



Universidade Federal da Grande Dourados
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia
Programa de Pós-graduação em Química

***Cristaloquímica de Compostos de Cu^I Baseados
em Pirazolinas 1,3,5-Tri-substituídas:
Síntese, Caracterização Estrutural e
Propriedades Ópticas***

Dissertação de Mestrado

Lis Regiane Vizolli Favarin

20 de Fevereiro de 2014

Dourados-MS



Universidade Federal da Grande Dourados

Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia

Programa de Pós-graduação em Química

**Cristaloquímica de Compostos de Cu^I Baseados em
Pirazolinas 1,3,5-Tri-Substituídas:
Síntese, Caracterização Estrutural e Propriedades
Ópticas**

Mestranda: Lis Regiane Vizolli Favarin

Orientador: Prof. Dr. Gleison Antônio Casagrande

Coorientador: Prof. Dr. Ademir dos Anjos

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como requisito parcial da Obtenção do Título de **Mestre em Química**.

DOURADOS, MS

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil

F272c Favarin, Lis Regiane Vizolli.
Cristaloquímica de compostos de Cu^I baseados em
pirazolinas 1,3,5-Tri-substituídas : síntese caracterização
estrutural e propriedades ópticas / Lis Regiane Vizolli
Favarin – Dourados- MS : UFGD, 2014.
88 f.

Orientador: Prof. Dr. Gleison Antônio Casagrande.
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade
Federal da Grande Dourados.

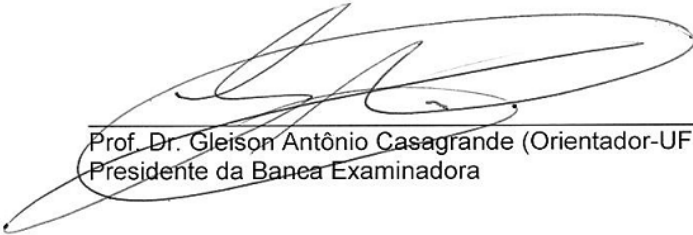
1. Compostos químicos. 2. Pirazóis. 3. Cobre. I.
Casagrande, Gleison Antônio II. Título.

CDD:540




Termo de Aprovação

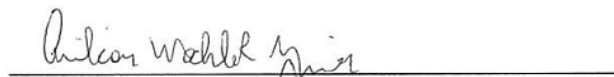
Após a apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: "Cristaloquímica de Compostos de Cu(I) Baseados em Pirazolinas 1,3,5-Tri-Substituídas: Síntese, Caracterização Estrutural e Propriedades Ópticas", de autoria de Lis Regiane Vizzoli Favarin, apresentada ao Programa de Mestrado em Química da Universidade Federal da Grande Dourados.



Prof. Dr. Gleison Antônio Casagrande (Orientador-UFGD)
Presidente da Banca Examinadora



Prof.ª Dr.ª Bárbara Tirloni
Membro Examinador (UFGD)



Prof. Dr. Amílcar Machulek Junior
Membro Examinador (UFMS)

Dourados/MS, 20 de fevereiro de 2014

*“ O senhor retribua o teu feito; e te seja
concedido pleno galardão da parte do
Senhor Deus de Israel, sob cujas asas
viestes abrigar.”*

Rute 2:12

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e por me iluminar durante este trajeto.

Aos meus pais Maria (minha heroína) e Olindo por estarem sempre ao meu lado em cada momento e por me ensinarem que não há maior riqueza que o conhecimento, e, pelo seu amor incondicional.

Ao meu esposo por me encorajar durante esta etapa, pelo seu amor, carinho, dedicação e compreensão.

Ao meu orientador professor Dr^o Gleison Antônio Casagrande pela dedicação, confiança, paciência, pela presença constante e acima de tudo pelos seus ensinamentos.

Ao meu coorientador professor Dr^o Ademir dos Anjos por acompanhar mais uma etapa do meu crescimento profissional, pela sua dedicação e principalmente pelos seus ensinamentos. Aos seus alunos Antônio Fernandes e Bento Júnior pelo auxílio e dedicação durante os estudos biológicos.

Ao professor Dr^o Lucas Pizzuti e seu grupo de pesquisa pelas sínteses dos ligantes.

Ao professor Dr^o Anderson Caires por seus ensinamentos sobre luminescência e contribuição significativa neste trabalho.

Aos professores Ernesto S. Lang, Davi F. Back, Victor Deflon pelas análises de difratometria de raios-X.

Aos demais professores do programa de pós graduação em Química (UFGD) por seus ensinamentos.

Ao professor Dr^o Amilcar Machulek Junior e a professora Dr^a Bárbara Tirlone por terem aceitado participar da banca examinadora.

Aos amigos do grupo LSCM pelo companheirismo durante este tempo que passamos juntos. As grandes e novas amizades feitas durante estes 2 anos de pós graduação.

Aos amigos de longa data Geziel, Eduardo, Thiago, Natália, Tamires e em especial meu grande amigo e irmão Rafael Ciola por estar ao meu lado, e me apoiar e encorajar a continuar a caminhada. A minha amiga Laís por se fazer presente em todo o momento.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Enfim, palavras são poucas para agradecer aos que contribuíram para a realização dessa dissertação.

A todos eu Agradeço!

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

Cristaloquímica de Compostos de Cu^I Baseados em Pirazolinas 1,3,5-Tri-Substituídas: Síntese, Caracterização Estrutural e Propriedades Ópticas

Autora: Lis Regiane Vizolli Favarin

Orientador: Gleison Antônio Casagrande

Coorientador: Ademir dos Anjos

Dourados, 20 de Fevereiro, 2014

Este trabalho apresenta o estudo relacionado à síntese e caracterização estrutural de três novos complexos de Cu^I baseados em ligantes pirazolínicos 1,3,5-Tri-substituídos. Três novos complexos foram obtidos através da reação do complexo precursor [Cu(PPh₃)Cl] e os respectivos ligantes na proporção de 1:1 em meio de MeOH/CH₂Cl₂. Os complexos foram obtidos na forma de monocristais amarelos, e, apresentam luminescência na região do ultravioleta visível quando excitados em 290 nm. Os ensaios biológicos demonstraram que os complexos inibem o crescimento das bactérias *S. aureus* (gram-positiva) e *P. fluorescens* (Gram-negativa). A completa caracterização dos complexos sintetizados envolve a técnica de difratometria de raios X, análise elementar de CHN, IR, espectroscopia de absorção molecular no Uv-Vis e espectroscopia de emissão.

Palavras-Chaves: Pirazóis, Complexos, Cobre(I).

ABSTRACT

Master Dissertation in Chemistry
Graduate Course in Chemistry
Graduate Federal University of Dourados

CRYSTALCHEMISTRY COMPOUNDS OF Cu^I BASED PYRAZOLINES 1,3,5-TRISUBSTITUTED: SYNTHESIS, STRUCTURAL CHARACTERIZATION AND OPTICAL PROPERTIES

Author: Lis Regiane Vizolli Favarin
Academic Advisor: Gleison Antônio Casagrande
Academic Co Advisor: Ademir dos Anjos
Dourados, February 20, 2014

This work presents the related synthesis and structural characterization of three new complexes of Cu^I based in pyrazolynes ligands 1, 3, 5 – Tri-substituted. Three new compounds were obtained by reacting the precursor complex [Cu(PPh₃)Cl] and their ligands on the medium in a ratio of 1:1 MeOH/CH₂Cl₂. The complexes were obtained as yellow crystals and exhibit luminescence in the ultraviolet visible when excited at 290 nm. The biological tests shown that the complexes inhibit the growth of bacteria *S. aureus* (gram-positive) and *P. fluorescens* (Gram-negative). A complete characterization of synthesized complexes involves the technique of X-ray diffractometry, CHN elemental analysis, IR, UV-Vis spectroscopy, and emission spectroscopy.

Keywords: Pyrazoles, Complex, Cooper(I).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura eletrônica do pirazol.	23
Figura 2: Estrutura da Antipiridina.	24
Figura 3: Estrutura da Dipirona.	24
Figura 4: (a) Estrutura do celecoxib, (b) Estrutura do sildenafil.	25
Figura 5: Modos de coordenação dos pirazóis.	26
Figura 6: Coordenação dos complexos mononucleares de Cu ^I	27
Figura 7: Fórmula estrutural do complexo [Pt ₂ (μ ⁻ -Pz)(μ ⁻ -OH)(NH ₃) ₄](NO ₃) ₂ .	28
Figura 8: Complexo com atividade antibacteriana.	28
Figura 9: Estrutura molecular do complexo pirazolínico de Cu ^I com propriedade luminescente.	29
Figura 10: Estruturas moleculares dos complexos pirazolínicos de Au(I) com propriedades luminescentes.	30
Figura 11: Estrutura cristalina do complexo [Cu(μ ₃ -H ₃ TMT)Cl] _n .	31
Figura 12: Estrutura cristalina de complexos de Cu ^I com ligantes arenotiolatos.	32
Figura 13: Complexos de Cu ^I fotoativos e citotóxicos.	32
Figura 14: Etapas do bioensaio para determinação da Concentração Inibitória Mínima pelo método de macrodiluição em caldo.	38
Figura 15: Etapas do bioensaio para determinação da Concentração Bactericida Mínima pelo método de semeadura em placa de petri.	39
Figura 16: 16 a) Projeção no DIAMOND da cela unitária do complexo (1) com centro de inversão ($\bar{1}$).b) Projeção da cela unitária do complexo (1) com operador de centro de inversão ($\bar{1}$).	44
Figura 17: Projeção ORTEP da unidade assimétrica do complexo (1).	45
Figura 18: Projeção DIAMOND da unidade assimétrica do complexo (1). Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.	46
Figura 19: Projeção DIAMOND, esfera de coordenação do centro metálico de Cu ^I após formação do dímero, para o complexo (1).	47
Figura 20: Projeção ORTEP da unidade assimétrica do complexo (2).	48

Figura 21: Projeção DIAMOND, esfera de coordenação do centro metálico de Cu ^I , para o complexo (2).	49
Figura 22: Representação macromoléculas para o complexo (2).	50
Figura 23: a) Projeção do plano cristalográfico <i>ab</i> para o complexo (3). b) Representação dos operadores de simetria pertencentes ao grupo espacial $P2_1/n$.	51
Figura 24: a) Projeção do plano cristalográfico <i>ac</i> para o complexo (3). b) Representação dos operadores de simetria pertencentes ao grupo espacial $P2_1/n$	52
Figura 25: Projeção ORTEP da unidade assimétrica do complexo (3).	52
Figura 26: Representação do dímero para o complexo (3).	54
Figura 27: Espectro no infravermelho do complexo precursor [CuCl(PPh ₃) ₃]	55
Figura 28: Espectro no infravermelho do L(1).	56
Figura 29: Espectro no infravermelho do L(2).	56
Figura 30: Espectro no infravermelho do L(3).	57
Figura 31: Espectro no infravermelho do complexo(1).	57
Figura 32: Espectro no infravermelho do complexo(2).	58
Figura 33: Espectro no infravermelho do complexo(3).	58
Figura 34: Espectro de absorção do complexo precursor.	60
Figura 35: Espectro de absorção no UV-Vis do complexo (1) e seu respectivo ligante.	60
Figura 36: Espectro de absorção no UV-Vis do complexo (2) e seu respectivo ligante	61
Figura 37: Espectro de absorção no UV-Vis do complexo (3) e seu respectivo ligante.	61
Figura 38: Espectro de absorção no UV-Vis em solução e no estado sólido para o complexo (1).	63
Figura 39: Espectro de absorção no UV-Vis em solução e no estado sólido para o complexo (2).	63
Figura 40: Espectro de absorção no UV-Vis em solução e no estado sólido para o complexo (3).	64
Figura 41: Espectro de emissão do complexo precursor.	65

Figura 42: Espectro de emissão do complexo (1) e seu respectivo ligante.	66
Figura 43: Espectro de emissão do complexo (2) e seu respectivo ligante.	66
Figura 44: Espectro de emissão do complexo (3) e seu respectivo ligante.	67
Figura 45: Espectro de excitação (λ 290 nm), emissão (λ 380 nm) para o complexo (1).	68
Figura 46: Espectro de excitação (λ 290 nm), emissão (λ 368 nm) para o complexo (3).	69
Figura 47: Espectro de emissão no estado sólido para o complexo precursor.	69
Figura 48: Espectro de emissão no estado sólido para o complexo (1).	70
Figura 49: Espectro de emissão no estado sólido para o complexo (2).	70
Figura 50: Espectro de emissão no estado sólido para o complexo (3).	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados cristalográficos e refinamento estrutural para os complexos (1-3).	36
Tabela 2: Condições de reflexão pertinentes ao grupo espacial $P\bar{1}$ ($N^{\circ}2$), sistema cristalino triclinico	44
Tabela 3: Ligações e ângulos de hidrogênio (\AA , $^{\circ}$)	46
Tabela 4: Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo (1).	47
Tabela 5: Condições de reflexão pertinentes ao grupo espacial $P2_1/n$, sistema cristalino monoclinico.	48
Tabela 6: Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo (2).	49
Tabela 7: Ligações e ângulos de hidrogênio (\AA , $^{\circ}$)	50
Tabela 8: Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o complexo (3).	53
Tabela 9: Ligações e ângulos de hidrogênio (\AA , $^{\circ}$)	54
Tabela 10: Principais bandas e respectivas atribuições para o complexo $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$, os ligantes e seus respectivos complexos sintetizados.	59
Tabela 11: Bandas de absorção no UV-Vis para os complexos e seus respectivos ligantes.	62
Tabela 12: Bandas de absorção no Uv-Vis dos complexos (1), (2) e (3) em solução e no estado sólido	64
Tabela 13: Bandas de emissão para os compostos sintetizados.	68
Tabela 14: Resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) para os complexos avaliados expressos em $\mu\text{g/mL}$	72

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Rota sintética do complexo precursor [Cu(PPh ₃)Cl]	39
Esquema 2: Rota sintética dos ligantes L(1), L(2) e L(3)	40
Esquema 3: Rota sintética dos complexos (1), (2) e (3)	41

SIGLAS E ABREVIATURAS

R	Átomo substituinte (Cl, F, H)
Δ	Aquecimento da Reação até a Temperatura de Refluxo
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
λ	Comprimento de Onda
DMSO	Dimetilsulfóxido
EtOH	Etanol
Uv-Vis	Espectroscopia de Absorção no Ultravioleta e visível
KOH	Hidróxido de Potássio
p.f	Ponto de Fusão
TCLM	Transferência de Carga do Ligante para o Metal
TCML	Transferência de Carga do Metal para o Ligante
TCIL	Transferência de Carga Intraligante
PPh₃	Trifenilfosfina
)))	Ultrasson

SUMÁRIO

Capítulo 1- INTRODUÇÃO	17
Capítulo 2- Objetivos	20
2.1. Objetivo Geral	21
2.2. Objetivos Específicos	21
Capítulo 3- Revisão da Literatura	22
3.1. Pirazóis: Estrutura e Propriedades	23
3.2. Química de Coordenação dos Pirazóis	25
3.3. Química de Coordenação do Cu ^I	27
3.4. Complexos Metálicos com Núcleos Pirazolínicos	27
3.5. Complexos metálicos de Cu ^I coordenados ao átomo de Enxofre	30
Capítulo 4- Parte Experimental	34
4.1. Materiais e Métodos	35
4.1.1. Materiais	35
4.1.2. Métodos e Instrumentação	35
4.1.2.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	35
4.1.2.2. Análise Elementar	35
4.1.2.3. Difratomia de Raios X	35
4.1.2.4. Espectroscopia de Fluorescência	37
4.1.2.5. Ponto de Fusão	37
4.1.2.6. Espectroscopia de Absorção Molecular na Região do Ultravioleta e Visível	37
4.1.2.7. Ensaio Biológico: Concentração Inibitória Mínima	37
4.1.2.8. Concentração Bactericida Mínima	38
4.2. Síntese dos Ligantes e Complexos	39
4.2.1. Síntese do complexo precursor [Cu(PPh ₃)Cl]	39
4.2.2. Síntese dos Ligantes L(1), L(2) e L(3)	40

4.2.3. Síntese dos complexos (1), (2) e (3)	40
Capítulo 5- Resultados e Discussões	42
5.1. Considerações Gerais sobre as Sínteses	43
5.2. Estrutura Cristalina do Complexo (1)	44
5.3. Estrutura Cristalina do Complexo (2) e (3)	47
5.4. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	55
5.5. Espectroscopia na Região do UV-Vis	59
5.6. Espectroscopia de Absorção na Região do UV-Vis no Estado	63
Sólido	
5.7. Estudos de Luminescência em Solução	64
5.8. Estudos de Luminescência no Estado Sólido	69
5.9. Ensaio Biológico: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e	69
Concentração Bactericida Mínima (CBM)	
Capítulo 6- Conclusões	74
6. Conclusão	75
Capítulo 7- Referências	76
7. Referências	77
Anexos	81

CAPÍTULO 1.
INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A química inorgânica trata de todos os elementos da tabela periódica, estes elementos vão desde os metais mais reativos, como o sódio, até os metais nobres como o ouro. Dentro das várias linhas de pesquisa da química inorgânica destaca-se a de compostos de coordenação. No contexto da química de coordenação dos metais, o termo complexo significa um átomo metálico ou íon central rodeado por um conjunto de ligantes. Um ligante é um íon ou molécula que pode ter existência independente.[1] Íons metálicos coordenados a moléculas biológicas ou naturais formam complexos metálicos que estão presentes em fenômenos vitais, como a respiração e a fotossíntese.[2]

O estudo dos complexos metálicos leva ao entendimento de suas propriedades tais como a cor do composto, seu potencial redox, suas propriedades magnéticas, ópticas e estruturais. São essas propriedades que despertam cada vez mais o interesse dos pesquisadores para aplicação desses compostos, principalmente na área medicinal e tecnológica.[3]

Complexos metálicos com ligantes baseados em núcleos pirazolínicos bem como seus derivados apresentam uma química de coordenação interessante que tem atraído o interesse de diversos pesquisadores.[4,5] Esses ligantes são considerados promissores na química de coordenação moderna. Sua estrutura básica é formada por um anel heterocíclico aromático de cinco membros, constituído de três átomos de carbono e dois átomos de nitrogênio adjacentes nas posições 1 e 2, que torna estes ligantes promissores na construção de diversas estruturas.[6]

Outro fator relevante desta classe de compostos é que seus sistemas heterocíclicos exibem uma variedade de bioatividades, incluindo ação antitumoral, antifúngica, antimicrobiana, antibacteriana, antiinflamatória entre outras.[6,7] Complexos metálicos com ligantes pirazolínicos tem sido objeto de vastas investigações não somente pelas suas diversidades estruturais, mas também por suas propriedades químicas e biológicas.

Na busca por um centro metálico capaz de se coordenar com esses ligantes, optou-se em trabalhar com o Cu^{I} , sendo este um íon metálico muito utilizado na formação de complexos, devido às suas propriedades estruturais e fotofísicas.[8]

Embora as propriedades desta classe de ligantes sejam bastante conhecidas, a interação destes com metais de transição podem resultar em compostos com possíveis atividades biológicas e/ou luminescentes e catalíticas. Desta forma, consolidou-se o interesse pela química do Cu^{I} com diversos ligantes baseados em núcleos pirazolínicos, sendo que este tipo de interação pode levar a uma série de novas estruturas, com propriedades físicas, químicas e biológicas distintas.

A fim de avaliar a interação do Cu^{I} com os ligantes pirazolínicos, utilizou-se de técnicas como difratometria de raios X e análise elementar de CHN para elucidação estrutural dos novos complexos, e para analisar os comportamentos espectroscópicos, utilizou-se de técnicas como espectroscopia no infravermelho, espectroscopia de absorção molecular no UV-Vis e fluorescência. Para os estudos biológicos avaliou-se as atividades antimicrobianas dos complexos frente a bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e gram-negativas (*Pseudomonas fluorescens*).

CAPÍTULO 2.
OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo a preparação e a avaliação de sistemas cristaloquímicos baseados em complexos de cobre(I), bem como, caracterização estrutural, investigação das propriedades fotofísicas e estudos biológicos deste íon quando complexado com ligantes pirazolínicos 1,3,5-trissubstituídos.

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar as sínteses dos ligantes utilizados para a formação dos complexos.
- Estudar as sínteses e as caracterizações estruturais de novos complexos de Cu^{I} com ligantes baseados em núcleos pirazolínicos.
- Investigar as estruturas no estado sólido dos compostos preparados através da técnica de difratometria de raios X em monocristais, buscando correlacionar efeitos eletrônicos e de volume de grupamentos orgânicos com as arquiteturas estruturais formadas.
- Fazer uma avaliação detalhada das ligações intra e intermoleculares existentes nestes sistemas cristaloquímicos através dos dados oriundos da cristalografia.
- Analisar os comportamentos espectroscópicos dos compostos preparados, utilizando-se de técnicas como a espectroscopia no infravermelho, espectroscopia no UV-Vis e espectroscopia de fluorescência.
- Realizar as análises elementares de CHN.
- Realizar bioensaios para avaliação da sensibilidade de cepas bacterianas padronizadas, aos complexos pirazolínicos.

CAPÍTULO 3.
REVISÃO DA LITERATURA

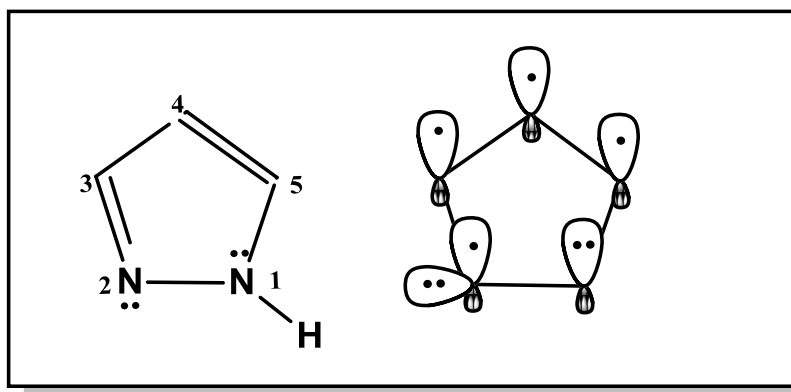
3. REVISÃO DA LITERATURA

Esta revisão tem como objetivo relatar as propriedades químicas, físicas e biológicas dos pirazóis e dos derivados pirazolínicos bem como descrever os complexos de cobre e suas propriedades farmacêuticas e ópticas tendo como ponto de partida a análise de moléculas similares já relatadas na literatura.

3.1. Pirazóis: Estrutura e Propriedades

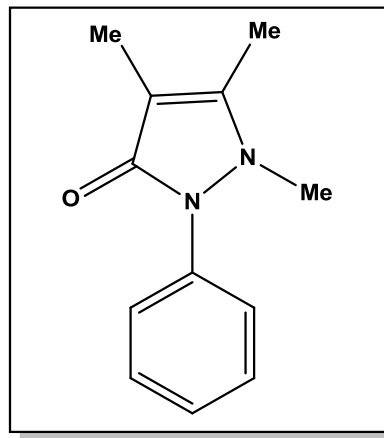
Os pirazóis são heterociclos aromáticos de cinco membros, pertencem à família dos 1,2-azóis e possuem em sua estrutura três átomos de carbono e dois átomos de nitrogênios adjacentes. Quimicamente os nitrogênios dos pirazóis não são equivalentes, assim, o nitrogênio da posição 1 (*N*-pirrólico) possui um par de elétrons não ligantes no anel que participam do sistema aromático, e uma ligação N-H com um próton relativamente ácido. Já o nitrogênio adjacente na posição 2 (*N*-piridinico) possui um par de elétrons fora do sistema aromático; desta maneira, o pirazol pode atuar como base e como nucleófilo (Figura 1).[9]

Figura 1. Estrutura eletrônica do pirazol.

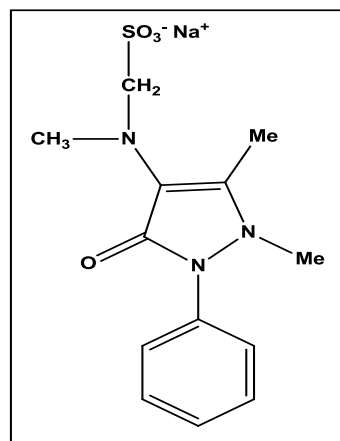


Pirazóis de ocorrência natural são raros, no entanto, os pirazóis de origem sintética suscitam cada vez mais a atenção por suas propriedades biológicas, estruturais, catalíticas e luminescentes.[10,11]

Em 1884, enquanto tentava sintetizar compostos quinolínicos com propriedades antipiréticas, o químico alemão Ludwig Knorr descobriu a antipiridina (Figura 2) um derivado da pirazolona, composto com propriedades analgésica, antipirética e antirreumática, porém muito tóxica.[12]

Figura 2. Estrutura da Antipiridina.

Devido à toxicidade da antipiridina durante alguns anos, o interesse pelos derivados pirazolínicos diminuiu. Porém, com o objetivo de eliminar a toxicidade deste composto e salientar suas propriedades antipiréticas, em 1921, o laboratório Hoechst sintetizou a dipirona (Figura 3), que foi obtida através da substituição de uma das metilas do anel por metileno-sulfoxisalato de sódio. Este derivado pirazolínico possui atividade antipirética e analgésica.[12,13]

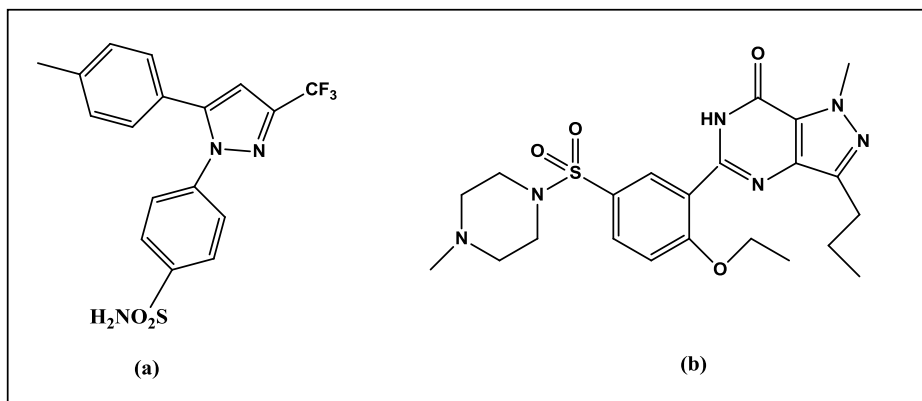
Figura 3. Estrutura da Dipirona.

Desde a dipirona a investigação sobre as propriedades farmacológicas dos derivados pirazolínicos estão em expansão, tendo na literatura vários relatos destes compostos com atividades biológicas diversificadas.

Foi durante a busca de novas drogas utilizando essa classe de moléculas que atualmente, o laboratório Pfizer disponibiliza no mercado fármacos como o Celebrex, e o

Viagra que possuem como princípio ativo o celecoxib (Figura 4a) e o sildenafil (Figura 4b) ambos derivados pirazolínicos.[14]

Figura 4. Estrutura do celecoxib (a) e sildenafil (b).



Desse modo, frente às várias pesquisas que demonstram a potencialidade das propriedades químicas, físicas e biológicas dos derivados pirazolínicos, torna-se evidente que estes representam uma classe promissora de compostos.

3.2. Química de Coordenação dos Pirazóis

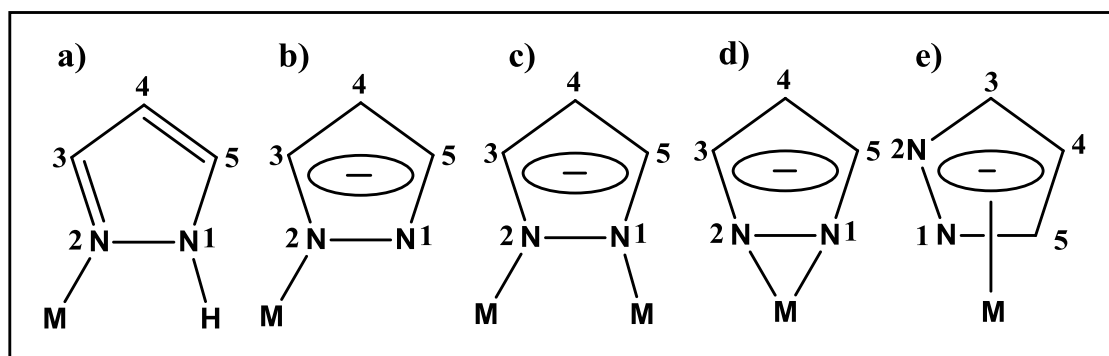
Os pirazóis suscitam cada vez mais atenção, pois apresentam muitos derivados com propriedades diversificadas. Esses compostos são considerados ligantes promissores, uma vez que podem interagir de diferentes maneiras com metais de transição, e ocupam uma posição similar à da amônia e da piridina na série espectroquímica. [15] A presença de dois átomos de nitrogênio quimicamente diferentes dispostos nas posições 1 (*N*-pirrólico) e 2 (*N*-piridínico) do anel de cinco membros, atribui aos pirazóis uma grande versatilidade quanto aos seus modos de coordenação. [16]

Assim sendo, os pirazóis, sem substituintes coordenantes, são capazes de atuar como:

- a) Ligantes neutros monodentados: a coordenação ocorre via átomo de nitrogênio piridínico do pirazol neutro. (Figura 5 a).
- b) Ligantes aniônicos monodentados: quando a coordenação se dá por apenas um átomo de nitrogênio do pirazol aniônico. (Figura 5 b)
- c) Ligantes aniônicos exobidentados: quando os dois átomos de nitrogênio do grupo pirazolato ligam-se a centros metálicos diferentes. (Figura 5 c)
- d) Ligantes aniônicos endobidentados: ocorre quando os dois átomos de nitrogênio do grupo pirazolato ligam-se simultaneamente ao mesmo centro metálico. (Figura 5 d)

e) Ligantes pentahapto (η^5): ocorre quando todos os átomos do anel pirazolato interagem com o centro metálico. (Figura 5 e)

Figura 5. Modos de coordenação dos pirazóis.



A capacidade de coordenação é controlada pela natureza do íon metálico e os substituintes do anel do pirazol. Os substituintes nas posições 3 e 5 podem modificar as propriedades estereoquímicas. Considerando um substituinte na posição 4, pode alterar principalmente as propriedades eletrônicas.[17-19]

O estudo da química de coordenação com ligantes pirazolínicos teve início em 1889, com a síntese realizada por Buchner do complexo pirazolínico $[Ag(\mu\text{-Pz})]_n$. Anos mais tarde Trofimenko et al. estimulou essa área de pesquisa com a introdução dos ligantes poli(pirazolil)boratos na química de coordenação.[20]

As peculiaridades dos ligantes pirazolínicos, é que os tornam promissores para síntese de complexos com a maioria dos metais da tabela periódica. As investigações do comportamento químico, físico e biológico destes compostos estão em grande expansão nos últimos anos.

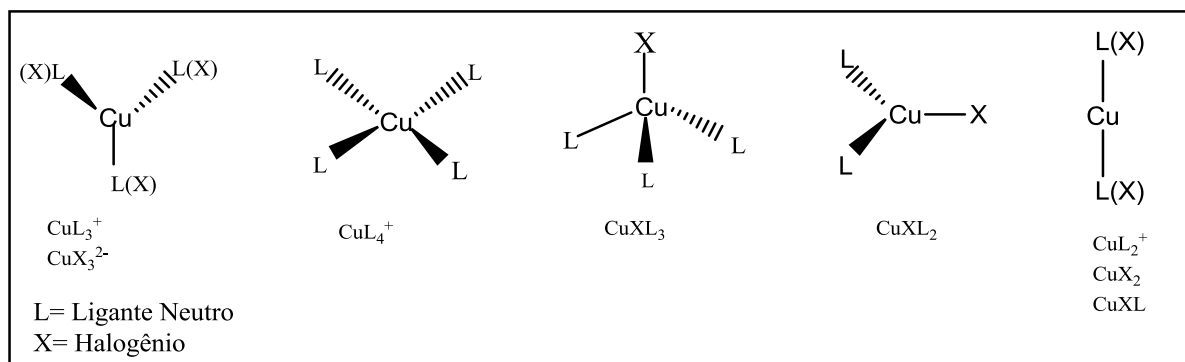
3.3. Química de Coordenação do Cu^I

As pesquisas envolvendo os metais de transição com configuração eletrônica do tipo d^{10} Cu^I , Ag^I , Au^I , estão relacionadas com a química de coordenação, que por sua vez, apresentam propriedades relevantes como: luminescentes, catalíticas, antimicrobianas, bactericidas, antitumorais entre outras. [21-23]

Os compostos de coordenação de Cu^I são diamagnéticos e frequentemente incolores por não possuírem transições eletrônicas do tipo $d-d$, porém, esses complexos também podem se apresentar nas cores amarela, vermelha ou laranja, devido as transições eletrônicas de transferência de carga (TCLM ou TCML. [24]

A química de coordenação do íon Cu^{I} é muito versátil, sendo possível a formação de compostos com estruturas mais simples ou até mesmo estruturas mais complexas como os *clusters*. Espécies mononucleares podem possuir vários tipos de geometrias (linear, tetraédrica e quadrado planar) como mostrado na Figura 6.[25]

Figura 6. Coordenação dos complexos mononucleares de Cu^{I} .



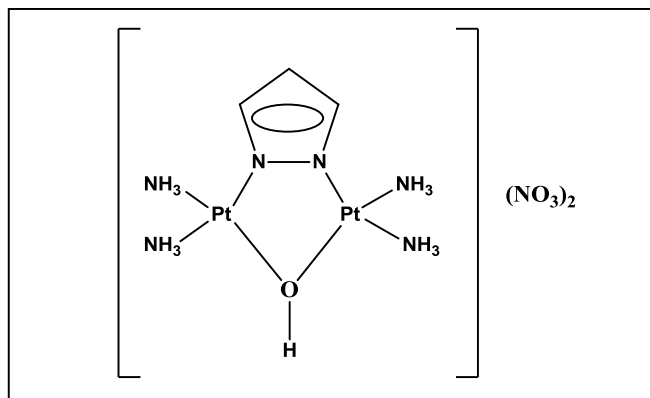
A flexibilidade coordenativa do cobre(I) deve-se à labilidade das suas ligações. Considera-se promissora a utilização deste íon metálico na síntese de complexos empregando-se ligantes macios, já que, átomos doadores como o enxofre, quando coordenados ao centro metálico estabilizam o metal que está no estado de oxidação mais baixo.[3,25]

3.4. Complexos Metálicos com Núcleos Pirazolínicos

A investigação sistemática de complexos metálicos está evoluindo rapidamente, a compreensão das propriedades destes compostos de uma forma geral se faz extremamente necessária, já que grandes descobertas como a cisplatina (*cis*[Pt(NH₃)₂Cl₂]) trouxeram grandes avanços na medicina.

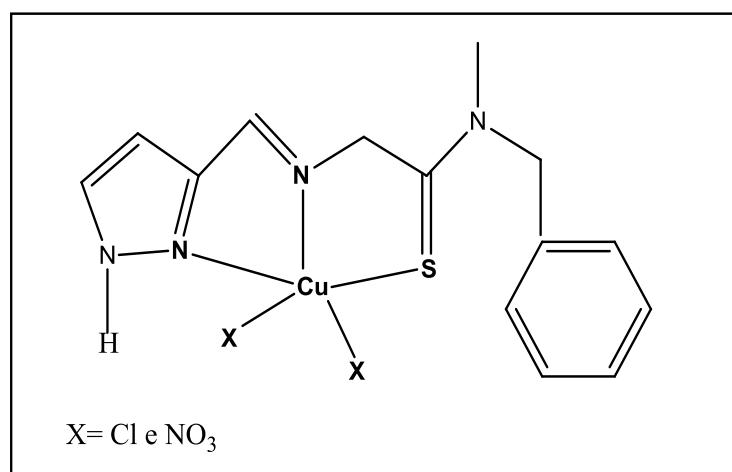
Os complexos pirazolínicos suscitam cada vez mais atenção não somente pelas suas diversidades estruturais, mas também por suas potencialidades de aplicação em catálise homogênea, como materiais moleculares e na química inorgânica medicinal.[26] Dentro dessas perspectivas, o complexo pirazolínico [Pt₂(μ-Pz)(μ-OH)(NH₃)₄](NO₃)₂ (Figura 7), apresentou maior citotoxicidade que a cisplatina frente as linhagens de células humanas cancerosas MCF7 (câncer de mama) e M19 (melanoma).[27]

Figura 7. Fórmula estrutural do complexo $[\text{Pt}_2(\mu\text{-Pz})(\mu\text{-OH})(\text{NH}_3)_4](\text{NO}_3)_2$.



Tratando-se da área medicinal atribui-se aos complexos pirazolínicos várias propriedades de interesses biológicos, dentre estes as propriedades bactericidas. Relata-se na literatura, que na tentativa de melhorar as atividades antibacterianas de compostos a base de tiosemicarbazonas, grupos pirazolínicos foram incorporados as essas moléculas. Um exemplo, são os compostos de coordenação de fórmula geral $[\text{Cu}(\text{HMPz}_4)\text{X}_2]$ (Figura 8) descritos por Sau et al. Esses complexos apresentaram atividade antibacteriana frente as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* com inibição de 97 e 96% do crescimento bacteriano.[28,29]

Figura 8. Complexo com atividade antibacteriana.



Os ligantes pirazolínicos possuem um papel importante na formação de complexos com metais de cunhagem, normalmente se coordenam aos íons metálicos Cu(I), Ag(I), Au^I. [30] Estudos indicam que a interação destes metais com os ligantes pirazolínicos formam espécies com propriedades luminescentes. Luminescência é um termo geral utilizado para

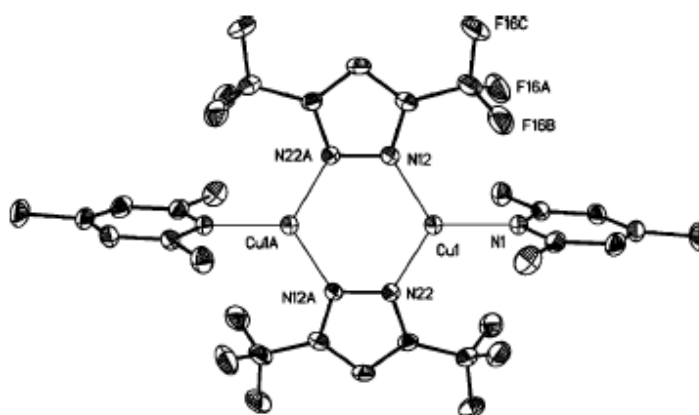
descrever o fenômeno relacionado à capacidade que algumas substâncias possuem em converter certos tipos de energia em emissão de radiação eletromagnética na região do visível. O processo de emissão pode ocorrer de através de dois processos: a fluorescência e a fosforescência.[31] Esses compostos são candidatos promissores a dispositivos moleculares emissores de luz (MOLEDs).[32]

Complexos de Cu^{I} tem recebido cada vez mais atenção na construção de materiais luminescentes.[33] A variedade de possibilidades do comportamento luminescente dos complexos de Cu^{I} , está relacionado com os processos de transferência de energia (processos intramoleculares são mais significativos), entre eles as transferências de carga metal-ligante (MLCT) e as transferências de carga ligante-metal (TCLM).[34]

Dentre os poucos relatos na literatura da investigação das propriedades luminescentes de complexos pirazolínicos com o íon metálico Cu^{I} Mohammad A. Omary e colaboradores descrevem em seu trabalho dois complexos de cobre(I), com propriedades fosforescentes com emissão no azul. A emissão de luz pode estar relacionada com transições intraligantes e também devido as transições de carga que ocorrem do ligante para o metal (TCLM).[32]

A Figura 9 representa a estrutura molecular de um dos complexos descritos no trabalho.

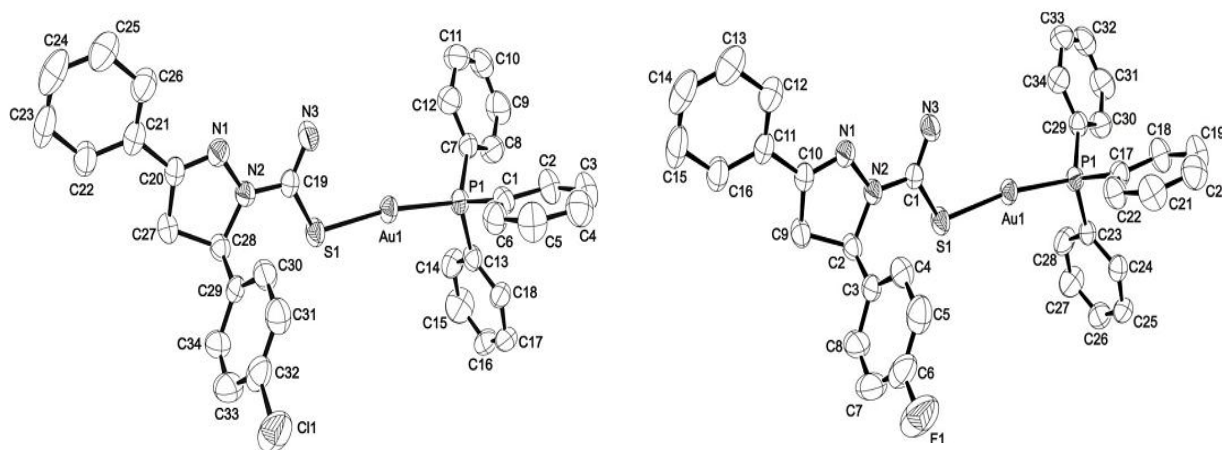
Figura 9. Estrutura molecular do complexo pirazolínico de Cu^{I} com propriedade luminescente.



Um recente trabalho publicado por Casagrande e colaboradores, descreve dois novos complexos de Au^{I} (Figura10), baseados em ligantes tiocarbamoil-pirazolinas. Os compostos de coordenação apresentam propriedades luminescentes quando excitados em um comprimento de onda de 320 nm.

A emissão dos complexos ocorre na região do azul do espectro eletromagnético, 413 e 415 nm respectivamente, as propriedades luminescentes dos complexos são atribuídas às transferências de carga do tipo TCLM ($S \rightarrow Au-P$). [35]

Figura 10. Estruturas moleculares dos complexos pirazolínicos de Au^I com propriedades luminescentes.



3.5. Complexos metálicos de Cu^I coordenados ao átomo de Enxofre

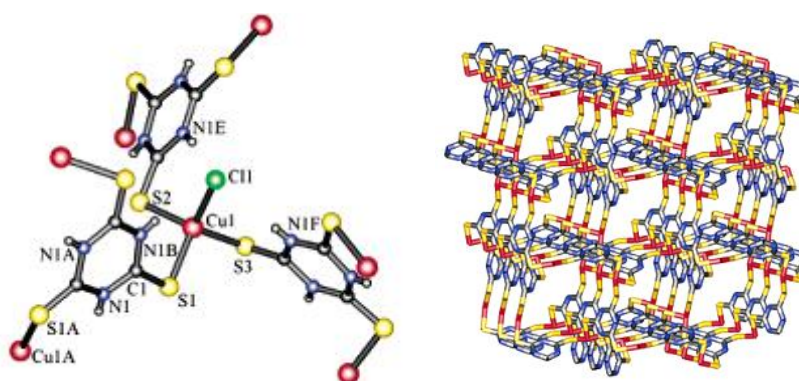
Na química de coordenação os complexos caracterizam-se por apresentar um íon metálico central, ligado a moléculas neutras ou ânions, denominados ligantes. O íon metálico atua como ácido de Lewis (receptores de pares eletrônicos) e os ligantes como bases de Lewis (doadores de pares eletrônicos).[3] A teoria dos ácidos e bases de Lewis serviu de base para uma descrição qualitativa da dureza e maciez dos ácidos e bases feita por Pearson. De acordo com Pearson, uma espécie "macia" em geral tem grande raio atômico, baixa carga efetiva nuclear e alta polarizabilidade, enquanto que uma espécie "dura" possui características opostas. Embora possam existir algumas exceções, a regra geral enuncia que ácidos duros se ligam a bases duras enquanto ácidos macios preferem bases macias.[36] Dessa forma, o íon metálico Cu^I é considerado um ácido macio de Pearson, tem preferência por ligações polares com grupos doadores, como os tioéster, fosfinas, tiolatos, entre outros. O tipo de ligação pode ser aniônica ou neutra. [37]

O enxofre é uma base macia, assim, é provável a coordenação deste átomo doador a centros metálicos de cobre(I). Os ligantes que contém átomos de enxofre são altamente

polares e covalentes, sendo assim, formam complexos estáveis com o íon metálico no seu menor estado de oxidação. Vários relatos na literatura descrevem as propriedades estruturais, físicas, químicas e biológicas dos compostos de coordenação formados pela ligação $\text{Cu}^{\text{I}}\text{-S}$.

O interesse pela química das tionas heterocíclicas, que são ligantes sulfurados, está relacionado com a capacidade de coordenação desta classe de ligantes a íons macios, levando a formação de complexos polinucleares constituindo assim polímeros de coordenação.[38] Diversas estruturas interessantes podem ser formadas pela interação do íon Cu^{I} com as tionas heterocíclicas, esses ligantes se coordenam ao centro metálico exclusivamente pelo átomo de enxofre de maneira monodentada como pode-se observar na Figura 11 que apresenta a estrutura cristalina do complexo $[\text{Cu}(\mu_3\text{-H}_3\text{TMT})\text{Cl}]_n$. [38]

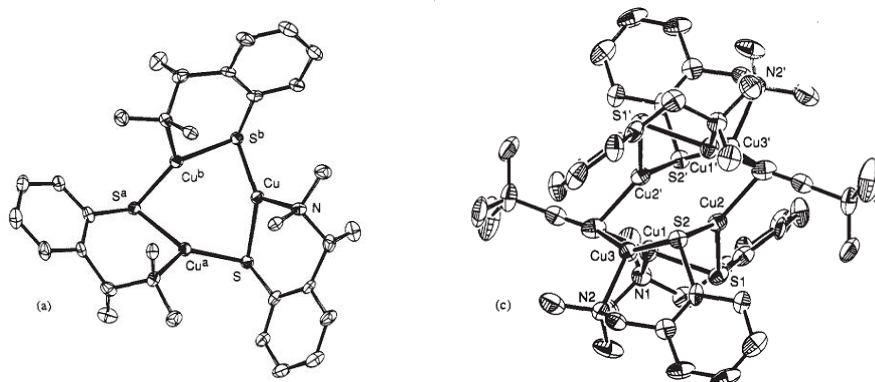
Figura 11. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Cu}(\mu_3\text{-H}_3\text{TMT})\text{Cl}]_n$.



A esfera de coordenação do átomo central é formada pela coordenação do íon metálico a três átomos de enxofre (de três moléculas de ligantes) e um átomo de cloro, com ângulos de ligações que variam de $106,712^\circ$ a $112,109^\circ$ indicando uma geometria tetraédrica distorcida. As distâncias de ligações Cu-S que formam o polímero de coordenação é de aproximadamente $2,3104(5) \text{ \AA}$. Os átomos de H que estão ligados ao N do anel formam ligações intermoleculares de hidrogênio ($\text{Cl} \cdots \text{H}$) com distâncias de $2,568 \text{ \AA}$. O complexo polinuclear possui uma emissão na região de 680 nm , que é atribuída às transferências de carga do tipo TCLM ($\text{S} \rightarrow \text{Cu}$). [38]

As investigações sobre a luminescência dos compostos de cobre(I) coordenados ao enxofre não são muito recentes, muitos pesquisadores buscam a compreensão destes sistemas para possíveis aplicações. Knotter e colaboradores em 1992, descreveram complexos de Cu com ligantes arenotiolatos (Figura 12), que por sua vez, apresentam uma banda de emissão em 650 nm quando são excitados em um comprimento de onda de 445 nm . [39]

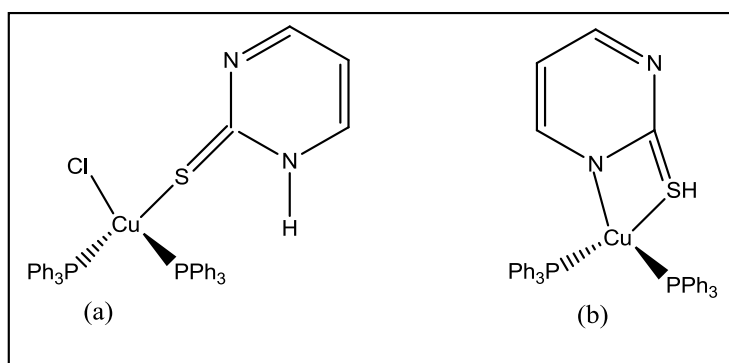
Figura 12. Estrutura cristalina de complexos de Cu^{I} com ligantes arenotiolatos.



A luminescência dos complexos está relacionada com as transições eletrônicas do tipo TCLM, uma vez que, os átomos doadores de enxofre são preferencialmente redutores (possuem maior facilidade em transferir seus elétrons para o íon metálico).

Outros exemplos da literatura tratam sobre a citotoxicidade de complexos que envolvem a coordenação do enxofre ao centro metálico de Cu^{I} . Dessa forma, a utilização de fármacos quimioterapêuticos tradicionais na maioria das vezes é limitada devido aos efeitos colaterais. O desenvolvimento de novas substâncias que permitem a ativação seletiva de drogas no local alvo é crucial para tratamentos terapêuticos bem sucedidos.[40] Nessa perspectiva, Velalopoulou e colaboradores sintetizaram novos complexos fotoativos de Cu^{I} (Figura 13) com ligantes mistos (2-mercaptopirimidina e trifenilfosfina).[41]

Figura 13. Complexos de Cu^{I} fotoativos e citotóxicos.



A citotoxicidade dos complexos foi investigada frente às células MCF-7 (câncer de mama), LMS (tumores mesenquimatosos com origem no músculo liso intestinal), e MRC-5. O complexo (b) inibe mais efetivamente a proliferação das células MRC-5 do que as células LMS e MCF-7 respectivamente. O complexo (a) apresenta inibição significativa da

proliferação das células LSM frente à cisplatina. Foram testadas as atividades citotóxicas *in vitro* destes complexos fotossensíveis antes e depois da irradiação UV-C, para ambos, a citotoxicidade após a irradiação teve um aumento de 37,54 e 24,4%. [41]

CAPÍTULO 4.
PARTE EXPERIMENTAL

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1. MATERIAIS

Os reagentes e solventes empregados nas sínteses e análises foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados com purificação prévia, quando necessário de acordo com métodos descritos na literatura.[42]

4.1.2. MÉTODOS E INSTRUMENTAÇÃO

4.1.2.1. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os dados espectrais na região do infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrômetro FT/IR- 4100 Jasco, na janela espectral de 400 até 4000 cm^{-1} , utilizando dispersão das amostras em KBr.

4.1.2.2. Análise Elementar

A determinação dos percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas no Instituto de Química da Universidade de São Paulo em um analisador elementar VARIO EL (*Elementar Analysensysteme GmbH*), a partir das amostras devidamente purificadas de cada composto. Foram realizadas as análises elementares dos complexos e do material de partida.

4.1.2.3. Difratometria de Raios X

A coleta de dados de difração de raios X dos complexos sintetizados foram realizadas na Universidade Federal de Santa Maria a temperatura ambiente em um difratômetro automático de três círculos com detector de área, SMART 1000 CCD Bruker, dotado de um monocromador de grafite e fonte de radiação Mo- $K\alpha$. As estruturas foram resolvidas através de métodos diretos, com o programa SHELXS-97 [43] As representações gráficas das estruturas cristalinas foram executadas através do programa DIAMOND [44] e ORTEP [45].

A Tabela 1 traz os dados de refinamento e parâmetros cristalinos para todos os complexos.

Tabela 1. Dados cristalográficos e refinamento estrutural para os complexos (1-3)

	Complexo (1)	Complexo (2)	Complexo (3)
Fórmula Molecular	C ₃₅ H ₃₃ CuCl ₂ N ₃ OPS	C ₅₂ H ₄₄ CuClF N ₃ P ₂ S	C ₅₂ H ₄₅ CuCl N ₃ P ₂ S
Massa Molecular (g/mol)	709,08	922,89	904,90
Radiação utilizada Mo-K α	$\lambda=0,71073$	$\lambda=0,71073$	$\lambda=0,71073$
T ^o (K)	293(2)	566(2)	296(2)
Sistema Cristalino	Triclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	<i>P</i> $\bar{1}$	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>	<i>P</i> 2 ₁ / <i>n</i>
Parâmetros de Cella			
<i>a</i> (Å)	9,2847(5)	10,7260(4)	10,6759(2)
<i>b</i> (Å)	13,9489(8)	23,0386(8)	22,7962(4)
<i>c</i> (Å)	14,6685(8)	18,4269(7)	18,4543(3)
α (°)	67,693(3)	90,00	90,00
β (°)	76,103(3)	94,2070(10)	94,4760(10)
γ (°)	79,103(3)	90,00	90,00
Volume (Å ³)	1695,96(16)	4541,2(3)	4477,52(14)
Número de fórmulas elementares	Z = 4	Z = 4	Z=4
Densidade Calculada Mg/m ³	1,635	1,350	1,342
Coefficiente linear de absorção (mm ⁻¹)	2,755	0,700	0,705
F (000)	856	1912	1880
Dimensão do cristal (mm)	0,12 x 0,13 x 0,14	0,67 x 0,33 x 0,29	0,41 x 0,32 x 0,16
Região de varredura angular	1,59 a 27,69°	1,42 a 25,04°	2,11 a 25,05
Índices de varredura	-12<= <i>h</i> <=12 -18<= <i>k</i> <=18 -19<= <i>l</i> <=18	-9<= <i>h</i> <=12 -26<= <i>k</i> <=27 -21<= <i>l</i> <=21	-12<= <i>h</i> <=11 -27<= <i>k</i> <=27 -21<= <i>l</i> <=21
Número de reflexões coletadas	48265	28212	29124
Número de reflexões independentes	7794 [R(int) = 0,0692]	8022 [R(int) = 0,0192]	7901 [R(int) = 0,0241]
Correção de absorção	Multi-scan	Multi-scan	Multi-scan
Dados/Restrições/Parâmetros	7794 / 0 / 397	8022 / 0 / 550	7901 / 0 / 549
Índice R Final [<i>I</i> > 2sigma(<i>I</i>)]	R1 = 0,0253 wR2 = 0,0609	R1 = 0,0307 wR2 = 0,0786	R1 = 0,0297 wR2 = 0,0754
Índice R (dados totais)	R1 = 0,1313 wR2 = 0,1391	R1 = 0,0378 wR2 = 0,0827	R1 = 0,0387 wR2 = 0,0806
Densidade eletrônica residual. (e/Å ³)	0,336 e -0,465	0,394 e -0,325	0,464 e -0,249

$$*R_1 = |F_0 - F_c|/|F_0|; wR_2 = [w(F_0^2 - F_c^2)^2 / (wF_0^2)]^{-1/2}.$$

4.1.2.4. Espectroscopia de Fluorescência

Os dados espectrais de excitação e emissão no ultravioleta e no visível foram obtidos em um espectrofluorímetro Cary Eclipse/Varian. As análises foram realizadas utilizando-se soluções dos compostos em diclorometano, em concentrações de ordem de $1,0 \times 10^{-5}$ mol. L⁻¹.

As medidas também foram realizadas no estado sólido. Os espectros de emissão foram obtidos a partir de uma camada fina e uniforme dos sólidos cristalinos sobre duas placas de quartzo, utilizando-se uma fibra óptica tipo Y sobre os cristais dos compostos em questão, com uma janela espectral de 200-800 nm.

4.1.2.5. Ponto de Fusão

Os valores de ponto de fusão (p.f.) foram determinados em um aparelho DF-3600 Instrutherm.

4.1.2.6. Espectroscopia de Absorção Molecular na Região do Ultravioleta e Visível

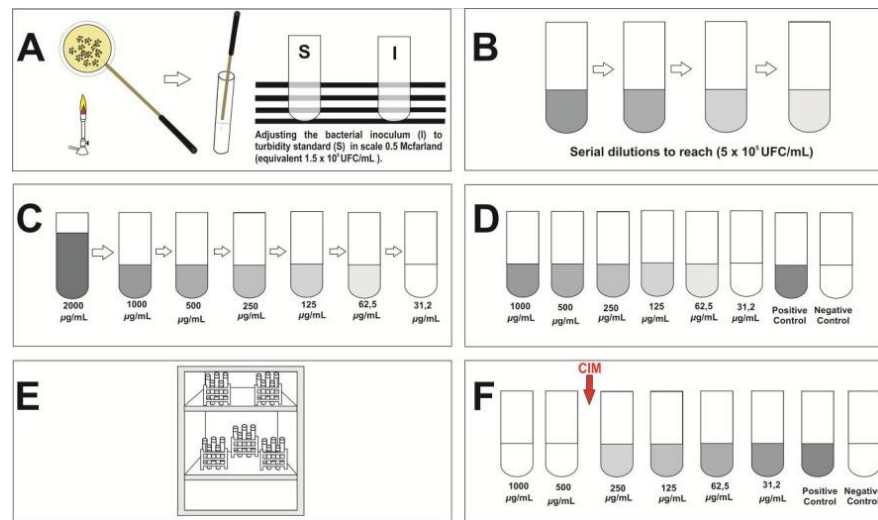
Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis) foram obtidos em um espectrofotômetro Cary 50 Conc/Varian. As análises foram realizadas utilizando-se soluções dos compostos em diclorometano, em concentrações de ordem de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Os estudos espectroscópicos foram realizados também no estado sólido.

4.1.2.7. Ensaios Biológicos: Concentração Inibitória Mínima

Os estudos biológicos foram realizados na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – unidade de Naviraí. Determinou-se a concentração inibitória mínima (CIM) pelo método de macrodiluição em caldo. Foram produzidos inóculos com colônias bacterianas com tempo de incubação não superior a 24 horas, ajustado à solução padrão de 0,5 McFarland de turvação bacteriana, na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (unidades formadoras de colônias por mililitro), em seguida, a concentração de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL com caldo Luria-Bertani (Figura 14A). Em seguida, realizou-se as diluições dos complexos em uma solução de 10% de DMSO, sendo ajustadas seis concentrações por diluições em série 2:1 (1000, 500, 250, 125, 62,5 e 31,25 µg/mL) (Figura 14B).[46] Para a determinação da concentração inibitória mínima foi distribuída em cada tubo de ensaio a alíquota de 1 mL de cada solução teste (nas concentrações especificadas) (Figura 14C) e 1 mL da suspensão bacteriana, exceto no tubo de controle negativo (Figura 14D) . Os tubos foram incubados a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 horas, em seguida avaliou-se a presença de turvação bacteriana (Figura 14E). A CIM foi determinada como a menor concentração dos complexos capaz de inibir o crescimento microbiano.

Separaram-se tubos de Controle Negativo (menor concentração do composto e caldo LB sem inoculo); e de Controle Positivo (caldo LB e suspensão bacteriana ajustada) (Figura 14F). Os bioensaios foram realizados em duplicata com três repetições para cada cepa bacteriana; quando detectado erro ou contaminação o resultado foi descartado e o teste refeito.

Figura 14. Etapas do bioensaio para determinação da Concentração Inibitória Mínima pelo método de macrodiluição em caldo. Fonte: Santos, 2013.

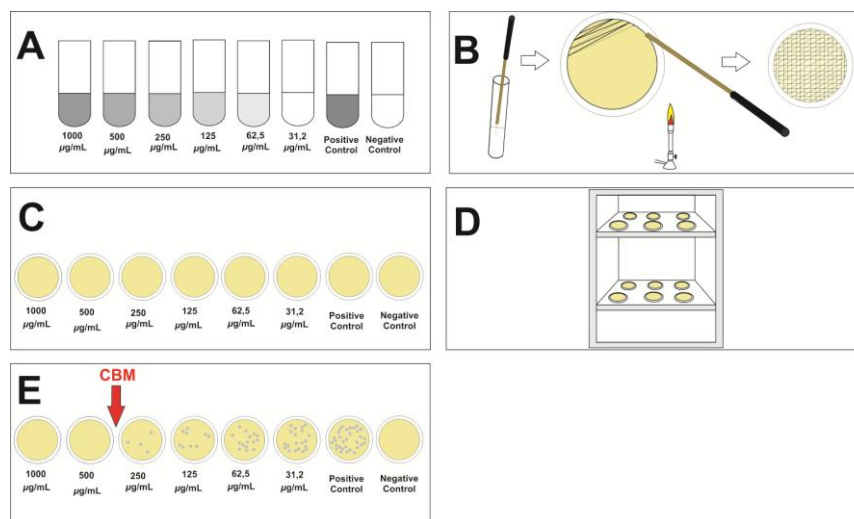


4.1.2.7.1. Concentração Bactericida Mínima.

A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada pelo método de semeadura em placa de petri. Em conjunto aos procedimentos para determinação da CIM, foram iniciados os procedimentos para determinação da CBM. Após o período de incubação para determinação da CIM retirou-se uma alíquota de 0,1 mL de cada tubo de ensaio, incluindo o controle positivo e o negativo (sem inóculo) (Figura 15A). Os inóculos foram distribuídos sobre a superfície do meio de cultura em placas de petri, com o auxílio de uma alça de Drigalski (Figura 15B). As placas foram incubadas a temperatura de $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 20 horas (Figura 15D). Após este período, observou-se à presença de colônias bacterianas em cada placa (Figura 15E).

A CBM foi determinada como sendo a menor concentração dos complexos capaz de impedir o crescimento microbiano em meio de cultura (formação de colônias bacterianas). Os bioensaios foram realizados em duplicata com três repetições para cada cepa bacteriana; quando detectado erro ou contaminação o resultado foi descartado e o teste refeito.

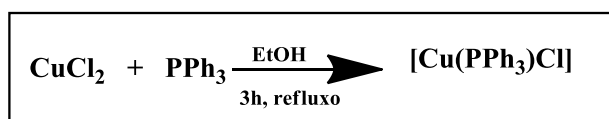
Figura 15. Etapas do bioensaio para determinação da Concentração Bactericida Mínima pelo método de semeadura em placa de petri. Fonte: Santos, 2013.



4.2. SÍNTESE DOS LIGANTES E COMPLEXOS

4.2.1. Síntese do complexo precursor [Cu(PPh₃)Cl]

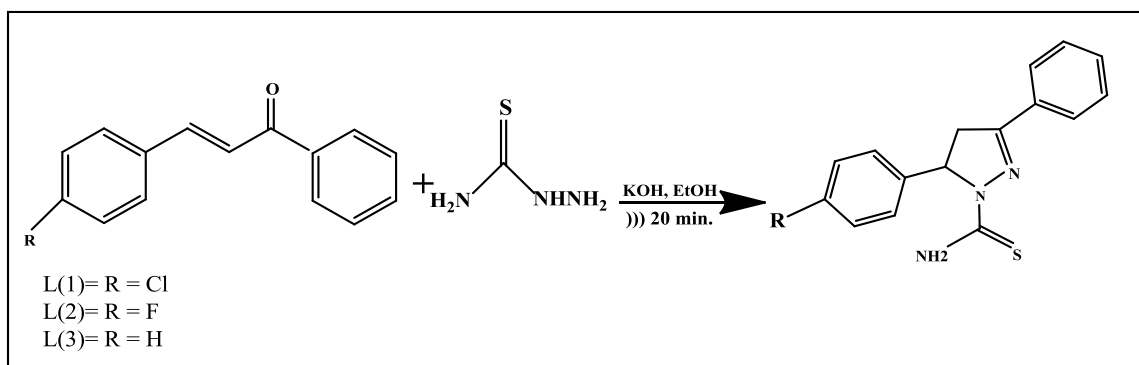
O complexo precursor foi sintetizado de acordo com modificações no método descrito na literatura, como ilustrado no Esquema 1.[47]



A uma solução de CuCl₂.2H₂O (3,7 mmol ;0,50 g) em 18 mL de etanol, sob agitação e leve aquecimento, adicionou-se uma solução etanólica a quente de PPh₃ (4,9 mmol; 1,31 g) em 10 mL de etanol. O sistema foi mantido em refluxo durante 3 horas até o desaparecimento da cor verde do cloreto de cobre, indicando que o Cu^{II} foi reduzido a Cu^I. O sólido formado de coloração bege foi filtrado e lavado com etanol. A análise elementar de CH teórica para [CuCl(PPh₃)] MM= 361,28 g mol⁻¹, C = 59,84%, H = 4,18% Experimental: C = 59,79% , H = 4,29%. Ponto de fusão: 248 °C. IV (KBr, cm⁻¹): 3049 [δ_{ax}(C-H)_{Ar}], 1658 [δ_{ax}(C=C)_{Ar}], 1094 [ν(C-P)], 981 [δ_{fp}(C-H)_{Ar}], 693[δ_{fp}(=C-H)_{Ar}].

4.2.2. Síntese dos Ligantes (5-(4-clorofenil)-3-fenil-1-tiocarbamoil-4,5-diidro-1H-pirazol), (L1), (5-(4-fluorofenil)-3-fenil-1-tiocarbamoil-4,5-diidro-1H-pirazol), L(2), e (3-(5-difenil-4),-1-tiocarbamoil-5diidro-1H-pirazol), L(3)

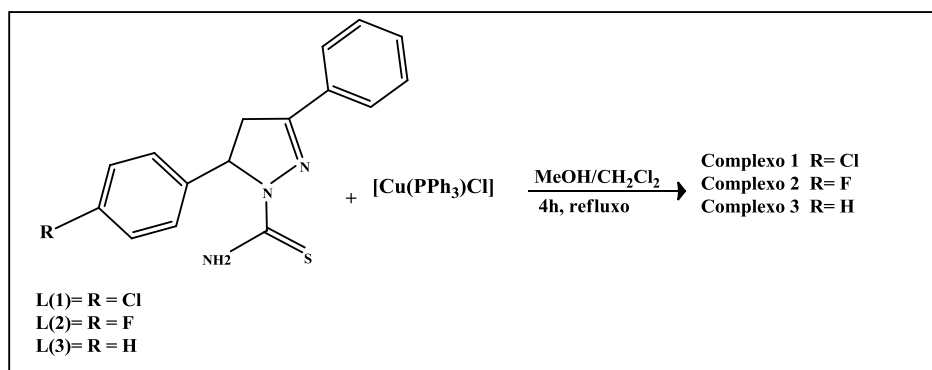
Para a síntese dos ligantes, seguiu-se o procedimento experimental descrito na literatura.[48] Apresenta-se a seguir o Esquema reacional 2 que ilustra de forma genérica a rota sintética dos três ligantes utilizados neste trabalho.



Os ligantes **L(1)**, **L(2)** e **L(3)** foram sintetizados via reação de ciclocondensação da chalcona com tiosemicarbazida na presença de hidróxido de potássio. Em um béquer de 25 mL adicionou-se 2,0 mmol de chalcona e 0,36 g (4,0 mmol) de tiosemicarbazida em 10 mL de etanol; em seguida, acrescentou-se 0,22 g de KOH (4,0 mmol). Posteriormente a mistura foi irradiada por uma sonda de ultra som, com uma frequência de 20 KHz, à temperatura ambiente (25 °C). O consumo completo da chalcona, ocorreu após 20 minutos, e foi monitorado por cromatografia gasosa (CG). Depois de cessado o tempo reacional, resfriou-se o sistema e filtrou-se sob vácuo, lavando com pequenas porções de álcool etílico frio, deixou-se secar. IV (KBr, $\nu \text{ cm}^{-1}$) **L(1)**: 3378 (N–H), 3055 (C–H_{ar}), 1571 (C=N), 1468 (C=C), 1365 (C=S), p.f: 180 °C. Rendimento: 74%. IV (KBr, $\nu \text{ cm}^{-1}$) **L(2)**: 3477 (N–H), 3052(C–H_{ar}), 1579 (C=N), 1474 (C=C), 1362 (C=S), p.f: 210 °C. Rendimento: 78%. IV (KBr, $\nu \text{ cm}^{-1}$) **L(3)**: 3481 (N–H), 3052 (C–H_{ar}), 1572 (C=N), 1471 (C=C), 1365 (C=S), p.f: 190 °C. Rendimento: 76%.

4.2.3. Síntese dos Complexos

Para a síntese dos **complexos (1)**, **(2)** e **(3)**, seguiu-se a rota sintética demonstrada no Esquema reacional 3:



Os três novos complexos pirazolínicos foram obtidos através da reação direta entre o precursor $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$ e os respectivos ligantes, em uma proporção equivalente de diclorometano e metanol. A uma solução de 1,1 mmol do ligante, sendo **L(1)**, **L(2)** ou **L(3)** em 5 mL de diclorometano, sob agitação e aquecimento ($75\text{ }^\circ\text{C}$), acrescentou-se uma solução de 1 mmol do complexo precursor previamente dissolvido em 10 mL de uma mistura de solventes na proporção de 1:1 (metanol e diclorometano). O sistema de coloração amarela foi mantido em refluxo por 4 horas. Os monocristais de coloração amarela apropriados para difração de raios X foram obtidos por lenta evaporação do solvente. As propriedades e dados físicos dos complexos sintetizados encontram-se a seguir:

Complexo (1), análise elementar de CHN teórica para $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{CuN}_3\text{Cl}_2\text{SPO}$, $\text{MM} = 709,08\text{ g mol}^{-1}$: C = 59,2%, H = 4,68% e N = 5,92%. Experimental: C = 58,66%, H = 4,53% e N = 5,99%. IV (KBr, $\nu\text{ cm}^{-1}$): 3352 (N-H), 3055 (C-H)_{Ar}, 1587 (C=N), 1485 (C=C), 1356 (C=S), 750 (C-Cl). Ponto de fusão: $158\text{ }^\circ\text{C}$. Rendimento de cristal: 38%. **Complexo (2)**, análise elementar de CHN teórica calculada para $\text{C}_{52}\text{H}_{44}\text{CuClFN}_3\text{P}_2\text{S}$, $\text{MM} = 922,89$: C = 67,66%, H = 4,8% e N = 4,55%. Experimental: C = 67,35%, H = 4,83% e N = 4,64%. IV (KBr, $\nu\text{ cm}^{-1}$): 3444 (N-H), 3052 (C-H)_{Ar}, 1588 (C=N), 1483 (C=C), 1358 (C=S), 750 (C-F). Ponto de fusão: $238\text{ }^\circ\text{C}$. Rendimento de cristal: 35%. **Complexo (3)**, análise elementar de CHN teórica calculada para $\text{C}_{52}\text{H}_{45}\text{CuClN}_3\text{P}_2\text{S}$, $\text{MM} = 904,90$: C = 69,00%, H = 5,02% e N = 4,64%. Experimental: C = 69,15%, H = 5,13% e N = 4,64%. IV (KBr, $\nu\text{ cm}^{-1}$) 3472 (N-H), 3052 (C-H)_{Ar}, 1577 (C=N), 1482 (C=C), 1355 (C=S). Ponto de fusão: $240\text{ }^\circ\text{C}$. Rendimento em cristais: 42%.

CAPÍTULO 5.
RESULTADOS E DISCUSSÕES

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Considerações Gerais sobre as Sínteses

Os estudos relacionados à química de coordenação demonstram-se cada vez mais relevantes para o desenvolvimento científico e tecnológico. Dentro do contexto da química inorgânica um composto de coordenação consiste, sobretudo, em um átomo central, rodeado por um certo número de ligantes, que possuem a propriedade de doar elétrons ao íon metálico.

Os três novos complexos de cobre(I) com ligantes tiocarbomoil pirazolínicos, são formados através da coordenação dos respectivos ligantes ao íon metálico de maneira monodentada pelo átomo de enxofre; essa coordenação $\text{Cu}^{\text{I}}\text{-S}$ já era esperada, devido a maior afinidade do átomo de cobre(I) pelo átomo de enxofre, uma base mais macia do que o nitrogênio.

A quantidade de C, H e N foram determinadas através da análise elementar de CHN para todos os complexos, os resultados experimentais estão em consonância com os resultados teóricos, o que implica que os complexos foram obtidos com um grau de pureza adequado. A análise elementar de CHN apresenta resultados concordantes com as fórmulas moleculares $\text{C}_{35}\text{H}_{33}\text{CuN}_3\text{Cl}_2\text{POS}$, $\text{C}_{52}\text{H}_{44}\text{CuClFN}_3\text{P}_2\text{S}$ e $\text{C}_{52}\text{H}_{45}\text{CuClN}_3\text{P}_2\text{S}$, em que todos os complexos são neutros.

Os complexos formados deram origem a monocristais de coloração amarela de qualidade adequada para análise estrutural por difratometria de raios X, o que permitiu verificar que os **complexo (1) e (3)**, apresentam-se na forma dimérica e o **complexo (2)** trata-se de uma estrutura discreta. Um aspecto interessante apresentado pelo segundo composto de coordenação, é o fato de apresentar uma reprodução sistemática do conteúdo da cela unitária acarretando na formação de macromoléculas. Essas macromoléculas se reproduzem na cela unitária através de ligações intra e intermoleculares hidrogênio, enquanto que a estrutura do dímero formado no **complexo (1)** é mantida através de ligações dissulfeto, além, de possuir interações intermoleculares de hidrogênio e o **complexo (3)** mantém sua forma dimérica por ligações intermoleculares de hidrogênio. O **complexo (1)** possui um ponto de fusão em 158°C , este valor é significativamente menor do que o apresentado pelos **complexos (2) e (3)**, que fundem respectivamente em 238 e 240°C . As interações intramoleculares e intermoleculares de hidrogênio podem ser as possíveis responsáveis por este fenômeno.

5.2. Estrutura Cristalina do Complexo (1)

O complexo dimérico apresenta-se na forma de monocristais amarelos pertencentes ao sistema triclínico e grupo espacial $P\bar{1}$ (N° 2 – *International Tables for Crystallography*)⁴⁹ sendo que as condições de reflexão observadas são condizentes ao operador de simetria ($\bar{1}$).

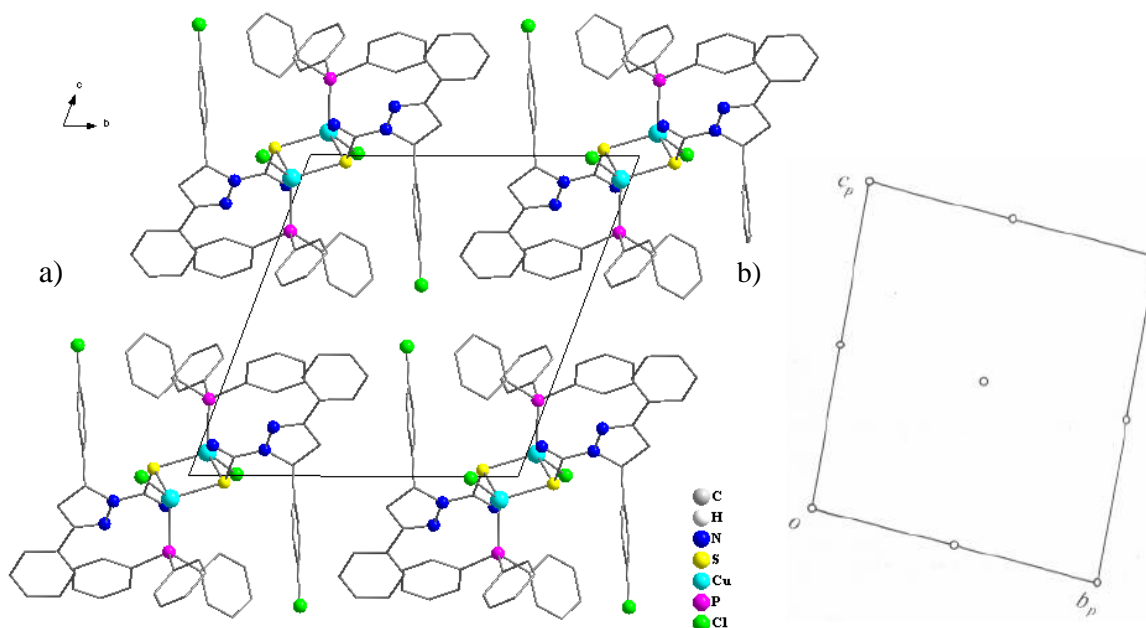
O grupo espacial $P\bar{1}$ é centrossimétrico e apresenta como único operador de simetria centros de inversão. As representações gráficas das estruturas cristalinas foram executadas através dos programas DIAMOND [44] e ORTEP [45]. A Tabela 1 presente no capítulo 4 reúne as informações da coleta de intensidades e dados do refinamento das estruturas cristalinas de todos os complexos sintetizados, por sua vez a Tabela 2 reúne as informações de condição de reflexão do grupo espacial $P\bar{1}$.

Tabela 2: Condições de reflexão pertinentes ao grupo espacial $P\bar{1}$ (N°2), sistema cristalino

Domínio da Condição	Reflexão	Condição Observada	Interpretação/Direção Cristalográfica	Sistema Cristalino
Integral	hkl	-	Tipo Bravais P	Triclínico

A Figura 16 apresenta a projeção no plano cristalográfico bc de uma cela triclínica e centro de inversão ($\bar{1}$) operando a unidade assimétrica.

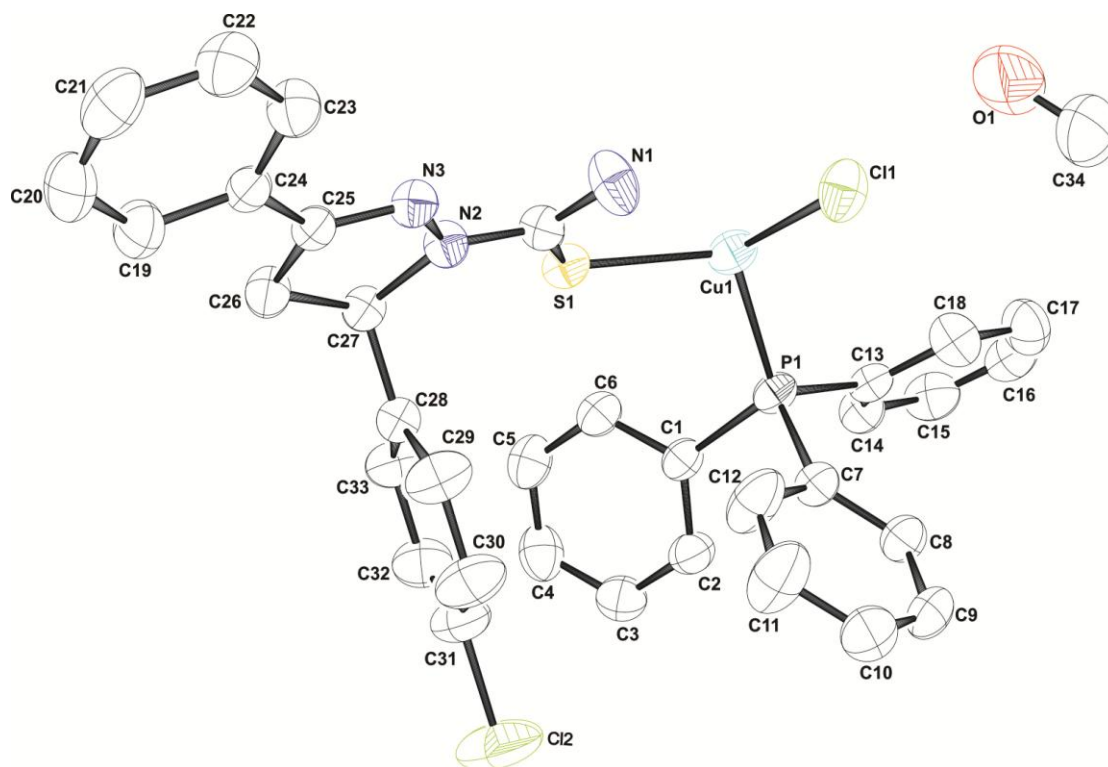
Figura 16 a) Projeção no DIAMOND da cela unitária do **complexo (1)** com centro de inversão ($\bar{1}$). Os átomos de hidrogênio e a molécula do solvente foram omitidos para maior clareza. **b)** Projeção da cela unitária do **complexo (1)** com operador de centro de inversão ($\bar{1}$).



Os dados oriundos da cristalografia demonstram que a formação do primeiro complexo se dá pela coordenação do átomo de S do **L(1)** de maneira monodentada ao centro metálico Cu^{I} . A Figura 17 representa a projeção da unidade assimétrica para o **complexo (1)**.

Figura 17. Projeção ORTEP da unidade assimétrica do **complexo (1)**.

Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

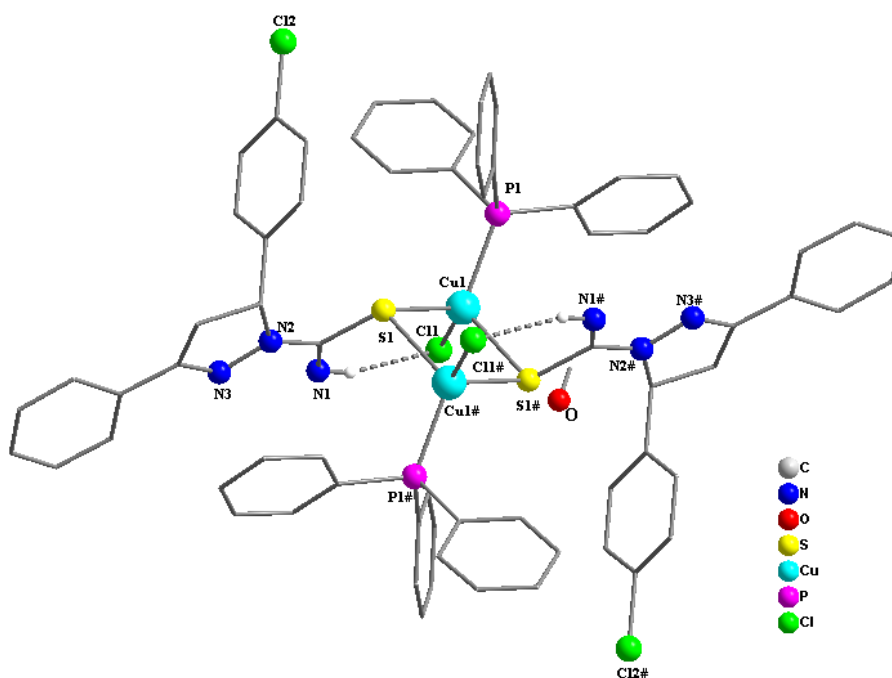


A unidade assimétrica do **complexo (1)** é formada pela coordenação do ligante **L(1)** através do átomo de enxofre ao centro metálico de Cu^{I} com distância de ligação $\text{Cu}^{\text{I}}\text{-S}$ de 2,338(3) Å, um átomo de fósforo com distância de ligação $\text{Cu}(1)\text{-P}(1)$ de 2,228(3) Å e completando a esfera de coordenação um átomo de Cl com distância de ligação $\text{Cu}(1)\text{-Cl}(1)$ de 2,308(5). Os comprimentos de ligação que separam o átomo central dos átomos doadores que formam sua esfera de coordenação estão em consonância com a literatura.[38-40, 50, 51]

A associação da unidade assimétrica ocorre através de interações intermoleculares do tipo $\mu_2\text{-S}(\#1)\text{-Cu}(1)$ com distância de ligação de 2,443(5) Å, formando uma espécie dimérica através de pontes de enxofre como mostra a Figura 18.

Figura 18. Projeção DIAMOND da unidade assimétrica do **complexo (1)**.

Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.



Interações intramoleculares podem ser observadas na estrutura cristalina, pontes intramoleculares de hidrogênio são formadas com os átomos de cloro na estrutura dimérica, as distâncias e ângulos de ligações encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Ligações e ângulos de hidrogênio (Å, °)

D-H-A	d(D-H)	d(H \cdots A)	d(D \cdots A)	\angle (D-H \cdots A)
N(1)-H(1B) \cdots Cl(1)	0,86	2,42	3,26	164,8
N(#1)-H(1#B) \cdots Cl(#1)	0,86	2,42	3,26	164,8

Operadores de simetria x,y,z

Avaliando a projeção cristalográfica do complexo dimérico observa-se um ambiente de coordenação tetraédrico distorcido para os átomos de cobre(I) (Figura 19), já que, seus ângulos de ligação são próximos a 109,5°. O dímero é mantido através de pontes Cu(1) \cdots S \cdots Cu(#1), com distâncias de 2,33 e 2,44 Å. A Tabela 4 reúne os principais comprimentos e ângulos de ligações para o **complexo (1)**.

Figura 19. Projeção DIAMOND, esfera de coordenação do centro metálico de Cu^I após formação do dímero, para o **complexo (1)**.

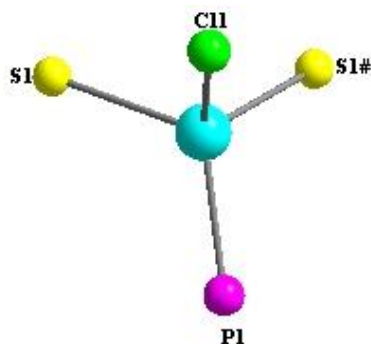


Tabela 4. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o **complexo (1)**.

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
Cu-P(1)	2,2284(9)	P(1)-Cu-Cl(1)	115,36(4)
Cu-Cl(1)	2,3083(11)	P(1)-Cu-S(1)	108,17(4)
Cu-S(1)	2,3379(10)	Cl(1)-Cu-S(1)	112,95(4)
Cu-S(#1)	2,4434(10)	Cl(1)-Cu-S(#1)	105,56(4)
S(1)-Cu(#1)	2,4434(10)	Cu-S(1)-Cu(#1)	82,02(3)

Operadores de simetria $-x+2,-y,-z$

Os dados obtidos na difratometria de raios x demonstram que o complexo dimérico não possui interações do tipo Cu^I...Cu^I, devido a longa distância de 3,13 Å que separa os dois centros metálicos, sendo que os raios de Van der Waals sugerem que este tipo de distância deve ser de no máximo 2,80 Å. [52-54] De acordo com dados descritos na literatura, a ligação intermetálica cobre-cobre ocorre na faixa de 2,39 e 2,45 Å [53], porém, há relatos em que esta ligação metal-metal ocorre em 2,57 Å estando um pouco fora dos valores usualmente descritos para este tipo de ligação, no entanto está na faixa de valores permitidos pelos raios de Van der Waals.[55]

5.3. Estrutura Cristalina do Complexo (2) e (3)

Os complexos (2) e (3) apresentam-se na forma de monocristais amarelos pertencentes ao sistema monoclinico e grupo espacial $P2_1/n$ (N° 14 – *International Tables for Crystallography*) [49], sendo que as condições de reflexão observadas são condizentes aos operadores de simetria (2_1 e n). Esses operadores de simetria envolvem os eixos de rotação e translação (2_1) e um plano de deslizamento (n) diagonal e centros de inversão contidos no

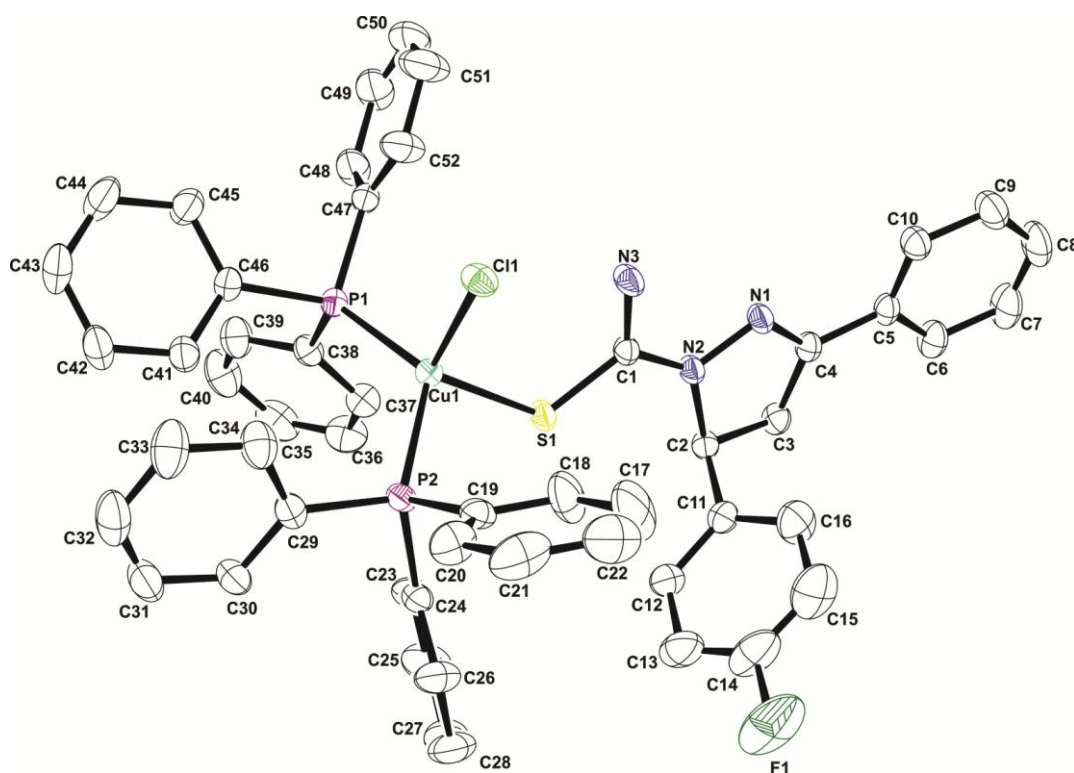
centro e nos vértices da cela. As condições de reflexão observadas para a determinação do grupo espacial $P2_1/n$ estão representadas na Tabela 5.

Tabela 5. Condições de reflexão pertinentes ao grupo especial $P2_1/n$, sistema cristalino monoclinico.

Domínio da condição	Reflexão	Condição de Reflexão	Interpretação
Integral	hkl	-	Tipo de Bravais P
Zonal	h0l	$h + l = 2n$	Operador n
Serial	0k0	$k = 2n$	Operador 2_1

O **complexo (2)** é formado através da coordenação do átomo de enxofre do ligante **L(2)** de maneira monodentada ao centro metálico de Cu^I . A Figura 20 apresenta a projeção da unidade assimétrica para este complexo.

Figura 20. Projeção ORTEP da unidade assimétrica do **complexo (2)**. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.



Avaliando a esfera de coordenação, o centro metálico de Cu^I encontra-se simultaneamente coordenado a dois átomos de fósforo com distâncias de ligação $\text{Cu}(1)\text{-P}1$ de $2,301(0)$ Å e $\text{Cu}(1)\text{-P}2$ de $2,289(0)$ Å, um átomo de cloro com distância de ligação $\text{Cu}(1)\text{-Cl}$ de $2,343(1)$ Å e a um átomo de enxofre proveniente do ligante **L(2)** com distância de ligação $\text{Cu}(1)\text{-S}$ de $2,363(0)$, as distâncias de ligações entre os átomos da esfera de coordenação são

semelhantes as observadas para o **complexo (1)**, sendo estes valores concordantes com os encontrados na literatura.[38-40, 50,51]

Avaliando-se a esfera de coordenação do átomo central no **complexo (2)**, observa-se um ambiente de coordenação tetraédrico distorcido com ângulos de ligações próximos a 109,5°, em que a geometria pode ser melhor visualizada através da projeção 21. Os principais ângulos e comprimentos de ligações estão reunidos na Tabela 6.

Figura 21. Projeção DIAMOND, esfera de coordenação do centro metálico de Cu^I, para o **complexo (2)**.

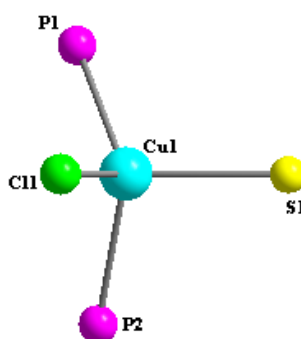


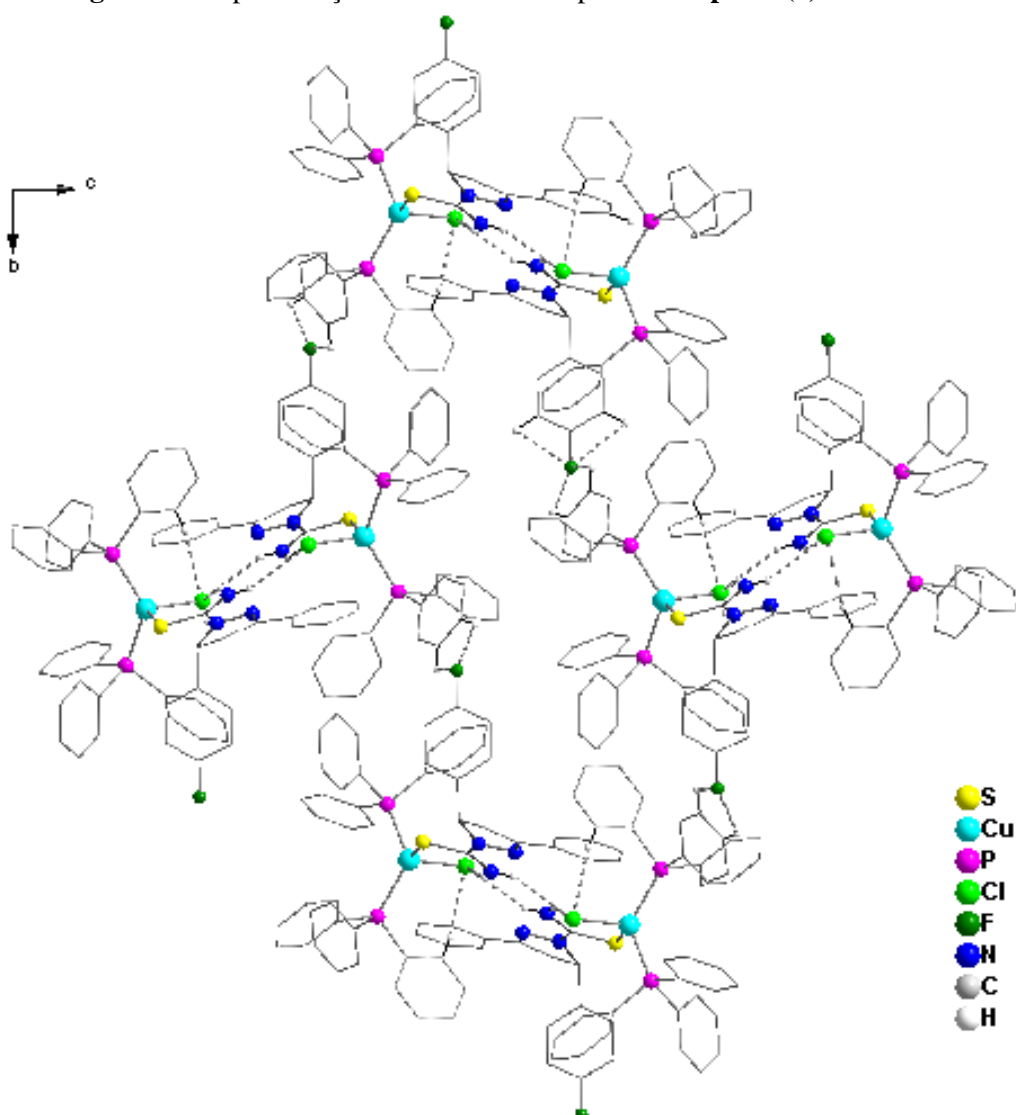
Tabela 6. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o **complexo (2)**.

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
Cu-P(1)	2,289(0)	P(1)-Cu-Cl(1)	109,41(0)
Cu-Cl(1)	2,343(1)	P(1)-Cu-S(1)	110,74(0)
Cu-S(1)	2,363(0)	Cl(1)-Cu-S(1)	109,17(0)
Cu-P(2)	2,301(10)	Cl(1)-Cu-P(2)	99,94(0)

Operadores de simetria x,y,z

Interações intramoleculares e intermoleculares de hidrogênio são responsáveis pela reprodução sistemática do conteúdo da cela unitária, acarretando na formação de macromoléculas. As interações intermoleculares ocorrem entre os átomos de hidrogênio do N3 do ligante **L(2)** e os átomos de Cl(1) da esfera de coordenação do átomo central, e, entre os átomos de hidrogênio do C32 e C30 com os átomos de F(1). Já as ligações intramoleculares ocorrem entre os átomos de hidrogênio do C22 e o átomo de Cl(1) que se encontra coordenado ao centro metálico. Com a participação dessas interações de hidrogênios no **complexo (2)**, tem-se a formação de macromoléculas ao longo do eixo *c*, representado na Figura 22.

Figura 22. Representação macromoléculas para o **complexo (2)**.



As moléculas são ligadas por interações $\text{N-H}\cdots\text{Cl}$ e $\text{C-H}\cdots\text{F}$, que formam macromoléculas por ligações de hidrogênio os quais estabilizam o empacotamento do cristal. As distâncias e ângulos das interações internas de hidrogênio estão listados na Tabela 7.

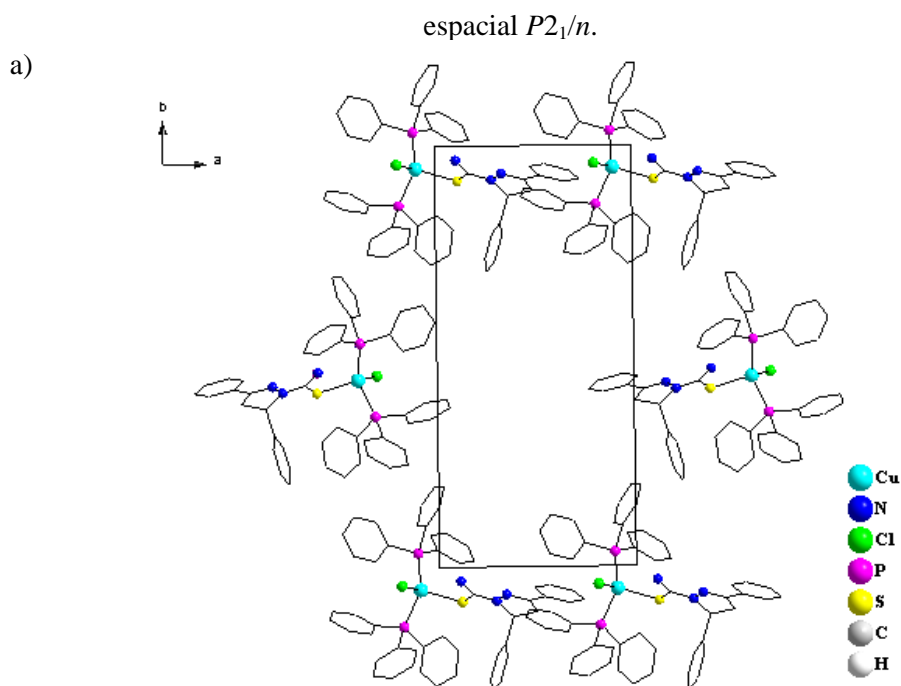
Tabela 7. Ligações e ângulos de hidrogênio (Å, °)

D-H-A	d(D-H)	d(H \cdots A)	d(D \cdots A)	\angle (D-H \cdots A)
N(3)-H(3C) \cdots Cl(1)	0,86	2,60	3,40	155,6
C(22)-H(22) \cdots Cl(1)	0,93	2,63	3,56	154,7
C(43)-H(43) \cdots F(1)	0,93	2,49	3,13	126,30
C(44)-H(44) \cdots F(1)	0,93	2,79	3,28	114,30

Operadores de simetria #1 $-x+1,-y+2,-z+1$

Como os **complexos (2)** e **(3)** são isoestruturais e pertencem ao mesmo sistema cristalino, será ilustrado nas Figuras 23 e 24 as projeções cristalográficas da cela unitária do **complexo (3)**. Para uma melhor visualização do operador de simetria 2_1 (eixo de rotação-translação), tem-se na Figura 23a a projeção do plano cristalográfico ab e na Figura 23b, os operadores de simetria pertencentes ao grupo espacial $P2_1/n$.

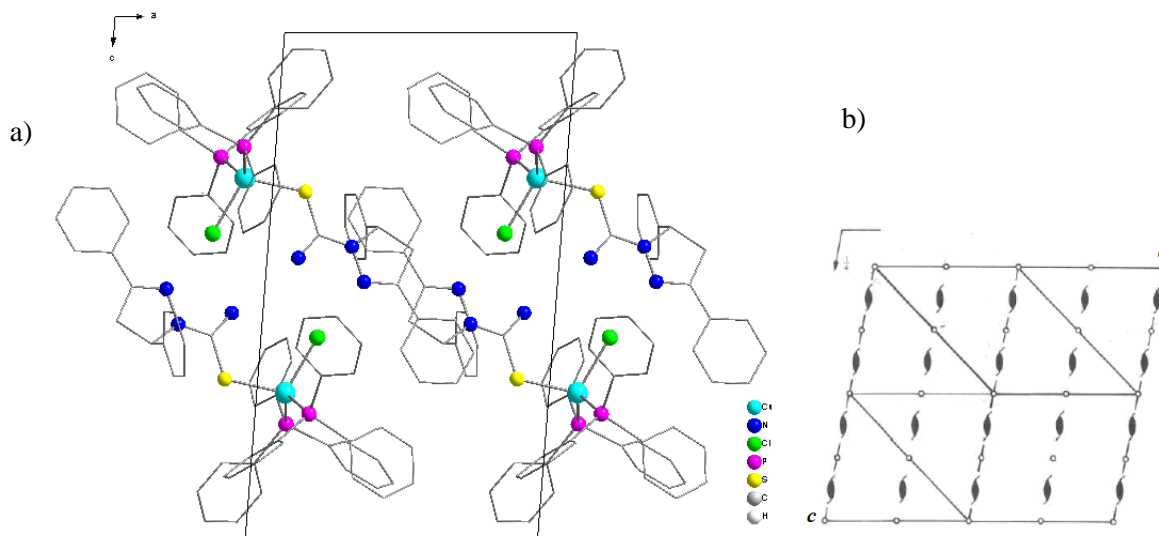
Figura 23 a) Projeção do plano cristalográfico ab para o **complexo (3)**. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza. **b)** Representação dos operadores de simetria pertencentes ao grupo



A Figura 24 demonstra a projeção do plano cristalográfico ac , em que o operador de simetria n (deslizamento na diagonal) pode ser melhor visualizado.

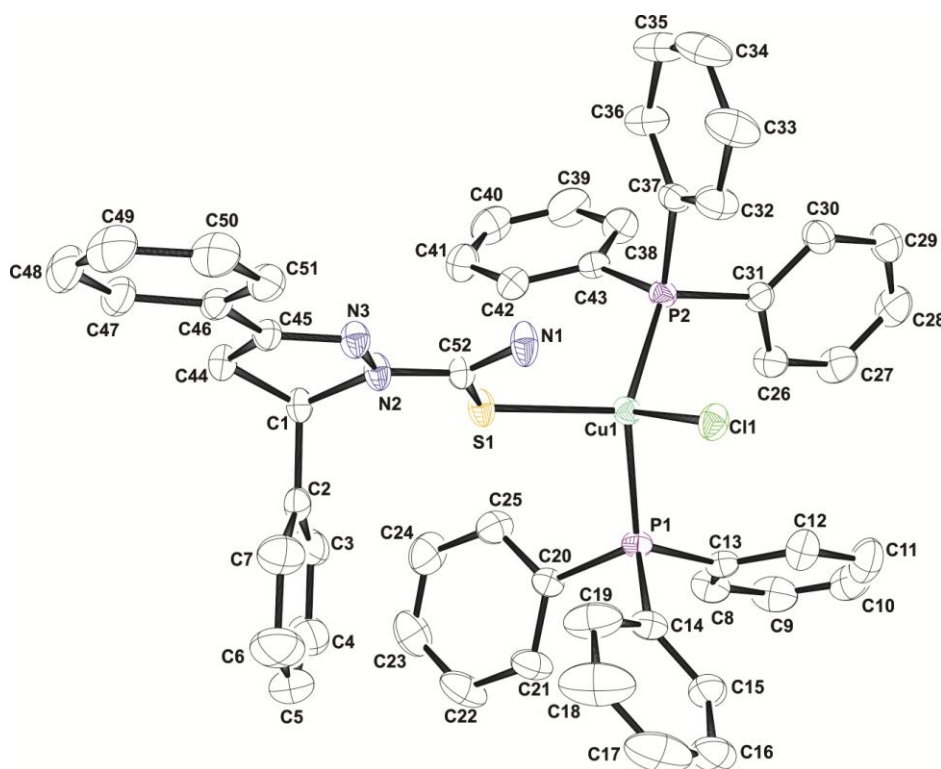
Figura 24 a) Projeção do plano cristalográfico ac para o complexo **(3)**.

Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza. **b)** Representação dos operadores de simetria pertencentes ao grupo espacial $P2_1/n$.



A projeção cristalográfica da unidade assimétrica do **complexo (3)** está representada na Figura 25, e, semelhante ao **complexo (2)**, no **complexo (3)** o átomo de S do ligante **L(3)** esta coordenado de modo monodentado ao íon de Cu^{I} , conferindo ao centro metálico um ambiente de coordenação tetraédrico distorcido.

Figura 25. Projeção ORTEP da unidade assimétrica do **complexo (3)**. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.



Assim como nos **complexos (1)** e **(2)**, a formação do **complexo (3)** se dá a partir da coordenação do átomo de enxofre proveniente do ligante **L(3)** ao centro metálico de Cu^I.

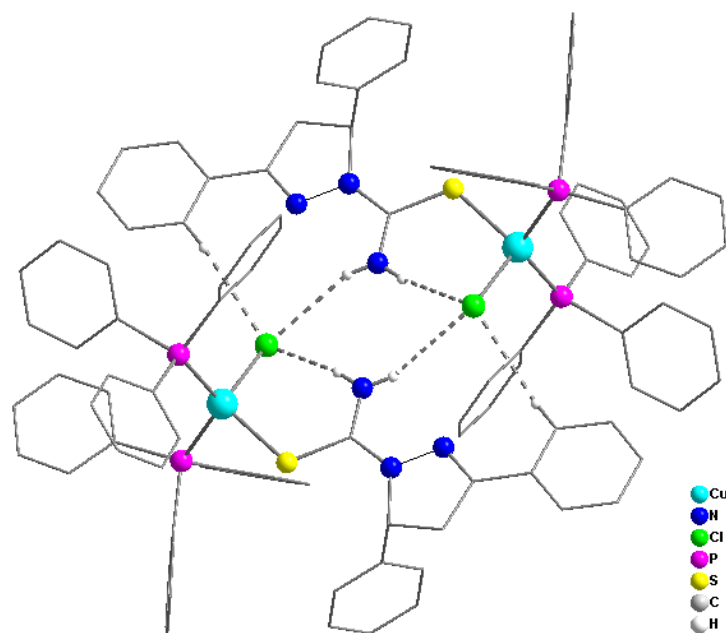
O íon central possui um ambiente de coordenação tetraédrico distorcido já que, seus ângulos de ligação são próximos a 109,5°. O átomo de cobre(I) está simultaneamente coordenado a um átomo de enxofre com distâncias de ligações Cu(1)-S1 de 2,3619(5) Å, dois átomos de fósforo (provenientes do grupamento fosfina) com distâncias de ligação Cu(1)-P1 2,2977(5) Å e Cu(1)-P2 2,2898(5) Å, e completando o tetraedro um átomo de cloro com distância de ligação Cu(1)-Cl1 de 2,3425(5) Å. Outros comprimentos de ligação e ângulos relevantes na análise estrutural do **complexo (3)** estão selecionados na Tabela 8, os dados cristalográficos estão em consonância com a literatura.[55,56]

Tabela 8. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para o **complexo (3)**.

Comprimentos de Ligação (Å)		Ângulos de Ligação (°)	
S(1)-Cu	2,3619(5)	P(1)-Cu(I)-P(2)	125,26(2)
Cu-P(1)	2,2977(5)	P(1)-Cu(I)-Cl(1)	100,296(19)
Cu-P(2)	2,2896(5)	P(2)-Cu(I)-Cl(1)	109,40(2)
Cu-Cl(1)	2,3425(5)	P(1)-Cu(I)-S(1)	100,47(2)

O **complexo (3)** é isoestrutural ao **complexo (2)**, tendo ausente o átomo de flúor como substituinte na posição *-para* do anel aromático. As moléculas são ligadas por pares centrossimétricos N-H \cdots Cl que formam dímeros por ligações de hidrogênio os quais estabilizam o empacotamento do cristal (Figura 26).

Figura 26. Representação do dímero para o **complexo (3)**.



Verifica-se uma diferença na projeção cristalográfica dos **complexos (2)** e **(3)**, que pode estar relacionado com a ausência do átomo de flúor, que realiza ligações de hidrogênio devido a sua alta eletronegatividade. Encontra-se na Tabela 9 as distâncias e ângulos de ligações dos átomos doadores e aceptores envolvidos nas interações de hidrogênio que formam o dímero.

Tabela 9. Ligações e ângulos de hidrogênio (Å, °)

D-H-A	d(D-H)	d(H \cdots A)	d(D \cdots A)	\angle (D-H \cdots A)
N(1)-H(1C) \cdots Cl(1)	0,80	2,67	3,44	159,4
N(1)-H(1D) \cdots Cl(1)	0,82	2,46	3,67	164,0
C(26)-H(26) \cdots Cl(1)	0,93	2,62	3,49	154,2
C(51)-H(51) \cdots Cl(1)	0,93	2,87	3,73	153,5

Verifica-se que as interações intermoleculares de hidrogênio ocorrem entre os átomos C(26)-H \cdots Cl(1) e C(51)-H \cdots Cl(1), N(1)-H(1D) \cdots Cl(1), já as interações intramoleculares ocorrem entre o átomo de hidrogênio do grupo NH₂ do ligante e o átomo de cloro da esfera de coordenação, sendo a interação N(1)-H(1C) \cdots Cl(1).

5.4. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

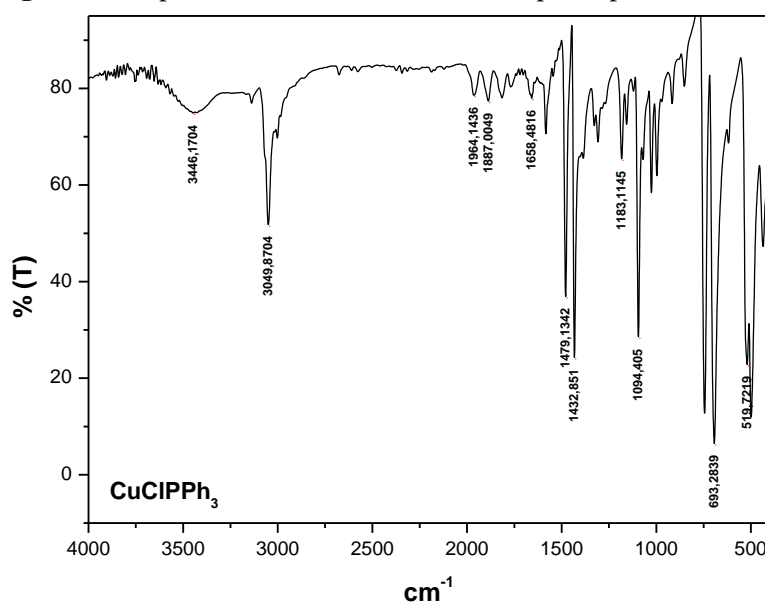
A espectroscopia no infravermelho produz espectros de absorção (e/ou transmissão), em que um feixe de luz na região do infravermelho incide sobre a substância, determinando as frequências absorvidas por ela. Nunca é demais enfatizar que se mede diretamente o quanto de cada comprimento de onda (ou frequência) da radiação eletromagnética incidente é absorvida (ou transmitida).[57]

Um espectro no infravermelho é tido como uma “impressão digital da molécula”, esta técnica espectroscópica é utilizada como ferramenta complementar na caracterização dos compostos sintetizados, auxiliando na determinação do modo de coordenação dos ligantes pirazolínicos, pois alguns modos vibracionais, como por exemplo $\delta(\text{N-H})$, são relevantes para se determinar de qual maneira estes ligantes se coordenam ao centro metálico. [58-60]

Inicialmente serão discutidas as principais bandas para o complexo precursor $[\text{CuCl}(\text{PPh}_3)]$, o qual foi utilizado como material de partida para a formação dos novos complexos, em seguida serão discutidas as bandas mais significativas para os ligantes **L(1)**, **L(2)** e **L(3)** e posteriormente para seus respectivos complexos.

No espectro de infravermelho do complexo precursor $[\text{CuCl}(\text{PPh}_3)]$, representado na Figura 27, estão evidentes as bandas pertinentes ao grupamento fenila da trifenilfosfina.

Figura 27. Espectro no infravermelho do complexo precursor $[\text{CuCl}(\text{PPh}_3)]$.



Observa-se no espectro, uma banda na região de 1094 cm^{-1} atribuída ao estiramento $[\nu(\text{C-P})]$, evidencia-se as bandas de deformação axial $[\delta_{\text{ax}}(\text{C-H})_{\text{Ar}}]$ do anel aromático na região de 3094 cm^{-1} e deformação angular fora do plano nas regiões de 981 cm^{-1} $[\delta_{\text{fp}}(\text{C-H})_{\text{Ar}}]$ e 693

cm^{-1} [$\delta_{\text{fp}}(\text{=C-H})_{\text{Ar}}$]. Esses estiramentos são correspondentes ao grupamento organofosforoso. Nas Figuras 28, 29 e 30 encontram-se os espectros no infravermelho dos ligantes **L(1)**, **L(2)** e **L(3)**.

Figura 28. Espectro no infravermelho do **L(1)**.

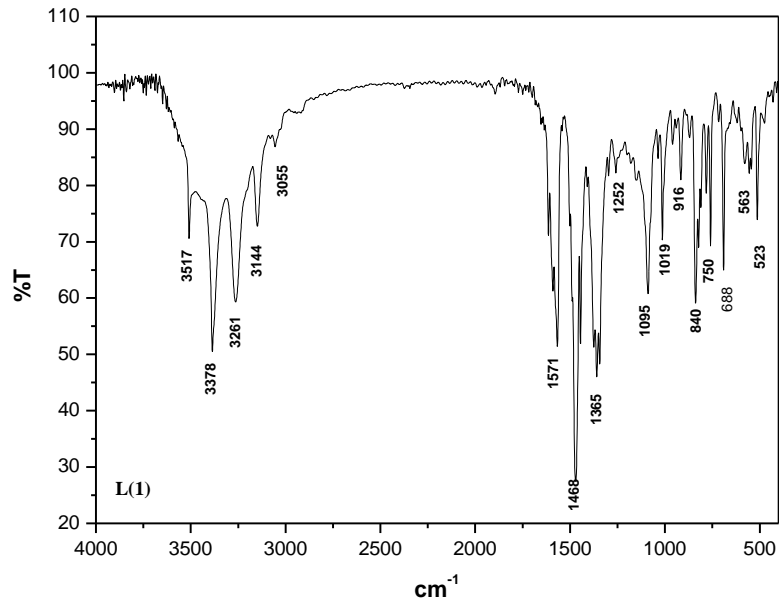


Figura 29. Espectro no infravermelho do **L(2)**.

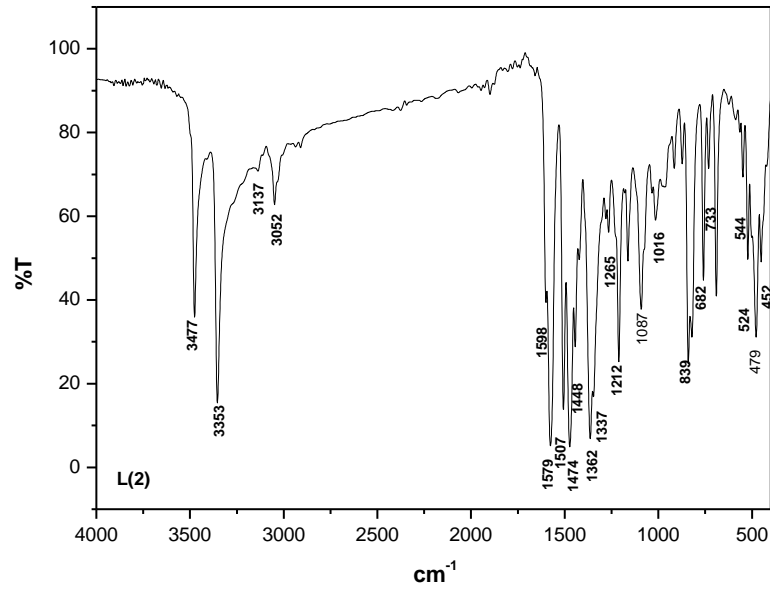
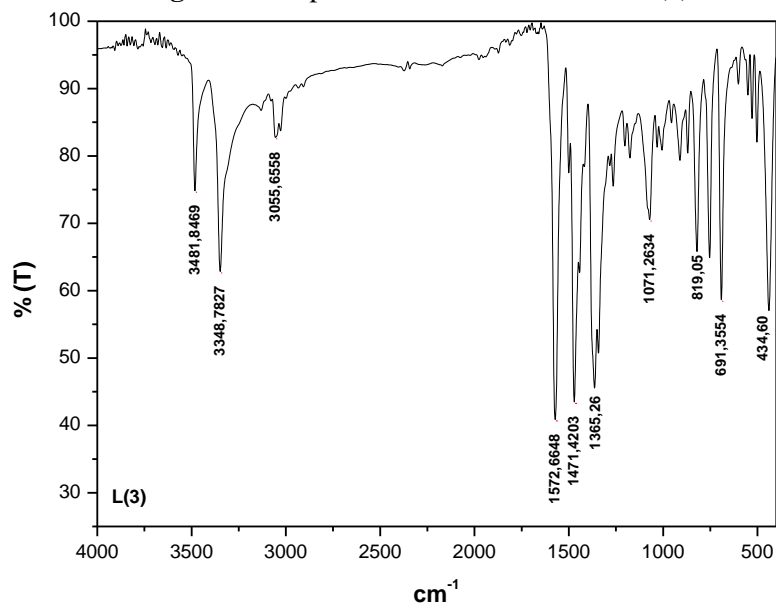


Figura 30. Espectro no infravermelho do **L(3)**.

Nos espectros dos ligantes **L(1)**, **L(2)** e **L(3)**, observam-se bandas finas e intensas correspondentes à deformação axial [$\delta_{ax}(\text{N-H})$] de heteroaromáticos que aparecem na região de 3400-3055 cm⁻¹, outras bandas de forte intensidade aparecem na região de 1570 cm⁻¹ que correspondem ao estiramento [$\nu(\text{C=N})$], as bandas que aparecem na região de 1356-1375 cm⁻¹ correspondem ao estiramento [$\nu(\text{C=S})$]. Nas Figuras 31, 32 e 33, encontram-se os espectros no infravermelho dos **complexos (1)**, **(2)** e **(3)**.

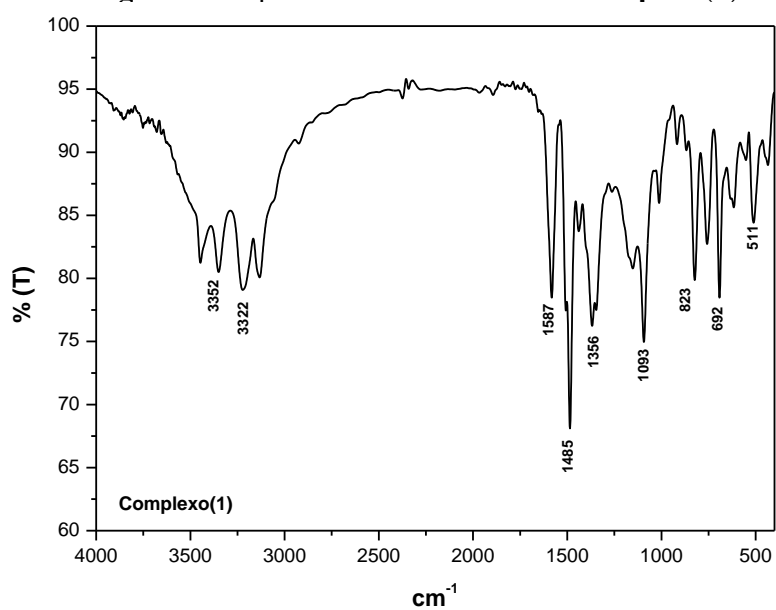
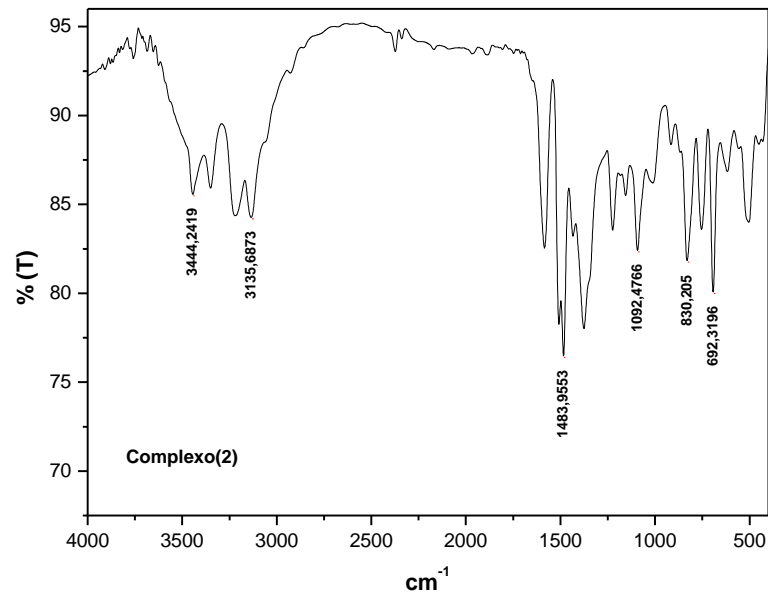
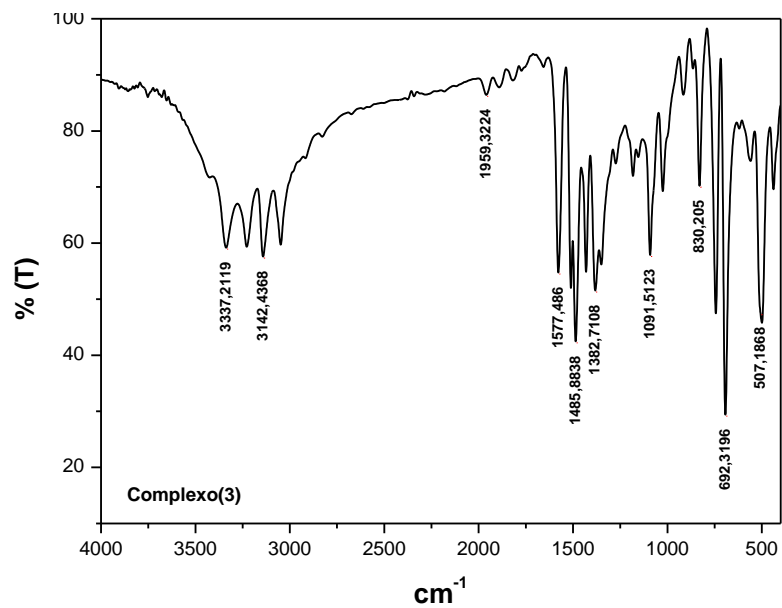
Figura 31. Espectro no infravermelho do **complexo(1)**.

Figura 32. Espectro no infravermelho do **complexo(2)**.**Figura 33.** Espectro no infravermelho para o **complexo(3)**.

Para uma melhor compreensão dos resultados obtidos na espectroscopia vibracional na região do infravermelho, reúne-se na Tabela 10 as principais bandas e atribuições para os grupos funcionais presentes nas estruturas dos compostos sintetizados.

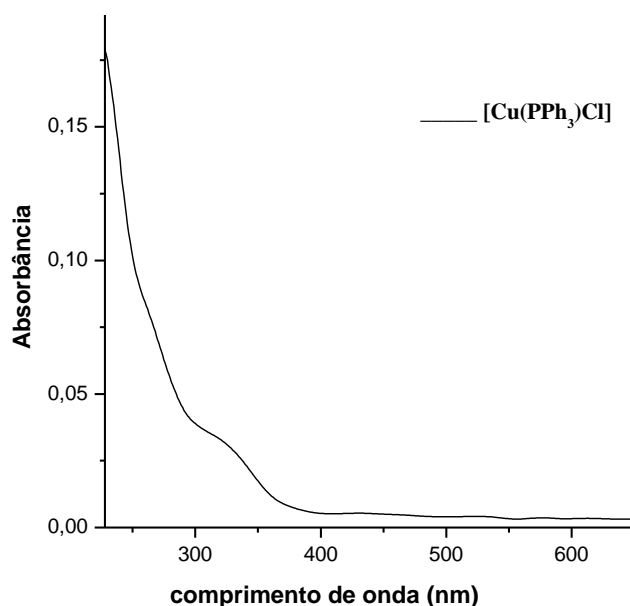
Tabela 10. Principais bandas e respectivas atribuições para o complexo [Cu(PPh₃)Cl], os ligantes e seus respectivos complexos sintetizados.

	Vibrações Características						
	Frequências (cm ⁻¹)						
	[CuCl(PPh ₃)]	L(1)	L(2)	L(3)	Complexo (1)	Complexo (2)	Complexo (3)
v(N-H)	----	3378	3477	3481	3352	3448	3432
v(C-H) _{Ar}	3049	3052	3052	3055	3055	3052	3055
v(C=C) _{Ar}	1654-1430	1468	1474	1471	1485	1483	1485
v(C=N)	-----	1571	1579	1572	1587	1588	1577
v(C=S)	-----	1365	1362	1365	1356	1358	1355
δ(C-H)	990-750	990-760	990-760	990-760	990-760	990-760	990-760
v(C-P)	1094	-----	-----	-----	1093	1092	1091
δ(N-H)	-----	916	913	911	902	914	916
δ(C-H) _{Ar}	694	688	691	691	685	688	687
δ(=C-H) _{Ar}	550-502	-----	-----	-----	550-502	550-502	550-502
v(C-Cl)	-----	750	-----	-----	750	-----	----
v(C-F)	-----	-----	761	-----	-----	752	-----

Os espectros no IV obtidos para os **complexos (1), (2), (3)**, apresentam basicamente as mesmas bandas dos respectivos ligantes. O estiramento v(C=S) que aparece na região de 1358-1355 cm⁻¹ nos ligantes livres apresenta um deslocamento nos espectros dos complexos para menor número de onda (menor energia), devido a coordenação do átomo de S ao centro metálico de maneira monodentada. As bandas v(N-H) não apresentaram mudanças no espectro de IV dos complexos, indicando o não envolvimento destes grupos na esfera de coordenação.

5.5. Espectroscopia na Região do UV-Vis

O comportamento espectroscópico de complexos de metais de transição coordenados a ligantes insaturados está relacionado às prováveis transições eletrônicas entre os orbitais localizados no metal e nos ligantes.[61] A Figura 34 traz o espectro de absorção do complexo precursor [Cu(PPh₃)Cl].

Figura 34. Espectro de absorção do complexo precursor.

Analisando-se o espectro eletrônico do complexo precursor observa-se um ombro de absorção na região de maior energia do espectro (menor comprimento de onda). Este ombro apresenta um máximo de absorção em 231 nm, que pode ser atribuído às transições eletrônicas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ oriundas dos anéis aromáticos presentes no grupamento trifenilfosfina. Os espectros eletrônicos dos **complexos (1), (2) e (3)** em solução de diclorometano são mostrados nas Figuras 35, 36 e 37 sobrepostos aos espectros dos respectivos ligantes.

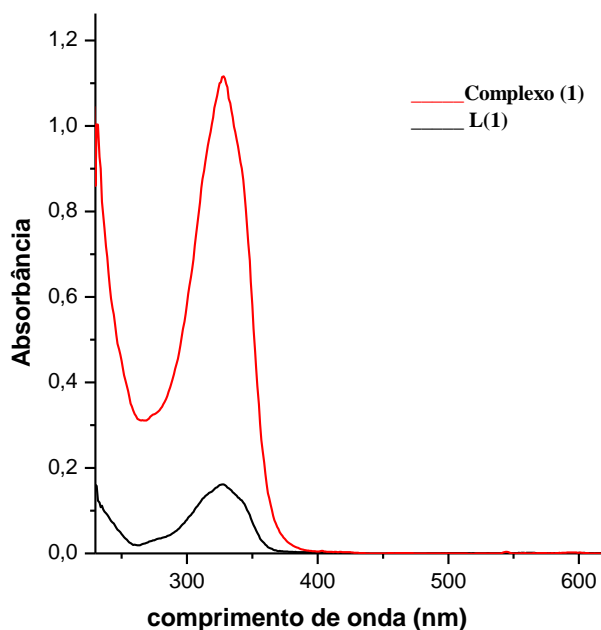
Figura 35. Espectro de absorção no UV-Vis do **complexo (1)** e seu respectivo ligante.

Figura 36. Espectro de absorção no UV-Vis do **complexo (2)** e seu respectivo ligante.

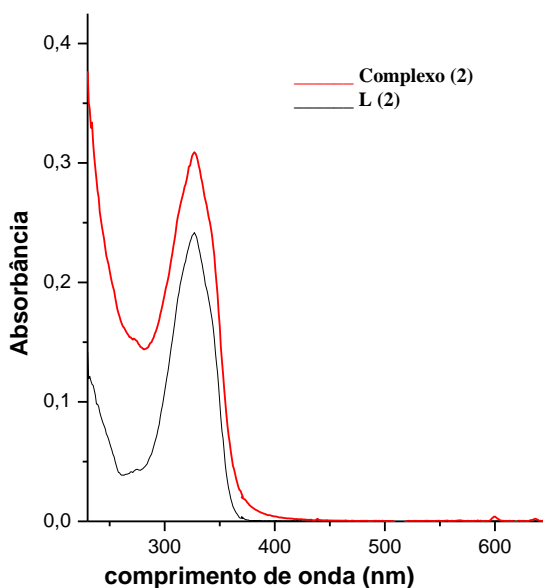
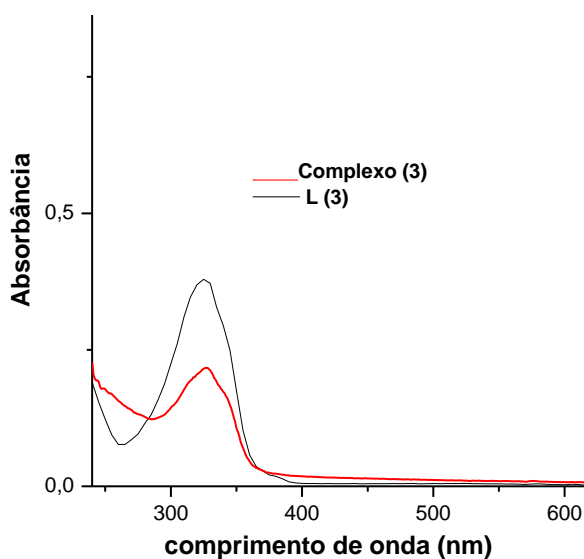


Figura 37. Espectro de absorção no UV-Vis do **complexo (3)** e seu respectivo ligante.



Os espectros de absorção dos ligantes **L(1)**, **L(2)** e **L(3)** apresentam uma banda e um ombro de absorção característica, sendo que estas absorções podem ser atribuídas a transições eletrônicas do tipo TCIL (intra-ligantes). Atribui-se a transições eletrônicas do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ oriundas dos anéis aromáticos a absorção do ombro evidenciado na região de maior energia do espectro eletrônico, enquanto que a banda de absorção que se encontra na região de menor

energia do espectro é atribuída a transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$, provenientes do grupamento tiocarbonila (N–C=S) presente como substituinte no núcleo pirazolínico.

Verifica-se no espectro eletrônico dos complexos um pequeno deslocamento batocrômico da banda de absorção, ou seja, nos compostos de coordenação observa-se esta banda de absorção característica em maiores comprimentos de onda em relação aos respectivos ligantes. Os deslocamentos para região de menor energia sugerem a coordenação dos ligantes ao centro metálico de Cu^I . Na Tabela 11 encontram-se os valores do comprimento de onda da banda de absorção dos complexos e de seus respectivos ligantes.

Tabela 11. Bandas de absorção no UV-Vis para os complexos e seus respectivos

				Δ nm
Ligante (1)	326 nm	Complexo (1)	328 nm	2 nm
Ligante (2)	326 nm	Complexo (2)	328nm	2 nm
Ligante (3)	324 nm	Complexo (3)	328 nm	4 nm

As absorções observadas nos complexos para região da banda de absorção são atribuídas as transições eletrônicas do tipo TCLM ($S \rightarrow \text{Cu}$) [38,39,63,64] referente à formação do complexo pela coordenação do átomo de enxofre do grupamento tiocarbonila ao centro metálico de Cu^I . As transições eletrônicas atribuídas à banda de absorção não podem ser consideradas puramente de transferência de carga do ligante para o metal, devido há contribuições das transições intraligantes do tipo $n \rightarrow \pi^*$, ou seja, esta banda é considerada uma banda mista (TCLM + TCIL).

Observando-se os espectros de absorção dos complexos verifica-se que o ombro de absorção não possui um máximo de absorção definido, dessa forma, apenas pelo espectro não há como afirmar se há ou não deslocamento no comprimento de onda nesta região, porém, os dados oriundos da cristalografia demonstram que os grupamentos relacionados a estas transições eletrônicas não estão diretamente envolvidos com a coordenação ao centro metálico de Cu^I , por isso, acredita-se que não há um deslocamento no comprimento de onda deste ombro de absorção.

Transições centradas no metal não são observadas nos espectros dos complexos pois, a configuração eletrônica do Cu^I é do tipo d^{10} , sendo assim, seus níveis de energia t_{2g} e e_g encontram-se preenchidos, não possibilitando transições eletrônicas do tipo $d-d$. A literatura traz diferentes atribuições envolvendo as transições eletrônicas que ocorrem quando há coordenação do átomo de cobre(I) ao enxofre, alguns autores atribuem essas transições a

transferência de carga do metal para o ligante (TCML), porém, transferência de carga do ligante para o metal (TCLM) nestes sistemas são mais prováveis.[39]

5.6. Espectroscopia de Absorção na Região do UV-Vis no Estado Sólido

Para verificar a influência do solvente sobre as análises de absorção na região do UV-Vis realizaram-se também as medidas no estado sólido, sendo estes resultados comparados com os resultados em solução. Os espectros eletrônicos comparativos normalizados do estudo em solução e no estado sólido dos complexos sintetizados são mostrados nas Figuras 38, 39 e 40 enquanto que na Tabela 12 encontram-se os valores de comprimento de onda das absorções da banda de absorção em solução e no estado sólido.

Figura 38. Espectro de absorção no UV-Vis em solução e no estado sólido para o **complexo (1)**.

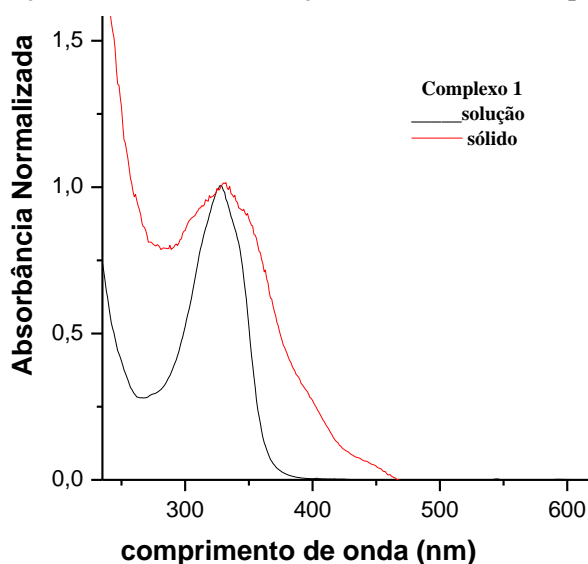


Figura 39. Espectro de absorção no UV-Vis em solução e no estado sólido para o **complexo (2)**.

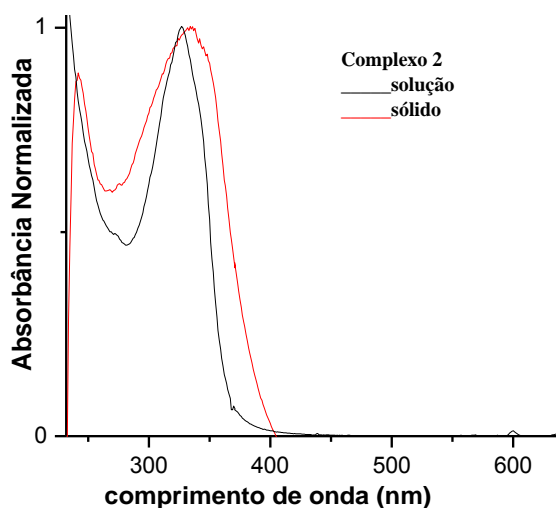
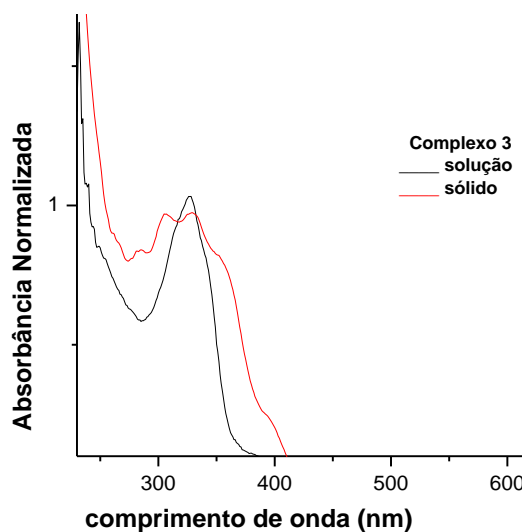


Figura 40. Espectro de absorção no UV-Vis em solução e no estado sólido para o **complexo (3)**.Tabela 12. Bandas de absorção no UV-Vis dos **complexos (1), (2) e (3)** em solução e no estado sólido.

	Banda no estado sólido	Banda em solução	Δ nm
Complexo(1)	331 nm	328 nm	3 nm
Complexo(2)	333 nm	328 nm	5 nm
Complexo(3)	336 nm	328 nm	8 nm

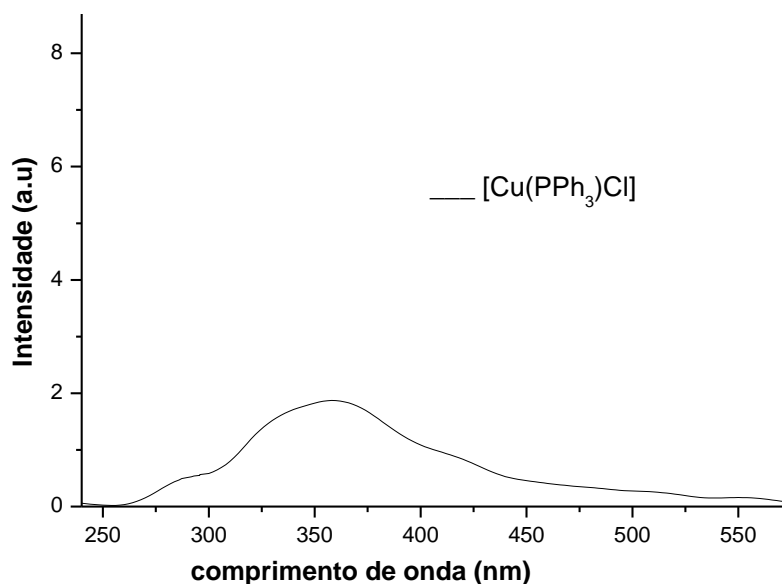
Comparando-se os estudos de absorção no UV-Vis realizados em solução e no estado sólido, pode-se observar que não houve alteração nos perfis do ombro e da banda de absorção, sendo que as transições eletrônicas atribuídas ao ombro são do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ (TCIL), e as transições atribuídas à banda são mistas (TCLM + TCIL). Confrontando os dados obtidos para as bandas de absorção dos complexos estudados em solução e no estado sólido verifica-se uma pequena variação no comprimento de onda, demonstrando a pouca influência do solvente sobre os resultados obtidos nos espectros de absorção no UV-Vis.

5.7. Estudos de Luminescência em Solução

Complexos envolvendo íons metálicos com configuração d^{10} como o Cu^I , suscitam cada vez mais o interesse no estudo de suas propriedades fotofísicas. As investigações das propriedades luminescentes foram realizadas para todos os complexos sintetizados e seus respectivos ligantes em solução de diclorometano, verificando-se diferenças significativas entre os ligantes livres e os complexos formados.

Demonstra-se na Figura 41 o espectro de emissão em solução de diclorometano do complexo precursor $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)\text{Cl}]$ em que pode-se observar uma baixa intensidade de emissão na região de interesse.

Figura 41. Espectro de emissão do complexo precursor (λ_{ex} , 290 nm).



Observa-se no espectro eletrônico do complexo precursor uma banda de baixa intensidade de emissão, as transições eletrônicas atribuídas à banda de emissão são do tipo ILCT, referentes as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ oriundas dos anéis aromáticos presentes no grupamento trifenilfosfina. O comportamento espectroscópico observado na espectroscopia de luminescência do complexo precursor já era esperado, pois, o espectro de absorção na região do UV-Vis apresenta um máximo de absorção em 231 nm. Os espectros eletrônicos dos complexos e seus respectivos ligantes podem ser observados nas Figuras 42, 43, 44, em que demonstram uma banda bem definida com um máximo de emissão em 380 nm para o **complexo (1)**, 364 nm para o **complexo (2)** e por fim 36 nm para o **complexo (3)**, sendo que todas as emissões observadas correspondem à emissão na região do ultravioleta do espectro eletromagnético.

Figura 42. Espectro de emissão do **complexo (1)** e seu respectivo ligante (λ_{ex} 290 nm).

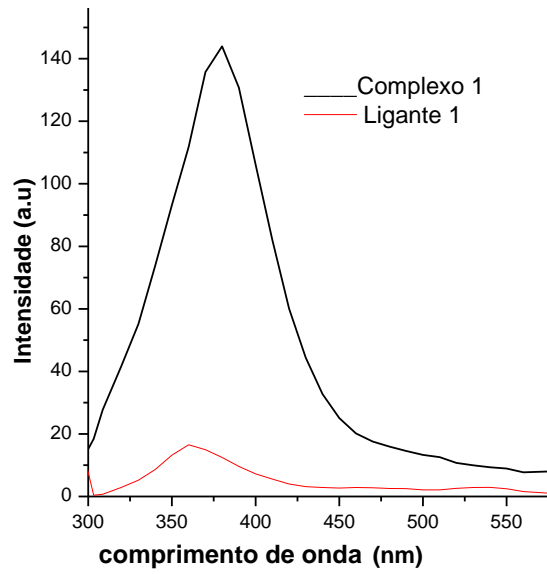


Figura 43. Espectro de emissão do **complexo (2)** e seu respectivo ligante (λ_{ex} 290 nm).

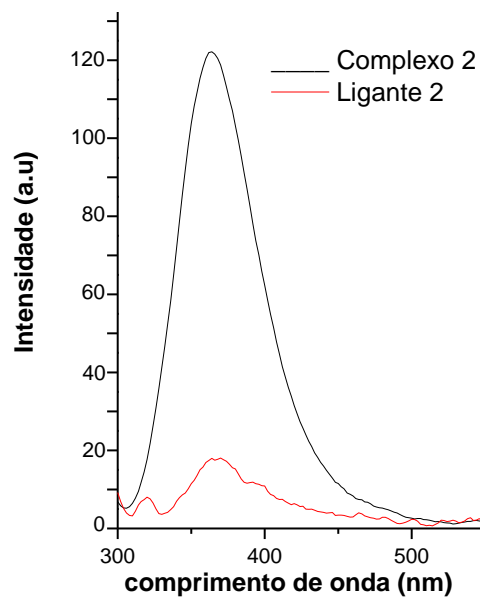
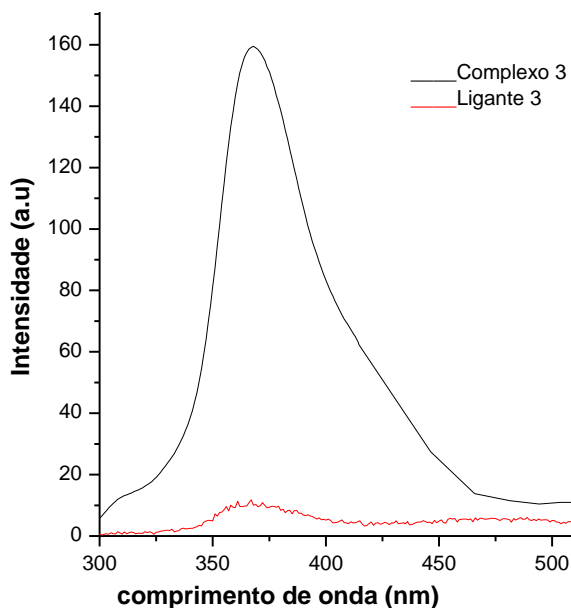


Figura 44. Espectro de emissão do **complexo (3)** e seu respectivo ligante (λ_{ex} 290 nm).



A partir da análise dos espectros dos ligantes livres **L(1)**, **L(2)** e **L(3)**, observa-se que estes possuem uma baixa intensidade de emissão, o que permite interpretar que as transições intraligantes, TCIL, do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ oriundas dos anéis aromáticos, bem como, $n \rightarrow \pi^*$ oriundas do grupamento tiocarbonila ($\text{N}-\text{C}=\text{S}$), possuem pouca contribuição nos espectros de emissão dos complexos. Sendo assim, a coordenação do ligante ao íon metálico de Cu^{I} , acarreta em um aumento na intensidade de emissão dos compostos de coordenação, sendo responsáveis pelo aumento da luminescência as transições eletrônicas do tipo TCLM+TCIL, evidenciando a influência do centro metálico sobre a emissão dos compostos. Estes resultados estão em concordância com as interpretações feitas nas medidas de absorção no UV-Vis, que apresentam as bandas de absorções oriundas das transições eletrônicas mistas (TCLM+TCIL). Desta forma, propõem-se que as transições eletrônicas responsáveis pelo aumento de emissão nos complexos são do tipo TCLM, oriundas de orbitais HOMO (orbital molecular ocupado de maior energia), localizados sobretudo no átomo de S para os orbitais LUMO (orbital molecular não ocupado de menor energia), localizados sob o eixo de ligação Cu-P (LMCT $\text{S} \rightarrow \text{Cu}-\text{P}$). A Tabela 13 apresenta os resultados comparativos (λ máximo de emissão) obtidos para todos os compostos analisados.

Tabela 13. Bandas de emissão para os compostos sintetizados.

Composto	Banda de emissão (nm)	Transição (atribuição)
Complexo precursor	Baixa emissão	ILCT
Ligante (1)	Baixa emissão	ILCT
Ligante (2)	Baixa emissão	ILCT
Ligante (3)	Baixa emissão	ILCT
Complexo (1)	380	LMCT + ILCT
Complexo (2)	364	LMCT + ILCT
Complexo (3)	368	LMCT + ILCT

As Figuras 45 e 46 mostram as diferenças de energia entre os máximos da banda de emissão e a banda de excitação (deslocamento de Stokes) para os **complexos (1)** e **(3)**, cujo, seus espectros de excitação se assemelham aos analisados na espectroscopia de absorção no UV-Vis dos mesmos complexos.

Figura 45. Espectro de excitação (λ 290 nm), emissão (λ 380 nm) para o **complexo (1)**.

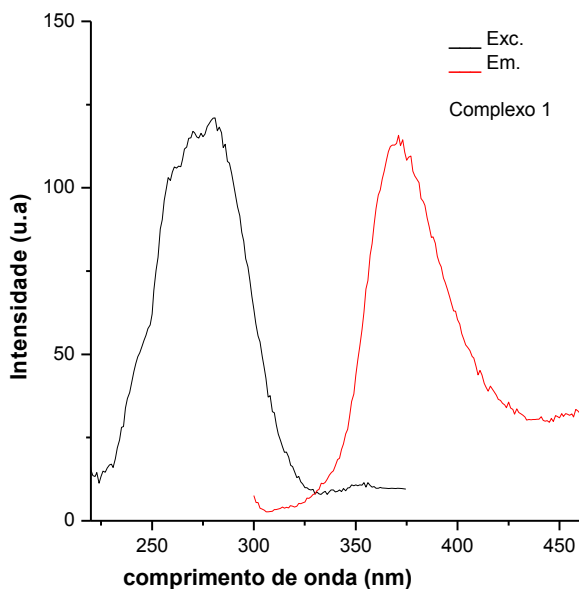
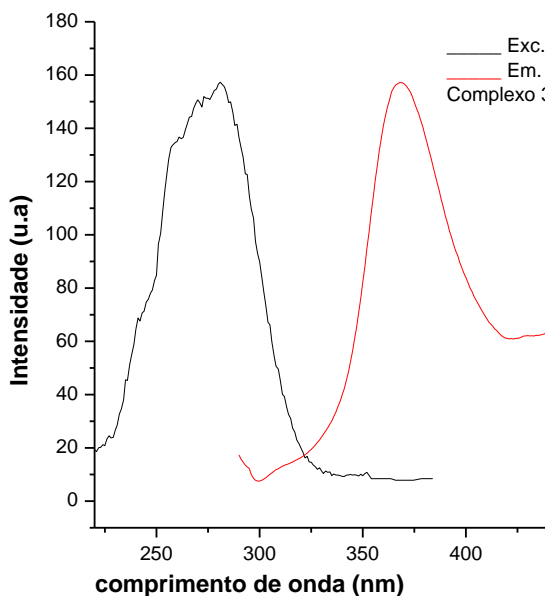


Figura 46. Espectro de excitação (λ 290 nm), emissão (λ 368 nm) para o **complexo (3)**.

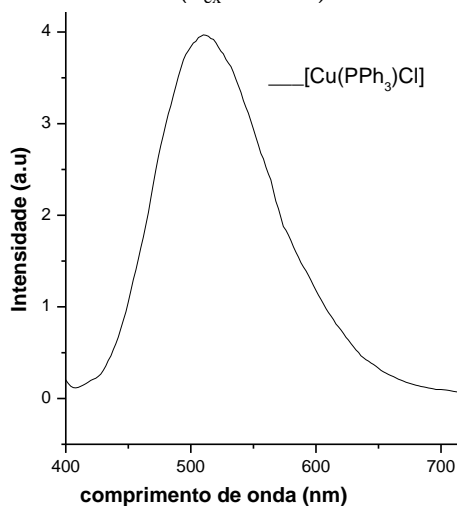


Observa-se que o espectro de emissão dos complexos é imagem-espelho aos seus espectros de excitação, o que sugere, que o mesmo orbital está envolvido nos processos de excitação e emissão.

5.8. Estudos de Luminescência no Estado Sólido

Assim como na absorção UV-Vis, os estudos de luminescência foram realizadas em solução e também no estado sólido, para verificar a influência do solvente nos resultados. A Figura 47 traz o espectro de emissão no estado sólido do complexo precursor, cujo qual, apresenta uma baixa intensidade de emissão na região de interesse.

Figura 47. Espectro de emissão no estado sólido para o complexo precursor (λ_{ex} 290 nm).



O complexo precursor exibe uma baixa intensidade de emissão na região de 511 nm do espectro eletrônico, as transições eletrônicas envolvidas no processo de emissão são do tipo ILCT, referentes as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ oriundas dos anéis aromáticos presentes no grupamento trifenilfosfina. As Figuras 48, 49 e 50 representam três espectros de emissão no estado sólido, sendo cada espectro referente a um complexo sintetizado e seu respectivo ligante.

Figura 48. Espectro de emissão no estado sólido para o **complexo (1)** (λ_{ex} 290 nm).

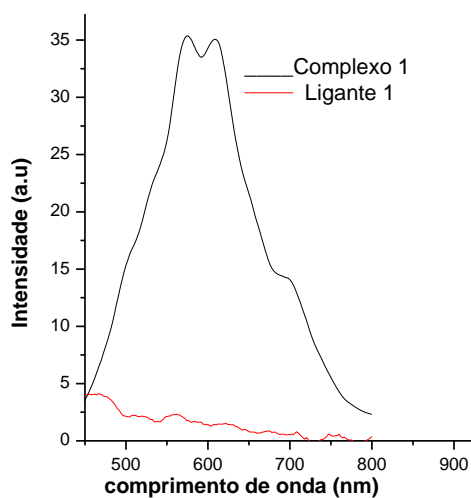


Figura 49. Espectro de emissão no estado sólido para o **complexo (2)** (λ_{ex} 290 nm).

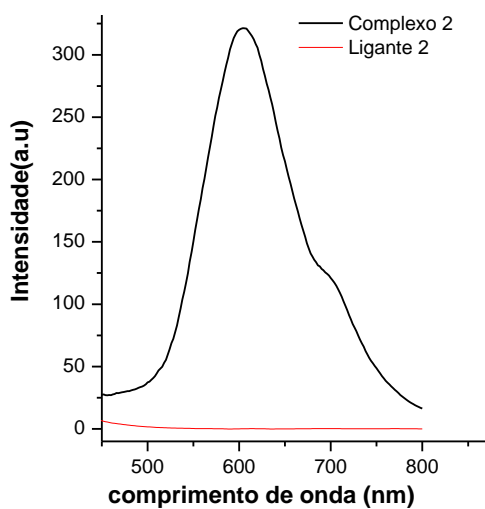
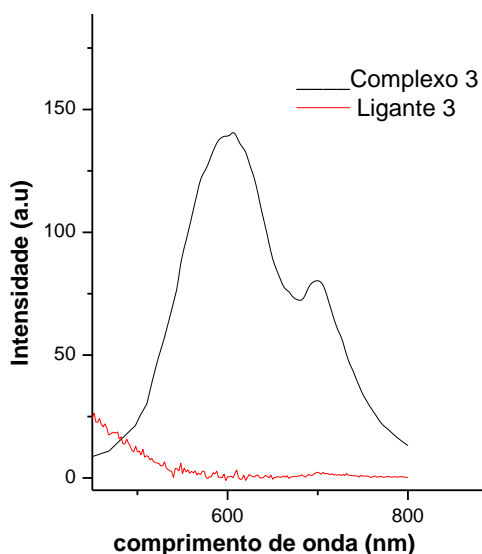


Figura 50. Espectro de emissão no estado sólido para o **complexo (3)** (λ_{ex} 290 nm).



Os espectros de emissão no estado sólido dos complexos sintetizados diferem dos seus respectivos ligantes livres. O **complexo (1)** apresenta uma banda com maior intensidade de emissão na região do laranja no espectro eletromagnético em 610 nm, o **complexo (2)** em 604 nm e o **complexo (3)** em 607 nm, enquanto os seus respectivos ligantes apresentam uma baixa intensidade de emissão quando excitados em 290 nm. Assim como no estudo de absorção UV-Vis e no estudo luminescente em solução atribui-se a essas bandas de maior intensidade a transições eletrônicas mistas do tipo TCLM ($S \rightarrow Cu^I$) + TCIL ($n \rightarrow \pi^*$).

Os estudos de luminescência em solução e no estado sólido apresentaram comportamentos diferentes dos estudos de absorção (em que houve pouca influência do solvente), para os espectros de emissão dos compostos de coordenação o efeito do solvente é significativo nos resultados obtidos. Efeitos de concentração também não podem ser descartados, uma vez que os espectros de emissão em solução envolvem soluções diluídas dos complexos.

5.9. Ensaios Biológicos: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Os complexos pirazolínicos foram testados contra a bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC SP 25923) e contra a bactéria gram-negativa *Pseudomona fluorescens* (ATCC SP 13525).

Inicialmente foram realizados bioensaios apenas com o solvente frente às cepas bacterianas. Uma solução de DMSO a 5% foi utilizada como branco na avaliação da atividade antimicrobiana, em que, verificou-se que o solvente nesta concentração não é eficiente na inibição do desenvolvimento microbiano das cepas investigadas.

A Tabela 14 traz os resultados obtidos nos bioensaios de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) para os complexos testados.

Tabela 14. Resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) para os complexos avaliados expressos em µg/mL.

COMPOSTO	Solvente	Bactéria Gram-Negativa		Bactéria Gram-Positiva	
		CIM	CBM	<i>S. aureus</i>	
				CIM	CBM
Sol. DMSO	DMSO	N	N	N	N
Complexo (1)	DMSO	125	250	125	250
Complexo(2)	DMSO	125	250	125	250
Complexo(3)	DMSO	62,5	125	62,5	125

Sol. DMSO = Solução de DMSO a 5% v/v; N = Nenhuma inibição de crescimento bacteriano foi observada.

Verifica-se através dos valores obtidos para CIM e CBM que as cepas bacterianas são sensíveis aos complexos pirazolínicos, ou seja, os significativos resultados sugerem que os compostos de coordenação possuem ação antibacteriana frente às bactérias estudadas.

As semelhanças no comportamento das cepas bacterianas gram-positivas e gram-negativas frente aos complexos testados sugerem que os mesmos possuem uma ação significativa frente a essas duas classes de bactérias, uma vez que, estas possuem diferenças morfológicas em suas paredes celulares. Nas bactérias gram-positivas, a parede celular é uma estrutura simples, já nas gram-negativas, a parede celular é mais complexa formada sobre uma

camada basal sobre a qual se encontra uma membrana extra. Esta constituição da parede, variável com o tipo de bactéria, não originou diferença na permeabilidade dos complexos testados. A literatura descreve que complexos metálicos com íons cobre penetram mais facilmente na parede celular bacteriana, através da desnaturação proteica de componentes do grupo sulfidril, destruindo assim a parede celular. [65]

O efeito inibitório dos complexos pirazolínicos foi apontado como bactericida, pois, segundo a literatura quando a razão CBM/CIM for menor ou igual a 4 o agente será considerado bactericida, e quando esta razão for maior que 4 será considerado bacteriostático.[66]

Dentre os compostos testados o complexo metálico 3 apresentou os melhores resultados de atividade antimicrobiana com valores de CIM e CBM $\leq 125 \mu\text{g/mL}$, o que pode indicar um maior potencial como agente antimicrobiano contra as cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas fluorescens*.

CAPÍTULO 6.
CONCLUSÕES

6.CONCLUSÃO

A síntese e caracterização de três novos complexos de Cu(I) com ligantes 1 tiocarbamoil-pirazolina foram realizadas com sucesso. As investigações das estruturas no estado sólido e avaliações detalhadas dos sistemas cristaloquímicos evidenciam a formação de dois complexos diméricos (complexo **1** e **3**) e um estrutura mais discreta com reprodução sistemática da cela unitária levando a formação de macromoléculas (**complexo 2**), interações intra e intermoleculares de hidrogênios são responsáveis pelas peculiaridades estruturais dos compostos de coordenação.

O estudo do comportamento espectroscópico dos compostos foi utilizado como ferramenta auxiliar na identificação dos novos complexos sintetizados. Observa-se que os dados obtidos na análise elementar e infravermelho, estão em concordância com as estruturas moleculares obtidas através da difratometria de raios-X. As análises de luminescência em solução mostram uma emissão na região do ultravioleta enquanto que os estudos no estado sólido apresentam luminescência na região do laranja no espectro eletromagnético.

Os complexos avaliados inibiram o crescimento das bactérias Gram-positivas (*S. aureus*) e Gram-negativas (*P. fluorescens*), o que indica um amplo espectro de atividade e, abre perspectivas de que os mesmos possam ser utilizados como futuros fármacos.

Os resultados até então obtidos são satisfatórios e demonstram que os novos complexos podem ser considerados promissores para futuras pesquisas na química inorgânica

CAPÍTULO 7.
REFEÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

- 1- Shriver, D. F.; Atkins, P. *Química Inorgânica*, 4^a ed., Bookman, Porto Alegre, **2008**.
- 2- Farias, R. F. *Química de Coordenação fundamentos e atualidades*. 2^a ed., Editora Átomo, Campinas. **2009**.
- 3- Lee, J. D. *Química Inorgânica não tão Concisa*, 5^a ed., Edgar Blucher, São Paulo, **1999**
- 4- Jaćimović, Z. K.; Leovac, V.; Mészáros, Szécsényi, K.; Howard, J. K.; Evans, I. *Acta Cryst. Section C*. **2004** (60) 467-470.
- 5- Evans, I. R.; Howard, J. A. K.; Howard, L. E. M., Evans, J. S. O.; Jaćimović, Z. K.; Jevtović, V. S.; Leovac, V. M. *Inorg. Chim. Acta*. **2004** (357) 4528-4536.
- 6- Casarin, M.; Forrer, D.; Garau, F.; Pandolfo, L.; Pettinari, C.; Vittadini, A. *J. Phys. Chem. A*. **2008** (112) 6723-6731.
- 7- Trofimenko, S. *Chem. Rev.* **1993** (93) 943-980.
- 8- Zink, D. M.; Bachele, M.; Baumann, T.; Nieger, M.; Kuhn, M.; Wang, C.; Klopfer, W.; Monkowius, U.; Hofbeck, T.; Yersin, H.; Brase, S. *Inorg. Chim.* **2013** (52) 2292-2305.
- 9- Constable, E. C.; Steel, P. J. *Coord. Chem. Rev.* **1989** (93) 205-223.
- 10- Ballarin, B.; Busetto, L.; Cassani, C. M.; Femoni, C.; *Inorg. Chim. Acta*. **2010** (363) 2055-2064.
- 11- Bachechi, F.; Burini A.; Galassi, R.; Pietroni, B. R.; Ricciutelli, M.; *Inorg. Chim. Acta*. **2004** (357) 4349-4357.
- 12- Brogden, R. N.; *Drugs*. **1986** (32) 60-70.
- 13- Brune, K.; Hinz, B.; *Drugs*. **2004** (50) 2391-2399.
- 14- Deng, X., Mani, N. S. *Org. Lett.* **2006** (14) 3505-3508.
- 15- El-Sabbagh, O.I.; Baraka, M.M., Ibrahim, S. M.; Pannecouque, C.; Andrei, G.; Snoeck, R.; Balzarine, J.; Rashad, A. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2009** (44) 3746-3753.
- 16- Trofimenko, S. *Chem. Rev.* **1972** (72) 497-509.
- 17- Halcrow, M. A. *Dalton Trans.* **2009** (12) 2045-2256.
- 18- Kitajima, N.; Tolman, W. B. *Progr. Inorg. Chem.* 1995 (43) 419-531.
- 19- Umakochi, K.; Yamauchi, Y.; Makamiya, K.; Kajima, T.; Yamasaki, M.; Kawano, H.; Onishi, M. *Inorg. Chem.* **2003** (42) 3907-3916.
- 20- Netto, A.V. G.; Frem, R. C. G.; Mauro, A. E. A.; *Quim. Nova*. **2008** (31) 1208-1217.
- 21- Deacon, G. B.; Shen, Q.; *J. Organomet. Chem.* **1996** (511) 1-17.

- 22- Fernandez, E. J.; Gimeno, M. C.; Laguna, A.; Laguna, M.; Luzuriaga, J. M. L.; Olmos, E.; *J. Organomet. Chem.* **1996** (514) 169-175.
- 23- Khan, N. I.; Staples, R. J.; King, C.; Fackler, J. P.; Winpenny, R. E. P.; *Inorg. Chem.* **1993** (32) 5800-5807
- 24- Melnik M. *et al.*, *Coord. Chem. Rev.* **1993** (126) 71-92.
- 25- Cotton, F. A. *Inorg. Chem.*, 2, 1217, **1964**
- 26- Trofimenko, S. *Prog. Inorg. Chem.* **1986** (34) 115-210.
- 27- Komeda, S.; Lutz, M.; Spek, A. L.; Chikuma, M.; Reedijk, J. *Inorg. Chem.* **2000** (39) 4230-4236.
- 28- Frankline, K. K.; Darkwa, J. *Biometals* **2012** (25) 9–21.
- 29- Sau, D. K.; Butcher, R. J.; Chaudhuri, S. *Mol. Celular. Biochem.* **2003** (253) 21-29.
- 30- Mohammad A. O.; Manal, A. R. O.; Himashinie, V. K. D.; Dias, H. V. R. *Inorg. Chem.* **2003** (42) 8612-8614.
- 31- Souza, E. R.; Sigoli, F.A. *Quim. Nova.* **2012** (35) 1841-1847.
- 32- Dias, H. V. R.; Himashinie, V. K. D.; Manal, A. R. O.; Franzman, M.A.; Mohammad A. O. *J. Am. Chem. Soc.* **2003** (125) 12072-12073.
- 33- Li, X. L.; Ai, Y.B.; Yang, B.; Chen, J.; Tan, M.; Xin, X.-L.; Shi, Y.-H. **2012**. *Polyhedron.* (35) 47–54.
- 34- Balzani V.; Accorsi, G.; Armardi, N.; Campagna, S. *Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds I*, Springer-Verlag. **2007**.
- 35- Ferle, A.; Pizzuti, L.; Inglez, S. D.; Caires, A. R.L.; Lang, E. S.; Back, D. F.; Flores, A.F.C.; Júnior, A. M.; Deflon, V. M.; Casagrande, G. A. *Polyhedron.* **2013** (63) 9-14..
- 36- Benite, A. M. C.; Machado, P. S.; Barreiro, E. J. *Quim. Nova.* **2007** (30) 2062-2067.
- 37- Blower, J. P.; Lewis, J. S.; Zweit, J. *Nucl. Med. & Biol.* **1996**. (23) 957-980.
- 38- Li, D.; Shi, W. J.; Hou, L. *Inorg. Chem.* **2005** (44) 3907–3913.
- 39- Knotter, M.D.; Blasse, G.; Vliet, J. P. M.; Koten, G. *Inorg. Chem.* **1992** (31) 2196-2201.
- 40- Lazarou, K.; Bednarz, B.; Kubicki, M. *Inorg. Chim. Acta.* **2010** (363) 763–772.
- 41- Velalopoulou, A.; Batsala, G. K.; Kourkoumelis, N.; Karkabounas, S.; Evangelou, A.; Hadjikakou, S. K. *Med. Chem. Res.* **2013** (22) 2260–2265.
- 42- Perrin, D. D.; Armarego, W. L. F.; *Purification of Laboratory Chemicals*, 3^a ed, Pergamon Press, Grã Bretanha, **1988**

- 43- Lin, J. C. Y.; Tang, S. S.; Vasam, C. S.; You, W. C.; Ho, T. W.; Huang, C. H.; Sun, B. J.; Huang, C. Y.; Lee, C. S.; Hwang, W. S.; Chang, A. H. H.; Lin, I. J. B.; *Inorg. Chem.* **2008** (47) 2543-2551.
- 44- Brandenburg, K.; Berndt, M.; *J. Appl. Cryst.* **1999** (32) 1028. "DIAMOND: Visual Crystal Structure Information System".
- 45- Farrugia, L.J.; *ORTEP-3, Program for Ellipsoid Representation of Crystal Structures, J. Appl. Cryst.* **1997**.
- 46- Sambrook, J.; Russel, D.W. *Molecular Cloning: A laboratory manual*. 3. ed. Apêndice. A.2.1 Media. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, **2001**.
- 47- Jardine, F. H.; Rule, L.; Vohra, A. G. *J. Chem. SOC. (A)*. **1970** 238-240.
- 48- Pizzuti, L.; Piovesan, L. A.; Flores, A. F. C.; Quina, F. H.; Pereira, C. M. P.; *Ultrason. Sonochem.* **2009** (16) 728-731.
- 49- Hahn, T.; *International Tables for Crystallography, Vol. A Space-Group Symmetry*, 2nd ed.; The International Union of Crystallography, D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holland, **1987**.
- 50- Pettinari, C.; Marchetti, F.; Polimante, R.; Cingolani, A.; Portalone, G.; Colapietro, M.; *Inorg. Chim. Acta.* **1996** (249) 215-229.
- 51- Ruan, Ch. X.; Shi, W. J. *Acta Cryst.* **2007** E 63 m 2412.
- 52- Hameau, A.; Guyon, F.; Khatyr, A.; Knorr, M.; Strohmam, C. *Inorg. Chim. Acta.* **2012** (388) 60–70.
- 53- LeCloux, D. D.; Davydov, R.; Lippard, S. J. *Inorganic chemistry.* **1998** (37) 6814–6826.
- 54- Bondi, A. J. *Phys. Chem.* **1964** (68) 441–451.
- 55- Torelli, S.; Orio, M.; Pécaut, J.; Jamet, H.; Le Pape, L.; Ménage, S. *Angew. Chem.* **2010** (49) 8249-52.
- 56- Li, D.; Shi, W. J.; Wu, T.; Weng, S.; Ng. *Acta Cryst.* **2004**. E60, m776-m777.
- 57- Leite, D. O.; Prado, R.J. *Rev. Bras. De Ens. De Fis.* **2012** (34) 2504 (2) - 2504(9).
- 58- Silverstein, R. M.; Webster, F. X. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*, 6^a ed., LTC, Rio de Janeiro, **2000**.
- 59- Godoy, N. A. V.; Frem, R. C. G.; Mauro, A. E.; *Polyhedron*, **2005** (24) 1086-1092.
- 60- Takahashi, P. M.; Frem, R. C. G.; Godoy, N. A. V.; MAURO, A. E.; Matos, J. R.; *J. Therm. Anal. Calorim.* **2007** (87) 797-800

- 61- Crosby, G. A. *J. Chem. Education*. **1983** (60) 791-796.
- 62- Lever, A. B.; *Inorganic Electronic Spectroscopy*. Elsevier, **1984**, 161-299.
- 63- Li, D.; Wu, T. *Inorg. Chem.* **2005** (44) 1775-1777
- 64- Ford, P. C.; Cariati, E.; Bourassa, J. *Chem. Rev.* **1999** (99) 3625–3647.
- 65- SANTOS, A. F.; Avaliação de metodologias para estudos da atividade antimicrobiana com ligantes orgânicos e seus respectivos complexos metálicos. (Dissertação). Programa de Pós Graduação em Recursos Naturais. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul. 80 p. **2013**.
- 66- Abou, O.; Karamoko, O.; Adama, C. *J. Chem. Pharm. Res.* **2013** (5) 86-90.

ANEXOS

Quim. Nova, Vol. 36, No. 4, 495-501, 2013

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DAS PROPRIEDADES DE UM NOVO COMPLEXO MONONUCLEAR CONTENDO QUERCETINA E ÍON Ga(III)

Vanessa do Nascimento Simões, Lis Regiane Vizolli Favarin, Natália Aparecida Cabeza, Tamires Donizeth de Oliveira, Antonio Rogério Fiorucci, Jusinei Meireles Stropa, Daniela Cristina Manfroí Rodrigues, Alberto Adriano Cavalheiro e Ademir dos Anjos*

Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Unidade Universitária de Naviraí, 79950-000 Naviraí – MS, Brasil

Recebido em 27/2/12; aceito em 23/10/12; publicado na web em 20/2/13

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND STUDY OF THE PROPERTIES OF A NEW MONONUCLEAR QUERCETIN COMPLEX CONTAINING Ga(III) IONS. Flavonoids are one of the most important compound groups applied as medicine given their antioxidant properties, but several intrinsic properties can be improved through structural modifications to their molecules. Here, the synthesis and characterization of a new gallium (III) complex with quercetin is described. Electrochemical properties, as well as antioxidant and cytotoxic activities, were investigated and compared to the free flavonoid molecule. The mononuclear complex obtained, $[Ga(C_6H_6O_7)_3] \cdot 2H_2O \cdot 2CH_2OH \cdot CH_2CH_2OH$, seems more active as a DPPH radical scavenger given its lower oxidation potential compared to quercetin. The new complex cytotoxic responses have shown to be more effective than those of the free flavonoid and of lapachol used as a control.

Keywords: quercetin; gallium(III) complex; biological activities.

INTRODUÇÃO

Os flavonoides são compostos de baixa massa molar com uma estrutura base constituída por dois anéis aromáticos (A e B) ligados através de um anel pirano (C), como pode ser visualizado na Figura 1. Eles representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural, sendo amplamente distribuídos no reino vegetal.¹ Nos últimos anos essas moléculas têm atraído a atenção de muitos pesquisadores, pois exibem notável variedade de atividades biológicas, físicas e farmacológicas.^{2,3} Elas podem atuar como sequestradores de radicais livres, neutralizando espécies reativas de oxigênio, e como ligantes quelatos para íons metálicos, sendo que se atribui a essas características a responsabilidade por suas propriedades benéficas.^{4,5}

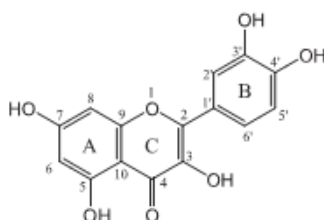


Figura 1. Representação esquemática da estrutura do flavonoide quercetina

A quercetina (Figura 1) é um dos flavonoides mais presentes na dieta humana, pois é encontrada em grande quantidade nas frutas, verduras e chás. Possui propriedades de grande interesse, entre elas estão seus efeitos anticarcinogênicos, protetores do sistema renal, cardiovascular e hepático.⁶ A interação dos flavonoides com íons metálicos pode mudar as propriedades antioxidantes e alguns outros efeitos biológicos, sendo a maioria de suas propriedades muitas vezes superiores às dos compostos originais.³ Pesquisas têm mostrado que

alguns complexos metálicos com a quercetina possuem resistência à atividade neoplasmática e apresentam atividades antisséptica, anti-inflamatória e/ou antioxidante.⁷

O gálio atua em nosso organismo em focos de inflamação e infecção particularmente nos neutrófilos granulados e leucócitos polimorfonucleares.⁸ O principal interesse clínico do gálio deriva da observação de que suas propriedades metabólicas são similares às do ferro.⁹⁻¹¹ Desde os anos 70, o gálio mostrou-se eficaz na diminuição da reabsorção óssea acelerada, redução associada aos níveis plasmáticos elevados de cálcio ou inibidores da proliferação neoplásica, tornando-se o segundo íon metálico depois da platina, a ser utilizado no tratamento de câncer.¹⁰ Entretanto, seus sais trivalentes (Ga^{3+}) são fracamente absorvidos pelo intestino e alguns derivados são susceptíveis à hidrólise, diminuindo, assim, sua eficiência biológica.¹¹ Por isso o grande interesse na síntese de compostos de coordenação com o íon metálico, visando uma possível correção dessas deficiências. Estudos demonstram um aumento da biodisponibilidade e uma eficácia antitumoral superior para alguns dos complexos, comparado com o nitrato de gálio(III) e outros sais do íon metálico.¹⁰ Kopacz e colaboradores¹²⁻¹⁴ descrevem a síntese, algumas propriedades físico-químicas e estudos potenciométricos de complexos formados entre a quercetina e o ácido quercetina-5-sulfônico com metais do grupo 13 (alumínio, gálio e índio), entretanto, não fornecem uma caracterização estrutural efetiva, bem como estudos relacionados às atividades biológicas desses compostos.

Desta forma, o presente trabalho descreve a síntese, caracterização e estudo das propriedades eletroquímicas e biológicas (antioxidante e citotóxica) de um novo complexo metálico obtido a partir da reação entre o flavonoide natural quercetina e íon Ga^{3+} .

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais e métodos

Todos os reagentes e solventes empregados nas sínteses e análises foram adquiridos de fontes comerciais e utilizados sem purificação prévia.

*e-mail: piu_floripa@uems.br

Análise elementar, espectroscopia (IV e UV-Vis) e estudo térmico

A determinação dos percentuais de carbono e hidrogênio foi realizada em analisador elementar de CHNS Thermo Cientific Flash 2000. A análise termogravimétrica do complexo foi obtida em um analisador térmico TGA Q50 da TA Instrument, em uma faixa de temperatura de 25 a 550 °C, com gradiente de aquecimento de 20 °C min⁻¹, em atmosfera de ar sintético (massa inicial da amostra: 7,5 mg). As curvas da calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram obtidas em um calorímetro TA Instruments modelo DSC Q20, em atmosferas de nitrogênio e oxigênio (ambos com vazão de 50,0 mL min⁻¹), gradiente de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e faixa de varredura entre 25 a 550 °C. Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrofotômetro Thermo Nicolet Nexus 650, com acessório de detecção por fotoacústica (resolução 8 cm⁻¹, média de 256 espectros). Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis) foram obtidos em um espectrofotômetro Varian modelo Cary50, sendo as análises realizadas em metanol (grau espectroscópico) e cubetas de quartzo com capacidade para 4,0 mL com caminho óptico de 1 cm.

Ensaio citotóxico

O ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* foi conduzido segundo metodologia descrita na literatura¹⁵⁻¹⁷ com modificações. Uma solução marinha foi preparada utilizando-se sal e água destilada (38 g de sal/L de água), sendo esta dividida em duas partes, uma para a eclosão dos ovos e a outra para a preparação das diluições das substâncias-teste, com pH variando entre 8-9. Em 500 mL da solução salina foram adicionados aproximadamente 1,5 g de ovos comerciais de *A. salina*, submetidos a um choque de luz com lâmpada de 100 W, por 48 h, sendo o sistema protegido de poeira e insetos. O restante da solução salina foi acondicionado em outro recipiente e também submetido às mesmas condições de iluminação e temperatura. Foram utilizados 10 mg das amostras, que foram solubilizados em metanol e o volume completado para 5 mL com água salinizada. Destas soluções foram retiradas alíquotas, transferidas para tubos de 5 mL com os volumes sendo completados com água marinha, obtendo-se concentrações de 500, 250, 100, 50 e 10 µg mL⁻¹ para cada amostra.

Nas mesmas condições preparou-se a amostra de lapachol, que foi utilizado como controle positivo, uma vez que o composto é relatado na literatura como agente citotóxico efetivo.¹⁸⁻²⁰ O controle negativo apresentava solução salina e metanol. Para cada diluição foram montadas triplicatas, nas quais foram adicionadas 10 larvas de *A. salina* com auxílio de uma pipeta Pasteur. A contagem dos animais mortos e vivos foi realizada após 24 h em temperatura e iluminação ambientes com proteção contra poeira e insetos. Para obtenção dos valores de DL₅₀ foi utilizada a análise Probit,²¹ através do software BioStat,²² com 95% de confiança.

Avaliação da atividade antioxidante

O ensaio antioxidante quantitativo foi realizado de acordo com modificações dos métodos descritos na literatura,^{23,24} monitorando-se o consumo do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) pelas amostras, através da medida do decréscimo da absorvância (515 nm) de soluções metanólicas em diferentes concentrações. Utilizou-se um espectrofotômetro Varian modelo Cary 50 e cubetas de quartzo com capacidade para 4,0 mL com caminho óptico de 1 cm.

Construção da curva de calibração do DPPH

Primeiramente, prepararam-se 50 mL de uma solução de DPPH

em metanol na concentração de 100 µg mL⁻¹, mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foram feitas diluições em triplicata de 40, 30, 20, 10, 5 e 1 µg mL⁻¹. A curva de calibração foi construída a partir dos valores da absorvância medidos a 515 nm.

Leitura das medidas de absorvâncias das amostras

Soluções do complexo e da quercetina foram preparadas em uma concentração inicial de 100 µg mL⁻¹ e diluídas nas seguintes concentrações: 1, 5, 10, 15, 20 e 25 µg mL⁻¹. As medidas das absorvâncias das misturas reacionais (0,5 mL das amostras e 2,5 mL da solução de DPPH na concentração de 40 µg mL⁻¹) foram realizadas a 515 nm após um intervalo de 30 min de reação. Foi considerada como referência de máxima absorção, 0,5 mL da solução de DPPH adicionados a 2,5 mL de metanol. A partir da equação da curva de calibração e dos valores de absorvância no tempo de 30 min para cada concentração testada, foram determinados os percentuais de DPPH remanescentes (% DPPH_{rem}), conforme a Equação 1:

$$\% \text{DPPH}_{\text{rem}} = [\text{DPPH}]_{\text{rem}} / [\text{DPPH}]_{\text{T=0}} \times 100 \quad (1)$$

onde [DPPH]_{T=0} corresponde à concentração de DPPH no meio, após a reação com as amostras e [DPPH]_{T=0} é a concentração inicial de DPPH, ou seja, 40 µg mL⁻¹.

Os valores de DPPH no meio, após a reação com a amostra, foram calculados substituindo-se os valores das leituras obtidas para absorvância na equação da curva analítica. A partir dos valores de % DPPH_{rem} calculou-se a concentração eficiente, quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE₅₀), graficando a porcentagem de DPPH_{rem} versus as concentrações de cada amostra. Os valores de absorvância em todas as concentrações testadas, no tempo de 30 min, foram também convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (AA), determinada pela Equação 2:

$$\% \text{AA} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

onde A₀ é absorvância do DPPH em metanol; A é a absorvância da mistura DPPH, metanol e amostra, ambos os casos após 30 min de reação; e % AA é a atividade antioxidante em porcentagem. Com os percentuais das atividades antioxidantes das amostras foi construído um gráfico da % AA versus a concentração de cada amostra.

Estudos eletroquímicos

O comportamento redox da quercetina e do complexo foi investigado por voltametria cíclica em potenciostato/galvanostato Metrohm Autolab PGSTAT 302 interfaceado a um microcomputador e gerenciado pelo software GPES (Versão 4.9) para aquisição dos dados. Os experimentos foram realizados em solução de acetonitrila sob atmosfera ambiente. Foi usado um sistema convencional de três eletrodos, composto por um eletrodo de carbono vítreo (diâmetro de 2,0 mm) como eletrodo trabalho, um eletrodo de Ag/Ag⁺ usado como eletrodo de referência e um fio de platina usado como eletrodo auxiliar (contraeletrodo). O eletrodo de trabalho foi cuidadosamente polido antes de cada experimento com alumina, lavado com água bidestilada e posteriormente seco. Para este sistema, foi usada uma célula convencional com capacidade máxima de 10,0 mL para as medidas. Uma solução de hexafluorofosfato de tetrabutilamônio (0,1 mmol L⁻¹) foi utilizada como eletrólito suporte. Para monitorar o eletrodo de referência utilizou-se o par redox ferrocínio/ferroceno (Fc⁺/Fc) como padrão interno²⁵ (onde E_{1/2(Fc⁺/Fc)}} = 0,950 V vs Ag/Ag⁺ com ΔE_p = 0,120 V).

Síntese do complexo

O complexo $[\text{Ga}(\text{C}_{15}\text{H}_9\text{O}_7)_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{CH}_3\text{OH} \cdot \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ foi obtido reagindo-se o flavonoide quercetina com o sal nitrato de gálio(III), $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich), em uma estequiometria 3:1 (ligante:metal). A uma solução de 0,064 g de nitrato de gálio(III) em 10 mL de água, com agitação e aquecimento, adicionou-se uma solução da quercetina (0,226 g) solubilizada em aproximadamente 10 mL de etanol. A solução amarela continuou sob agitação e leve aquecimento por 20 min, sendo adicionadas à mesma aproximadamente 3 gotas de uma solução tampão pH 4,5 (acetato de sódio/ácido acético), o que resultou na mudança de coloração para laranja. Manteve-se a reação em refluxo por 4 h. Após alguns dias obteve-se a formação de um sólido amorfo de coloração verde, o qual foi filtrado, lavado com metanol a frio, seco e armazenado para a realização das análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise elementar, espectroscopia (IV e UV-Vis) e estudo térmico

O complexo foi obtido com grau de pureza adequado, o que é demonstrado pela análise elementar. A análise elementar apresenta resultado concordante com a fórmula molecular $\text{GaC}_{49}\text{H}_{14}\text{O}_{26}$ (MM = 1.119,60 g mol⁻¹; calculado: C = 52,57% e H = 4,05%; encontrado: C = 52,25% e H = 3,87%), o que indica que o complexo mononuclear obtido foi isolado em uma estequiometria 3:1 (ligante/metal), contendo ainda duas moléculas de água, duas de metanol e uma de etanol como compostos de solvatação. Os resultados obtidos através da análise termogravimétrica reforçam esta sugestão.

Macedo e colaboradores²⁶ em um estudo sobre a caracterização térmica da quercetina mostraram que a mesma apresenta diferentes estágios de degradação, dependentes da atmosfera gasosa utilizada e velocidade de aquecimento, e que são relacionados com a perda de água (estágio inicial), transição de fase (estágio intermediário) e decomposição da quercetina (estágio final). O pico de transição de fase (curva TG) ocorre sem a perda de massa (na curva TG), mas com variação de calor, o que evidencia uma mudança estrutural. Quando se compara o perfil das curvas de TG e DSC obtidas para o complexo (Figura 2) com o que é relatado para a quercetina, verifica-se uma similaridade nos estágios de decomposição, com uma diferença no início e final das curvas em virtude da presença de diferentes solventes e presença do íon metálico. A etapa de degradação inicial é caracterizada por processos endotérmicos relacionados com a evaporação de compostos orgânicos e água de solvatação, que se inicia em 26 °C e se estende até 130 °C. Observam-se inflexões na curva dTG em 45 e 79 °C, indicando que no processo de evaporação há diferentes compostos envolvidos. A primeira perda de massa (6,0%) está relacionada a duas moléculas de metanol, enquanto a subsequente (7,6%) se relaciona com a mistura azeotrópica formada por duas moléculas de água e uma de etanol. Na etapa seguinte, similarmente ao que ocorre na quercetina livre,²⁶ verifica-se um pico de transição de fase em 265 °C (curva DSC), que ocorre sem perda de massa na curva TG, e que está atrelada a uma mudança estrutural, inalterada mesmo após o processo de coordenação. A etapa final, entre 325 e 525 °C, mostra o processo exotérmico associado à decomposição das moléculas de quercetina, com uma perda de massa total de 78,7%. As três subetapas nesta decomposição estão associadas a diferentes estágios da combustão, como função da estabilidade térmica de distintas partes da molécula do ligante quercetina. A perda total de massa encontrada na TG foi de 92,3% e o total calculado foi de 93,4% com um resíduo final referente ao óxido de gálio. Estes resultados mostram boa concordância com a fórmula encontrada na

análise elementar de CHN e permitiram estabelecer a estequiometria do complexo, o qual apresenta três moléculas de quercetina coordenadas ao centro metálico e moléculas de água, metanol e etanol como espécies de solvatação.

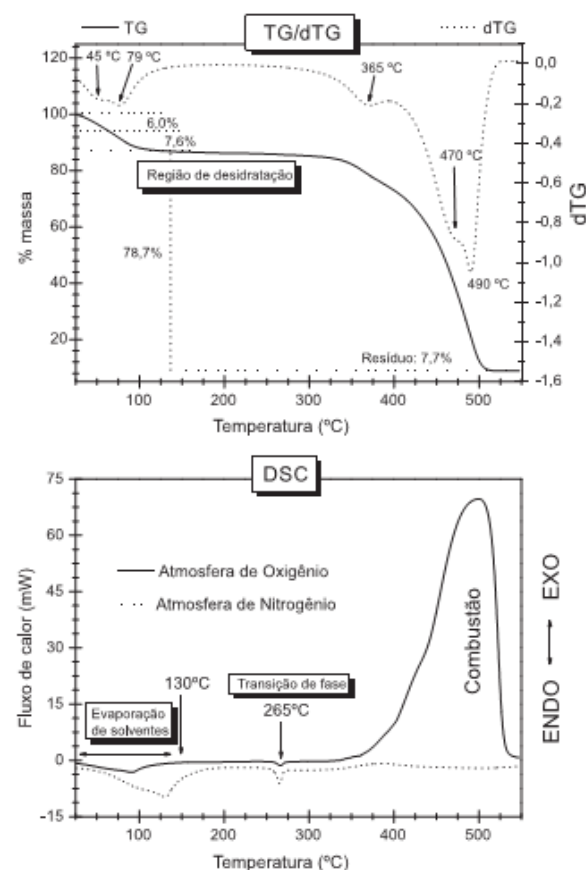


Figura 2. (Superior) Curva TG do complexo em atmosfera ambiente na faixa de temperatura 25-550 °C, coeficiente de aquecimento de 20 °C min⁻¹ com uma massa inicial da amostra de 7,5 mg. (Inferior) Curvas DSC do complexo sob atmosferas de nitrogênio e oxigênio (fluxo de 50,0 mL min⁻¹) com gradiente de aquecimento 20 °C min⁻¹ e faixa de varredura entre 25 a 550 °C

Uma análise comparativa entre os espectros na região do infravermelho do ligante e do complexo indica a presença das principais bandas (Tabela 1), com algumas pequenas distinções oriundas do processo de coordenação. A presença da absorção em 448 cm⁻¹ possivelmente está relacionada à formação das ligações Ga-O, pois relatos na literatura indicam que este tipo de ligação é encontrado em uma faixa de 450 a 470 cm⁻¹, entretanto, com outros tipos de ligantes.^{10,27} Uma outra alteração é verificada na banda atribuída ao grupo carbonila que é deslocada para um menor comprimento de onda no complexo (1666 cm⁻¹ na quercetina livre para 1650 cm⁻¹ no complexo). Isto pode ser indicativo da coordenação do ligante ao íon metálico via oxigênio carbonílico (na posição 4 do anel C, Figura 1) uma vez que resultados similares foram encontrados para outros complexos com flavonolatos.^{2,3,5,28-35} Nota-se um aumento significativo da ordem de ligação da banda referente à deformação da ligação C-OH_{fenol}, de 1319 cm⁻¹ no ligante para 1342 cm⁻¹ no complexo, conforme pode ser verificado na Figura 3. Esse fato pode estar relacionado à coordenação de um dos grupamentos fenólicos presentes na quercetina (3-OH, 5-OH, 3'-OH e/ou 4'-OH). Como o grupo 3-hidroxil possui

um próton mais ácido comparativamente aos demais (o que o torna um quelante mais efetivo),^{26,29} espera-se que seja um dos primeiros sítios, juntamente com o grupo 4-oxo, a serem envolvidos no processo de coordenação. Os demais grupos fenólicos não devem estar envolvidos devido à menor acidez e ao possível impedimento espacial ocasionado pela primeira complexação.^{2,29} Estudos com íons metálicos e flavonoides (principalmente a quercetina) têm indicado uma predominância nessas posições de coordenação, o que também é corroborado pelos dados obtidos através da espectroscopia eletrônica.^{2,3,5,28-35} A frequência de vibração para $\nu(\text{C-O-C})$ também foi alterada após a coordenação do flavonoide, conforme pode ser visualizado na Figura 3. A partir desses resultados pode-se inferir que cada quercetina provavelmente se coordenou ao íon Ga(III) como um ligante bidentado através da carbonila (4-oxo) e do grupo 3-hidroxil. A presença das moléculas de metanol e etanol na estrutura do complexo promove uma ligeira modificação no perfil do espectro infravermelho, principalmente nas regiões esperadas para os modos vibracionais desses solventes.²⁸ A presença dessas moléculas é devidamente confirmada pelas análises elementar e térmica.

Tabela 1. Principais bandas e atribuições, em cm^{-1} , dos espectros no infravermelho para a quercetina e o complexo (detecção por fotoacústica com resolução 8 cm^{-1} e média de 256 espectros)

Quercetina	Complexo	Atribuições
3394	~3442 – 3285	$\nu(\text{O-H})$
1666	1650	$\nu(\text{C=O})$
1250	1271	$\nu(\text{C-O-C})$
1319	1342	$\delta(\text{C-OH}_{\text{met}})$
--	448	$\nu(\text{M-O})$

O espectro eletrônico da quercetina em metanol (Figura 4, inserção) apresenta duas bandas de absorção relacionadas com as transições $\pi \rightarrow \pi^*$: uma em 375 nm ($\epsilon = 24.167 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$), denominada banda I, correspondente ao sistema conjugado entre o anel B e a carbonila do anel C (sistema cinamoil), e outra em 255 nm ($\epsilon = 24.580 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$), banda II, referente ao sistema conjugado entre o anel A e a carbonila do anel C (sistema benzoil).^{2,28,29} Os espectros na região do UV-Vis em metanol mostram diferenças significativas entre a quercetina pura e o complexo (Figura 4), demonstrando claramente a coordenação do centro metálico: verificam-se o deslocamento batocrômico da banda I e o surgimento de uma nova

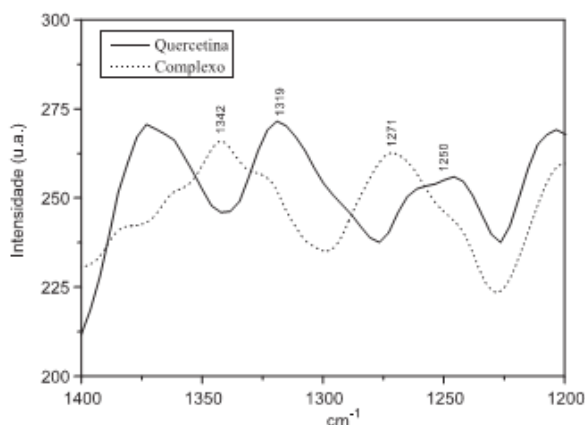


Figura 3. Espectro no infravermelho comparando a quercetina livre (linha sólida) e o complexo (linha tracejada) na região entre 1400 e 1200 cm^{-1}

banda em 437 nm (com um ombro em $\approx 501 \text{ nm}$). A nova banda em 437 nm ($\epsilon = 30.500 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$) sugere que o íon Ga(III) esteja ligado ao grupo fenólico 3-OH e à carbonila 4-oxo do anel C.³⁶ Segundo Dehghan,²⁸ as evidências que suportam esta sugestão estão relacionadas aos seguintes fatos: o grupo 3-OH é um melhor agente quelante (o que está relacionado com sua maior acidez frente aos demais) e a deslocalização dos elétrons do oxigênio do grupo 3-OH é maior, o que facilita a deslocalização dos elétrons π . O deslocamento batocrômico que ocorre na banda I (de 375 nm na quercetina para 388 nm no complexo) pode ser explicado pela interação do Ga^{3+} com o grupo 3-hidroxil da quercetina, resultando em uma redistribuição eletrônica entre a molécula do flavonoide e o íon metálico, formando um sistema ligante π estendido.²⁸ Baseado em relatos da literatura, sugere-se que o processo em $\approx 501 \text{ nm}$ (ombro) pode estar relacionado ao fenômeno da fluorescência, que é explicado pela excitação e relaxamento dos elétrons do ligante ($n \rightarrow \pi^*$), influenciados pelo centro metálico.¹² As mudanças após a coordenação são concordantes com o que é descrito em outros trabalhos que estudaram complexos metalo-flavonolatos, indicando, por exemplo, um deslocamento para menor comprimento de onda da banda referente ao sistema cinamoil (banda I). Como citado anteriormente, o grupo 3-hidroxil possui um próton mais ácido; dessa forma, os grupos 3-OH e 4-oxo são os primeiros sítios de coordenação envolvidos no processo de complexação e influenciam no deslocamento da banda. O grupo hidroxila localizado na posição 5 não é envolvido no processo de coordenação devido a sua menor acidez e ao impedimento espacial ocasionado pela primeira complexação.^{28,29}

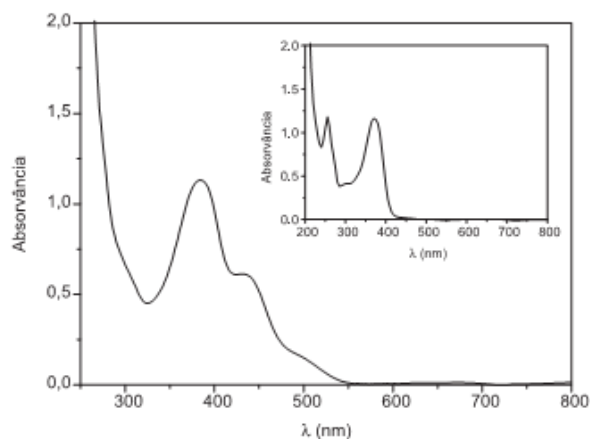


Figura 4. Espectro eletrônico do complexo em CH_3OH (concentração: $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; caminho óptico: 1 cm). Inserção: espectro eletrônico da quercetina em metanol (concentração: $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; caminho óptico: 1 cm)

Ensaio citotóxico

Vários estudos correlacionam a toxicidade sobre a *A. salina* com atividades antifúngica, antimicrobiana, tripanossomicida e parasiticida e, também, como avaliação prévia de uma possível atividade antitumoral. O microcrustáceo pode ser utilizado para estimar a toxicidade através da concentração média letal (DL_{50}), que é a dose efetiva para matar 50% das larvas de *A. salina*.¹⁵⁻¹⁷

Os resultados obtidos no ensaio com *A. salina* (Tabela 2) indicam que todas as amostras se mostraram ativas contra o microcrustáceo, pois apresentaram resultados de DL_{50} inferiores a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, que é a concentração máxima para uma amostra ser considerada ativa.¹⁵ O pré-controle feito com metanol e água salina não apresentou influência sobre os resultados, já que nenhuma larva morreu nessa mistura. O

valor de DL_{50} para o complexo ($DL_{50} = 22,51 \mu\text{g mL}^{-1}$) indica uma melhor resposta citotóxica do composto, sendo consideravelmente menor que o da quercetina pura ($DL_{50} = 398,94 \mu\text{g mL}^{-1}$) e o do lapachol ($DL_{50} = 64,85 \mu\text{g mL}^{-1}$). O valor de DL_{50} obtido para o lapachol é um valor muito próximo ao encontrado na literatura ($68 \mu\text{g mL}^{-1}$),³⁷ o que indica boa adequação nos procedimentos experimentais utilizados.

Tabela 2. Resultados do teste de citotoxicidade sobre *A. salina*, relativos à quercetina, ao complexo e à substância controle (lapachol)

Amostras	DL_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)*	Intervalo de confiança (95%)
Complexo	22, 51 \pm 0,11	7, 57 – 40, 97
Quercetina	398, 94 \pm 0,04	339, 42 – 496, 86
Lapachol	64, 85 \pm 0,05	48, 56 – 98, 52

* Dados apresentados como médias \pm desvio padrão de 3 repetições.

Avaliação da atividade antioxidante

O modelo para avaliação da atividade antioxidante utilizando DPPH é baseado na capacidade do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil em reagir com substâncias doadoras de hidrogênio, incluindo compostos fenólicos.^{24,38} Quando uma determinada substância que age como doadora de átomos de hidrogênio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina (forma reduzida) é obtida com mudança simultânea na coloração de violeta para amarela pálida. É um método fácil, rápido e muito utilizado para avaliar a capacidade sequestradora de radicais livres de amostras.³⁹ Os resultados da avaliação da atividade antioxidante (%AA) do complexo e do controle positivo, determinados pelo ensaio do DPPH, estão apresentados na Figura 5, mostrando que o complexo apresentou boa atividade antioxidante, chegando a ser mais efetivo que a quercetina pura em todas as concentrações testadas.

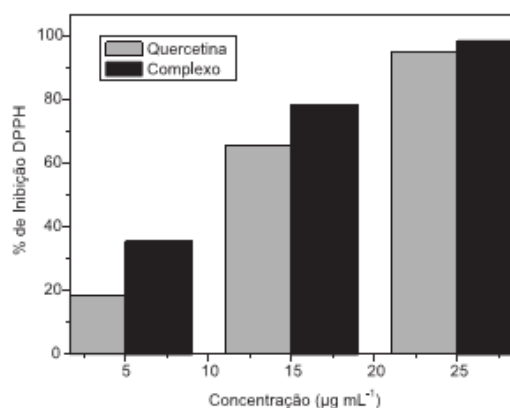


Figura 5. Porcentagem da atividade de inibição do DPPH da quercetina e do complexo

A concentração de cada amostra necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50%, CE_{50} , também indicou a potencialização da atividade antioxidante do flavonoide quercetina após a complexação com o íon Ga^{3+} . O complexo apresentou um valor de CE_{50} de $0,73 \mu\text{g mL}^{-1}$. Comparativamente, a quercetina apresentou um valor de $2,4 \mu\text{g mL}^{-1}$, similar aos encontrados na literatura,^{24,40} que variam de 2,20 a $2,34 \mu\text{g mL}^{-1}$. A capacidade dos flavonoides de atuarem como antioxidantes depende da sua estrutura molecular; entretanto, há muitas divergências quanto ao mecanismo envolvido no processo.⁴¹⁻⁴⁵ Alguns autores sugerem que a atividade está relacionada

com a posição e o número de grupamentos hidroxílicos presentes na estrutura do flavonoide. A alta atividade antioxidante poderia ser atribuída, principalmente, à contribuição significativa dos grupos 3',4'-OH. A quercetina em reação com o radical DPPH doaria um dos átomos de hidrogênio e se transformaria em uma espécie radicalar (Q^{\bullet}) ou uma semiquinona, sendo esta reação atribuída à presença das hidroxilas em posição *orto* no anel B. Entretanto, recentemente, Foti e colaboradores⁴⁵ sugeriram que a etapa inicial do processo deve ser representada pela transferência de elétrons entre o DPPH e o oxigênio fenólico na posição C-7, em vez da abstração de um dos átomos de hidrogênio dos grupos 3',4'-OH.

O aumento da atividade antioxidante da quercetina após a complexação sugere que o íon metálico Ga^{3+} pode alterar as propriedades químicas do ligante quercetina, retirando densidade eletrônica dos grupos fenólicos circunvizinhos, fazendo com que se tornem mais ácidos e, conseqüentemente, mais susceptíveis de serem abstraídos ou permitirem a transferência eletrônica. Dados experimentais, utilizando diversos íons metálicos, têm demonstrado que os complexos são consideravelmente mais eficientes sequestradores de radicais livres do que os flavonoides livres.^{3,7,46} Os resultados obtidos abrem uma nova perspectiva para o uso do complexo de gálio como fármaco, visando a prevenção de doenças decorrentes do estresse oxidativo. No entanto, o teste utilizando o DPPH não permite uma definição dos efeitos antioxidantes, sendo necessário um estudo utilizando um sistema biológico, como células, para determinar se este composto poderá ser utilizado para esta finalidade.

Estudos eletroquímicos

O comportamento eletroquímico da quercetina e do complexo foi investigado através da técnica de voltametria cíclica. Os voltamogramas obtidos são apresentados na Figura 6. Os processos foram obtidos em solução de acetonitrila, utilizando carbono vítreo como eletrodo de trabalho, Ag/Ag^+ como eletrodo de referência, fio de platina como eletrodo auxiliar e $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de TBAPF₆ como eletrólito suporte. Todos os valores dos potenciais foram referenciados versus Fc^+/Fc ,²⁵ onde $E_{1/2}(\text{Fc}^+/\text{Fc}) = 0,950 \text{ V vs Ag}/\text{Ag}^+$ ($\Delta E_p = 0,120 \text{ V}$) (Figura 6, inserção). No voltamograma cíclico obtido para a quercetina em solução de acetonitrila ($0,8 \text{ mmol L}^{-1}$)

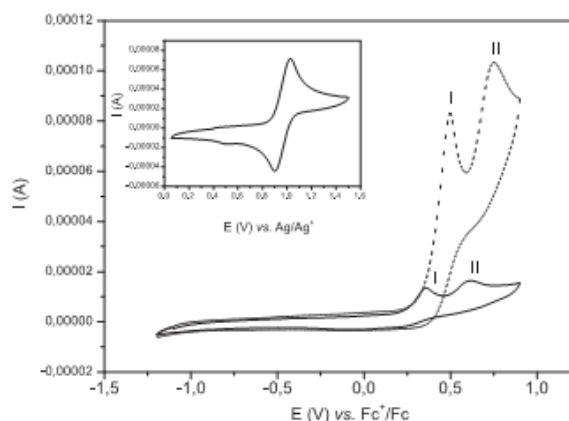


Figura 6. Voltamogramas cíclicos da quercetina (linha tracejada) e do complexo (linha sólida). Inserção: voltamograma do par redox ferrocênio/ferroceno (Fc^+/Fc) utilizado como padrão interno ($E_{1/2} = 0,95 \text{ V vs. Ag}/\text{Ag}^+$). Condições experimentais similares para todos os voltamogramas (solvente: acetonitrila; eletrodo trabalho: carbono vítreo; eletrodo de referência: Ag/Ag^+ ; eletrodo auxiliar: fio de platina; eletrólito suporte: $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ TBAPF₆; velocidade de varredura de 25 mV s^{-1})

para uma velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹ são observados dois processos de oxidação irreversíveis em 0,553 V vs Fc^{+/0}/Fc (E_{pa1}) e 0,807 V vs Fc^{+/0}/Fc (E_{pa2}). De acordo com dados já reportados na literatura,⁴⁷⁻⁵⁰ o processo no pico I (E_{pa1}) corresponde à oxidação do grupo 3',4'-di-hidroxil no anel B da quercetina, em uma reação envolvendo os prótons. O grupo hidroxila na posição 5- do anel A é oxidado depois e corresponde ao pico II (E_{pa2}), enquanto a reação de oxidação envolvendo o grupo 7-hidroxil não é observada no voltamograma cíclico nas condições utilizadas. Quanto à reversibilidade das reações que ocorrem nesses processos de oxidação, ainda é contraditória e depende muitas vezes dos parâmetros experimentais empregados.^{47,48,50}

No voltamograma cíclico do complexo, seguindo as mesmas condições experimentais utilizadas para a quercetina pura, verificam-se os mesmos processos descritos anteriormente, entretanto, com diferenças nos valores dos potenciais. Esses resultados mostraram uma diminuição considerável dos potenciais de oxidação (pico I: 0,305 V vs Fc^{+/0}/Fc e pico II: 0,565 V vs Fc^{+/0}/Fc) comparados ao ligante livre, pois a coordenação com o íon metálico faz com que os processos de oxidação ocorram mais facilmente.² Não há nenhum processo relacionado diretamente ao íon metálico Ga(III), uma vez que o mesmo é inerte eletroquimicamente.⁵¹

Através de técnicas eletroanalíticas, como a voltametria cíclica, é possível determinar a atividade antioxidante de substâncias. Essas técnicas podem correlacionar potenciais de oxidação, intensidade de corrente e/ou outros parâmetros eletroquímicos com a capacidade antioxidante, sendo mais seletivas e sensíveis que os métodos espectrofotométricos. Quanto menor o valor de E_{pa}, maior é o poder doador de elétron da espécie em estudo e, portanto, teoricamente, maior seu poder antioxidante.³⁹ Assim, o complexo sintetizado mostrou-se um antioxidante mais eficaz do que a quercetina livre. Estes resultados concordam com o teste antioxidante utilizando o radical livre estável DPPH.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em virtude do crescente interesse na química de complexos metal-flavonolatos, o presente trabalho estudou a interação entre a quercetina e o íon gálio(III), sendo que as análises físico-químicas realizadas sugerem a coordenação do Ga³⁺ através do grupo carbonila (4-oxo) e do oxigênio fenólico (na posição 3 do anel C) do flavonoide, formando um complexo mononuclear com fórmula [Ga(C₁₅H₉O₇)₃].2H₂O.2CH₃OH.CH₃CH₂OH. O complexo apresentou resposta citotóxica frente ao crustáceo *A. salina* mais efetiva quando comparado ao flavonoide puro e ao lapachol (utilizado como controle). No estudo da atividade antioxidante baseado no radical livre DPPH, observou-se um aumento nessa propriedade quando se comparou o complexo ao flavonoide livre, o que demonstra claramente a importância da coordenação do íon metálico para o processo. A atividade antioxidante do complexo também foi avaliada do ponto de vista eletroquímico, confirmando o resultado obtido com o teste utilizando o radical DPPH. Os resultados mostraram valores relativamente mais baixos nos potenciais de oxidação do complexo comparativamente aos da quercetina pura, o que indica que pode se oxidar com mais facilidade que o flavonoide e, consequentemente, ser melhor agente antioxidante. Todos estes resultados abrem espaço para a busca de outras atividades do complexo sintetizado, bem como uma melhor investigação das propriedades antioxidante e citotóxica, visando uma possível aplicação farmacêutica.

AGRADECIMENTOS

Às agências CAPES e FUNDECT.

REFERÊNCIAS

1. Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; *Farmacognosia - da Planta ao Medicamento*, 5^a ed., Ed. da UFSC: Florianópolis, 2004, cap. 23.
2. Souza, R. F. V.; Giovani, W. F.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2005**, *61*, 1985.
3. Dolatabadi, J. E. N.; *Int. J. Biol. Macromol.* **2011**, *48*, 227.
4. Franzoi, A. C.; Peralta, R. A.; Neves, A.; Vieira, I. C.; *Talanta* **2009**, *78*, 221.
5. Berreau, L. M.; Grubel, K.; Rudzka, K.; Arif, A. M.; Klotz, K. L.; Halfen, J. A.; *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 82.
6. Behling, E. B.; Sendão, M. C.; Francescato, H. D. C.; Antunes, L. M. G.; Bianchi, M. L. P.; *Alim. Nutr.* **2004**, *15*, 285.
7. Zhay, G.; Ma, H.; Duan, Y.; Zhu, W.; *Zir. Kex.* **2010**, *23*, 310.
8. Bernstein, L. R.; *Pharmacol. Rev.* **1998**, *50*, 669.
9. Melnikov, P.; Malzac, A.; Coelho, M. B.; *Acta Ortop. Bras.* **2008**, *16*, 54.
10. Bandoli, G.; Dolmella, A.; Tisato, F.; Porchia, M.; Refosco, F.; *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 56.
11. Silva, F. A. A. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade de Lisboa, Portugal, 2008.
12. Kopacz, M.; Bartecki, A.; *Koord. Khim.* **1978**, *4*, 1845.
13. Kopacz, M.; Bartecki, A.; *Koord. Khim.* **1979**, *5*, 367.
14. Bujonek, B.; Kopacz, M.; *Pol. J. Chem.* **1991**, *65*, 845.
15. Meyer, N. B.; Ferrigni, N. R.; Jacobson, J. E.; Nichols, D. E.; McLaughlin, J. L.; *Plan. Méd.* **1982**, *45*, 31.
16. Siqueira, J. M.; Bomm, M. D.; Pereira, N. F. G.; Garcez, W. S.; Boaventura, M. A.; *Quím. Nova* **1998**, *21*, 557.
17. Citó, A. M. G. L.; Souza, A. A.; Lopes, J. A. D.; Chaves, M. H.; Costa, F. B.; Souza, S. A. A.; Amaral, M. P. M.; *An. Assoc. Bras. Quím.* **2003**, *52*, 74.
18. Ferreira, M. L.; Barbosa, L. C. A.; Demuner, A. J.; da Silva, A. A.; Pereira, R. C.; *Acta Scient.* **2000**, *22*, 999.
19. Hussain, H.; Krohn, K.; Ahmad, V. U.; Miana, G. A.; Green, I. R.; *Arquivos* **2007**, *part ii*, 145.
20. Maeda, M.; Murakami, M.; Takegami, T.; Ota, T.; *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2008**, *229*, 232.
21. Finney, D. J.; *Probit Analysis*, 3rd ed.; Cambridge Univ. Press: Cambridge, 1971.
22. *BioStat[®] for Windows*, Versão 5.8.3.0, AnalystSoft Inc., Vancouver, 2009.
23. Sousa, C. M. M.; Silva, H. R.; Vieira Jr, G. M.; Ayres, M. C. C.; Costa, C. L. S.; Araujo, D. S.; Cavalcante, L. C. D.; Barros, E. D. S.; Araújo, P. B. M.; Brandão, M. S.; Chaves, M. H.; *Quím. Nova* **2007**, *30*, 351.
24. Barbosa, J.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil, 2009.
25. Gagné, R. R.; Koval, C. A.; Lisensky, G. C.; *Inorg. Chem.* **1980**, *19*, 2854.
26. Costa, E. M.; Barbosa Filho, J. M.; Nascimento, T. G.; Macedo, R. O.; *Thermochim. Acta* **2002**, *392-393*, 79.
27. Mohammadi, K.; Thompson, K. H.; Patrick, B. O.; Storr, T.; Martins, C.; Polishchuk, E.; Yuen, V. G.; McNeill, J. H.; Orvig, C.; *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99*, 2217.
28. Dehghan, G.; Khoshkam, Z.; *Food Chem.* **2012**, *131*, 422.
29. Bukhari, S. B.; Memon, S.; Tahir, M. M.; Bhangar, M. I.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2009**, *71*, 1901.
30. Tian, Q.-L.; Liao, S.-H.; Lu, P.; Liu, L.-J.; *Chin. J. Chem.* **2006**, *24*, 1388.
31. Woznicka, E.; Kopacz, M.; Umbreit, M.; Klos, J.; *J. Inorg. Biochem.* **2007**, *101*, 774.
32. Li, J.; Kang, J.; Lu, J.; Li, X. Z.; Tang, J. L.; Zhang, H. Q.; Zhang, Y. H.; *J. Lumin.* **2009**, *129*, 906.
33. Kopacz, M.; Nowak, D.; *Microchem. J.* **1993**, *47*, 338.

34. Kopacz, M.; Nowak, D.; *Polish. J. Chem.* **2000**, *74*, 303.
35. Zhou, J.; Wang, J.; Tang, N.; *J. Inorg. Biochem.* **2001**, *83*, 41.
36. Ahmadi, S. M.; Dehghan, G.; Hosseinpourfeizi, M. A.; Ezzati, N. D. J.; Kashanian, S.; *DNA Cell. Biol.* **2011**, *30*, 517.
37. Galotta, A. L. Q. A.; Boaventura, M. A. D.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 610.
38. Roginsky, V.; Lissi, E.; *Food Chem.* **2005**, *92*, 235.
39. Alves, C. Q.; David, J. M.; David, J. P.; Bahia, M. V.; Aguiar, R. M.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 2202.
40. Chua, M.; Tung, Y.; Chang, S.; *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 1918.
41. Birt, D. F.; Hendrich, S.; Wang, W.; *Pharmacol. Ther.* **2001**, *90*, 157.
42. Yang, C. S.; Landau, J. M.; Huang, M. T.; Newmark, H. L.; *Annu. Rev. Nutr.* **2001**, *21*, 381.
43. Materska, M.; *Pol. J. Food Nut. Sc.* **2008**, *58*, 407.
44. Wang, L.; Tu, Y. C.; Lian, T. W.; Hung, J. T.; Yen, J. H.; Wu, M. J.; *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 9798.
45. Foti, M. C.; Daquino, C.; Dilabio, G. A.; Ingold, K. U.; *Org. Lett.* **2011**, *13*, 4826.
46. Malešev, D.; Kuntic, V.; *J. Serb. Chem. Soc.* **2007**, *72*, 921.
47. Brett, A. M.; Ghica, M. E.; *Electroanalysis* **2003**, *15*, 1745.
48. Medvidović-Kosanović, M.; Šeruga, M.; Jakobek, L.; Novak, I.; *Croat. Chem. Acta* **2010**, *83*, 197.
49. Xu, G. R.; In, M. Y.; Yuan, Y.; Lee, J. J.; Kim, S.; *Bull. Korean Chem. Soc.* **2007**, *28*, 889.
50. Timbola, A. K.; de Souza, C. D.; Giacomelli, C.; Spinelli, A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, *17*, 139.
51. dos Anjos, A.; Bortoluzzi, A. J.; Caro, M. S. B.; Peralta, R. A.; Friedermann, G. R.; Mangrich, A. S.; Neves, A.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, *17*, 1540.