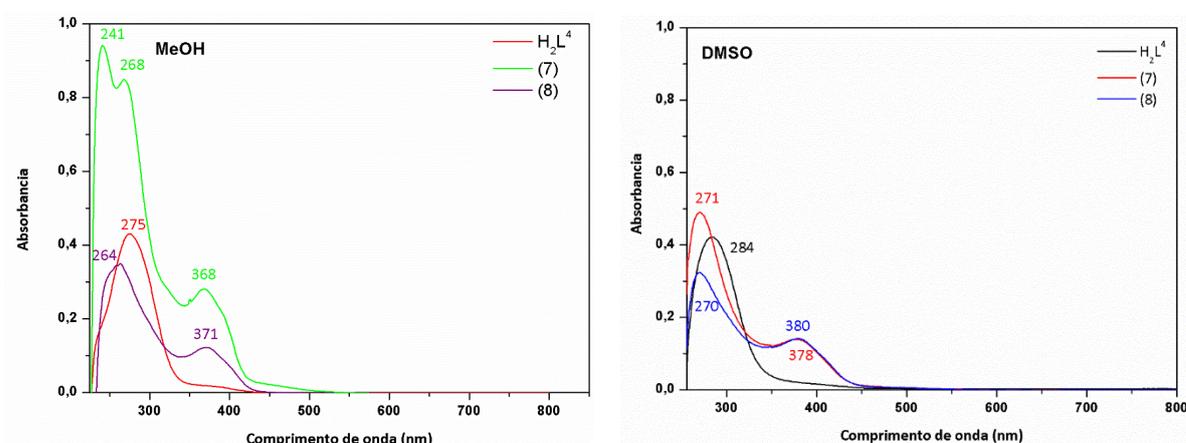


Figura 82. Espectros eletrônicos dos compostos HL^4 , (7) e (8) em MeOH e DMSO.

Tabela 19. Resultados da análise de espectroscopia eletrônica para os compostos H_2L^3 , H_2L^4 , (5)-(8) em concentração de $2 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.

		$\pi - \pi^{*a}$	$\text{Log } \epsilon^b$	$n - \pi^{*a}$	$\text{Log } \epsilon^b$	LMCT ^a	$\text{Log } \epsilon^b$
H_2L^3	MeOH	238 e 297	4,25 e 3,99	389	4,20	-	-
	DMSO	258 e 302	4,12 e 4,01	396	4,29	-	-
H_2L^4	MeOH	275	4,33	-	-	-	-
	DMSO	284	4,32	-	-	-	-
(5)	MeOH	237 e 262	4,69 e 4,55	318	4,06	369	4,12
	DMSO	265	4,44	-	-	380	3,95
(6)	MeOH	246 e 259	4,48 e 4,45	310	3,97	372	4,10
	DMSO	265	4,34	-	-	281	4,03
(7)	MeOH	241 e 268	4,67 e 4,63	-	-	368	4,15
	DMSO	271	4,39	-	-	378	3,84
(8)	MeOH	264	4,24	-	-	371	3,79
	DMSO	270	4,20	-	-	380	3,84

a) Valores em nm; b) $\epsilon = A/cl$, onde A é a absorbância, c é a concentração e l é o caminho ótico (1 cm).

Ainda foi possível observar no espectro dos quatro complexos na faixa de 368-372 nm em MeOH e 378-381 nm em DMSO, bandas que podem ser atribuídas à transferência de carga ligante-metal (TCLM), já atribuído em outros estudos como sendo uma indicação da coordenação do ditiocarbazato ao átomo de Ni(II) pelo átomo de enxofre do grupo tiolato.^{21,45,120} De forma geral, os dados corroboram com as outras técnicas já discutidas e sugerem que as mesmas espécies estão presentes em estado sólido e em solução.

Não foi possível observar as transições d-d nos complexos de Ni(II) apresentados nesta seção, mesmo gerando espectros em uma maior concentração (2×10^{-3} mol.L⁻¹). Há estudos que sugerem que bandas de transição d-d correspondentes às transições $^1A_{1g} \rightarrow ^1A_{2g}$, $^1A_{1g} \rightarrow ^1B_{1g}$ e $^1A_{1g} \rightarrow ^1E_g$ são esperadas em complexos quadrados de Ni(II), porém estariam na região de 385–420 nm sobrepostas às bandas de TCLM.^{45,116}

4.2.8. Avaliação da citotoxicidade *in vitro* dos ligantes H₂L³, H₂L⁴ e complexos (5)-(8).

A citotoxicidade dos ligantes H₂L³, H₂L⁴ e complexos (5)-(8) foi avaliada *in vitro* contra quatro linhagens celulares de câncer humano: linhagem celular de glioma humano U-251, duas linhagens de células de leucemia, 697 e Nalm-6 e uma linhagem celular de câncer de mama, MDA-MB-231. De forma geral os resultados indicaram que os compostos apresentam atividade biológica em uma baixa faixa de concentração, o que indica alta eficiência como potenciais fármacos, ademais é importante destacar que a resposta variou de acordo com o tipo de célula testada, como pode ser observado pelos valores de IC₅₀ mostrados na Tabela 20.

Tabela 20. Valores de IC₅₀ em μM (estimados por regressão não linear dos dados de viabilidade celular).

Linhagem celular	IC ₅₀ (Concentração necessária para inibir 50% de células)					
	H ₂ L ³	H ₂ L ⁴	(5)	(6)	(7)	(8)
NALM-6	25,4 ± 0,016	12,5 ± 0,028	40,3 ± 0,029	8,5 ± 0,022	20,6 ± 0,030	17,2 ± 0,030
697	27,4 ± 0,010	27,1 ± 0,012	23,6 ± 0,098	30,3 ± 0,014	65,6 ± 0,020	13,4 ± 0,023
U251	29,7 ± 0,024	29,7 ± 0,019	>150	23,3 ± 0,016	>150	50,9 ± 0,029
MDA-MB-231	89,3 ± 0,096	74,8 ± 0,036	69,6 ± 0,066	10,5 ± 0,020	37,6 ± 0,140	21,9 ± 0,031

Observou-se que os ligantes H₂L³ e H₂L⁴ livres, mesmo com estruturas semelhantes, apresentam valores de IC₅₀ próximos para as linhagens 697 e U251 e diferentes para NALM-6 e MDA-MB-231, o que mostra que pequenas variações nas estruturas dos ditiocarbazatos podem ou não alterar os resultados observados a depender da célula testada. De fato, as células tumorais exibem diferentes padrões bioquímicos e vias de sinalização de acordo com o tecido original. Se uma molécula interage com uma proteína específica, por exemplo, espera-se que a

resposta biológica reflita a relevância daquela proteína para a manutenção da viabilidade celular.^{121–123} Por outro lado, os valores de IC₅₀ mostraram que em alguns casos houve a potencialização da atividade após a complexação com o centro de Ni(II). Este comportamento ocorreu, por exemplo, em todos os casos para a linhagem MDA-MB-231, em que os melhores resultados foram observados para os complexos (6) e (8), com valores de IC₅₀ inferiores aos de fármacos antineoplásicos clássicos frequentemente usados na terapia clínica do câncer de mama, como o docetaxel e irinotecano, que já tiveram o IC₅₀ estimado em 22 μ M e 110 μ M, respectivamente.³¹

Além disso, não apenas foi observada uma diferença na suscetibilidade (IC₅₀), mas os dados mostraram diferentes perfis de resposta entre as linhagens celulares, indicando uma ação direcionada, como mostram os gráficos na Figura 83.

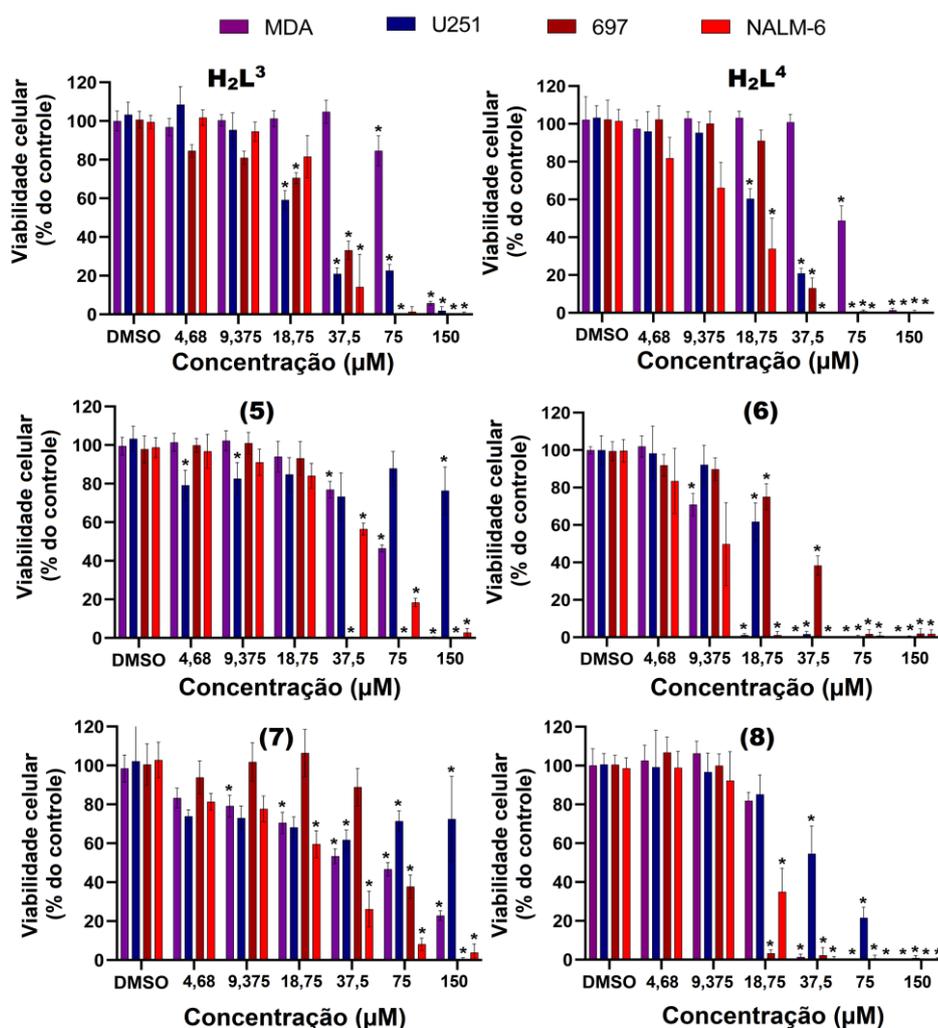


Figura 83. Avaliação dos efeitos citotóxicos pelo ensaio MTT/resazurina. O asterisco indica viabilidade celular significativamente diferente do respectivo controle - DMSO. DMSO a 0,01% não afetou a viabilidade celular de nenhuma linhagem celular.

Com exceção da linhagem 697, os melhores resultados foram observados para o complexo (6), no qual ocorreu a potencialização da atividade após a complexação ao centro metálico. Este resultado é evidenciado, por exemplo, pelos valores da viabilidade celular na concentração de 37,5 μM , os quais foram de 14,1%, 20,9% e 99,8% para o ligante H_2L^3 livre e de 0%, 1,6% e 0,15% para o complexo (6), para as linhagens NALM-6, U251 e MDA-MB-231, respectivamente.

Sob outra perspectiva, se compararmos os valores de IC_{50} de 23,3 μM e 50,9 μM , ou de viabilidade celular na concentração de 37,5 μM - 1,61% e 54,6% para os complexos (6) e (8) respectivamente, frente a linhagem celular de glioma humano U251, ocorre um comportamento semelhante aos complexos de Cu(II) apresentados na seção 4.1 deste trabalho, onde o complexo que contém o átomo de -Br como substituinte do anel aromático apresenta melhores resultados que aquele que possui o grupo $-\text{NO}_2$.⁵⁵

A Figura 84 mostra as curvas concentração-resposta de todos os compostos testados em cada linhagem celular. Esta abordagem gráfica da comparação entre os compostos permitiu também uma análise preliminar sobre a relevância das características estruturais na atividade biológica dos compostos.

Exceto para a linhagem 697, para as quais não foram observadas diferenças significativas, o complexo (6) foi mais tóxico que o complexo (5). Por outro lado, exceto para NALM-6, também sem diferenças significativas, o complexo (8) foi mais ativo que o complexo (7). Mais interessante, as atividades dos compostos (5) e (7) foram completamente anuladas nas células U251 de glioma humano. Essas descobertas indicam que o coligante trifenilfosfina presente nos complexos (5) e (7) diminuem sua atividade biológica, enquanto que o coligante piridina presente nas estruturas de (6) e (8), mantém ou potencializa a atividade. Existem duas hipóteses principais para explicar esse fenômeno, a primeira é que essa porção da molécula é relevante para a interação com um alvo, e a segunda é que o tamanho do grupo PPh_3 pode impedir a ação devido ao impedimento estérico gerado. Ainda com relação a estudos prévios da literatura, os resultados observados para os complexos (6) e (8) são melhores, por exemplo, que os observados para um complexo semelhante⁶⁵ frente a linhagem MDA-MB-231, o qual teve seu IC_{50} estimado como 59,3 μM , valor superior aos valores observados para os complexos apresentados no presente trabalho (10,5-21,9 μM).

De forma geral os resultados mostraram o potencial dos complexos de Ni(II) como protótipos de novas drogas antitumorais, além de fornecer indicações sobre parte das estruturas que proporcionam um aumento da atividade a depender da linhagem celular. Além disso, é

importante destacar que, apesar da atividade antitumoral já ter sido demonstrada para complexos de Ni(II) que visam DNA¹²⁴ e proteínas quinases¹²⁵, este não é um metal tão frequente em estudos farmacológicos (Cu e Zn são muito mais comuns de serem encontrados na literatura especializada, por exemplo), tornando os complexos de Ni(II) um campo promissor e com muitas oportunidades a serem exploradas.

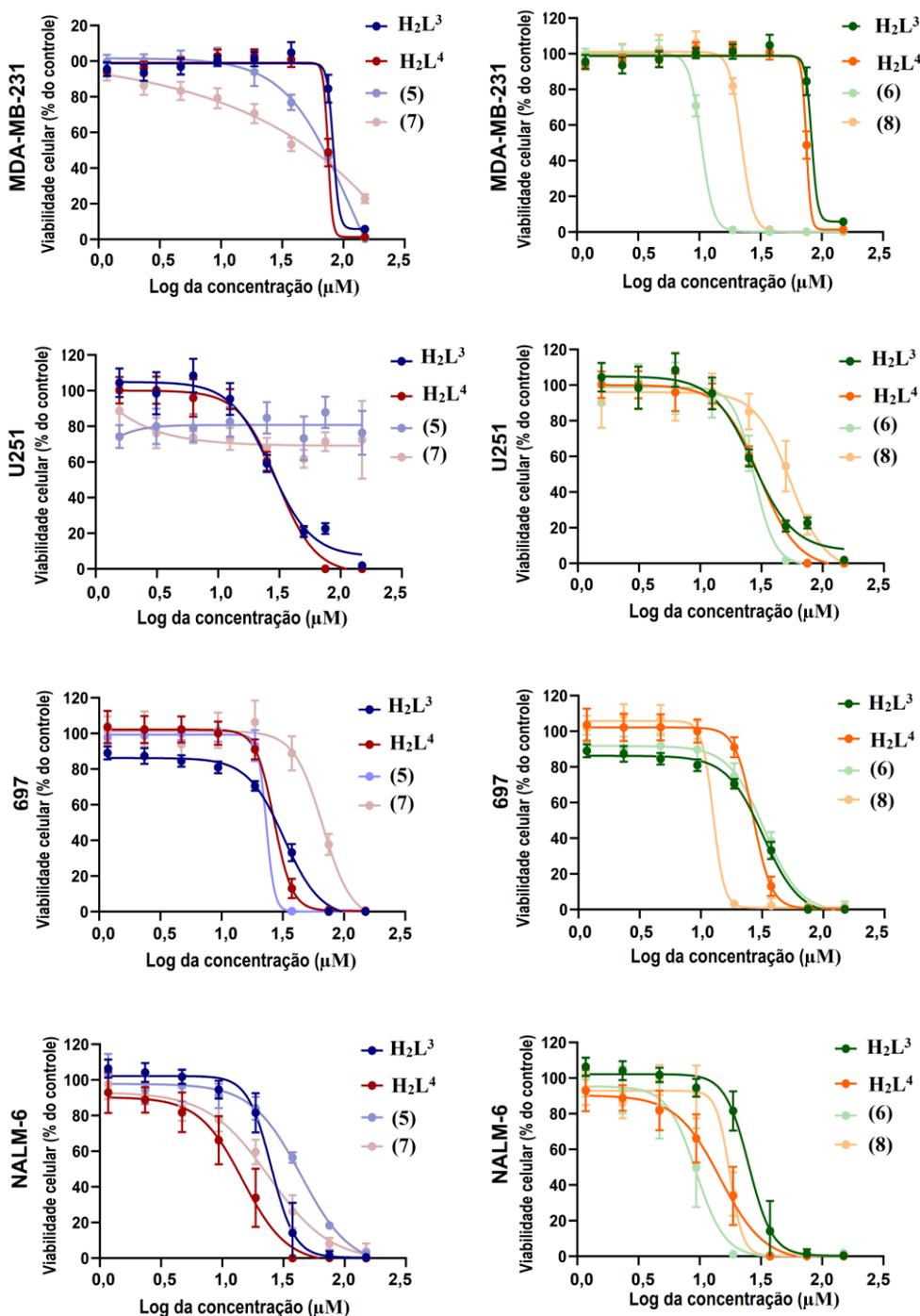


Figura 84. Curvas concentração-resposta de todos os compostos testados em cada linhagem celular após 72 h de exposição.

4.2.9. Estudo de docking molecular

Com o objetivo de entender melhor como cada composto estudado nesta seção pode interagir com algumas enzimas expressas no código genômico das quatro linhagens celulares cancerosas testadas e indicar possíveis alvos que expliquem os resultados observados no teste de viabilidade celular discutido na seção 4.2.8, foram realizadas uma série de simulações *in silico* através da metodologia de *docking* molecular. Para tanto, foi levado em consideração o uso de diferentes proteínas para cada célula-alvo, cuja escolha está descrita detalhadamente na parte experimental (seção 3.4.5).

A Tabela 21 mostra os valores de pontuação obtidos neste estudo. Quando comparados com os valores apresentados na Tabela 20 (que ilustra os valores de IC₅₀% calculados pelo teste MTT) observa-se uma boa concordância entre a sequência de inibição observada experimentalmente e os valores de pontuação observados nos estudos de *docking* pelos compostos. Para fins de melhor visualização, a Tabela 22 ilustra uma comparação entre os resultados, em que é possível notar em quase todos os casos a concordância total entre os dados.

Como o alvo proteína-receptor é diferente para cada tipo de célula estudado neste trabalho, os resultados dos estudos de *docking* serão discutidos separadamente em diferentes seções para facilitar a visualização e compressão das interações observadas entre os receptores e os seis compostos aqui estudados. Nas próximas seções, serão descritos e discutidos a composição do sítio ativo e os principais resíduos envolvidos na função catalítica das enzimas, bem como as interações observadas.

Tabela 21. Valores de afinidade de ligação/pontuação* calculados através da função de pontuação ASP para os compostos obtidos para cada tipo de célula.

<i>Linhagem celular</i>	Código da enzima	H₂L³	H₂L⁴	(5)	(6)	(7)	(8)
<i>NALM-6</i>	4KCG	13,03	27,78	10,66	30,74	15,93	17,95
<i>697</i>	7DW5	15,72	16,31	16,56	15,33	10,09	17,10
<i>U251</i>	6OQO	18,13	16,82	14,23	27,46	7,44	21,76
<i>MDA-MB-231</i>	6VJ3	20,36	22,16	25,44	34,03	29,59	32,46

*Os valores de pontuação são adimensionais

Tabela 22. Comparação da sequência de maior atividade biológica (menores valores de IC₅₀ calculados experimentalmente) e de maiores valores de pontuação (teóricos).

Linhagem celular	Sequência teórica/ Sequência experimental
NALM-6	(6) > H ₂ L ⁴ > (8) > (7) > H ₂ L ³ > (5) (6) > H ₂ L ⁴ > (8) > (7) > H ₂ L ³ > (5)
697	(8) > (5) > H ₂ L ⁴ > H ₂ L ³ > (6) > (7) (8) > (5) > H ₂ L ⁴ > H ₂ L ³ > (6) > (7)
U251	(6) > (8) > H ₂ L ³ > H ₂ L ⁴ > (5) > (7) (6) > H ₂ L ³ e H ₂ L ⁴ > (8) > (5) e (7)
MDA-MB-231	(6) > (8) > (7) > (5) > H ₂ L ⁴ > H ₂ L ³ (6) > (8) > (7) > (5) > H ₂ L ⁴ > H ₂ L ³

4.2.9.1. Docking Molecular - células NALM-6

O sítio ativo da enzima desoxicitidina quinase humana (dCK) é dividido em dois subsítios conforme ilustra a Figura 85. Para esse alvo foram realizados dois estudos de *docking*: o primeiro foi realizado considerando a região do sítio ativo de ligação localizada na mesma região do inibidor DI-39 (em vermelho), e no segundo estudo levamos em consideração a região do ligante UDP (em azul) para selecionar o melhor sítio ativo de ligação. Os resultados indicaram que os seis compostos estudados possuem um melhor ajuste e afinidade molecular com o sítio ativo localizado na região do ligante UDP, onde foi possível observar mais interações e valores de pontuação maiores do que aqueles formados com os resíduos relacionados ao ligante DI-39.

Como pode ser observado nas Tabelas 21 e 22 e também na Figura 81, o complexo (6) e o ligante H₂L⁴ são as moléculas mais bem classificadas e mais ativas tanto no estudo de IC₅₀% como nos estudos de *docking*, estabelecendo mais interações com o sítio ativo da enzima estudada. Ao verificar, por exemplo, na Figura 81(C), os resíduos com os quais esses dois compostos interagem fica claro que as interações feitas são mais eficientes e podem torná-los mais ativos que os outros, indicando uma possível explicação dos resultados observados experimentalmente no ensaio de MTT.

As interações com o resíduo Gln97 são principalmente do tipo ligações de hidrogênio fortes, sendo que no caso do ligante UDP essa interação é feita a 2,96 Å de distância. O complexo (6) estabeleceu essa mesma interação com a distância de 2,62 Å (ver Figura 13.B) e o ligante H₂L⁴ com 2,97 Å (não mostrado). A maior quantidade de interações do tipo pi-alquil

(cor rosa na Figura 13B) observadas entre o complexo (6) e os resíduos Val55, Met85, Pro89, Fen96, Fen137 e Tir204 também são bons indicativos que este complexo se apresenta como o melhor inibidor desta enzima dentre os compostos estudados.

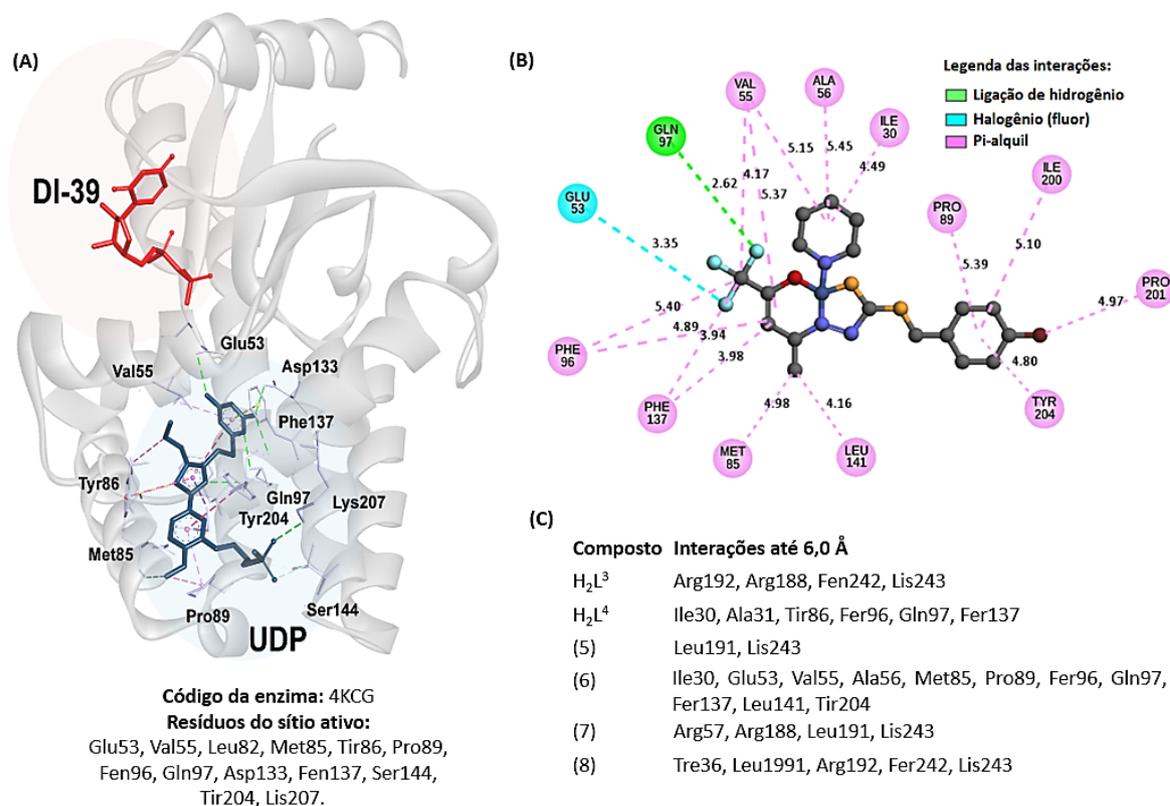


Figura 85. Resultados de docking molecular para a linhagem NALM-6. (A) Regiões dos sítios ativos do ligante UDP e do inibidor DI-39 e principais resíduos da enzima dCK. (B) Representação 2D das interações feitas entre o melhor composto classificado, complexo (6), e o sítio ativo. (C) Principais resíduos (mais próximos) do sítio ativo do receptor (distância até 6,0 Å) e todos os 6 compostos estudados.

4.2.9.2. Docking Molecular – células 697

Alguns estudos apontam que a inibição da proteína DUX4₁₋₁₅₀ pode representar uma estratégia terapêutica para o tratamento da leucemia. (Klinger, 2020). A proteína DUX4, ligada com os domínios 1 e 2 da imunoglobulina (DUX4₁₋₁₅₀-DNA_{ERG} HD1-HD2) e com o gene ERG_{ALT} tem sua atividade catalítica relacionada à interação entre os resíduos do sítio de conexão A e do sítio de conexão B, conforme ilustrado na Figura 82.

O mecanismo de biogênese oncogênica do gene ERG_{ALT} (formação do câncer) é ativado quando o átomo O_{E2} do resíduo Glu93 do sítio de conexão A (Linker A) estabelece uma forte ligação de hidrogênio (em torno de 2,20 Å) com o átomo de hidrogênio ligado ao N_{D2} do resíduo Asn41 do sítio de conexão B (Linker B).⁹³ Boa estratégia para evitar essa interação é o desenho

de moléculas capazes de interagir com ambos os ligantes na região onde estão localizados os resíduos Glu93 (sítio A) e Asn41 (sítio B). Assim, inibindo a junção dos dois monômeros das proteínas HD1 e HD2, a via de oncobiogênese do ERG_{ALT} pode ser bloqueada e evita o avanço da doença. Diante disso, foi realizado um estudo de *docking* considerando como receptor alvo a junção ligante dos resíduos DUX4₁₋₁₅₀-DNA_{ERG} HD1-HD2 e os seis compostos apresentados nesta seção, conforme ilustra a Figura 86.

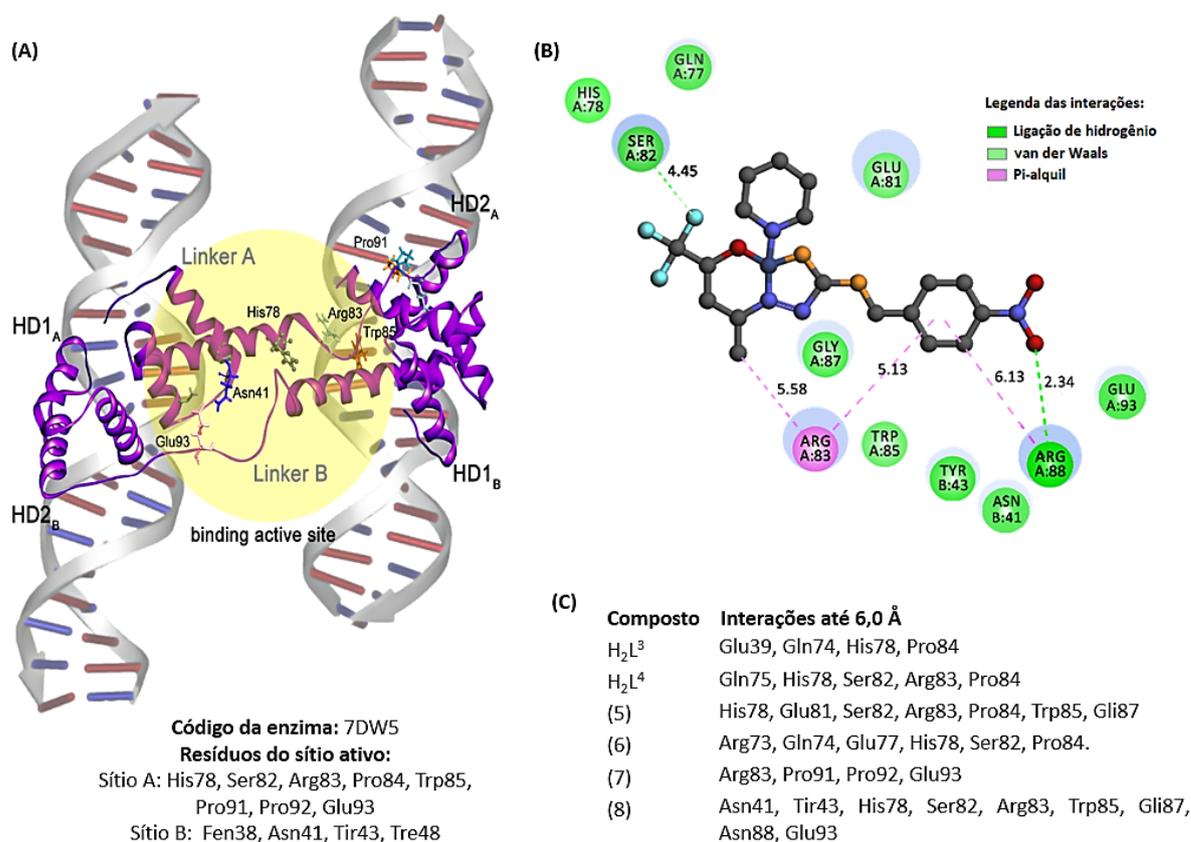


Figura 86. Resultados de *docking* molecular para a linhagem 697. (A) Regiões dos sítios ativos de ligação dos sítios de conexão A e B do complexo proteína-DNA (7DW5). (B) Representação 2D das interações feitas entre o melhor inibidor classificado, complexo (8), e o sítio ativo. (C) Principais resíduos mais próximos de ambos os sítios ativos do receptor 7DW5 (distância até 6,0 Å) e todos os 6 compostos estudados.

A simulação revela que o complexo (8) é capaz de interagir por meio de interações de van der Waals de médio alcance (distância até 6,0 Å) com os resíduos Asn41 (sítio de conexão B) e Glu93 (sítio de conexão A), conforme ilustra a Figura 82 (B) e (C). Além disso, este composto faz fortes interações do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo Arg88 (sítio de conexão A) e outros resíduos do monômero do sítio A através de interações de van der Waals e também do tipo pi-alquil. Este composto é o melhor inibidor em nossa série de moléculas para a linhagem

697. Os outros 5 compostos apresentaram interações apenas com resíduos do monômero da conexão A e isso pode explicar seu menor poder inibitório quando comparado ao complexo (8).

4.2.9.3. Docking molecular– células U251

A estrutura cristalográfica da enzima CDK6 (6OQO) foi tomada como a enzima para representar a linhagem U251 neste trabalho. A principal função da CDK6 é a regulação do ciclo celular através da fosforilação da proteína Rb, cuja função é prevenir o crescimento celular excessivo.⁹⁴ O desenvolvimento de um inibidor específico da CDK6 é um alvo terapêutico para o tratamento do câncer. Os resultados são ilustrados na Figura 87.

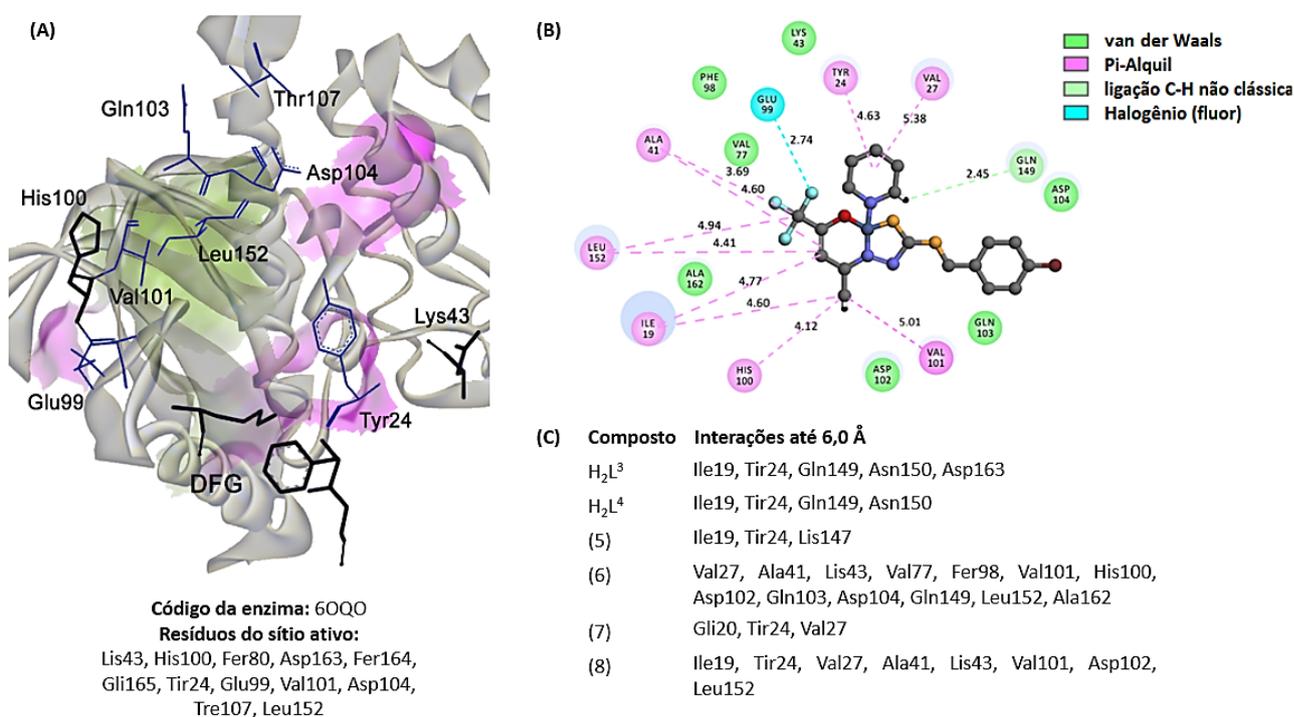


Figura 87. Resultados de *docking* molecular para a linhagem U251. (A) As regiões dos sítios ativos de ligação da proteína CDK6 quinase (6OQO). (B) Representação 2D das interações feitas entre o melhor inibidor classificado, complexo (6), e o sítio ativo. (C) Principais resíduos mais próximos de ambos os sítios ativos do receptor 6OQO (distância até 6,0 Å) e todos os 6 compostos estudados.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 20, de IC₅₀%, o complexo (6), seguido dos ligantes H₂L³ e H₂L⁴ são os inibidores de células U251 mais bem classificados. Porém, seguindo os valores apresentados na Tabela 21, das pontuações da função ASP, podemos observar que o complexo (8) seria o segundo inibidor mais potente em detrimento dos ligantes livres.

Levando em consideração os resíduos com os quais as moléculas em estudo interagem, conforme mostrado na Figura 83(C), os compostos (6) e (8) são os inibidores que mais

interagem com os resíduos do sítio ativo de ligação. Eles interagem com o resíduo Lis43, a lisina catalítica da CDK6 quinase, formando uma interação do tipo van der Waals de médio alcance. O complexo (6) é o mais potente inibidor da enzima CDK6, dentre as moléculas classificadas devido ao maior número de interações realizadas com os resíduos do sítio ativo de ligação da proteína. Dentre estes, é importante destacar a interação do pi-alquil com o resíduo His100 (4,12 Å) e a interação do halogênio (flúor) com o resíduo Glu99 (2,74 Å).

4.2.9.4. *Docking* molecular – células MDA-MB-231

A inibição da enzima anidrase carbônica (AC) humana pode ser a chave para evitar a acidificação do meio extracelular em diversos tipos de tumores.

Na estrutura cristalográfica da enzima AC, depositada no Banco de Dados de Proteínas sob o código 6VJ3 complexada com um inibidor à base de pirimidina denominado QYA, o inibidor apresenta fortes interações do tipo ligações de hidrogênio com alguns resíduos localizados no sítio ativo da enzima: ligações de hidrogênio entre os átomos do ligante QYA e os resíduos Asn67 (3,03 Å), Gln92 (2,04 Å), Leu198 (2,48 Å), Thr199 (2,23 Å) e Thr200 (2,50 Å) são observadas. Outras interações com outros resíduos como Phe131 (interações cátion-pi) e Val121 (interações pi-alquil), além de uma forte ligação covalente coordenada com o átomo de Zn (1,93 Å) são interações indicativas para o perfil de interações específicas de um inibidor eficiente.⁹⁶

Uma molécula para ser considerada um bom candidato a inibidor da enzima AC tem que estabelecer interações indicativas como descrito anteriormente, com os resíduos chaves do sítio ativo. Os resultados observados no presente estudo estão ilustrados na Figura 88.

O estudo de *docking* entre a enzima AC e as 6 moléculas propostas revela o complexo (6) como o melhor inibidor (Tabela 21, Figura 88). De forma geral, conforme ilustrado na Figura 84 (C), todas as moléculas interagem com alguns resíduos do sítio ativo da enzima. No entanto, os complexos (6), (7) e (8) realizam interações com resíduos-chave, como Val121, Leu198 e o íon metálico Zn. As interações do tipo metal-aceptor com o íon Zn e os complexos (6), (7) e (8) foram observadas nas distâncias de 1,63 Å, 1,76 Å e 3,32 Å, respectivamente. Por outro lado, o complexo (6) é o único composto a interagir com os resíduos Thr199 (2,89 Å) e Thr200 (2,72 Å) com fortes interações do tipo ligações de hidrogênio. Essas interações dão a esse composto um melhor perfil de inibição em comparação com as outras 5 moléculas estudadas.

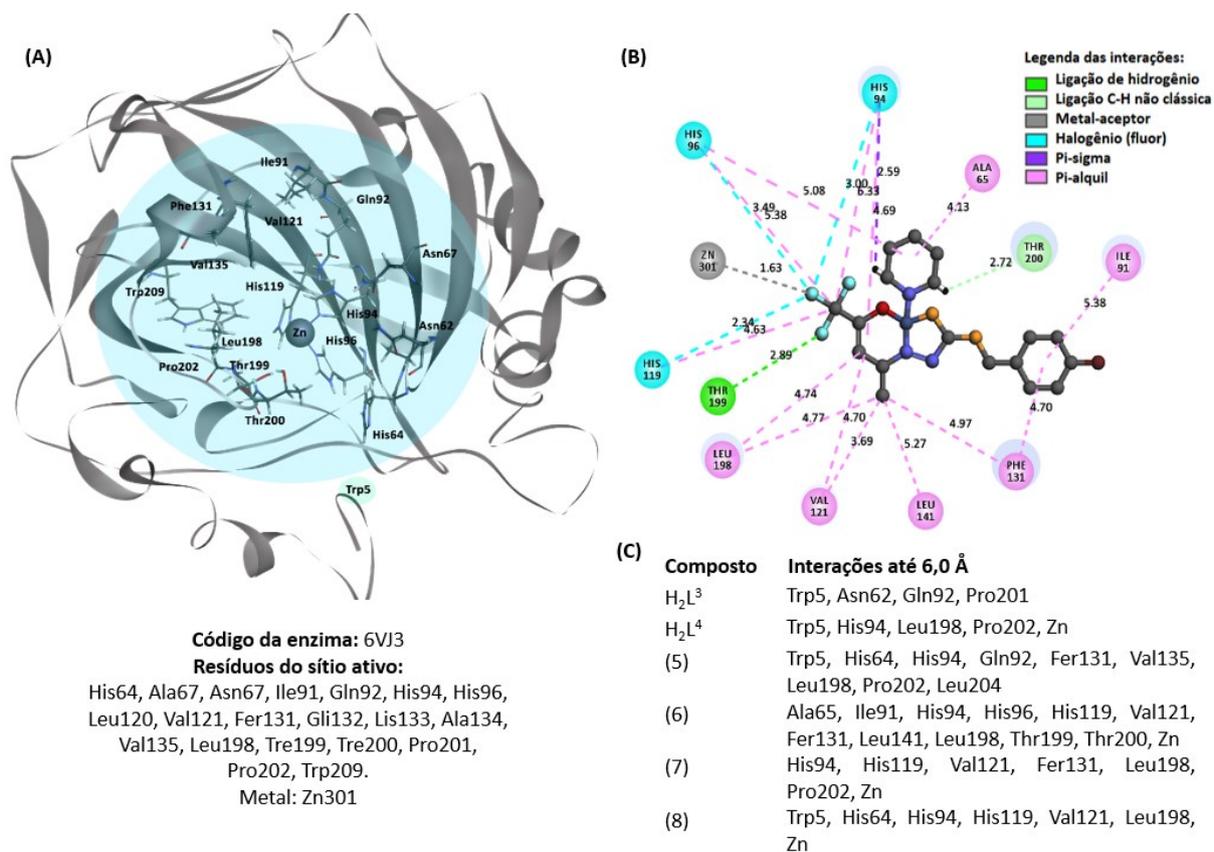


Figura 88. Resultados de *docking* molecular para a linhagem MDA-MB-231. (A) Regiões de sítios ativos de ligação da proteína AC (6VJ3). (B) Representação 2D das interações feitas entre o melhor inibidor classificado, complexo (6), e os resíduos do sítio ativo do receptor. (C) Principais resíduos mais próximos de ambos os sítios ativos do receptor 6VJ3 (distância até 6,0 Å) e todos os 6 compostos estudados.

5. CONCLUSÕES

5. CONCLUSÕES

Visto que o presente estudo teve como objetivo principal a síntese e elucidação estrutural de novos complexos metálicos derivados de ligantes ditiocarbazatos com potenciais aplicações biológicas, a partir dos resultados obtidos pode-se concluir que:

- I. Foram sintetizados quatro ditiocarbazatos (HL^1 , HL^2 , H_2L^3 e H_2L^4), dos quais os dois últimos são inéditos; e oito novos complexos, sendo quatro complexos de cobre(II) (1)-(4) derivados da 2-acetilpiridina e quatro complexos de níquel(II) (5)-(8) derivados da 1,1,1-trifluoro-2,4-pentanodiona;
- II. De acordo com os resultados da otimização das estruturas dos ligantes HL^1 e HL^2 e dos complexos (1)-(4) pelo método DFT semi-empírico B97-3c⁸¹, foi possível observar boa concordância entre os dados teóricos e experimentais, sendo que as diferenças entre os valores dos comprimentos de ligação calculados e experimentais para todos os complexos foram menores que 0,051 Å;
- III. Os quatro complexos de cobre(II) (1)-(4) tiveram a sua estrutura cristalina elucidada por difração de raios X de monocristal e os resultados mostraram que os ligantes se coordenaram ao centro metálico de forma desprotonada pelo sistema *NNS* e por seu tautômero tiol, ademais um íon cloreto ou brometo completa a esfera de coordenação do metal. Para todos os complexos observa-se geometrias quadradas levemente distorcidas. Além disso, foram observadas ligações de hidrogênio não usuais e interação de empilhamento $\pi \cdots \pi$ em todos os compostos obtidos;
- IV. O ligante H_2L^3 teve a sua estrutura cristalina elucidada por difração de raios X de monocristal e foi possível observar que ele está em sua forma fechada em estado sólido, sendo que os resultados da RMN de ¹H fornecem evidências que ele estaria predominantemente em sua forma fechada também em solução. Além disso, foi possível observar que ele cristaliza no seu tautômero tiona. Pelos dados da difração de raios X de monocristal foi possível observar ainda a presença de uma ligação de hidrogênio intramolecular, além de uma interação de empilhamento

$\pi \cdots \pi$, que ajudam na formação da rede cristalina. O ligante H_2L^4 foi caracterizado por um conjunto de técnicas que corroboram com a estrutura proposta;

- V. Os quatro complexos de níquel(II) (5)-(8) foram elucidados pela análise de difração de raios X de monocristal, apresentam número de coordenação igual a quatro para o átomo central, sendo que os ligantes se coordenam ao centro de Ni(II) duplamente desprotonados e pelos átomos de enxofre, nitrogênio e oxigênio, além de um átomo de fósforo de uma molécula de trifenilfosfina (complexos 5 e 7) ou de nitrogênio da piridina (complexos 6 e 8). As geometrias propostas estão de acordo com o parâmetro de Okuniewski (τ_4) muito próximos de zero, o que é indicativo de geometria quadrada;
- VI. A análise da Superfície de Hirshfeld permitiu avaliar a topografia das interações intermoleculares, as quais auxiliam no empacotamento da rede cristalina para H_2L^3 e complexos (1)-(8) cujas estruturas foram resolvidas por DRX. Além disso, dados quantitativos sobre os contatos (mesmo aqueles distantes) que mais contribuem para a formação da rede cristalina foram analisados pelos gráficos de impressão digital;
- VII. Os dados da espectrometria de massas mostraram a presença em solução dos íons moleculares $[M+H]^+$ dos compostos H_2L^3 e H_2L^4 e complexos (6)-(8), além do padrão de massas relativas esperado e fragmentações características, o que ajudou na caracterização das estruturas. Pelos espectros de ESI(+)-MS dos complexos (1)-(4) foi possível observar que as distribuições isotópicas estão de acordo com o esperado para as espécies $[Cu(L^1)DMF]^+$ e $[Cu(L^2)DMF]^+$;
- VIII. Os espectros da ressonância magnética nuclear de 1H para todos os ligantes e para os complexos de níquel(II) auxiliaram na caracterização das estruturas, e mostraram todos os sinais esperados para os compostos, inclusive aqueles referentes aos átomos de hidrogênio dos coligantes piridina e trifenilfosfina, sendo que foi possível em alguns casos fazer um estudo mais detalhado de suas constantes de acoplamento. Ademais, os resultados também indicam a desprotonação dos ligantes após a coordenação com o centro metálico;

- IX. Os dados da espectroscopia vibracional na região do infravermelho para todos os compostos estão de acordo com o esperado, sendo possível observar estiramentos e deformações características que indicam concordância com as demais técnicas de caracterização, onde os ligantes ditiocarbazatos atuam como doadores tridentados, de forma desprotonada e por seu tautômero tiol;
- X. Os resultados da espectroscopia de absorção na região do ultravioleta visível para todos compostos mostraram bandas características na faixa de 200-400 nm, correspondentes às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$. São observadas também bandas em aproximadamente 400 nm, que são atribuídas como resultado da transferência de carga do ligante para o centro metálico, $S \rightarrow M(II)$ no espectro tanto dos complexos de cobre(II), como nos complexos de níquel(II).^{24,80} Ademais, são observadas bandas de transições d-d, na faixa de 616-630 nm em DMF e de 643-652 nm em DMSO para os quatro complexos de cobre(II);
- XI. O estudo da ação antitumoral *in vitro* dos ligantes HL¹, HL² e complexos (1)-(4) frente às células de glioma humano U251 mostrou o aumento do efeito citotóxico observado nos ligantes livres após complexação com o íon Cu(II). É possível observar que todos os compostos mostraram atividade biológica em uma baixa faixa de concentração, o que indica alta eficiência como potenciais fármacos. Os valores de IC₅₀ foram estimados na faixa de 0,14-025 μ M. Os resultados mostraram também que pequenas variações estruturais dos complexos podem modificar a atividade biológica observada, o que destaca a importância de novos estudos como este para obtenção de protótipos de novas drogas antitumorais;
- XII. Os resultados da ação antitumoral dos ligantes H₂L³ e H₂L⁴ e dos complexos (5)-(8) revelou que todos os compostos apresentaram atividade biológica na triagem *in vitro* frente a quatro diferentes linhagens de células cancerosas. Mais importante, os efeitos tiveram intensidade e comportamento diferentes de acordo com a linha celular tumoral utilizada, apontando para um mecanismo de ação alvo-específico (o que precisa ser melhor explorado). Os resultados também mostraram que algumas variações estruturais podem modificar a atividade biológica, o que destaca os próximos passos para eventuais estudos farmacológicos neste sentido;

XIII. Os estudos de *docking* molecular mostraram uma boa concordância entre a atividade antitumoral observada experimentalmente pelo teste MTT e os valores de pontuação observados para cada linhagem celular testada e auxiliaram na indicação de possíveis alvos celulares alvejados pelos compostos. É importante destacar que uma única discrepância foi encontrada entre os dados experimentais e os resultados dos dados *in silico*, mais especificamente na sequência de inibição da enzima da célula U251. Além disso, de acordo com os resultados do *docking*, os complexos (6) e (8) são os compostos de melhor desempenho como bons inibidores considerando todas as enzimas estudadas. Os outros complexos e os ligantes livres mostraram desempenho dependente do tipo celular na atividade inibitória.

6. REFERÊNCIAS

6. REFERÊNCIAS

1. Shriver, D.; Atkins, P. *Química Inorgânica*; 4ª ed.; Bookman, 2008.
2. Ehrlich, P.; Berthelm, A. ;*Eur. J. Inorg. Chem.* **1912**, 45, 756.
3. Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Krigas, T. ;*Nature* **1965**, 205, 698.
4. Rosenberg, B.; Van Camp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, V. H. ;*Nature* **1969**, 222, 385.
5. Pellei, M.; Bello, F. Del; Porchia, M.; Santini, C. ;*Coord. Chem. Rev.* **2021**, 445, 214088.
6. Yusof, E. N. M.; Ravoof, T. B. S. A.; Page, A. J. ;*Polyhedron* **2021**, 198, 115069.
7. Murcia, R. A.; Leal, S. M.; Roa, M. V.; Nagles, E.; Muñoz-Castro, A.; Hurtado, J. J. ;*Molecules* **2018**, 23, 1.
8. Liu, W.; Qin, Y.; Liu, S.; Xing, R.; Yu, H.; Chen, X.; Li, K.; Li, P. ;*Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, 106, 68.
9. Gałczyńska, K.; Ciepluch, K.; Madej, Ł.; Kurdziel, K.; Maciejewska, B.; Drulis-Kawa, Z.; Węgierek-Ciuk, A.; Lankoff, A.; Arabski, M. ;*Sci. Rep.* **2019**, 9, 9777.
10. Chaudhary, N. K.; Mishra, P. ;*Bioinorg. Chem. Appl.* **2017**, 2017, 1.
11. Andiappan, K.; Sanmugam, A.; Deivanayagam, E.; Karuppasamy, K.; Kim, H. S.; Vikraman, D. ;*Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, 124, 403.
12. Bhushan Shakya; Paras Nath Yadav ;*Mini-Reviews Med. Chem.* **2020**, 20, 638.
13. Oun, R.; Moussa, Y. E.; Wheate, N. J. ;*Dalt. Trans.* **2018**, 47, 6645.
14. Saddam Hossain, M. ;*Am. J. Heterocycl. Chem.* **2018**, 4, 2575.
15. Benite, A. M. C.; Machadob, S. de P.; Barreiro, E. J. ;*Quim. Nova* **2007**, 30, 2062.
16. Kelland, L. ;*Nat. Rev. Cancer* **2007**, 7, 573.
17. Cepeda, V.; Fuertes, M. A.; Castilla, J.; Alonso, C.; Quevedo, C.; Perez, J. M. ;*Anticancer. Agents Med. Chem.* **2007**, 7, 3.
18. Peres, L. A. B.; Cunha Júnior, A. D. da ;*J. Bras. Nefrol.* **2013**, 35, 332.
19. Liu, H.; Wu, L.; Li, F.; Wang, X.; Pan, H.; Ni, Y.; Yang, J.; Li, S.; Tian, Y.; Wu, J. ;*Polyhedron* **2017**, 121, 53.
20. Yekke-Ghasemi, Z.; Takjoo, R.; Ramezani, M.; Mague, J. T. ;*RSC Adv.* **2018**, 8, 41795.
21. Nanjundan, N.; Narayanasamy, R.; Butcher, R. J.; Jasinski, J. P.; Velmurugan, K.; Nandhakumar, R.; Balakumaran, M. D.; Kalaichelvan, P. T.; Gnanasoundari, V. G. ;*Inorganica Chim. Acta* **2017**, 455, 283.
22. Kudrat-E-Zahan, M.; Islam, M. S. ;*Russ. J. Gen. Chem.* **2015**, 85, 979.
23. Akbar Ali, M.; Bernhardt, P. V.; Brax, M. A. H.; England, J.; Farlow, A. J.; Hanson, G. R.; Yeng, L. L.; Mirza, A. H.; Wieghardt, K. ;*Inorg. Chem.* **2013**, 52, 1650.
24. Begum, M. S.; Zangrando, E.; Sheikh, M. C.; Miyatake, R.; Hossain, M. M.; Alam, M. M.; Hasnat, M. A.; Zangrando, E.; Sheikh, M. C.; Miyatake, R.; Hossain, M. M.; Alam, M. M.; Hasnat, M. A. ;*Polyhedron* **2016**, 105, 56.
25. Ramilo-Gomes, F.; Addis, Y.; Tekamo, I.; Cavaco, I.; Campos, D. L.; Pavan, F. R.; Gomes, C. S. B.; Brito, V.; Santos, A.; Domingues, F.; Luís, Â.; Marques, M. M.; Pessoa, J. C.; Ferreira, S.; Silvestre, S.; Correia, I. ;*J. Inorg. Biochem.* **2021**, 216, 111331.
26. El-Afify, M. E.; Elsayed, S. A.; Shalaby, T. I.; Toson, E. A.; El-Hendawy, A. M. ;*Appl. Organomet. Chem.* **2021**, 35, 1.
27. Huentupil, Y.; Chung, P.; Novoa, N.; Klahn, A. H.; Medina, M. E.; Cisterna, J.; Brito, I.; Rivera, A.; López-Muñoz, R.; Arancibia, R. ;*Appl. Organomet. Chem.*

- 2020, 34, 1.
28. Moustafa, A. H.; Ahmed, D. H.; El-Wassimy, M. T. M.; Mohamed, M. F. A. ;*Synth. Commun.* **2021**, 51, 570.
29. Bhat, R. A.; Kumar, D.; Singh, K.; Srivastava, A.; Khan, M. d. S.; Malla, M. A.; Ganie, J. A.; Mir, M. A. ;*J. Mol. Struct.* **2020**, 1199, 126877.
30. Lima, F. C.; Silva, T. S.; Martins, C. H. G.; Gatto, C. C. ;*Inorganica Chim. Acta* **2018**, 483, 464.
31. Cavalcante, C. D. Q. O.; Arcanjo, D. D. S.; Silva, G. G. D.; Oliveira, D. M. D.; Gatto, C. C. ;*New J. Chem.* **2019**, 43, 11209.
32. Lima, F. C.; Só, Y. A. O.; Gargano, R.; Fujimori, M.; França, E. L.; Honorio-França, A. C.; Gatto, C. C. ;*J. Mol. Struct.* **2020**, 1212, 128083.
33. Zangrando, E.; Begum, M. S.; Sheikh, M. C.; Miyatake, R.; Hossain, M. M.; Alam, M. M.; Hasnat, M. A.; Halim, M. A.; Ahmed, S.; Rahman, M. N.; Ghosh, A. ;*Arab. J. Chem.* **2017**, 10, 172.
34. Islam, M. A. A. A. A.; Sheikh, M. C.; Mumit, M. A.; Miyatake, R.; Alam, M. A.; Mondal, M. O. A. ;*J. Coord. Chem.* **2016**, 69, 3580.
35. Malik, M. A.; Lone, S. A.; Wani, M. Y.; Talukdar, M. I. A.; Dar, O. A.; Ahmad, A.; Hashmi, A. A. ;*Bioorg. Chem.* **2020**, 98, 103771.
36. Low, M. L.; Maigre, L.; Tahir, M. I. M.; Tiekink, E. R. T.; Dorlet, P.; Guillot, R.; Ravoof, T. B.; Rosli, R.; Pagès, J. M.; Policar, C.; Delsuc, N.; Crouse, K. A. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2016**, 120, 1.
37. Paulus, G.; Policar, C.; Low, M. L.; Rosli, R.; Guillot, R.; Dorlet, P.; Crouse, K. A.; Delsuc, N. ;*BioMetals* **2015**, 28, 553.
38. Manan, M. A. F. A.; Tahir, M. I. M.; Crouse, K. A.; Rosli, R.; How, F. N. F.; Watkin, D. J. ;*J. Chem. Crystallogr.* **2011**, 41, 1866.
39. Boshala, A.; Flörke, U.; Yamin, B. M.; Amer, Y. O. B.; Ghaith, G. S. H.; Almughery, A. A.; Zarrouk, A.; Warad, I. ;*J. Mol. Struct.* **2021**, 1224, 129207.
40. Yusof, E. N.; Nasri, N. M.; Ravoof, T. B. S. A.; Tiekink, E. R. T. ;*Molbank* **2019**, 2019, 1.
41. Boshala, A.; Salih, K. S. M.; Bader, N.; Almughery, A. A.; Zarrouk, A.; Warad, I. ;*J. Mol. Liq.* **2021**, 330, 115551.
42. Li, M. X.; Zhang, L. Z.; Chen, C. L.; Niu, J. Y.; Ji, B. S. ;*J. Inorg. Biochem.* **2012**, 106, 117.
43. Taha, A.; Emara, A. A. A.; Mashaly, M. M.; Adly, O. M. I. ;*Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, 130, 429.
44. Deflon, V. M.; Abram, U.; Lang, E. S.; Maia, P. I. da S.; Andricopulo, A. D.; Fernandes, A. G. de A.; Silva, J. J. N.; Lemos, S. S. ;*J. Inorg. Biochem.* **2010**, 104, 1276.
45. Elsayed, S. A.; Badr, H. E.; di Biase, A.; El-Hendawy, A. M. ;*J. Inorg. Biochem.* **2021**, 223, 111549.
46. Sohtun, W. P.; Khamrang, T.; Kannan, A.; Balakrishnan, G.; Saravanan, D.; Akhbarsha, M. A.; Velusamy, M.; Palaniandavar, M. ;*Appl. Organomet. Chem.* **2020**, 34, 1.
47. Yusof, E. N. M.; Azam, M.; Sirat, S. S.; Ravoof, T. B. S. A.; Page, A. J.; Veerakumarasivam, A.; Karunakaran, T.; Razali, M. R. ;*Bioinorg. Chem. Appl.* **2022**, 2022, 1.
48. Santra, A.; Brandao, P.; Mondal, G.; Bera, P.; Jana, A.; Bhattacharyya, I.; Pramanik, C.; Bera, P. ;*Polyhedron* **2020**, 176, 114277.
49. Silva, E. T.; Casellatob, A.; Machadob, S. de P. ;*Quim. Nova* **2016**, 39, 437.
50. Ali, M. A.; Mirza, A. H.; Butcher, R. J.; Chowdhury, A. K. ;*Transit. Met. Chem.*

- 2011, 36, 471.
51. Purser, S.; Moore, P. R.; Swallow, S.; Gouverneur, V. ;*Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 320.
 52. Kirk, K. L. ;*Org. Process Res. Dev.* **2008**, 12, 305.
 53. Baliou, S.; Goulielmaki, M.; Ioannou, P.; Cheimonidi, C.; Trougakos, I. P.; Nagl, M.; Kyriakopoulos, A. M.; Zoumpourlis, V. ;*Cancers (Basel)*. **2021**, 13, 1.
 54. Cavalcante, C. D. Q. O.; Garcia, E.; da Mota, T. H. A.; de Oliveira, D. M.; Gatto, C. C. ;*J. Inorg. Biochem.* **2022**, 237, 112015.
 55. Chrzanowska, A.; Drzewiecka-antonik, A.; Dobrzyńska, K.; Stefańska, J.; Pietrzyk, P.; Struga, M.; Bielenica, A. ;*Int. J. Mol. Sci.* **2021**, 22, 1.
 56. Conry, R. R. ;*Encycl. Inorg. Bioinorg. Chem.* **2011**, 1.
 57. Erxleben, A. Interactions of copper complexes with nucleic acids. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, 360, 92–121.
 58. Correia, I.; Borovic, S.; Cavaco, I.; Matos, C. P.; Roy, S.; Santos, H. M.; Fernandes, L.; Capelo, J. L.; Ruiz-Azuara, L.; Pessoa, J. C. ;*J. Inorg. Biochem.* **2017**, 175, 284.
 59. Aguilar-Jiménez, Z.; González-Ballesteros, M.; Dávila-Manzanilla, S. G.; Espinoza-Guillén, A.; Ruiz-Azuara, L. ;*Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23.
 60. Gou, Y.; Chen, M.; Li, S.; Deng, J.; Li, J.; Fang, G.; Yang, F.; Huang, G. ;*J. Med. Chem.* **2021**, 64, 5485.
 61. Takjoo, R.; Centore, R.; Hayatolghheibi, S. S. ;*Inorganica Chim. Acta* **2018**, 471, 587.
 62. Dixon, N. E.; Gazzola, C.; Watters, J. J.; Blakeley, R. L.; Zerner, B. ;*Am. Chem. Soc* **1975**, 97, 4131.
 63. Maroney, M. J.; Ciurli, S. ;*Inorganics* **2019**, 7, 131.
 64. Mazzei, L.; Musiani, F.; Ciurli, S. ;*J. Biol. Inorg. Chem.* **2020**, 25, 829.
 65. Lima, F. C.; Só, Y. A. O.; Gargano, R.; de Oliveira, D. M.; Gatto, C. C. ;*J. Inorg. Biochem.* **2021**, 224, 111559.
 66. LIMA, B. A. V Avaliação das atividades citotóxicas de alguns complexos fosfínicos de rutênio (células tumorais MDA-MB-231). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, 2005., 2005.
 67. Oliveira, K. M.; Honorato, J.; Gonçalves, G. R.; Cominetti, M. R.; Batista, A. A.; Correa, R. S. ;*Dalt. Trans.* **2020**, 49, 12643.
 68. Zahan, R.; Rahi, M. S.; Sheikh, M. C.; Miyatake, R.; Zangrando, E.; Naz, T.; Islam, M. A. A. A. A.; Reza, M. A. ;*Appl. Organomet. Chem.* **2019**, 33, 1.
 69. Dolomanov, O. V.; Bourhis, L. J.; Gildea, R. J.; Howard, J. A. K.; Puschmann, H. ;*J. Appl. Crystallogr.* **2009**, 42, 339.
 70. Sheldrick, G. M. ;*Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* **2008**, 64, 112.
 71. Sheldrick, G. M. ;*Acta Crystallogr. Sect. C* **2015**, 71, 3.
 72. M.J. Turner, J.J. McKinnon, S.K. Wolff, D.J. Grimwood, P. R. S.; D. Jayatilaka, M. A. S. CrystalExplorer 17 **2017**, 5.
 73. Spackman, M. A.; Jayatilaka, D. ;*CrystEngComm* **2009**, 11, 19.
 74. Santiago, P. H. O.; Santiago, M. B.; Martins, C. H. G.; Gatto, C. C. ;*Inorganica Chim. Acta* **2020**, 508, 119632.
 75. Lalli, P. M.; Rodrigues, T. S.; de Oliveira, H. C. B.; Eberlin, M. N.; Gatto, C. C.; da Silva, W. A.; Neto, B. A. D.; Viana, B. F. L. ;*Dalt. Trans.* **2013**, 42, 11497.
 76. Hu, A. F.; Jiang, J.; Zhou, G. J.; Yang, J.; Xiao, W. Q.; Xu, J. ;*Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2014**, 28, 1658.
 77. Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R. *Introdução à Espectroscopia*; Cengage Learning., Ed.; 4ª ed.; 2010.

78. Costa, M. T. Complexos de níquel(II) e paládio(II) contendo ligantes calcogeno sulfonato: síntese e aplicação na oligomerização do eteno. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2021.
79. Vidigal, A. E. C. Novos Complexos de Níquel(II) com fosfinas e N-alquilsulfonilditiocarbimatos: síntese, caracterização e atividade antifúngica contra *Botrytis cinerea* e *Colletotrichum acutatum*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, 2013.
80. Takjoo, R.; Centore, R.; Hakimi, M.; Ali Beyramabadi, S.; Morsali, A. ;*Inorganica Chim. Acta* **2011**, 371, 36.
81. Brandenburg, J. G.; Bannwarth, C.; Hansen, A.; Grimme, S. ;*J. Chem. Phys.* **2018**, 148, 064104.
82. Neese, F. ;*Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2018**, 8, 1.
83. Neese, F. ;*Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* **2012**, 2, 73.
84. Mosmann, T. J. ;*Immunol. methods* **1983**, 65, 55.
85. Riss, T. L.; Moravec, R. A.; Niles, A. L.; Duellman, S.; Benink, H. A.; Worzella, T. J.; Minor, L. ;*Assay Guid. Man.* **2016**, 1.
86. Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C.; Leach, A. R.; Taylor, R. ;*J. Mol. Biol.* **1997**, 267, 727.
87. Verdonk, M. L.; Cole, J. C.; Hartshorn, M. J.; Murray, C. W.; Taylor, R. D. ;*Proteins Struct. Funct. Genet.* **2003**, 52, 609.
88. Pagadala, N. S.; Syed, K.; Tuszynski, J. ;*Biophys. Rev.* **2017**, 9, 91.
89. Agarwal, S.; Mehrotra, R. ;*JSM Chem.* **2016**, 4, 1024.
90. Annamala, M. K.; Inampudi, K. K.; Guruprasad, L. ;*Bioinformation* **2007**, 1, 339.
91. Mooij, W. T. M.; Verdonk, M. L. ;*Proteins Struct. Funct. Genet.* **2005**, 61, 272.
92. Nathanson, D. A.; Armijo, A. L.; Tom, M.; Li, Z.; Dimitrova, E.; Austin, W. R.; Nomme, J.; Campbell, D. O.; Ta, L.; Le, T. M.; Lee, J. T.; Darvish, R.; Gordin, A.; Wei, L.; Liao, H. I.; Wilks, M.; Martin, C.; Sadeghi, S.; Murphy, J. M.; Boulos, N.; Phelps, M. E.; Faull, K. F.; Herschman, H. R.; Jung, M. E.; Czernin, J.; Lavie, A.; Radu, C. G. ;*J. Exp. Med.* **2014**, 211, 473.
93. Zhang, H.; Cheng, N.; Li, Z.; Bai, L.; Fang, C.; Li, Y.; Zhang, W.; Dong, X.; Jiang, M.; Liang, Y.; Zhang, S.; Mi, J.; Zhu, J.; Zhang, Y.; Chen, S. J.; Zhao, Y.; Weng, X. Q.; Hu, W.; Chen, Z.; Huang, J.; Meng, G. ;*Cancer Commun.* **2021**, 41, 1116.
94. Bronner, S. M.; Merrick, K. A.; Murray, J.; Salphati, L.; Moffat, J. G.; Pang, J.; Sneeringer, C. J.; Dompe, N.; Cyr, P.; Purkey, H.; Boenig, G. de L.; Li, J.; Kolesnikov, A.; Larouche-Gauthier, R.; Lai, K. W.; Shen, X.; Aubert-Nicol, S.; Chen, Y. C.; Cheong, J.; Crawford, J. J.; Hafner, M.; Haghshenas, P.; Jakalian, A.; Leclerc, J. P.; Lim, N. K.; O'Brien, T.; Plise, E. G.; Shalan, H.; Sturino, C.; Wai, J.; Xiao, Y.; Yin, J.; Zhao, L.; Gould, S.; Olivero, A.; Heffron, T. P. ;*Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2019**, 29, 2294.
95. Topacio, B. R.; Zatulovskiy, E.; Cristea, S.; Xie, S.; Tambo, C. S.; Rubin, S. M.; Sage, J.; Kõivomägi, M.; Skotheim, J. M. ;*Mol. Cell* **2019**, 74, 758.
96. Petreni, A.; Bonardi, A.; Lomelino, C.; Osman, S. M.; ALOthman, Z. A.; Eldehna, W. M.; El-Haggar, R.; McKenna, R.; Nocentini, A.; Supuran, C. T. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2020**, 190, 112112.
97. Takjoo, R.; Takjoo, R.; Yazdanbakhsh, M.; Aghaei Kaju, A.; Chen, Y. ;*Chinese J. Chem.* **2010**, 28, 221.
98. Hanh, T. *International Tables for Crystallography, vol A Space-group Symmetry*; 2^a ed.; The International union of Crystallography, D. Reudel Publishing company: Dordrecht, 1987.

99. Carcelli, M.; Tegoni, M.; Bartoli, J.; Marzano, C.; Pelosi, G.; Salvalaio, M.; Rogolino, D.; Gandin, V. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2020**, *194*, 112266.
100. Okuniewski, A.; Rosiak, D.; Chojnacki, J.; Becker, B. ;*Polyhedron* **2015**, *90*, 47.
101. Bilyj, J. K.; Silajew, N. V.; Hanson, G. R.; Harmer, J. R.; Bernhardt, P. V. ;*Dalt. Trans.* **2019**, *48*, 15501.
102. Rodríguez, M. R.; Del Plá, J.; Balsa, L. M.; León, I. E.; Piro, O. E.; Echeverría, G. A.; García-Tojal, J.; Pis-Diez, R.; Parajón-Costa, B. S.; González-Baró, A. C. ;*New J. Chem.* **2019**, *43*, 7120.
103. Chi, Y. H.; Yu, L.; Shi, J. M.; Zhang, Y. Q.; Hu, T. Q.; Zhang, G. Q.; Shi, W.; Cheng, P. ;*Dalt. Trans.* **2011**, *40*, 1453.
104. Juranic, Z.; Castineiras, A.; Demertzis, M. A.; Stanojkovic, T. P.; Primikyri, A.; Kovala-Demertzi, D.; Garcia-Santos, I. ;*J. Inorg. Biochem.* **2010**, *104*, 467.
105. Gohlke, C. M. M. C. *Molecular Mass Calculator* **2018**.
106. da Silva, D. A.; De Luca, A.; Squitti, R.; Rongioletti, M.; Rossi, L.; Machado, C. M. L.; Cerchiaro, G. ;*J. Inorg. Biochem.* **2022**, *226*, 111634.
107. Palafox, M. A.; Chalanchi, S. M.; Isasi, J.; Premkumar, R.; Franklin Benial, A. M.; Rastogi, V. K. ;*J. Biomol. Struct. Dyn.* **2020**, *38*, 5443.
108. Žukauskas, M.; Grybaitė, B.; Jonutė, P.; Vaickelionienė, R.; Gibieža, P.; Vaickelionis, G.; Dragūnaitė, B.; Anusevičius, K.; Mickevičius, V.; Petrikaitė, V. ;*Bioorg. Chem.* **2021**, *115*.
109. Illán-Cabeza, N. A.; Jiménez-Pulido, S. B.; Hueso-Ureña, F.; Ramírez-Expósito, M. J.; Martínez-Martos, J. M.; Moreno-Carretero, M. N. ;*J. Inorg. Biochem.* **2020**, *207*, 111053.
110. Zheng, Z.; Zhang, J.; Jiang, J.; He, Y.; Zhang, W.; Mo, X.; Kang, X.; Xu, Q.; Wang, B.; Huang, Y. ;*J. Immunother. Cancer* **2020**, *8*, 1.
111. Colardo, M.; Segatto, M.; Di Bartolomeo, S. ;*Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*.
112. De Sousa, G. F.; Gatto, C. C.; Resck, I. S.; Deflon, V. M. ;*J. Chem. Crystallogr.* **2011**, *41*, 401.
113. Pavan, F. R.; Maia, P. I. d. S.; Leite, S. R. A.; Deflon, V. M.; Batista, A. A.; Sato, D. N.; Franzblau, S. G.; Leite, C. Q. F. ;*Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1898.
114. Bilyj, J. K.; Silajew, N. V.; Bernhardt, P. V. ;*Dalt. Trans.* **2021**, *50*, 612.
115. Manan, M. A. F. A.; Mohammat, M. F. ;*Trends Sci.* **2022**, *19*.
116. Takjoo, R.; Centore, R. ;*J. Mol. Struct.* **2013**, *1031*, 180.
117. Sousa, G. F. D.; Garcia, E.; Gatto, C. C.; Resck, I. S.; Deflon, V. M.; Ardisson, J. D. ;*J. Mol. Struct.* **2010**, *981*, 46.
118. Vanessa Fernandes Ferreira Tiossemicarbazonas e ditiocarbazatos contendo anel pirazolinico: obtenção, estudos de atividade tripanocida e de formação de complexos com gálio, Universidade de São Paulo, 2015.
119. Takjoo, R.; Hayatolghheibi, S. S.; Amiri Rudbari, H. ;*Inorganica Chim. Acta* **2016**, *447*, 52.
120. Alam, M. A.; Mumit, M. A.; Sheikh, M. C.; Mondal, M. O. A.; Miyatake, R.; Islam, M. A.-A.-A.-A. ;*J. Mol. Struct.* **2019**, *1178*, 583.
121. Banti, C. N.; Hadjikakou, S. K. ;*Eur. J. Inorg. Chem.* **2016**, *2016*, 3048.
122. Chlapek, P.; Zitterbart, K.; Kren, L.; Filipova, L.; Sterba, J.; Veselska, R. ;*PLoS One* **2017**, *12*, 1.
123. Oren, Y.; Tsabar, M.; Cuoco, M. S.; Amir-Zilberstein, L.; Cabanos, H. F.; Hütter, J. C.; Hu, B.; Thakore, P. I.; Tabaka, M.; Fulco, C. P.; Colgan, W.; Cuevas, B. M.; Hurvitz, S. A.; Slamon, D. J.; Deik, A.; Pierce, K. A.; Clish, C.; Hata, A. N.; Zaganjor, E.; Lahav, G.; Politi, K.; Brugge, J. S.; Regev, A. ;*Nature* **2021**, *596*, 576.

124. Zhang, Z.; Chen, F.; Shang, L. ;*Cancer Manag. Res.* **2018**, *10*, 4631.
125. Santos, A. C. F.; Monteiro, L. P. G.; Gomes, A. C. C.; Martel, F.; Santos, T. M.; Ferreira, B. J. M. L. ;*Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*.

APÊNDICES

APÊNDICE I: TEORIA DO FUNCIONAL DA DENSIDADE (DFT)

Tabela AI. Dados de comprimentos e ângulos de ligação teóricos e experimentais para os complexos [Cu(L¹)Cl] (1), [Cu(L¹)Br] (2), [Cu(L²)Cl] (3) e [Cu(L²)Br] (4).

Comprimentos de Ligação (Å)								
	(1)		(2)		(3)		(4)	
	Exp.	Teórico	Exp.	Teórico	Exp.	Teórico	Exp.	Teórico
Cu1-N1	2,006(4)	2,0563130	2,026(6)	2,0635606	2,027(5)	2,0555434	2,012(4)	2,0597306
Cu1-N2	1,946(4)	1,9996399	1,965(6)	2,0024790	1,955(5)	1,9989746	1,957(4)	2,0029099
Cu1-S1	2,242(15)	2,2857121	2,236(2)	2,2868582	2,254(17)	2,2899102	2,249(16)	2,286212
Cu1-X	2,208(15)	2,2074205	2,331(14)	2,3443706	2,243(15)	2,2055402	2,341(10)	2,3432261
S1-C8	1,726(5)	1,7257360	1,723(8)	1,7275761	1,726(6)	1,7247016	1,713(5)	1,7262023
N3-C8	1,302(6)	1,3204704	1,304(9)	1,3158831	1,303(7)	1,3163601	1,301(6)	1,3157823
C6-N2	1,298(5)	1,3051001	1,305(9)	1,3035369	1,293(7)	1,3036334	1,294(6)	1,3029059
Ângulos de Ligação (°)								
	(1)		(2)		(3)		(4)	
	Exp.	Teórico	Exp.	Teórico	Exp.	Teórico	Exp.	Teórico
S1-Cu1-X	97,79(6)	97,9931	96,27(7)	97,0663	97,44(6)	97,9054	96,71(5)	96,85029
N2-Cu1-S1	84,51(12)	84,2901	84,65(18)	84,3117	84,81(14)	84,3510	84,58(13)	84,3388
N2-Cu1-X	177,68(12)	177,7135	179,05(18)	178,1700	177,42(14)	177,5914	178,05(13)	177,9422
N2-Cu1-N1	80,23(16)	79,5380	80,0(2)	79,3749	80,04(19)	79,4871	80,46(17)	79,4491
N1-Cu1-S1	164,54(12)	163,8279	164,60(18)	163,4575	164,55(14)	163,7074	164,62(13)	163,5427
N1-Cu1-X	97,49(13)	98,1787	99,05(18)	99,3025	97,78(14)	98,2861	98,34(13)	99,4390

APÊNDICE II: GRÁFICOS DE IMPRESSÕES DIGITAIS PARA OS COMPLEXOS (1)-(4)

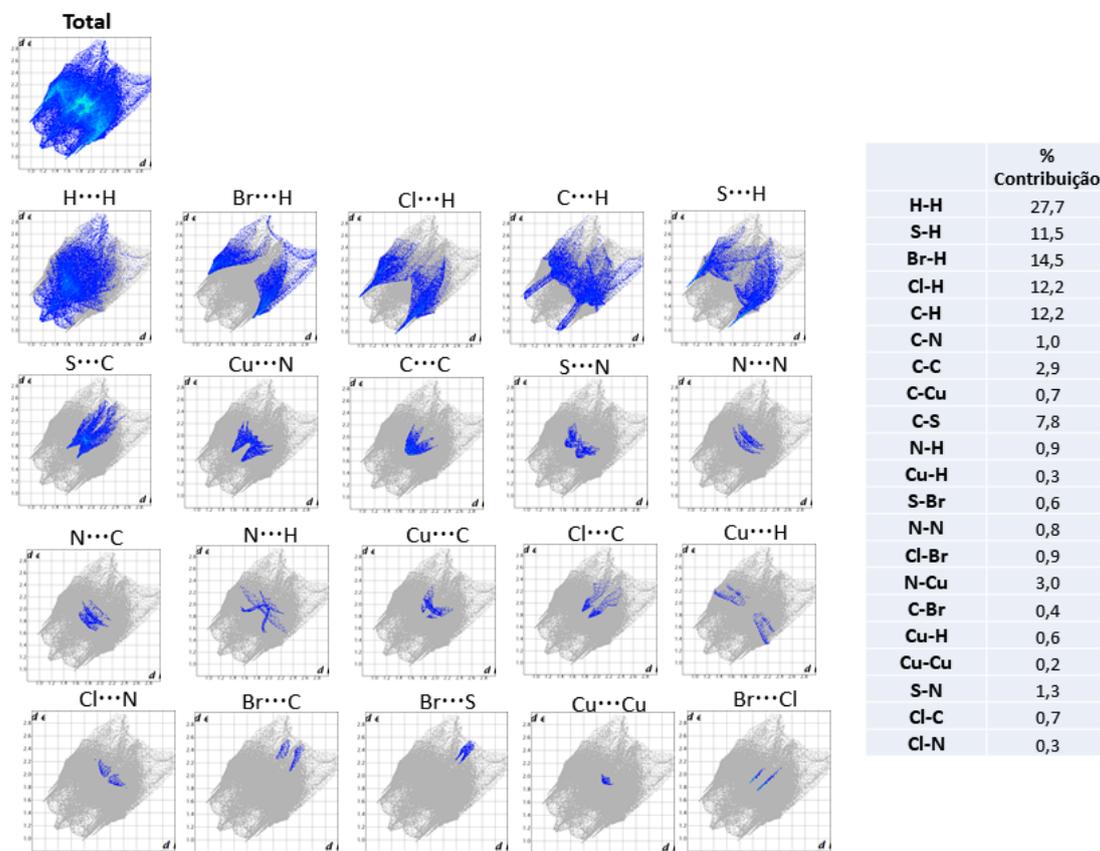


Figura AII.1 Gráficos de impressões digitais para o complexo (1).

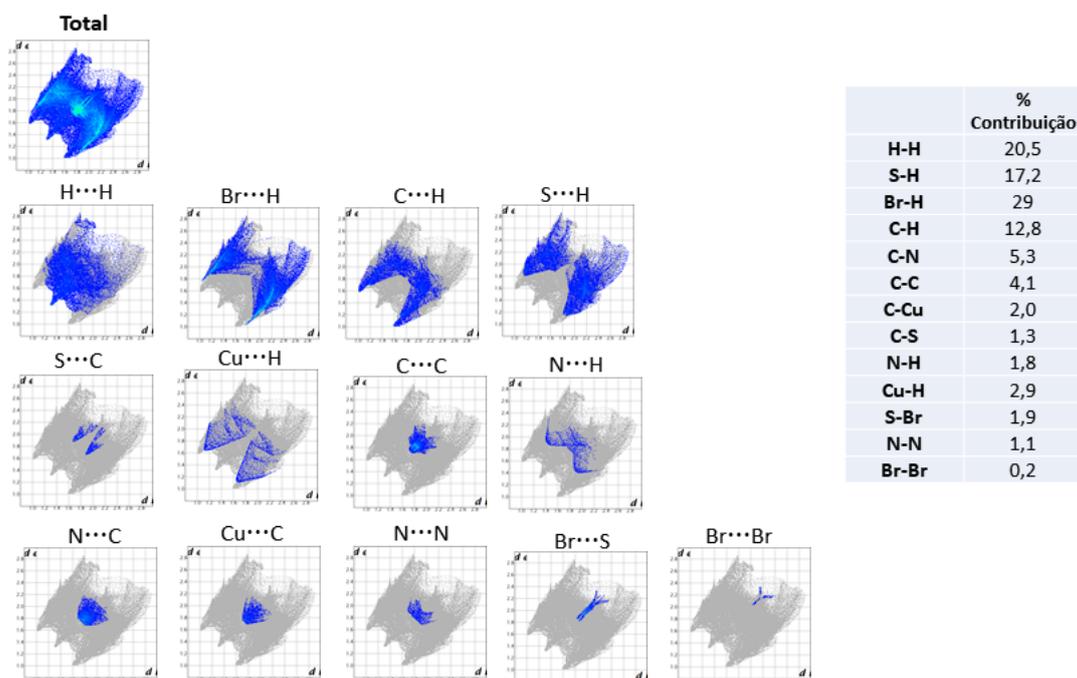
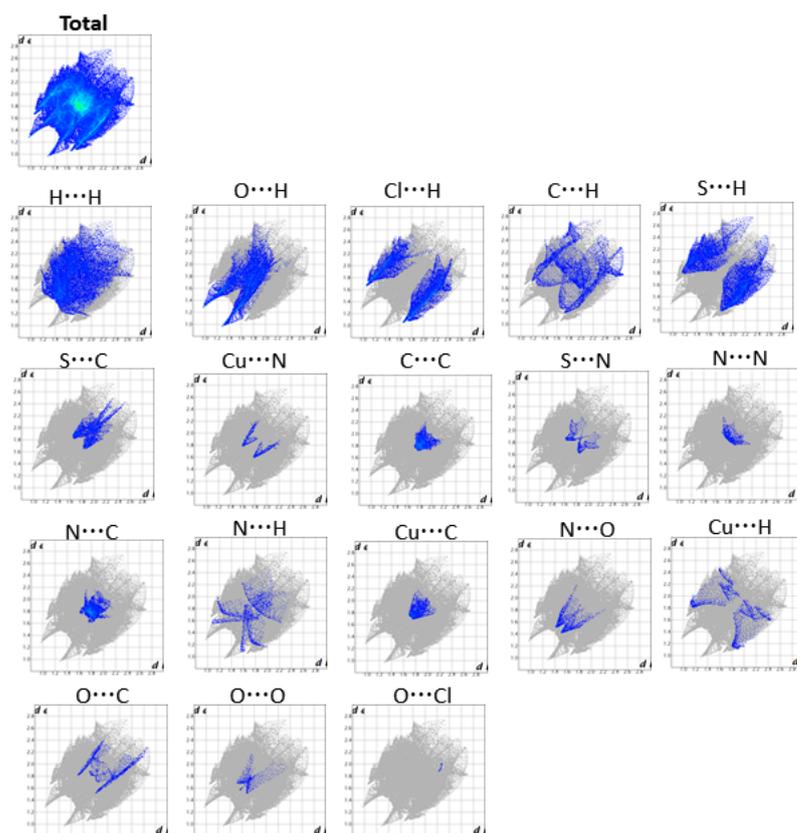
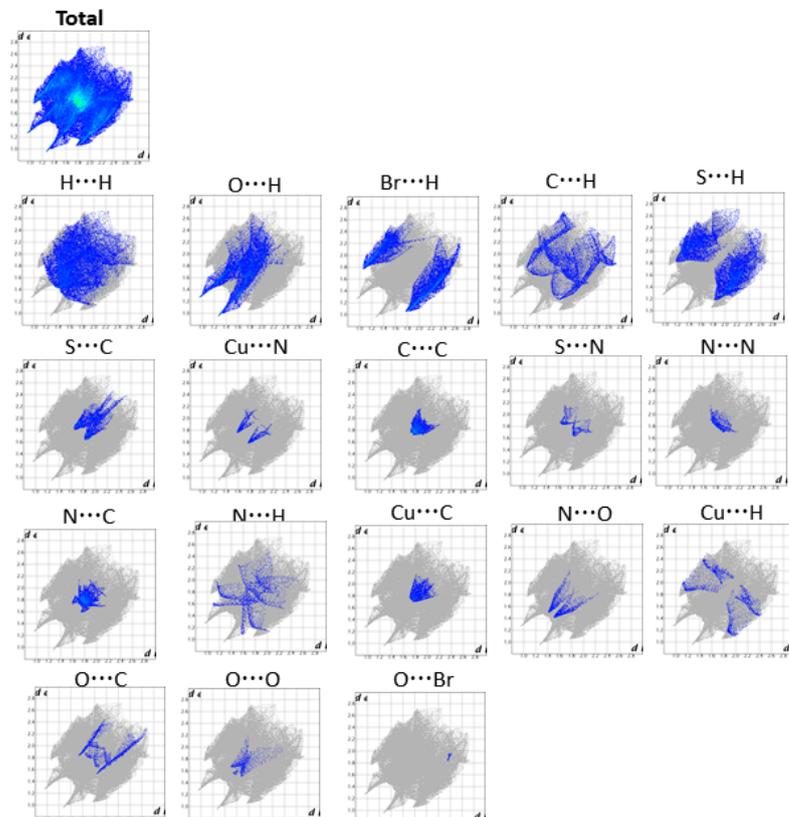


Figura AII.2 Gráficos de impressões digitais para o complexo (2).



	% Contribuição
H-H	22,8
S-H	14,7
Cl-H	14,5
C-H	7,7
C-N	4,2
C-C	3,5
C-Cu	1,9
C-S	3,8
N-H	2,2
Cu-H	1,7
N-N	0,9
N-Cu	1,2
H-O	16,7
Cl-O	0,1
C-O	1,6
N-O	1,2
O-O	0,6
N-S	0,8

Figura AII.3 Gráficos de impressões digitais para o complexo (3).



	% Contribuição
H-H	22,3
S-H	14,5
Br-H	15,5
C-H	7,6
C-N	4,0
C-C	3,4
C-Cu	1,9
C-S	3,9
N-H	2,3
Cu-H	1,7
N-N	0,9
N-Cu	1,3
H-O	16,4
C-O	1,7
N-O	1,2
O-O	0,7
N-S	0,7
O-Br	0,1

Figura AII.4 Gráficos de impressões digitais para o complexo (4).

APÊNDICE III: ESPECTROS OBTIDOS A PARTIR DA ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PARA HL² E PARA OS COMPLEXOS (2)-(4)

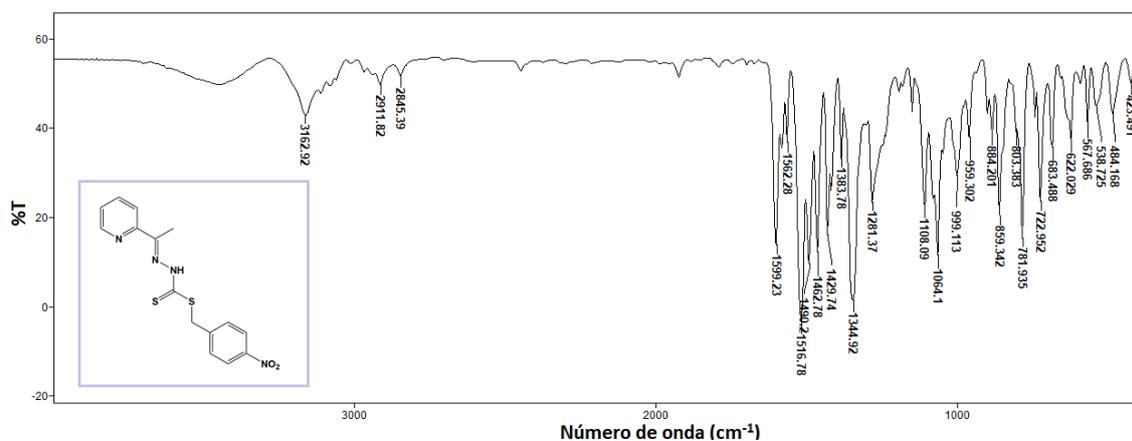


Figura AIII.1 Espectro de FT-IR para o ligante HL²

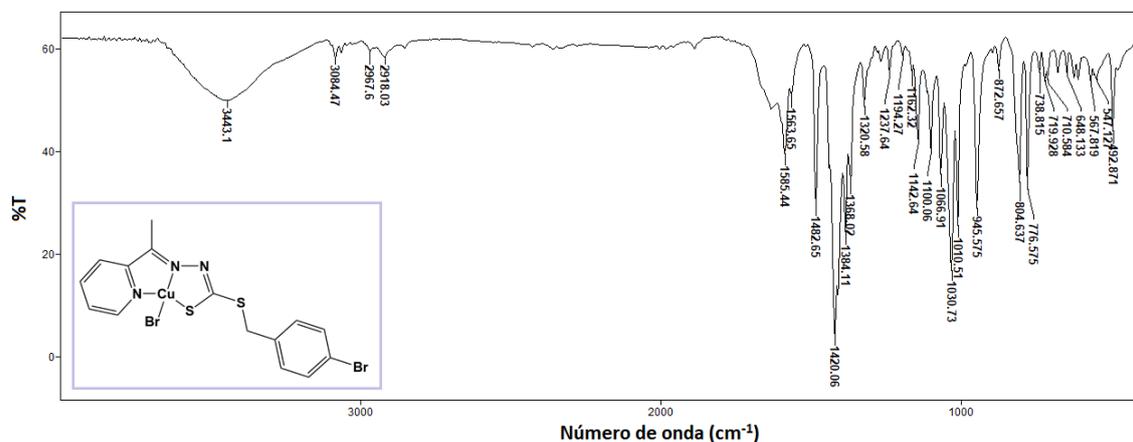


Figura AIII.2 Espectro de FT-IR para o complexo (2).

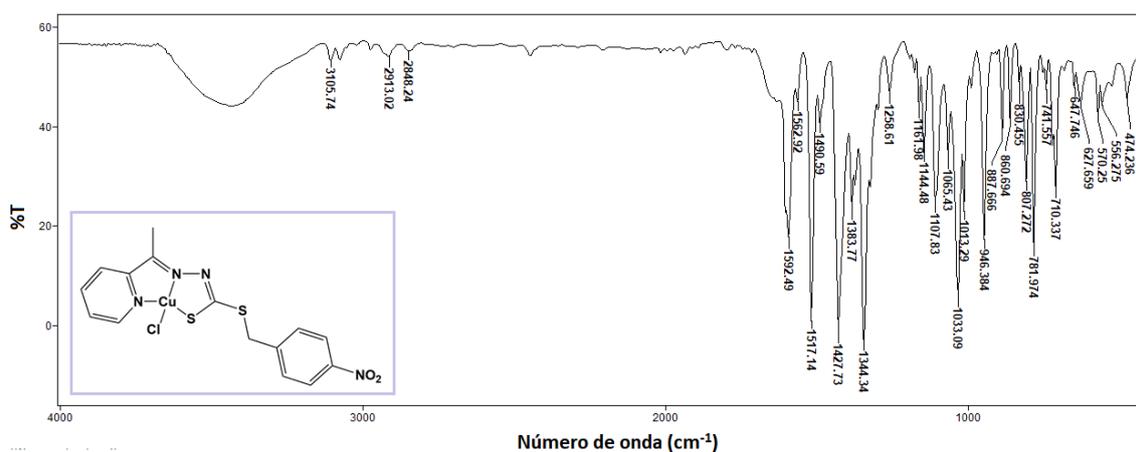


Figura AIII.3 Espectro de FT-IR para o complexo (3).

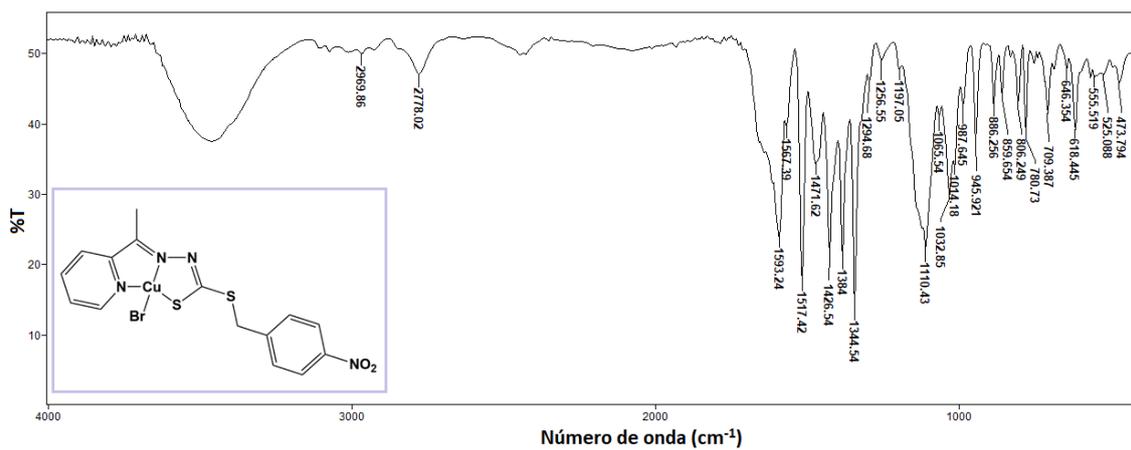


Figura AIII.4 Espectro de FT-IR para o complexo (4).

APÊNDICE IV: GRÁFICOS DE IMPRESSÕES DIGITAIS PARA O LIGANTE H_2L^3 E PARA OS COMPLEXOS (5)-(8)

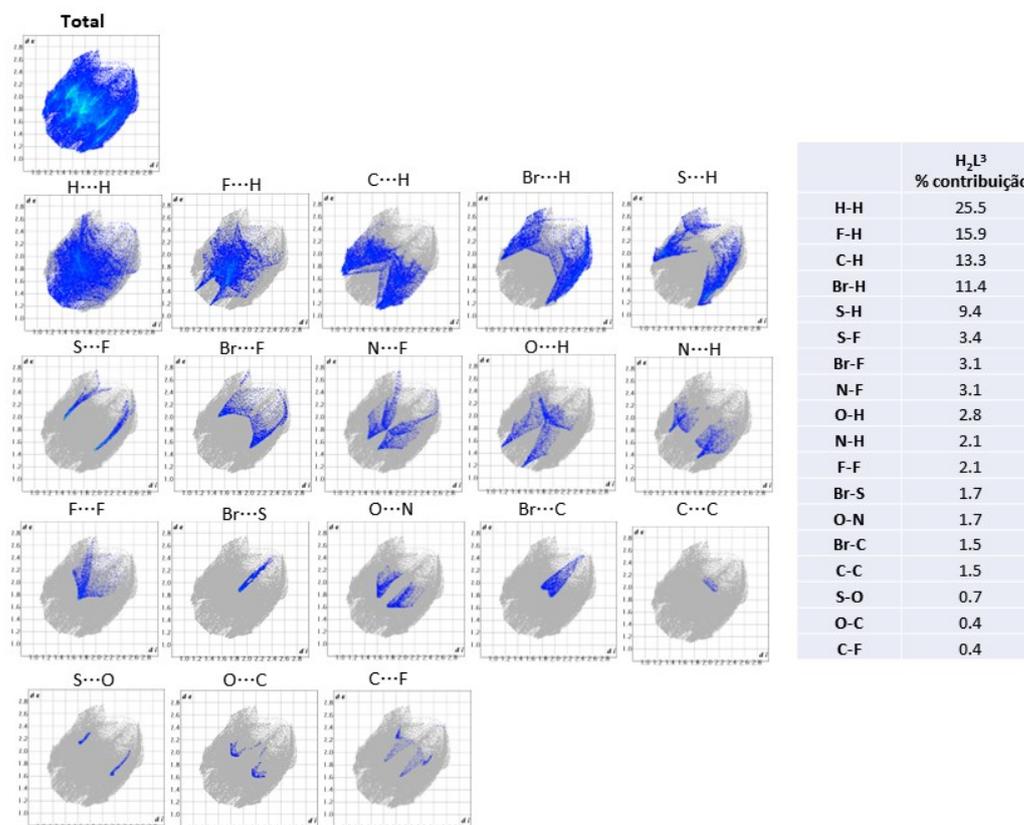


Figura AIV.1 Gráficos de impressões digitais para o ligante H_2L^3 .

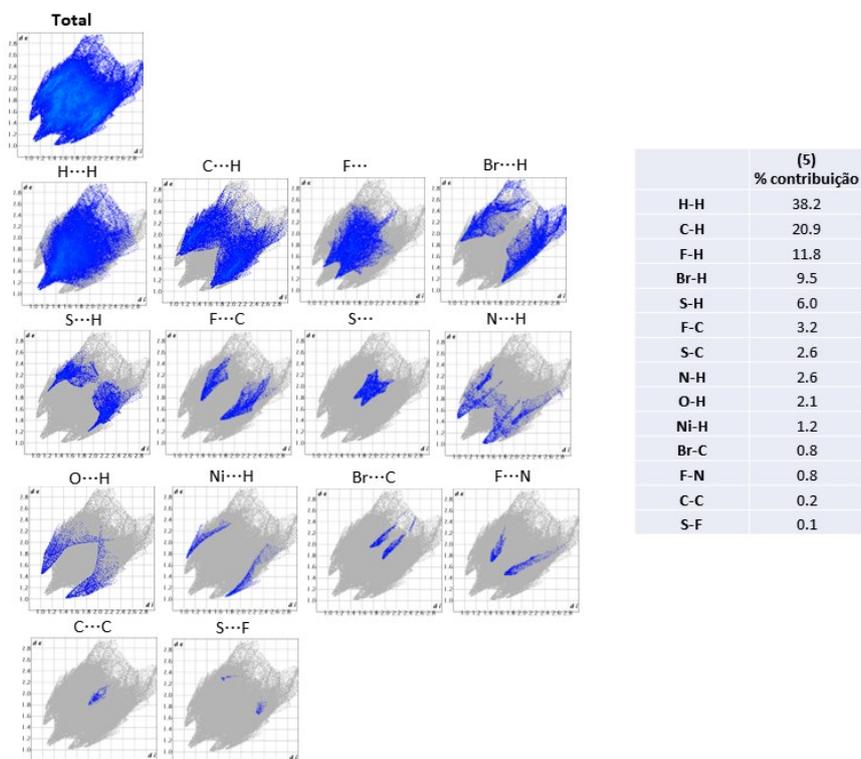


Figura AIV.2 Gráficos de impressões digitais para o complexo (5)

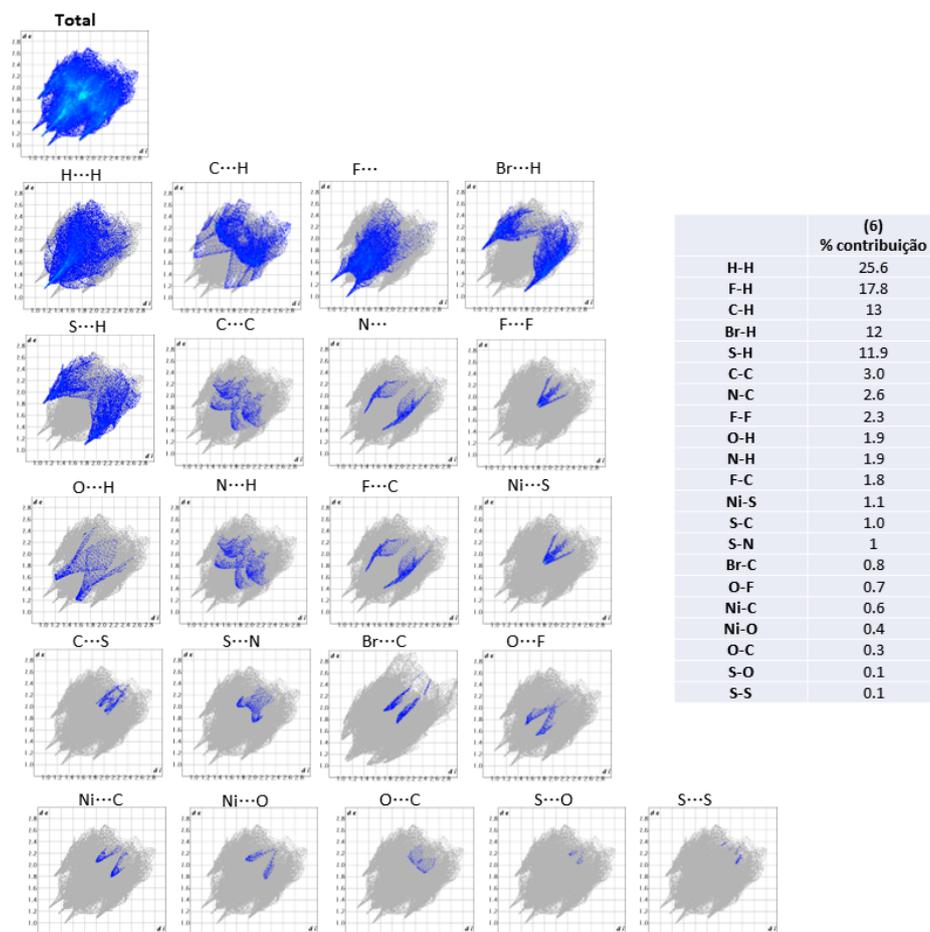


Figura AIV.3 Gráficos de impressões digitais para o complexo (6).

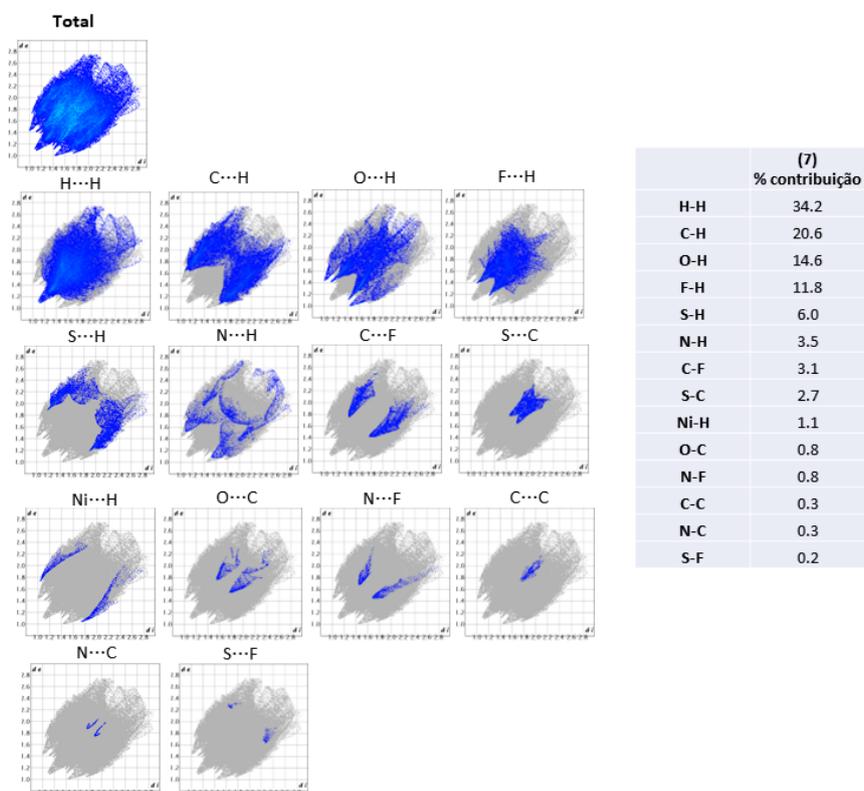
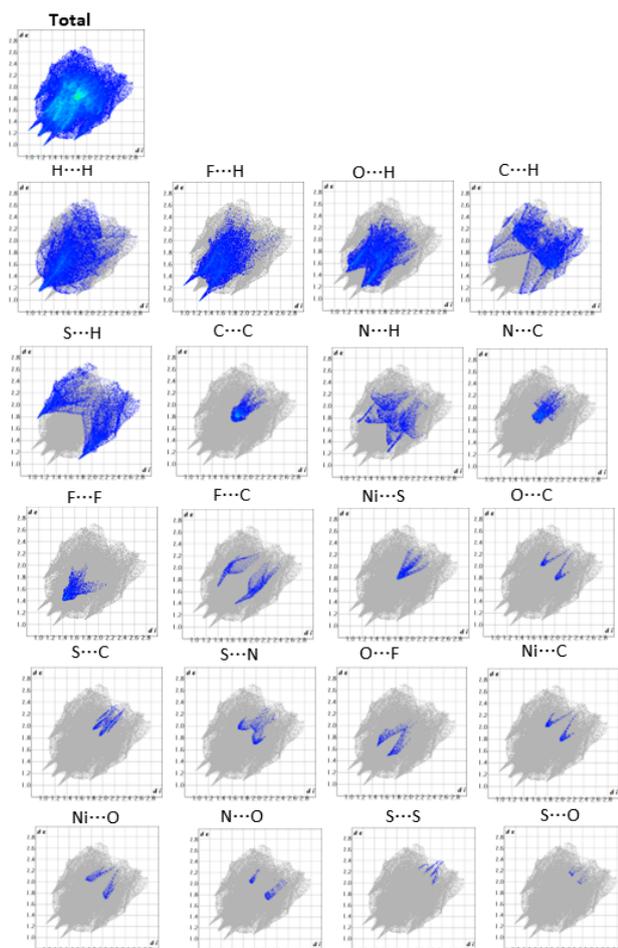


Figura AIV.4 Gráficos de impressões digitais para o complexo (7).



	(8) % contribuição
H-H	21.7
F-H	17.5
O-H	17
C-H	11.7
S-H	11.4
C-C	3.4
N-H	3.1
N-C	3.1
F-F	2.3
F-C	1.7
Ni-S	1.2
O-C	1.2
S-C	1
S-N	0.9
F-O	0.8
Ni-C	0.5
Ni-O	0.5
O-N	0.3
S-S	0.2
S-O	0.1

Figura AIV.5 Gráficos de impressões digitais para o complexo (8).

APÊNDICE V: ESPECTROS OBTIDOS A PARTIR DA ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PARA H₂L⁴ E PARA OS COMPLEXOS (6)-(8)

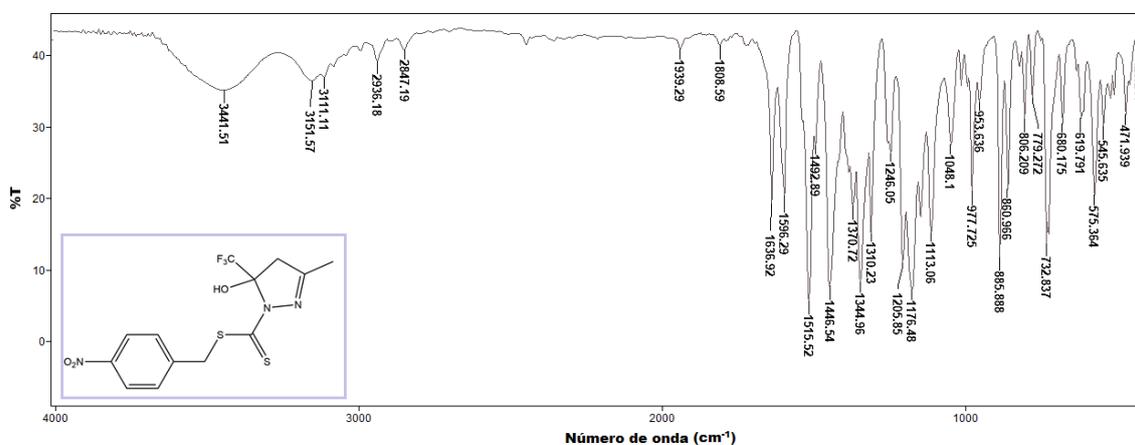


Figura AV.2 Espectro de FT-IR para o ligante H₂L⁴.

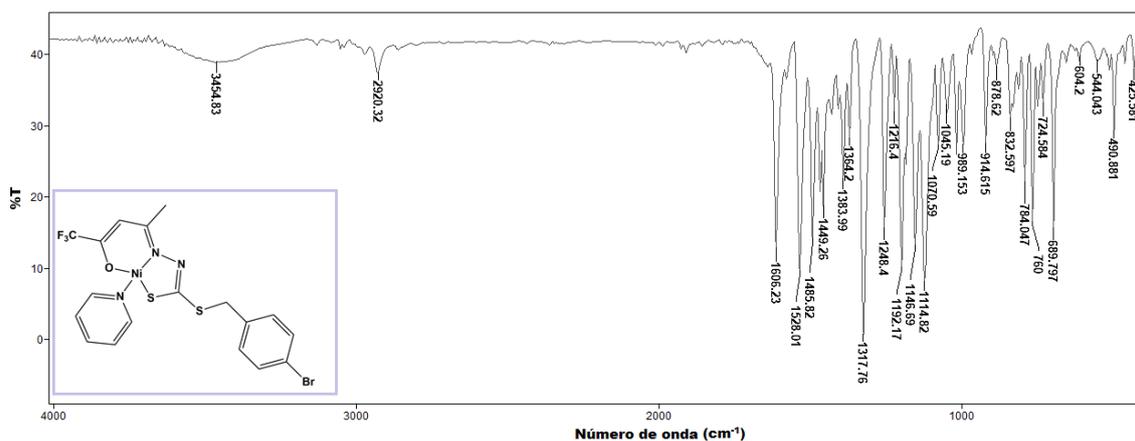


Figura AV.4 Espectro de FT-IR para o complexo (6).

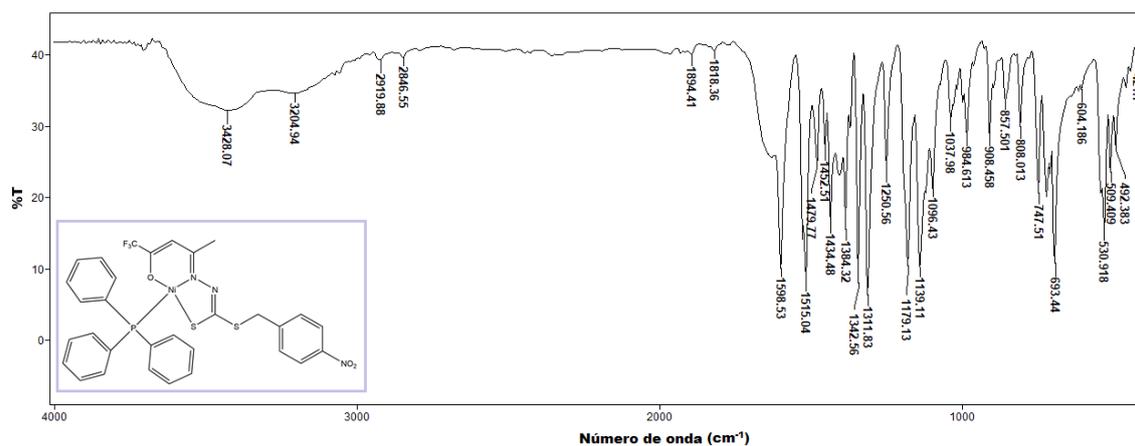


Figura AV.5 Espectro de FT-IR para o complexo (7).

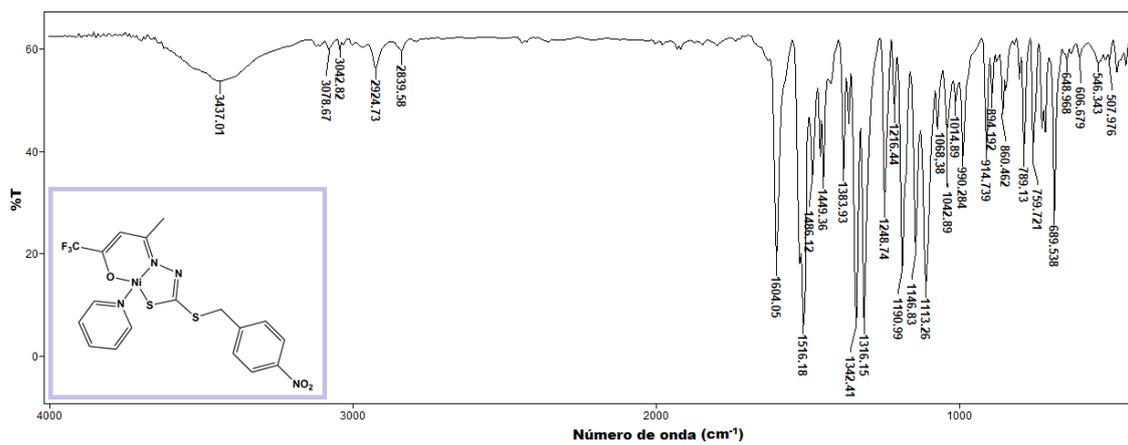


Figura AV.6 Espectro de FT-IR para o complexo (8).

APÊNDICE VI: INTERAÇÕES OBSERVADAS NOS COMPLEXOS (5) e (7)

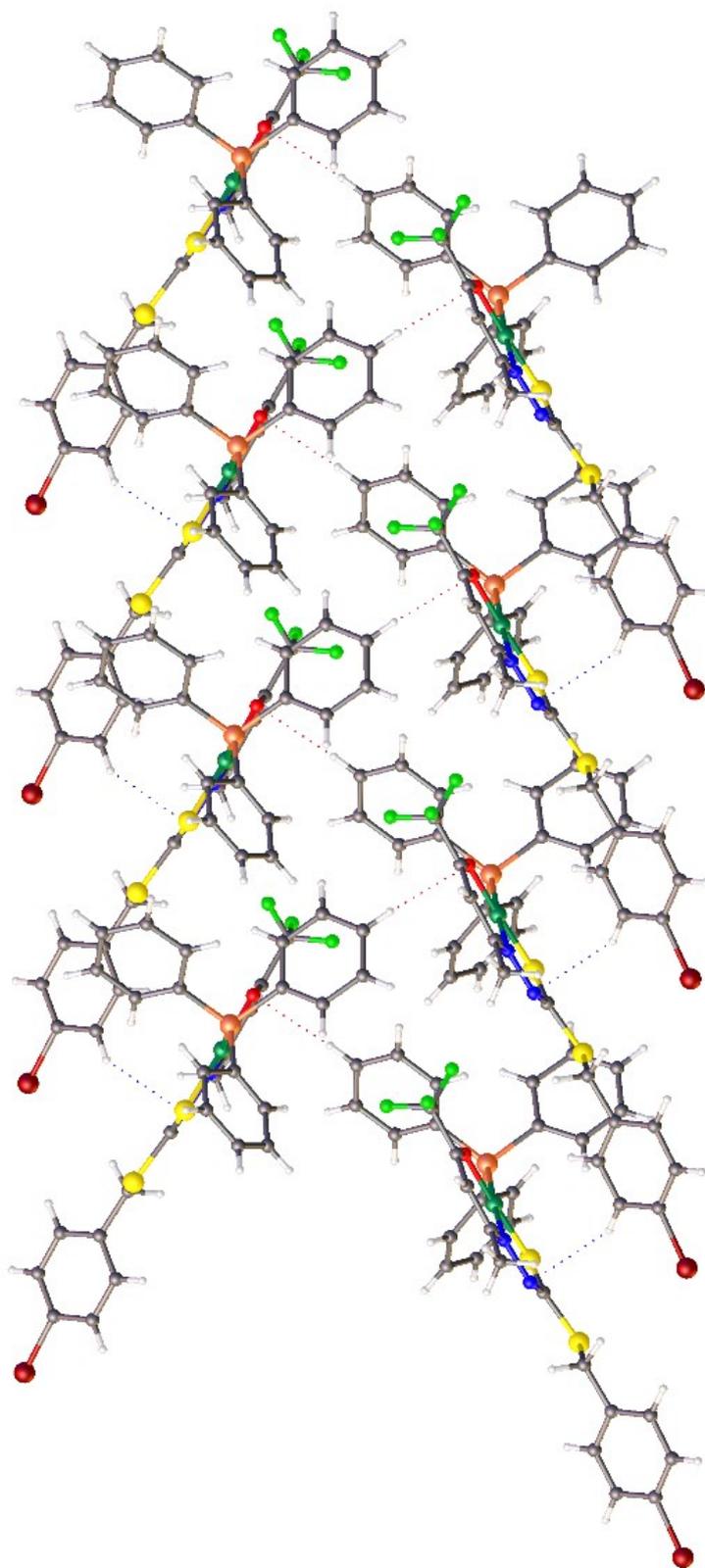


Figura AVI.1 Representação das ligações de hidrogênio não clássicas observadas no complexo (5)

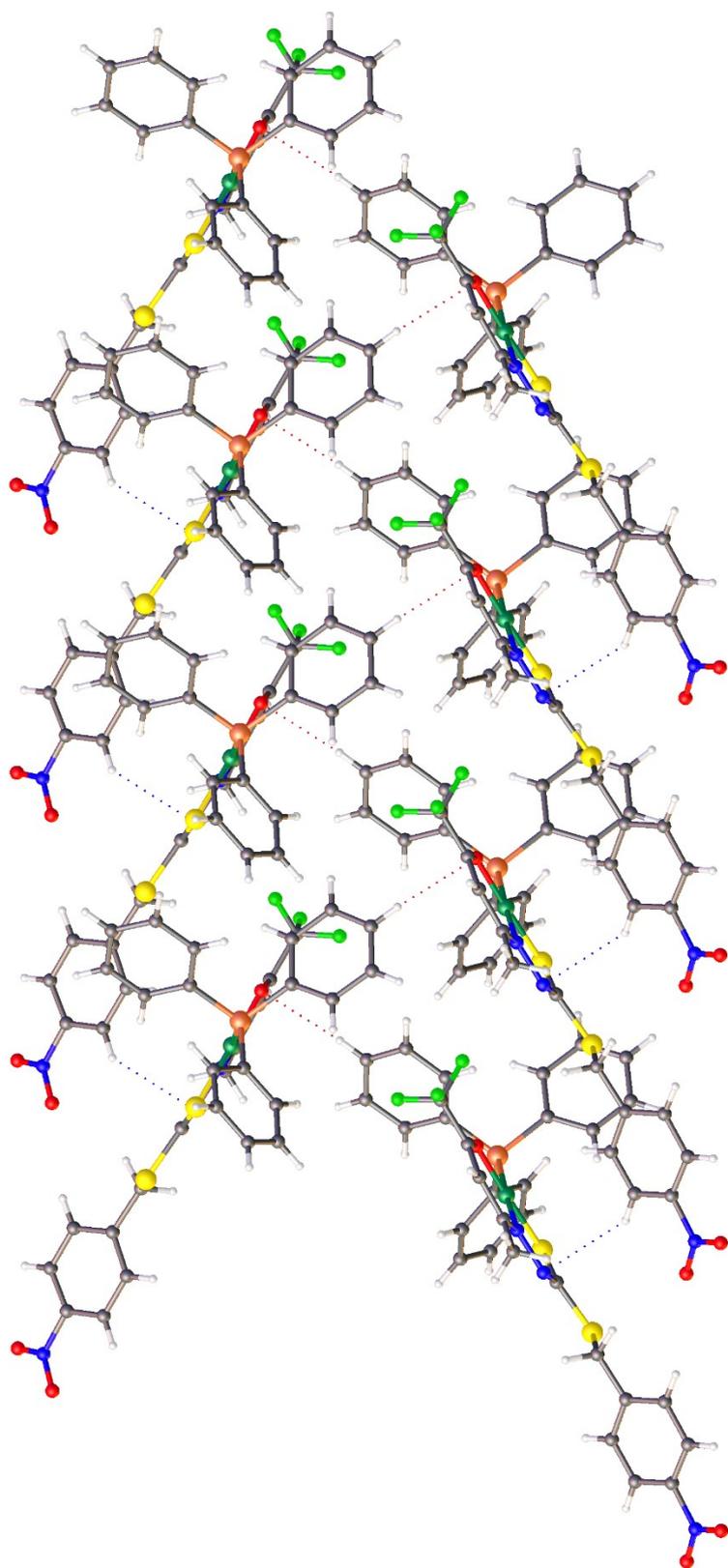


Figura AVI.2 Representação das ligações de hidrogênio não clássicas observadas no complexo (7)

APÊNDICE VII: ARTIGOS PUBLICADOS

Journal of Inorganic Biochemistry 237 (2022) 112015



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Inorganic Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jinorgbio

Comparative investigation of Cu(II) complexes with dithiocarbazate: Structural design, theoretical calculation, and *in vitro* antitumor activity

Cássia De Q.O. Cavalcante^a, Edgardo Garcia^b, Tales H.A. da Mota^c, Diêgo M. de Oliveira^c,
Claudia C. Gatto^{a,*}

^a Laboratory of Inorganic Synthesis and Crystallography, University of Brasília (IQ-UnB), Campus Universitário Darcy Ribeiro, CEP 70904-970 Brasília, DF, Brazil

^b Laboratory of Computational Chemistry, University of Brasília (IQ-UnB), Campus Universitário Darcy Ribeiro, CEP 70904-970 Brasília, DF, Brazil

^c Multidisciplinary Laboratory of Human Health, University of Brasília (FCE-UnB), Campus Faculdade de Ceilândia, CEP 72220-275 Brasília, DF, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Cu(II) complex
Dithiocarbazate
Crystal structure
DFT
Hirshfeld surface
Anticancer activity

ABSTRACT

The present work reports the synthesis and investigation by semi-empirical Density Functional Theory (DFT), physical chemistry, and spectroscopic methods of two dithiocarbazates, 2-acetylpyridine-S-p-bromobenzyl-dithiocarbazate (HL¹) and 2-acetylpyridine-S-p-nitrobenzyl-dithiocarbazate (HL²) and their Cu(II) complexes, [Cu(L¹)Cl] (1), [Cu(L¹)Br] (2), [Cu(L²)Cl] (3) and [Cu(L²)Br] (4). Single crystal X-ray analyzes showed distorted square planar geometry to the metal centers, which tridentate ligands coordinated by the NNS system and an additional halogen (Cl⁻ or Br⁻) to complete the coordination sphere. Mass spectrometry data indicated the presence of [Cu(L¹)(DMF)]⁺ and [Cu(L²)(DMF)]⁺, due to the exchanging of chloride/bromide ions and characteristic fragmentations of the compounds. The DFT composite method B97-3c was employed to optimize the geometries of ligands and complexes and IR spectra were calculated revealing good agreement with experimental data. Hydrogen bonds and $\pi\cdots\pi$ stacking interactions upon the molecular packing were investigated by Hirshfeld surface and fingerprint plots with the main interactions attributed to the H \cdots H contacts. The biological activity of the dithiocarbazates and their Cu(II) complexes were evaluated *in vitro* against the human glioma U251 cells. Results revealed that the free dithiocarbazates present great *in vitro* antitumor activity that is increased after the complexation with copper. The measurement of cytotoxicity of the compounds showed biological activity in a low range of concentration, which indicates high efficiency as potential drugs.



OPEN ACCESS

EDITED BY
Ana Isabel Matesanz,
Autonomous University of Madrid, Spain

REVIEWED BY
Karthikeyan Subramani,
Vellore Institute of Technology (VIT),
India
Wilton Lustrí,
University of Araraquara, Brazil

*CORRESPONDENCE
Claudia C. Gatto,
ccgatto@gmail.com

SPECIALTY SECTION
This article was submitted to Molecular
Diagnostics and Therapeutics,
a section of the journal
Frontiers in Molecular Biosciences

RECEIVED 17 January 2023
ACCEPTED 14 February 2023
PUBLISHED 07 March 2023

CITATION
Cavalcante CdeOO, da Mota THA,
de Oliveira DM, Nascimento ECM,
Martins JBL, Pittella-Silva F and Gatto CC
(2023), Dithiocarbamate ligands and their
Ni(II) complexes with potential biological
activity: Structural, antitumor and
molecular docking study.
Front. Mol. Biosci. 10:1146820.
doi: 10.3389/fmolb.2023.1146820

COPYRIGHT
© 2023 Cavalcante, da Mota, de Oliveira,
Nascimento, Martins, Pittella-Silva and
Gatto. This is an open-access article
distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution License
(CC BY). The use, distribution or
reproduction in other forums is
permitted, provided the original author(s)
and the copyright owner(s) are credited
and that the original publication in this
journal is cited, in accordance with
accepted academic practice. No use,
distribution or reproduction is permitted
which does not comply with these terms.

Dithiocarbamate ligands and their Ni(II) complexes with potential biological activity: Structural, antitumor and molecular docking study

Cássia de Q. O. Cavalcante¹, Tales H. A. da Mota²,
Diêgo M. de Oliveira², Érica C. M. Nascimento³,
João B. L. Martins³, Fabio Pittella-Silva⁴ and Claudia C. Gatto^{1*}

¹Laboratory of Inorganic Synthesis and Crystallography, Institute of Chemistry, University of Brasília, Brasília, Brazil, ²Multidisciplinary Laboratory of Human Health, Faculty UnB Celândia, University of Brasília, Brasília, Brazil, ³Laboratory of Computational Chemistry, Institute of Chemistry, University of Brasília, Brasília, Brazil, ⁴Laboratory of Molecular Pathology of Cancer, Faculty of Health Sciences and Medicine, University of Brasília, Brasília, Brazil

In the search for new metal complexes with antitumor potential, two dithiocarbamate ligands derived from 1,1,1-trifluoro-2,4-pentanedione (H_2L^1) and (H_2L^2) and four Ni(II) complexes, $[Ni(L^1)PPh_3]$ (1), $[Ni(L^1)Py]$ (2), $[Ni(L^2)PPh_3]$ (3), and $[Ni(L^2)Py]$ (4), were successfully synthesized and investigated by physical-chemistry and spectroscopic methods. The crystal structure of the H_2L^1 and the Ni(II) complexes has been elucidated by single-crystal X-ray diffraction. The obtained structure from H_2L^1 confirms the cyclization reaction and formation of the pyrazoline derivative. The results showed square planar geometry to the metal centers, in which dithiocarbamates coordinated by the ONS donor system and a triphenylphosphine or pyridine molecule complete the coordination sphere. Hirshfeld surface analysis by d_{norm} function was investigated and showed $\pi-\pi$ stacking interactions upon the molecular packing of H_2L^1 and non-classical hydrogen bonds for all compounds. Fingerprint plots showed the main interactions attributed to H-H C-H, O-H, Br-H, and F-H, with contacts contributing between 1.9% and 38.2%. The mass spectrometry data indicated the presence of molecular ions $[M + H]^+$ and characteristic fragmentations of the compounds, which indicated the same behavior of the compounds in solution and solid state. Molecular docking simulations were studied to evaluate the properties and interactions of the free dithiocarbamates and their Ni(II) complexes with selected proteins and DNA. These results were supported by *in vitro* cytotoxicity assays against four cancer cell lines, showing that the synthesized metal complexes display promising biological activity.

KEYWORDS

Ni(II) complexes, dithiocarbamate, crystal structure, mass spectrometry, Hirshfeld surface, antitumor activity

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE DE TESE DE DOUTORADO

Declaro que a presente dissertação/tese é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifique e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria. Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

Brasília, 08 de março de 2023.



Documento assinado digitalmente

CASSIA DE QUEIROZ OLIVEIRA CAVALCANTI

Data: 10/03/2023 07:37:53-0300

Verifique em <https://verificador.itl.br>

Assinatura do/a discente: _____

Programa: Programa de Pós-graduação em Química - PPGQ

Nome completo: Cássia de Queiroz Oliveira Cavalcante

Título do Trabalho: COMPLEXOS DE COBRE(II) E NÍQUEL(II) DERIVADOS DE DITIOCARBAZATOS: SÍNTESE, ELUCIDAÇÃO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL *IN VITRO*

Nível: () Mestrado (X) Doutorado

Orientador/a: Claudia Cristina Gatto

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil