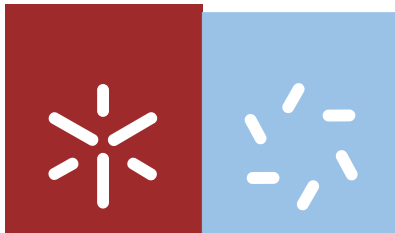


Universidade do Minho
Escola de Ciências

Jorge Manuel Dias Fernandes

Síntese de complexos de cobre(II) com derivados de imidazol como novos agentes anticancerígenos



Universidade do Minho

Escola de Ciências

Jorge Manuel Dias Fernandes

Síntese de complexos de cobre(II) com derivados de imidazol como novos agentes anticancerígenos

Dissertação de Mestrado
Mestrado em Ciências
Área de Especialização em Química

Trabalho realizado sob a orientação da
Prof. Doutora Maria Fernanda Proença
e da
Ana Paula Bettencourt Estevão
e da
Iwona Kuźniarska-Biernacka

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE
QUALQUER PARTE DESTA TESE

Universidade do Minho, ___/___/_____

Assinatura: _____

Agradecimentos

Terminar uma tese de mestrado representa o fim de um trabalho que por si só traz conhecimento, autonomia, confiança e amadurecimento. Isto não seria possível sem trabalho, estudo e empenho.

Pelo que agradecimentos são impostos a quem contribuiu para o esforço e trabalho expressado neste texto. À Doutora M. Fernanda R. P. Proença, orientadora deste trabalho, gostaria de expressar um enorme agradecimento por toda a disponibilidade e o seu apoio ao longo deste demorado processo e acima de tudo por todo o saber que me transmitiu. Foi um prazer trabalhar com tão sábia, profissional, respeitadora e alegre pessoa no seu trabalho. O meu muito sentido obrigado. Tenho ainda que agradecer às duas coorientadoras desta tese, à Doutora Ana Paula Bettencourt Estevão e à Doutora Iwona Kuźniarska-Biernacka.

A todos os colegas de laboratório pela sua ajuda diária, pela partilha do espaço e pelo bom ambiente de trabalho. Gostaria de destacar o Doutor Magdi Mzaki que sempre se demonstrou presente para me ajudar e me ensinar, a Elina Marinho e à Nádía Senhorães pelo apoio que me deram e por me terem mostrado os cantos ao laboratório e em especial à Nádía Senhorães pela presença e ajuda que me deu fora do laboratório. Também por me terem apoiado nos maus e nos bons momentos queria expressar os meus agradecimentos a Nádía Aguium e Vera Duarte. Muito obrigado pela vossa presença.

Pela ajuda e força que me deram fora do local de trabalho quero agradecer ao David Ferreira pela motivação e apoio demonstrado nesta etapa e em todo o percurso universitário. Agradeço a tua presença constante, amigo. A todos os meus amigos que estiveram comigo neste ano, obrigado pelo carinho e apoio, incluindo, Renata Soares, Diogo Costa, Ana Lima e Cláudia Oliveira

À Dra. Elisa e à Dra. Vânia pela solicitude manifestada na realização dos espectros de RMN e análises de espectroscopia de massa. Ao Departamento de Química por me deixar realizar este trabalho nos seus laboratórios.

Um obrigado ainda a minha família pelo apoio e esforço feito para eu poder estudar durante todo este tempo, e em especial aos meus avós paternos pelos vários ensinamentos e trabalho árduo que me transmitiram ao longo de toda a vida e, em especial, ao meu avó que já cá não se encontra.

Um muito e sincero obrigado a todos!

Resumo

Neste trabalho aborda-se a síntese e caracterização de derivados de imidazol biologicamente ativos. Estas moléculas orgânicas foram posteriormente usadas como ligandos polidentados na formação de complexos com o metal de transição cobre(II). Estes compostos coordenados e os seus ligandos foram caracterizados por métodos analíticos e espectroscópicos, nomeadamente por espectroscopia de ressonância magnética nuclear, infravermelho e UV/Vis. Foi também efetuada a caracterização eletroquímica dos ligandos livres e dos seus complexos usando voltametria cíclica numa tentativa de correlacionar posteriormente o potencial redox destes compostos e a sua potencial atividade anticancerígena.

A síntese dos vários compostos derivados de imidazol inclui dois grandes grupos, os bi-imidazois e os pirrolil-imidazois. A sua síntese foi bem-sucedida com rendimentos bastante elevados para a maior parte dos compostos. Todos estes compostos foram caracterizados por ^1H RMN e IV e a sua estrutura foi confirmada por comparação com os dados de moléculas preparadas e completamente caracterizadas em trabalhos anteriores. Recorreu-se a derivados de imidazol pois este grupo tem nos últimos anos, surgido em moléculas com actividade biológica, nomeadamente como potenciais agente antibacterianos, antifúngicos e anticancerígenos.

A coordenação destes ligandos foi realizada com apenas dois metais, cobre e níquel, com o segundo a ser usado de modo a possibilitar a caracterização eficiente dos complexos por ^1H RMN. Os rendimentos para a síntese dos complexos foram apreciáveis e caracterizaram-se por análise elementar, UV-vis e por métodos eletroquímicos.

Traçaram-se voltamogramas cíclicos para os complexos e ligandos de forma a caracterizar o seu comportamento redox, em dois solventes, DMSO e ACN pois a solubilidade de alguns complexos era limitada em DMSO. Este estudo foi realizado com a intenção de comparar os resultados obtidos com os de complexos de cobre já existentes com conhecida atividade anticancerígena e assim avaliar a possibilidade de alguns dos complexos ou mesmo dos ligandos sintetizados nesta dissertação serem possíveis agentes anticancerígenos.

Abstract

This work addresses the synthesis and characterization of biologically active ligands namely imidazole derivatives. These organic molecules were further used as polidentate ligands for the complexation of transition metals such as copper(II). All organic compounds obtained and coordination compounds were characterized by standard methods.

The synthesized organic compounds derived from imidazole can be divided into two structural groups, the bi-imidazoles and pyrroli-imidazoles. Most of the compounds were obtained with high yield. All compounds were characterized by elemental analysis, ^1H NMR and IR and their structure was confirmed by comparison with the data of the same molecules that were prepared in previous work and fully characterized. The use of imidazole derivatives results from their known potential as antifungal, antibacterial and anticancer agents.

Complexation of all the ligands synthesized was performed using copper(II) and nickel(II) as metal ions. Nickel was used for its capacity to provide ^1H NMR spectra. Yields for the synthesis of the complexes were reasonable and the products were characterized by elemental analysis, UV and IR spectroscopy and by electrochemical methods.

A cyclic voltammetry study of the complexes and all the ligands was used to characterize their redox behavior. For this study we used DMSO and ACN due to solubility problems with the metal complexes in DMSO. This technique was applied with the intention to compare the redox potential of the metal complexes with copper with the redox potential of a known complex with anticancer activity. The major aim was to search for a relationship between the values of the redox potential and the possible anticancer activity of the imidazole copper complexes.

ÍNDICE CAPITULAR

AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vii
ABREVIATURAS	xi
CAPÍTULO I	1
INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 PREÂMBULO	3
1.2 ANTICANCERÍGENOS E CANCRO	3
1.2.1 CANCRO: TERMINOLOGIA E DESCRIÇÃO	3
1.2.2 ANTICANCERÍGENOS: MECANISMOS DE AÇÃO E CLASSIFICAÇÃO	7
1.3 COMPLEXOS METÁLICOS E SUAS APLICAÇÕES EM MEDICINA	9
1.3.1 A IMPORTÂNCIA DOS METIAS: TERMOS E CONCEITOS	11
1.3.2 COBRE: O ELEMENTO E A COORDENAÇÃO	19
1.4 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA	21
CAPÍTULO II	25
SÍNTESE DE BI-IMIDAZOIS E PIRROLIL-IMIDAZOIS E FORMAÇÃO DE COMPLEXOS	25
2.1 SÍNTESE DE BI-IMIDAZOIS E PIRROLIL-IMIDAZOIS	29
2.1.1 SÍNTESE DE <i>N</i> -((<i>Z</i>)-2-AMINO-1,2-DICIANOVINIL)FORMIMIDATO DE ETILO	30
2.1.2 SÍNTESE DE 4-(5-AMINO-1-BENZIL-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-2(5 <i>H</i>)-ONA	31
2.1.3 SÍNTESE DE 4-(5-AMINO-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-2-OXO-2,5-DI-HIDRO-1 <i>H</i> -PIRROLE-3-CARBONITRIL	32
2.1.4 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA	34
2.2 SÍNTESE DE COMPLEXOS METÁLICOS	36
2.2.1 METAIS E LIGANDOS: A COMPLEXAÇÃO	36
2.2.2 A COORDENAÇÃO E A ESPECTROSCOPIA IV E RMN	41
2.2.3 ESPECTROSCOPIA UV-VIS E QUANTIFICAÇÃO DO IÃO DE COBRE	45
CAPÍTULO III	49
CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA POTENCIAL ATIVIDADE BIOLÓGICA	49
3.1 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA: VOLTAMETRIA CÍCLICA	51
3.1.1 ESTUDOS VOLTAMÉTRICOS DOS LIGANDOS	51
3.1.2 ESTUDOS VOLTAMÉTRICOS DOS COMPLEXOS	55
3.2 COMPLEXOS METÁLICOS E ATIVIDADE BIOLÓGICA	57
CAPÍTULO IV	59
PARTE EXPERIMENTAL	59
4.1 INSTRUMENTAÇÃO E REAGENTES	61
4.2 SÍNTESE DE LIGANDOS ORGÂNICOS	62
4.2.1 <i>N</i> -((<i>Z</i>)-2-AMINO-1,2-DICIANOVINIL)FORMIMIDATO DE ETILO	62
4.2.2 TENTATIVA DE SÍNTESE DO ÁCIDO 5-AMINO-1-TOLILIMIDAZOL-4-CAROBÍLICO	62
4.2.3 DERIVADOS DE 4-(5-AMINO-1-BENZIL-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-2(5 <i>H</i>)-ONA	62
4.2.4 DERIVADOS DE 4-(5-AMINO-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-2-OXO-2,5-DI-HIDRO-1 <i>H</i> -PIRROLE-3-CARBONITRIL	65
4.2.5 5,8-DIAMINO-3- <i>P</i> -TOLILIMIDAZO[4,5- <i>B</i>]PYRROLO[3,4- <i>D</i>]PIRIDIN-6(3 <i>H</i>)-ONA	66
4.3 COMPLEXAÇÃO DOS IÕES METÁLICOS E LIGANDOS	66
4.3.1 DERIVADOS DE 4-(5-AMINO-1-BENZIL-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-2(5 <i>H</i>)-ONA	66
4.3.2 DERIVADOS DE 4-(5-AMINO-1 <i>H</i> -IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-2-OXO-2,5-DI-HIDRO-1 <i>H</i> -PIRROLE-3-CARBONITRIL	68
4.3.3 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DO COBRE NO COMPLEXO	69
4.4 ELETROQUÍMICA: VOLTAMETRIA CÍCLICAS	69
CAPÍTULO IV	71
CONCLUSÕES	71
ANEXOS	75
REFERÊNCIAS	83

Abreviaturas

<i>Abreviatura</i>	<i>Nome completo</i>
Alifát.	<i>Grupo Alifático</i>
ADN	<i>Ácido desoxirribonucleico</i>
ARN	<i>Ácido ribonucleico</i>
ATICAR	<i>Amino-1-tolilimidazole-4-carboxilato</i>
benz.	<i>Grupo Bezeno (descrição dos espectro de RMN)</i>
c	<i>Concentração em mol·dm⁻³</i>
Comp.	<i>Composto</i>
Cx	<i>Complexo</i>
DBU	<i>1,8-Diazabicyclo-undec-7-eno</i>
dd	<i>Duplo duplete (descrição dos espectro de RMN)</i>
DMF	<i>N,N-Dimetilformamida</i>
dd	<i>Duplo duplete (descrição dos espectro de RMN)</i>
d-d	<i>Transições tipo d-d</i>
DMSO	<i>Sulfóxido de dimetilo (Dimethylsulfóxide)</i>
ECS	<i>Elétrodo de calomelanos saturado (Saturated calomel electrode)</i>
EDTA	<i>Ácido etilenodiamino tetra-acético (Ethylenediamine tetraacetic acid)</i>
EECC	<i>Energia de estabilização do campo cristalino</i>
EP	<i>Energia de emparelhamento</i>
Ep	<i>Potencial de pico</i>
HIm	<i>Representação química do grupo imidazol</i>
I	<i>Intensidade de corrente</i>
Im.	<i>Grupo imidazol</i>
IV	<i>Espectroscopia de Infravermelho</i>
L	<i>Ligando</i>
l	<i>Sinal largo (descrição dos espectros de IV)</i>
LNH	<i>Linfoma não-Hodgkin (“Non-Hodgkin lymphoma”)</i>
M	<i>Em geral metal de transição</i>
m	<i>Multiplete (descrição dos espectro de RMN)</i>
n	<i>Número de oxidação</i>
MPhIM	<i>1-metil-4,5-difenilimidazol</i>
Ph	<i>Grupo fenilo (descrição dos espectro de RMN)</i>
q	<i>Quarteto (descrição dos espectro de RMN)</i>
t	<i>Triplete (descrição dos espectro de RMN)</i>
TBZH	<i>2-(4'-tiazolilo)benzimidazol</i>
TLC	<i>Cromatografia de camada fina (Thin layer chromatography)</i>
TCC	<i>Teoria do Campo Cristalino</i>
TOM	<i>Teoria das Orbitais Moleculares</i>
TosMIC	<i>Isocianato de toluenosulfonilmetilo (Toluenesulfonylmethyl isocyanide)</i>
RMN	<i>Ressonância magnética nuclear</i>
s	<i>Singlete (descrição dos espectro de RMN)</i>
UV-vis	<i>Espectroscopia de Ultravioleta-Visível</i>
Δ	<i>Parâmetro da degeneração das orbitais</i>
Δ_o	<i>Parâmetro da degeneração das orbitais (caso octaédrico)</i>

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO GERAL

1.1 PREÂMBULO

A dissertação aqui escrita apresenta uma detalhada descrição do trabalho realizado e desenvolvido durante o período letivo de mestrado, com intuito de desenvolver a síntese e a caracterização de derivados de imidazol com atividade biológica como anticancerígenos pela presença de complexos deles com metal Cu^{II} complexado usado como representantes dos metais de transição da primeira série.

No capítulo inicial será dada uma pequena introdução e enquadramento teórico abordando os componentes inorgânicos, orgânicos e biológicos envolvidos nesta dissertação. Iniciar-se-á a abordagem dos temas teóricos pela referência ao cancro, descrevendo o que consiste em termos biológicos, as suas terminologias, as suas características e propriedades. Posteriormente serão abordadas as moléculas que possuem ação anticancerígena, identificando-se, dentro deste tema, algumas classes de compostos ativos, os mecanismos de ação que estes apresentam e para finalizar alguns exemplos de compostos pertencentes aos diversos grupos.

O segundo capítulo engloba a síntese orgânica dos vários compostos que durante este trabalho laboratorial foram produzidos com intenção de estudar a sua ação como possíveis anticancerígenos. Esta secção terá início numa pequena contextualização da síntese dos compostos orgânicos contendo o núcleo de imidazol. Onde serão referidas as propriedades químicas deste grupo e uma breve abordagem aos métodos de síntese mais importantes para a realização desta dissertação. Logo de seguida, é mencionada a forma de síntese adotada e realizada para a preparação dos compostos falando do mecanismo e das reações necessárias e a caracterização espectroscópica dos produtos isolados. Neste capítulo inclui-se ainda a complexação dos vários ligandos sintetizados com o ião de Cu(II).

1.2 ANTICANCERÍGENOS E CANCRO

1.2.1 CANCRO: TERMINOLOGIA E DESCRIÇÃO

Anomalias ou a desregulação do controlo do crescimento em uma ou mais células conduzem ao aparecimento de uma massa sólida de células, chamada tumor, ou “cancros líquidos” como a leucemia e cancros da medula óssea¹. As células do cancro podem invadir e destruir os tecidos adjacentes e até mesmo espalhar-se pelo corpo, processo ao qual chamamos de metástase. O termo cancro, na realidade, engloba vários tipos de doenças neoplásicas desde o cancro da pele até à leucemia.

Tumor ou neoplasma é uma massa anormal de células com crescimento anormal que resultam de neoplasia (proliferação anormal). Este estado é caracterizado por uma deficiência ou anomalia nos vários mecanismos de controlo e regulação do crescimento celular, resultado numa proliferação celular anormal das células. Normalmente, no início desta proliferação desregulada, as células cancerígenas assemelham-se às células normais das quais se dividiram e, só mais tarde, é que perdem a sua aparência

¹ Nussbaumer S. et al: *Talanta* 2011 **85**(5):2265-89

e função originais.² A maior parte das células do nosso corpo apresentam um crescimento e proliferação quase nulo mantendo um número estável e fixo de células, como o caso do tecido do fígado. A manutenção é possível sem proliferação pois a perda de células é quase inexistente. É na medula óssea que ocorre uma maior proliferação, com intuito de compensar a perda de células e manter o número de células no tecido constante. Devido à duração das células do sangue, de 120 dias para as hemácias, 3 a 4 dias para os linfócitos e 5 a 9 dias para as plaquetas, a perda de células na medula óssea para a formação destas células é enorme e é, portanto, na medula óssea, que o crescimento celular e proliferação estão mais activos e muito mais acentuados que no resto do corpo.^{3,4} Contudo apenas um ligeiro aumento na proliferação celular é o suficiente para que a população de células cresça e chegue a ultrapassar as células com proliferação controlada formando assim um tumor.²

A terminologia associada aos diferentes tipos de cancro é dependente do tipo de tecido onde estes se localizam. O termo sarcomas engloba cancros que atingem as células da mesoderme, compreendendo tecidos como osso, vasos sanguíneos, cartilagem, tecidos conjuntivos e tecidos moles e gordura. Osteossarcomas é a especificação dada aos cancros localizados em tecidos ósseos, sarcomas é regularmente empregue para tecidos epiteliais como as membranas e glândulas (cancro da mama, ovários e pulmões) e mielomas incluem os cancros da medula óssea. O termo blastoma é referente a cancros no sangue ou em tecidos hematopoiéticos, os quais podem afetar desde células linfóides, mielóides e eritróides incluindo as conhecidas leucemias e linfomas.

Contudo os tumores podem espalhar-se para outras localizações do corpo. A habilidade dos tumores sólidos serem capazes de se propagar para outras regiões do corpo e formar tumores secundários chama-se metástase. Quando o tumor cresce até penetrar dos vasos linfáticos ou vasos sanguíneos distribuídos por todo o corpo torna-se possível que as células cancerígenas se propagarem pelo resto do corpo e estabeleçam novas colónias em outras regiões. Os tumores podem ainda propagar-se pelas cavidades corporais de um órgão para o outro como é o caso do estômago para o ovário.²

O cancro é causado na maioria das ocasiões por mutações genéticas que conduzem a falhas ou a um deficiente controlo do crescimento celular. Essas mutações são causadas tanto por fatores externos ou internos, e podem afetar os chamados oncogenes, normalmente expressos em níveis elevados⁵ nas células cancerígenas conduzindo a um aumento da proliferação celular, e/ou os genes supressores de tumores, estes genes protegem a célula de se transformar em célula cancerígena durante a divisão. É comum estes genes perderem a sua atividade por efeito de mutações levando a formação de tumores pois deixam assim de haver supressão tumoral limitando a proliferação celular.

Uma série de regras foram estabelecidas por Weinberg e outros para explicar o que acontece na transformação de células normais para células tumorais^{6,7} sendo postulado que existem características

² Thurston D.E: **Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs**, CRC Press. Boca Raton, 2007.

³ Pierigè F. et al: *Adv Drug Deliv Rev* 2008, **60**:286-295.

⁴ Maton D et al: **Human Biology and Health**. Englewood Cliffs, New Jersey, USA: Prentice Hall, 1993.

⁵ Becker W.M et al: **The World of the Cell**. Benjamin Cummings Pub. Co 7th ed. San Francisco, CA, 2009.

⁶ Bishop J.M, Weinberg R.A, eds.: **Molecular Oncology**, *SciAm*. New York, 1996.

celulares e bioquímicas iguais entre todos os tipos de cânceres. A primeira característica em comum é o processo de carcinogênese. Este processo ocorre em múltiplos passos com cada um deles a transformar progressivamente as células saudáveis em células cancerígenas por alterações genéticas desde mutações pontuais a translocações cromossômicas. Somente uma alteração genética não é suficiente para que uma célula se transforme, pelo que, por várias alterações que conferem diferentes vantagens na proliferação celular, as células progressivamente transformam-se em células tumorais, destacam-se 6 modificações:

- i. Estímulo de crescimento autossuficiente;
- ii. Insensibilidade a inibidores dos sinais de crescimento;
- iii. Evasão a morte celular (apoptose);
- iv. Potencial replicativo sem limites;
- v. Sustentabilidade de angiogênese;
- vi. Invasão de tecidos e metástase.

É necessário que uma célula adquira todas estas características para se transformar em células cancerígenas, isto pode explicar o porquê da formação de tumores ser relativamente rara durante o tempo de vida de um ser humano. Estas alterações relacionadas com os genes levam a que uma determinada célula seja a progenitora do câncer. Fatores internos relacionados com alterações na sequência do ADN ou na sua estrutura são precursores destas modificações nas células. No que se refere à sequência do ADN, as mutações pontuais, alterando apenas uma base de um códon, afetam as proteínas envolvidas na proliferação levando, desta forma, à formação de tumores. Translocações de porções de ADN de um gene ou cromossoma para o outro alteram também o material genético de uma célula podendo torná-la irregular no seu processo de proliferação celular. De forma semelhante durante a replicação ou reparação do ADN pode ocorrer inserção ou perda de fragmentos de ADN que alteram a expressão proteica da célula desregulando a proliferação da célula.

A maquinaria de regulação da expressão genética, o chamado controlo epigenético, pode também estar na origem de erros na expressão proteica na célula conduzindo à carcinogênese. A molécula de ADN contém duas formas de informação: a genética, que fornece os planos para todas as proteínas para formar o organismo; e a epigenética, que informa de onde, quando e como a informação genética deverá ser usada. A informação epigenética é na maior parte das vezes transmitida por metilação da posição C⁵ da pirimidina da citosina dos pares de nucleótidos CpG do ADN presentes nas regiões promotoras dos genes, locais responsáveis pelo começo da transcrição de proteínas.²

Os padrões de metilação estão afetados nas células cancerígenas com a hipometilação a ser uma característica comum na maior parte dos cânceres, isto é, uma redução da metilação epigenética. Nos cânceres é ainda comum a hipermetilação de regiões específicas, regiões como os promotores de genes supressores de tumores.⁸ A hipometilação, por contraposto, está essencialmente presente em oncogenes

⁷ Hanahan D., and Weinberg R.A: **The Hallmarks of Cancer.** *Cell*, 100:57-70, 2000.

⁸ Yarnold J.R., et al., eds.: **Molecular Biology for Oncologists.** 2nd ed. *Chapman & Hall* London, 1996.

fazendo com que a sua expressão seja aumentada. A acoplação da hipometilação e hipermetilação afecta os genes supressores de tumores e os oncogenes permitindo que a célula adquira a maquinaria suficiente para apresentar uma enorme capacidade de proliferação.⁹ Não só a informação contida no ADN pode criar anomalias na célula que condizem à desregulação da proliferação. Falhas na maquinaria de transcrição ou tradução podem alterar a expressão de genes, por exemplo alterações de genes envolvidos na síntese de fatores de crescimento ou inibidores do crescimento ou na síntese dos seus recetores podem levar à formação de tumores.²

Existem ainda efeitos externos que podem causar alterações celulares e desregular o equilíbrio da proliferação, as mais comuns são infeções virais. Os vírus podem ser tanto retrovírus de ARN ou transportar ADN. Pela presença do ADN polimerase estes vírus produzem cadeias duplas de ADN que são inseridas no ADN do hospedeiro. Esta inserção de material genético “estranho” ao hospedeiro pode levar à formação de tumores pois, o novo material genético inserido no ADN do hospedeiro pode alterar as sequências codificadoras na célula infetada. Por mecanismos como a formação de oncogenes ou causando danos aos genes supressores de tumores, a célula pode assim iniciar um crescimento desregulado.

Não só os vírus mas também as bactérias podem causar a carcinogénese. A mais conhecida como tal é a *Helicobacter pylori*¹⁰ que está presente no estômago e é associada com úlceras pépticas. Esta bactéria está ligada ao cancro do estômago e ao linfoma do tecido linfóide associado à mucosa, uma forma rara do cancro do estômago.

Alguns químicos presentes no ambiente, na dieta ou em exposição por contacto permanente são outra das causas da incidência de cancro. Exemplos como o cancro do pulmão relacionado com o fumo do tabaco, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos formados quando a carne vermelha é assada em demasia e a degradação de alguns conservantes de alimentos pelas bactérias do estômago podem causar o cancro do estômago.² A este tipo de substâncias dá-se o nome de substâncias carcinogéneas, descritas como substâncias capazes de gerar tumores por qualquer via biológica quer em doses elevadas ou reduzidas¹¹. Este facto faz com que metais como ouro, cloro e sódio ou ainda alguns tipos de plásticos sejam considerados como substâncias cancerígenas.

Cirurgia, quimioterapia e radioterapia são as principais formas de tratamento de cancro¹². A Quimioterapia compreende tratamentos com moléculas de baixo peso molecular com a capacidade de seletivamente limitarem a proliferação das células cancerígenas e até mesmo destruí-las. Mesmo contando com a seletividade das drogas usadas na quimioterapia estas acarretam ainda alguns prejuízos. Devido à sua ação citotóxica, que não é exclusiva às células tumorais, pode levar à supressão da medula óssea, lesões no trato intestinal ou adquirir resistência. O uso da quimioterapia começou em 1940 como as mostardas de azoto, alquilantes extremamente potentes e antimetabólitos e devido ao sucesso destas

⁹ Mann M.R. et al.: *Genome Biol.*, 2002, **3**:1003.1–1003.4

¹⁰ Kusters J.G. et al: *Clin. Microbiol Rev.*, 2006, **19** (3): 449–90

¹¹ Williams D.R.: *Chem. Rev.*, 1972, **72**(3): 203–213

¹² Shewach D.S., Kuchta R.D.: *Chem Rev.* 2009, **109**(7): 2859-2861.

drogas vários outros anticancerígenos foram criados¹. O foco deste trabalho é relativo a este tipo de drogas tentando produzir novos anticancerígenos com reduzidos efeitos secundários e elevada actividade.

1.2.2 ANTICANCERÍGENOS: MECANISMOS DE AÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

Os anticancerígenos são classificados de acordo como seu mecanismo de ação:

Antimetabólitos tem a sua ação em processos de biossíntese essenciais para o organismo, análogos de purinas ou pirimidinas. Por exemplo, são capazes de interferir na síntese de ácidos nucleicos por assimilação ao ADN ou interferindo em processos enzimáticos como é o caso do metotrexato (*Figura 1*). Os antimetabólitos são a família de anticancerígenos mais antigos usados no tratamento do cancro. Incluem inibidores do ADN polimerase, dihidrofolato redutase, timidilato redutase, ribonucleótido redutase, adenosina deaminase e antagonistas de purinas.

Os agentes que **interagem com o ADN** são a maior classe de anticancerígenos. Nesta classe existe uma enorme diversidade de mecanismos de ação dos compostos. Nesta classe estão incluídos os conhecidos agentes *alquilantes*, compostos capazes alquilar as bases azotadas do ADN destacando-se a dacarbazina, procarbazina e temozolomida (*Figura 1*). Agentes "*cross-linking*" têm a sua ação por ligação ao ADN formando adutos e criando ligações intra ou intercadeias, entre os sulcos menores e maiores do ADN. Alteram a conformação estrutural da molécula e ativam mecanismos de apoptose levando à morte das células. As mostardas de nitrogénio e os complexos de platina são os principais grupos de compostos com este tipo de mecanismo, onde se destaca a famosa Cisplatina (*Figura 1*).¹³ Existem ainda uma outra classe, os *agentes intercalantes* que em vez de se ligarem nos sulcos da molécula se colocam entre as bases azotadas por entre as cadeias de nucleótidos.

A maior parte dos anticancerígenos têm ação no processo de replicação do ADN, pelo que a inibição de algumas classes de enzimas, como as topoisomerasas, envolvidas no enrolamento ou síntese do ADN também são alvos destas drogas. Desta forma, os *inibidores de topoisomerasas* são definidos com um grupo de anticancerígenos incluídos nos agentes que interagem com o ADN. Irinotecano e etoposido são compostos de salientar neste grupo, eles atuam inibindo enzimas responsáveis pela clivagem, *annealing*, e a topologia do ADN (*Figura 1*).

Agentes **antitubulina** são a terceira classe de anticancerígenos¹ que, interferindo com a dinâmica de montagem e desmontagem dos microtúbulos, bloqueiam a divisão do núcleo, o que causa o processo de apoptose na célula. Compostos como alcalóides da vinca e terpenóides e taxano fazem parte deste grupo.

O cancro pode ainda ser tratado pelo uso de **hormonas**. Caso as células cancerígenas requeiram uma hormona específica no seu crescimento, pode ser administrada uma hormona com um efeito contrário à desejada pela célula. Assim pelo uso de antagonistas pode-se bloquear a ação da hormona na célula cancerígena levando à estagnação da célula ou à sua morte celular. Hormonas como os esteróides

¹³ Trzaska S., *C&EN News*. 2005, **83**(25)

dominam este grupo de anticancerígenos. Estas hormonas são poderosas condutoras da expressão genética e a sua manipulação confere a possibilidade de controlar o crescimento celular. Neste grupo estão incluídos compostos como glucocorticoides, estrogénios, progestinas e androgénios e os seus antagonistas.

Estes são os principais grupos de anticancerígenos mas não podemos omitir compostos com os inibidores das metaloproteases da matriz celular, estas proteínas estão envolvidas nos processos de metástase do cancro pois são responsáveis pela mobilidade e capacidade invasiva das células. Inibidores de cicloxigenase 2, uma enzima que está envolvida na síntese de prostoglandinas e está expressa em grandes níveis em várias formas de cancro.

Os agentes anticancerígenos podem, portanto, ter diversos mecanismos de ação e origens, desde compostos completamente sintéticos a compostos absolutamente naturais mas todos tentam tirar partido das diferenças entre as células cancerígenas e as células normais, desde expressão de genes, hormonas ou enzimas envolvidas do metabolismo único das células cancerígenas ou simplesmente pelo facto de estas células requerem elevados níveis dos componentes do ADN.

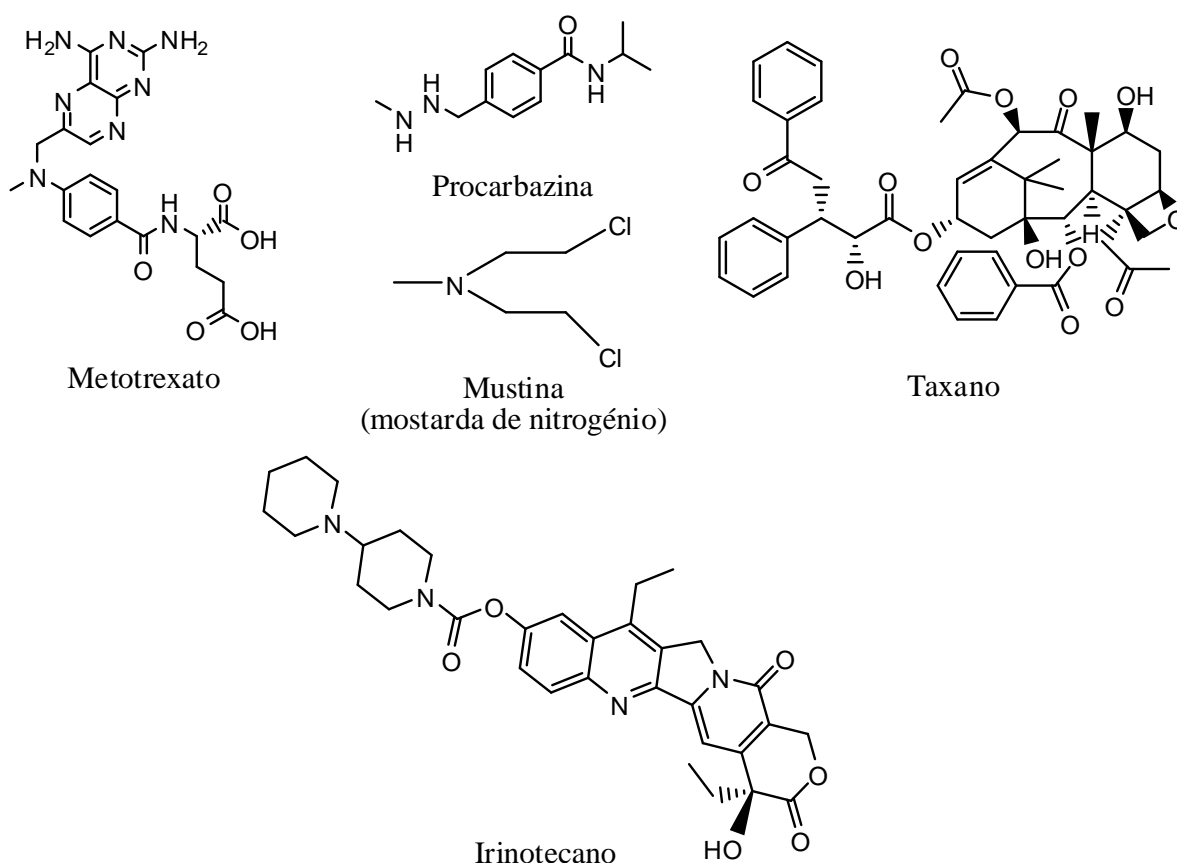


Figura 1. *Várias drogas com actividade anticancerígenas pertencentes às diversas classes.*

1.3 COMPLEXOS METÁLICOS E SUAS APLICAÇÕES EM MEDICINA

Muitos metais, mesmo em quantidade residuais no organismo humano, são parte intrínseca e crucial. Presentes em muitas enzimas agem como centro catalítico de muitas reações químicas, incluindo reações de catabolismo, anabolismo e transporte. Considerando isto é importante ter um conhecimento não só dos metais como componentes na sua individualidade mas também no que diz respeito aos complexos metálicos que regem a ação biológica das enzimas. Este conhecimento sobre os metais e os seus complexos no nosso organismo faz prever que eles possam ser importantes em aplicações terapêuticas.

O uso de metais em particular ou dos seus componentes existe há vários milhares de anos, incluindo o uso de sulfato de cobre no antigo Egito para esterilizar objectos. Em 2500 BC na antiga China e Arabia usava-se preparação de ouro, e mais recentemente, o uso de mercúrio para tratar a sífilis (século XV e XVI). Mas o uso de ouro não fica por aqui, com a descoberta da sua aplicação para tratar a artrite reumatóide, em 1930 este, tal como outros metais, têm provado ser agentes farmacológicos potentes e rentáveis. No século XX, com mais conhecimento sobre o uso de metais em terapêutica, surgem alguns compostos de platina e tecnécio com propriedades inibidoras do crescimento celular.¹⁴ Durante a investigação dos efeitos de campos elétricos no crescimento celular, na Michigan State University em 1964, Barnett Rosenberg verificou que alguns compostos contendo platina eram capazes de inibir o crescimento celular de bactérias¹⁴. Esta descoberta permitiu o desenvolvimento de compostos com actividade anticancerígena como a conhecida cisplatina (cis-diaminodichloroplatina(II)) aprovado para o uso no tratamento do cancro dos ovários e testículos.

A cisplatina é um composto de coordenação planar, que contém um átomo central de platina ligado a dois átomos de cloro e duas moléculas de amónia. Este composto requer que ocorra uma alteração da sua estrutura para que se torne ativo. Pelo processo de hidrólise, no interior das células, os átomos de cloro são substituídos por moléculas de água e permitem que o complexo de platina se ligue aos átomos das bases do ADN, alterando a sua estrutura iniciando o processo de apoptose.¹⁵ A descoberta da atividade antitumoral da cisplatina impulsionou o interesse pelo uso de complexos metálicos na terapia do cancro.

O tecnécio para além das suas propriedades terapêuticas teve também uma grande contribuição para o diagnóstico médico. Este metal apresenta radioatividade e um dos seus isótopos, o ^{99m}Tc, é usado em diagnóstico médico. Através da emissão de raios γ , capazes de atravessar o corpo humano, o isótopo ^{99m}Tc quando no interior do corpo permite que do exterior seja detetada a sua localização no corpo permitindo que se crie uma imagem da sua distribuição. Com a incorporação do tecnécio em vários compostos com especificidades diferentes é possível direccionar o isótopo tornando possível que se

¹⁴ Jones, C. e Thornback, J.: **Medicinal Applications of Coordination Chemistry**. RSC, Mass Tag Technologies Ltd, Oxford, UK 2007

¹⁵ Kelland, L. *Nat. Rev. cancer* 2007, **7** 573-584

identifiquem massa anormais em determinados órgãos. Esta técnica de diagnóstico evita que tenham que ser usados processos invasivos para diagnosticar o cancro.

O potencial terapêutico da radioatividade foi reconhecido por volta de 1911 com preparações de rádio a serem usadas para tratar algumas doenças como tumores. O uso de agentes radioativos em terapia inspirou a ideia da criação de compostos capazes de transportar um metal pesado tóxico que seria hábil de atacar agentes de doenças deixar o tecido saudável intacto. O uso da radioatividade não requer que o agente farmacêutico seja ativado nas células por metabolização ou substituições, contudo requer que sejam identificados e produzidos compostos que possam interagir com os anticorpos específicos das células alvo de modo a transportar o metal até elas.¹⁴

A medicina atual tem acesso a uma variedade de compostos contendo metais incluindo o uso de ouro no tratamento da artrite reumatóide, lítio no tratamento da depressão, platina para tratar certos tipos de cancro, bismuto para úlceras do estômago, vanádio para alguns tipos de diabetes, ferro para a anemia e controlar a pressão arterial, cobalto na vitamina B12 para a anemia perniciosa e certos metais radioativos para atenuar a dor óssea no cancro ósseo. Demonstrando desta forma a importância que o uso de iões metálicos e os seus quelatos apresentam em terapia e as suas aplicações no diagnóstico (tecnécio, gadolínio, gálio, índio e tálio, entre outros). Com a crescente importância dos metais na medicina seria um erro negligenciar as suas possibilidades farmacêuticas, não ignorando compostos que contêm iões de cobre, que têm vindo a ser aplicados no tratamento do cancro entre outras.

Os complexos de cobre(II) contendo o anel de imidazol na sua estrutura mostraram aplicação como agentes antifúngicos. Por exemplo, os complexos com ligandos derivados de benzimidazol exibem uma variedade de ações biológicas incluindo antibacteriana, antiviral, anticancerígena e antifúngica.¹⁶ A forte atividade anticancerígena do complexo de cobre(II) com trans-bis-(acetato)-bis-(imidazol) ($[\text{Cu}(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{HIm})_2]$), demonstra a importância e a potencialidade dos complexos de cobre(II). Este complexo é ativo contra o melanoma do rato de linhagem B16.¹⁷ Por exemplo o potencial quimioterapêutico (IC_{50}) dos complexos com tiabendazol (TBZH) como $[\text{Cu}(\text{TBZH})_2\text{Cl}]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{EtOH}$ e $[\text{Cu}(\text{TBZH})_2(\text{NO}_3)_2]$ foi determinado para o carcinoma das células escamosas da língua na linha celular, CAL-27 e para o melanoma maligno melanócito, da linha celular SK-MEL-3. O TBZH foi capaz de matar ambos os tipos de células cancerígenas mas somente a concentrações altas, com IC_{50} de 9,17 e 136,9 mg/ml respetivamente. O TBZH exibe uma fraca atividade antifúngica para o fungo *Candida albicans* mas quando complexado com cobre(II) trona-se num composto potente. Para além destes complexos existem ainda mais complexos de cobre com atividade anticancerígena. Semelhante ao complexo anterior, o composto $[\text{Cu}(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{MPhIM})_2]$, com ligandos mistos, (onde MPhIM e 1-metil-4,5-difenilimidazol e O_2CMe é acetato), é capaz de atrasar a divisão celular. O efeito do complexo $[\text{Cu}(\text{O}_2\text{CMe})_2(\text{MPhIM})_2]$ foi testado para o plasmídeo “pKS DNA” procurando observar as alterações estruturais do plasmídeo da sua forma original, circular superenrolada fechada (*closed circular*

¹⁶ Habib, N.S., Rida, S.M., Badawey, E.A.M. et al. *Pharmazie* 1997, **52** 346–349.

¹⁷ Tamura, H., Imai, H., Kuwahara, J., e Sugiura, Y., *J. Am. Chem. Soc.* 1987, **109** 6870–6871.

supercoiled) (forma I) para a forma relaxada aberta (forma II) (Figura 2). O efeito anticancerígeno deste complexo foi facilmente observável a concentrações baixas de 0,1 ou 0,2 mM identificando-se um progressivo aumento da quantidade do ADN na forma II.¹⁴ Contudo para concentrações do complexo superiores a 0,5 mM observa-se a cisão de ambas as formas de ADN. No que diz respeito a culturas em linfomas humanos observou-se que concentrações do complexo entre $0,77 \times 10^{-7}$ e $1,54 \times 10^{-6}$ M causam danos no ADN e pode afirmar-se que o complexo apresenta elevada ação citoestática e citotóxica sendo considerado um complexo com boa atividade anticancerígena.¹⁴

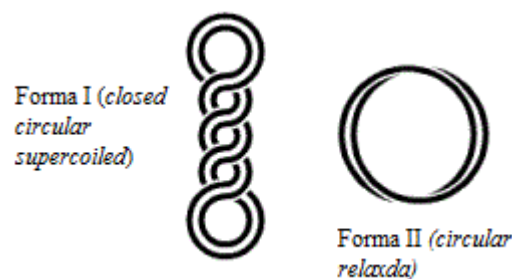


Figura 2. Formas de enrolamento do DNA circular

Desta forma é possível constatar que existem complexos de cobre(II) contendo o grupo imidazol e derivados com diversas actividades biológicas. Esta importância pode dever-se ao facto de que, quando complexados com cobre, os ligandos da família do imidazol são capazes de mimetizar análogos das bases do ADN e assim inibir a biossíntese *de novo* das bases azotadas de uma forma competitiva explicando a sua acção inibidora do crescimento celular.^{18,19}

1.3.1 A IMPORTÂNCIA DOS METAIS: TERMOS E CONCEITOS

METAIS NO CORPO HUMANO

O corpo humano é constituído apenas por 3% de metais mas a sua importância no organismo não se reflete neste valor. Os iões metálicos são necessários para muitas das funções vitais do organismo humano incluindo funções estruturais e/ou metabólicas. A ausência de alguns iões metálicos (zinco, cálcio ou ferro) pode ocasionar sérias doenças como a anemia, por deficiência de ferro, o retardamento do crescimento de crianças, por falta de zinco e a mal formação óssea em crianças, por falta de cálcio. Contudo alguns metais, por sua vez, quando presentes no organismo humano em excesso, podem causar de intoxicações no organismo. São exemplos clássicos: o arsênio, o chumbo, o cádmio e o mercúrio.

As propriedades únicas dos metais têm sido muito exploradas pelos sistemas biológicos fazendo de muitos metais essências para que o organismo humano seja saudável apesar das suas reduzidas quantidades. O corpo humano é essencialmente constituído por água fazendo com que o hidrogénio, oxigénio, carbono e nitrogénio em conjunto perfaçam 97% de todos os átomos presentes no corpo humanos deixando os restantes 3% para os metais. O cálcio e o fósforo dominam o grupo dos metais por

¹⁸ MacKenzie, G., Frame, A.S., Wightman, R.H., *Tetrahedron* 1996, **52** 9219-9236.

¹⁹ Kusak, N.J., Shaw, G., Litchfield, G.J., *J. Chem. Soc.(C)* 1971, 1501-1507

serem constituintes primários do osso constituindo mais de metade dos metais no corpo humano.¹⁴ Os metais presentes no corpo humano podem assim ser divididos em dois tipos, metais comuns e metais residuais. Os metais comuns apresentam elevadas quantidades no corpo humano (cerca de 2% da massa total) o que faz com que desempenhem papéis estruturais, contração muscular (cálcio) e de sinalização nervosa (sódio e potássio) e os metais residuais sendo apenas 1% da massa total do corpo humano estão normalmente presentes em enzimas (magnésio). Destes metais o cálcio e o sódio são essencialmente extracelulares enquanto o potássio e magnésio são principalmente metais celulares.¹⁴

Em meio aquoso os metais formam complexos do tipo $[M(H_2O)_6]^{n+}$ onde n, é estado de oxidação do metal, fazendo com que os complexos apresentem carga positiva em meio aquoso. Isto é um fator que contribui para a sua atividade biológica, distinguindo-os da maior parte das espécies orgânicas, que mesmo muitas vezes sem carga tendem a apresentar um caráter mais negativo atraindo espécies com cargas positivas. Assim as propriedades dos compostos orgânicos e dos iões metálicos em solução possibilitam que se estabeleçam interações entre ambos surgindo vários compostos com metais no corpo humano.

Em termos globais, os metais comuns no corpo humano apresentam propriedades semelhantes mas diferem em tamanho e carga e são estas diferenças que permitem a distinção biológica entre sódio e potássio sendo maior em tamanho e distinguindo-se do cálcio que possui maior carga. Os metais residuais raramente formam ligações duradouras com qualquer entidade biológica. Assim alguns metais movimentam-se normalmente no organismo humano entre “hospedeiros” de uma forma rápida.

Em relação à sua reatividade é um pouco mais limitada para os metais comuns, estes permanecem na mesma carga, positiva, por todo o corpo humano. Já no grupo dos metais residuais, a reatividades destes metais é bem mais variável podendo alterar a sua carga entre vários estados de oxidação em detrimento das condições a que estão expostos. Normalmente incorporados em compostos biológicos, como as proteínas, os metais residuais estabelecem das poucas relações duradouras que se formam entre metais e compostos orgânicos. A sua importância deste grupo de metais não se reflete na sua quantidade mas no papel que desempenham em reacções químicas no organismo. Com o envolvimento destes metais em processos bioquímicos como transporte e acumulação de oxigénio e dissolução de dióxido de carbono no sangue, extração de energia dos alimentos, degradação de proteínas, remoção de produtos tóxicos e espécies prejudiciais qualquer deficiência nos metais residuais pode causar efeitos sérios na saúde. Para além disso este grupo de metais podem ainda ser elementos estruturais no controlo ou no processo de *folding* de proteínas.¹⁴

Mais exemplos das funções dos metais incluem, por exemplo o zinco, presente na enzima anidrase carbónica catalisa a conversão de dióxido de carbono gasoso para ácido carbónico dissolvido¹⁴ enquanto o ferro presente na hemoglobina e mioglobina liga-se reversivelmente com o oxigénio. O ferro está presente também em sistemas que adicionam oxigénio ou transferem energia entre compostos biológicos em cadeias energéticas de transferência. O cobalto na vitamina B₁₂ permite transformações químicas associadas com mudanças estruturais de compostos de carbono e o cobre, presente em

algumas superóxido dismutases convertendo superóxido a oxigênio e peróxido. Desta forma cada metal, com as suas propriedades distintas, acoplado com o sistema biológico permite que sejam exploradas as propriedades de cada íon metálico para que ocorram diversas reações químicas nos sistemas vivos. Os metais, normalmente aceleram os processos químicos no organismo, atuando como catalisadores.

Para controlar a concentração e presença dos metais o organismo requer sistemas eficientes, estes permitem que os metais comuns permaneçam estáticos ou se movimentam livremente sendo transportados seletivamente por proteínas nas membranas celulares mantendo o balanço eletrólito permitindo, por exemplo, que as células nervosas propaguem o sinal nervoso. Em relação aos metais residuais, podem ser transportados ou armazenados em proteínas, por exemplo o ferro é transportado pela transferrina e armazenado por ferritina enquanto o cobre é armazenado e transportado pela ceruloplastimina.¹⁴ Este métodos de transporte permitem controlar a localização e concentração dos metais mantendo o metabolismo em bom funcionamento.

É importante destacar, ainda, vários outros metais, sem os quais a vida humana não existiria. Entre eles estão o crômio, o manganês, o cobalto, o níquel, o cobre e o molibdênio, envolvidos em processos metabólicos que regulam a produção de energia e o bom funcionamento do corpo humano.

MODELOS E TEORIAS SOBRE OS COMPLEXOS METÁLICOS

Uma característica única dos metais de transição é a sua capacidade de formar complexos pela coordenação com outras moléculas (ligandos). A possibilidade de um íon metálico formar um complexo é dependente essencialmente de propriedades do metal como a sua carga, o seu raio iônico e a distribuição dos seus elétrões, e de propriedades do ligando, entre elas, o número e posição de átomos doadores de elétrões na sua estrutura do ligando e efeitos estereoquímicos na sua estrutura química. Contudo a estrutura eletrónica e reatividade do metal são cruciais para compreender a coordenação e possibilitar o desenvolvimento ou estudo dos complexos metálicos.

As teorias sobre os compostos de coordenação tentam explicar a geometria, o magnetismo e a ligação que os metais estabelecem com os compostos a que estão coordenados.¹⁴ A Teoria do Campo Cristalino (TCC) assume que a ligação do íon metálico com os ligandos é iónica, estabelecendo-se que o íon metálico tem carga positiva ou é deficiente em elétrões e os ligandos têm carga negativa ou atuam como doadores de elétrões. Desta forma os átomos complexados com o íon metálico podem surgir emparelhados de várias maneiras fazendo com que a estrutura tridimensional do complexo seja diferentes entre ligandos criando geometrias de coordenação diferentes. A geometria é uma característica que está relacionada com a reatividade do íon metálico e por consequência a reactividade dos complexos.¹⁴ A Teoria das Orbitais Moleculares (TOM) explica o comportamento dos complexos de uma outra forma. Esta teoria relaciona algum carácter covalente na ligação do íon metálico com os ligandos, envolvendo orbitais moleculares, assim a TOM emprega a ideia que em parte existe alguma partilha de elétrões na ligação de coordenação.

As orbitais do metal de transição livre apresentarem todos a mesma energia, quando consideramos que este metal está rodeado por uma nuvem eletrónica correspondente a densidade eletrónica dos seis

ligando estas 5 orbitais d do metal, aumentariam de energia causada. Isto porque a repulsão da nuvem eletrônica correspondente aos ligandos causa repulsão nos elétrons presentes nas orbitais d do metal. No caso da formação do complexo $[M(H_2O)_6]^{n+}$ os ligandos (6 H_2O) estão localizados em seis pontos equivalentes formando um octaedro, o que faz com que nem todas as orbitais d experienciem a repulsão no mesmo grau de intensidade. A geometria de cada uma das orbitais do metal (*Figura 3*) demonstra que as orbitais d_z^2 e $d_{x^2-y^2}$ passam mais tempo próximo das seis regiões onde se localiza a densidade dos elétrons do ligando do que as orbitais d_{xy} , d_{yz} e d_{xz} que, permanecem entre a densidade eletrônica dos ligandos. A diferença entre as energias dos dois grupos de orbitais é chamada degeneração das orbitais e é representada pelo parâmetro Δ que para o caso da geometria octaédrica é representada como Δ_o .

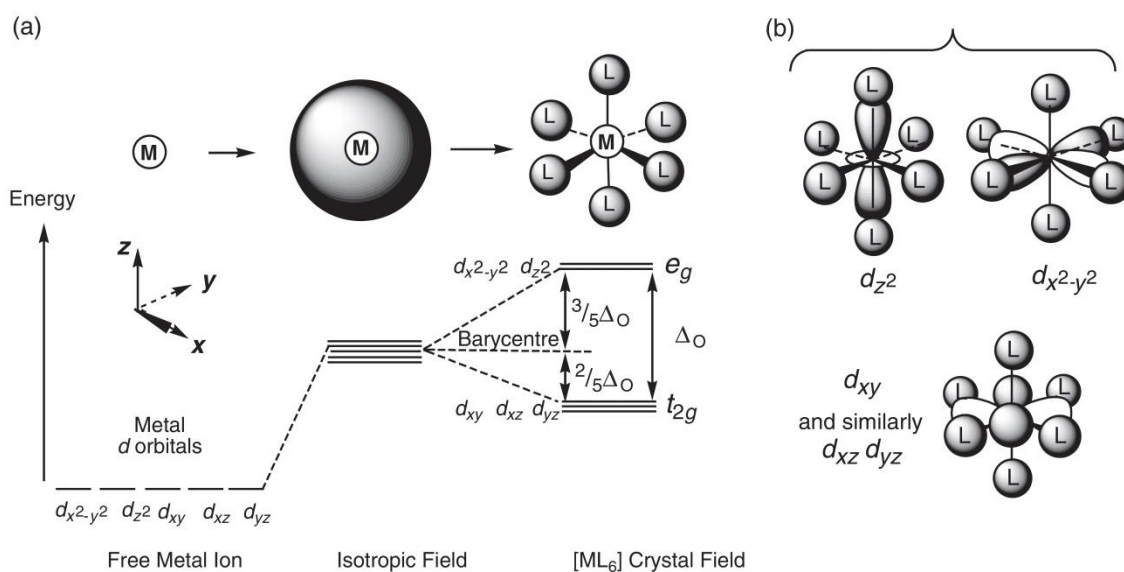


Figura 3. (a) Diagrama dos níveis de energia das orbitais mostrando o efeito nas orbitais d de um metal de transição, de uma camada esférica com carga negativa e a sua conversão para seis cargas pontuais numa estrutura octaédrica. (b) Ilustração dos elétrons nas orbitais d_z^2 e $d_{x^2-y^2}$ e d_{xy} , d_{yz} e d_{xz}

No caso do complexo com número de coordenação 6 as orbitais d_z^2 e $d_{x^2-y^2}$ não podem ser distinguíveis entre elas tal como as orbitais d_{xy} , d_{yz} e d_{xz} . Assim estas orbitais são ditas degeneradas pois apresentam energias iguais, formando dois grupos de orbitais com as mesmas energias (e_g e t_{2g}).

Os ligandos que produzem $\Delta_o > EP$ (energia de emparelhamento) são conhecidos como ligandos de campo forte, e podem formar complexos que são denominados como complexos de spin baixo. Contrariamente para os casos $\Delta_o < EP$ os ligandos chamam-se ligandos de campo fraco e os complexos que se formam são denominados de spin alto (*Figura 4*).

A distribuição eletrônica dependente da configuração das orbitais e_g e t_{2g} pode conduzir à existência de elétrons emparelhados, fazendo com que o complexo seja paramagnético e, diamagnético quando, todos os elétrons estão emparelhados.

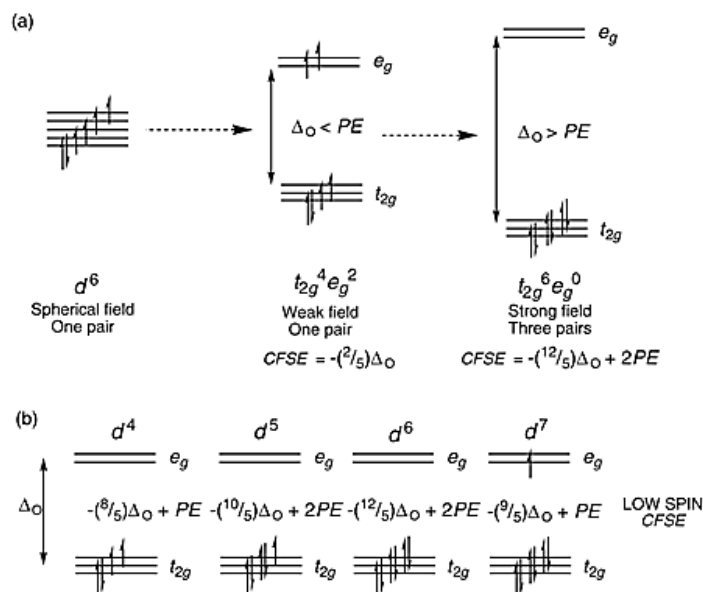


Figura 4. Diagrama dos níveis de energia das orbitas e_g e t_{2g} mostrando (a) efeito relativo das magnitudes das energias de emparelhamento dos elétrons (b) distribuições dos elétrons das várias conformações eletrônicas no íons metálicos para o caso de spin baixo.

Em relação aos dois íons metálicos utilizados neste trabalho, o cobre(II) ($[Ar] 3d^9$) e níquel(II) ($[Ar] 3d^8$) pode-se dizer que, o cobre(II) é sempre diamagnético devido a sua distribuição eletrônica. Já o níquel(II) pode formar complexos com spin alto ou baixo dependendo da força dos ligandos. Os complexos de níquel(II) com número de coordenação 6 (hibridização sp^3d^2) são paramagnéticos (spin alto). Enquanto os complexos com número de coordenação 4 e geometria planar (hibridização dsp^2) são diamagnéticos (spin baixo). Desta forma os complexos diamagnéticos podem ser utilizados em técnicas de 1H RMN sem que haja interferências do campo magnético.

O tamanho do ligando e do íon metálico são importantes fatores para a formação de complexos, fazendo com que ligandos particulares formem complexos mais estáveis ou menos estáveis. Assim podem-se classificar os metais consoante o tipo de ligando com que formam complexos estáveis. Os metais que formam complexos estáveis com os átomos de oxigênio ou nitrogênio são definidos com metais duros, e os que formam complexos estáveis com enxofre ou fósforo chamam-se metais macios. Contudo existem metais que podem apresentar um comportamento misto, entre metais macios e duros interagindo com ambos os grupos de ligandos.

Os metais duros são normalmente pequenos com carga elevada e formam complexos estáveis com ligandos duros, átomos doadores pequenos e com elevada eletronegatividade (O, N, F)¹⁴. Metais macios são muito mais polarizáveis, normalmente nos seus estados oxidativos baixos, formando complexos estáveis com ligandos macios, átomos doadores pouco eletronegativos de grandes dimensões e polarizáveis (S, As, P, Se)¹⁴. Este tipo de classificação permite prever quais os ligandos que são mais favoráveis para a formação de complexos metálicos com determinado metal.

Muito para além da classificação dos metais/ligandos duros ou macios, os ligandos podem interferir de outras formas na estabilidade do complexo. Um efeito associado com a forma de ligação dos

ligandos e o número de possíveis átomos dadores para a formação de coordenação, o efeito quelato. Este efeito faz com que os complexos com compostos quelantes apresentem constantes de estabilidade superiores que os mesmos ligando sem a capacidade quelante. A formação dos complexos no caso de ligandos quelantes é favorecida por fatores entrópicos. O tamanho do anel de quelato é um factor que influencia diretamente a estabilidade do complexo metálico fazendo com que anéis de 5 ou 6 membros formem complexos mais estáveis.

Por exemplo, a adição de uma molécula de um ligando bidentado faz com que uma molécula saia do meio para o complexo e duas moléculas do ligando sejam substituídas e libertadas para o meio, aumentando a entropia da solução, estabilizando o complexo por aumento da entropia na solução. Mais ainda, o efeito estereoquímico entre os ligando, é também um factor a ter em conta na estabilidade de qualquer complexo.

Existe uma séria relativa à estabilidade dos complexos metálicos com os vários iões metálicos. Esta séria, chamada série de Irving-Williams, baseando-se em metais do tipo M(II) de spin alto, considerando o raio iónico dos metais do bloco d e apresenta uma ordem para a estabilidade dos complexos com diversos de iões metálicos. $Mn(II) < Fe(II) < Co(II) < Ni(II) < Cu(II) > Zn(II)$.

Um complexo estável implica uma constante de estabilidade elevada com o ligando e desta forma pressupõem uma quase inexistente troca dos ligandos com o solvente, enquanto instável significa que os ligandos são facilmente substituídos pelo solvente ou mesmo por outros ligandos em solução. Desta forma os complexos em que ocorre uma rápida substituição dos ligandos são denominados lábeis e os de lenta substituição inertes. As reações do centro metálico de complexo são influenciadas por um outro fator, a velocidade de formação ou dissociação do complexo. Quando a dissociação é rápida o equilíbrio entre o ião metálico e o complexo será alcançado rapidamente, mas caso a velocidade de dissociação seja lenta, mesmo que, o complexo apresente uma constante de estabilidade baixa, a velocidade de troca pode ser suficientemente baixa para manter o ião metálico no complexo tornando a substituição dos ligando demasiado lenta para ocorrer dissociação.

Desta forma foram criados termos para descrever a velocidade de reação dos complexos, sendo que, as constantes de equilíbrio são incapazes de fornecer qualquer informação sobre a rapidez de troca dos ligandos. Portanto complexos em que, a troca de ligandos é rápida, são chamados de lábeis, e os casos em que a troca é lenta os complexos são chamados inertes. Para ser mais claro o termo lábil é usado para complexos em que 50% dos ligandos trocam com outro compostos em 60 segundos ou menos, a 298K¹⁴ e, em contrapartida, os complexos inertes sofrem trocas mais lentamente.

No caso de complexos com o número de coordenação 6 pode ser previsto, com um certo grau de probabilidade, quais são os complexos lábeis ou inertes. Isto foi descoberto por Taube, identificando que a estrutura eletrónica do complexo desempenha um papel importante na velocidade destas reações. Os complexos lábeis são aqueles que contêm menos de três eletrões d (d^0, d^1, d^2). Complexos inertes são complexos d^3 de baixo spin e sistemas d^4, d^5, d^6 . Utilizando esta classificação pode prever, se um

complexo octaédrico é inerte ou lábil conhecendo as suas propriedades magnéticas (ou seja, se for spin alto ou baixo) e o número de eletrões presentes no ião metálico.

Solventes como H₂O, DMSO, DMF, piridina ou outros (com alto número doador de Gutmann) podem causar substituições de ligandos no complexo. Para compreender a velocidade de troca de ligandos é preciso considerar as mudanças de energia que ocorrem durante a reação, desta forma, considera-se a reação de um complexo metálico ML_nX (M é um ião metálico e L um ligando que não é

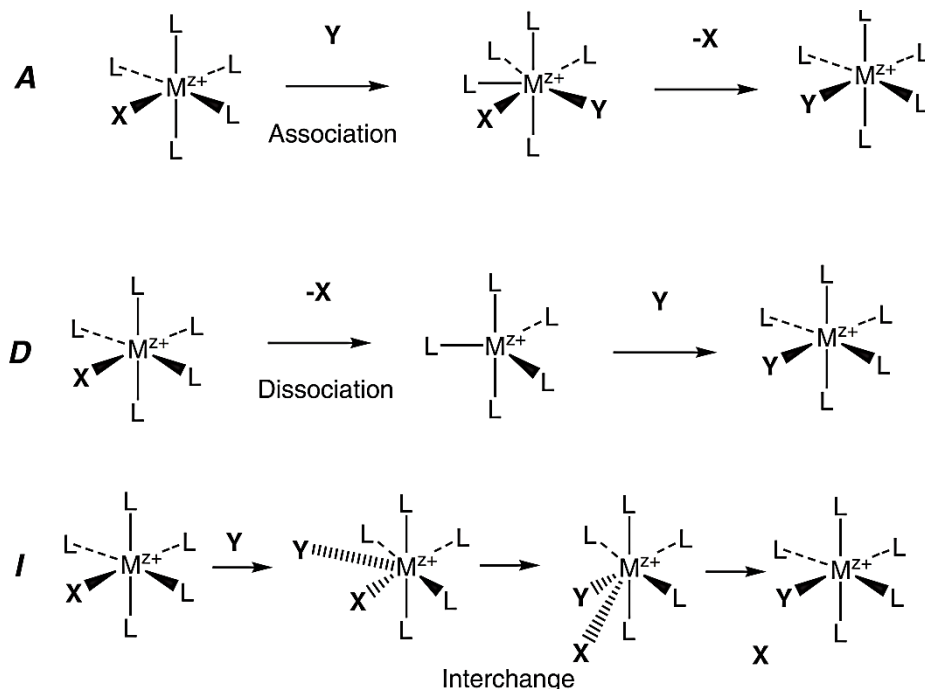


Figura 5. Representações esquemáticas dos mecanismos: associativo (A), dissociativo (D) e intertroca (I) para a substituição de ligandos num complexo octaédrico.

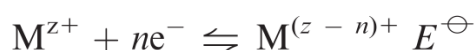
substituído) com um ligando Y para formar um complexo mais estável, ML_nY. Este sistema de reação tem que passar por um estado intermediário entre o produto e o reagente ao qual é necessária a adição de uma energia de activação. Isto significa que a velocidade da reação é determinada por esta energia de ativação que é na realidade uma barreira energética, a ausência desta energia impossibilita a formação do estado intermédio e por consequência a formação do complexo (Figura 5).

Podem ser sugeridos dois mecanismos de troca das moléculas de água em complexos com número de coordenação 6 e assim ser possível realizar previsões sobre o efeito da configuração eletrónica na velocidade da reação. Se a reação do complexo $[M(H_2O)_6]^{n+}$ envolver a adição de uma sétima molécula de água forma-se um intermediário com número de coordenação 7 (associativo), $[M(H_2O)_7]^{n+}$, antes de se expelir uma molécula de água. Em contrapartida, o complexo pode expelir um molécula de água (dissociativo) sem qualquer adição, fazendo com que o intermediário seja um complexo com número de coordenação 5 $[M(H_2O)_5]^{n+}$. Existe ainda um caso de troca de ligando em que o ligando X e o ligando Y trocam de posição progressivamente sem que se estabeleça um intermédio com número de coordenação evidente, chamado o mecanismo de intertroca.

Esta mudança de geometria no centro metálico durante a formação do intermediário provoca uma mudança na EECC afetando desta forma a energia de ativação e a velocidade de formação. Apesar de, não se conhecerem as estruturas com certeza dos intermediários formados em cada caso, as estimativas da EECC para as duas geometrias possíveis do intermediário estão de acordo com os dados da estabilidade dos complexos observados. Isto significa que, os complexos que sofrem uma redução de EECC na formação do intermediário apresentam velocidades baixas e os complexos em que a EECC aumenta apresentam velocidades elevadas para a formação do intermediário.

Vejam as substituições nos complexos metálicos agora de uma forma geral. Envolvendo desta forma a substituição do ligando X (caso octaédrico) por um outro ligando Y no complexo $[ML_5X]^{n+}$ com L a representar os restantes ligandos coordenados com o íon metálico. Dos dois mecanismos referidos anteriormente podem ocorrer. Começando pelo caso em que o intermediário apresenta número de coordenação 7, $[ML_5YX]^{n+}$ chamado de mecanismo associativo (*Figura 5A*). O segundo mecanismo denominado de dissociativo envolve a formação do intermediário com número de coordenação 5 $[ML_5]^{n+}$ (*Figura 5B*). No entanto existe ainda um outro possível mecanismo, intertroca (*Figura 5I*), neste caso forma-se um complexo em que o ligando Y está numa ligação muito fraca com o metal $\{Y:[ML_5X]^{n+}\}$ e troca de lugar com o ligando X $\{X:[ML_5Y]^{n+}\}$ num passo único que determina a velocidade da reação. Este mecanismo pode ser subdividido, dependendo se o passo limitante da reação é a formação da nova ligação ou a ruptura da antiga.

Para além de trocas de ligando os íons metálicos em complexos podem sofrer alterações electrónicas por processo redox. Os complexos metálicos compreendidos nos sistemas biológicos variam a seu número de oxidação ao longo do tempo e isto envolve a transferência de electrões. Considerando a redução do íon metálico:



O valor de E^{\ominus} , potencial padrão de eléctrodo do par $M^{z+}/M^{(z-n)+}$ é um valor numérico para o potencial electroquímico no estado padrão. Quando um íon metálico está complexado com ligandos as constantes de estabilidade do estado oxidado e reduzido não são normalmente as mesmas. Desta forma o E^{\ominus} para a redução do complexo não será o mesmo que para o íon solvatado. No entanto, o potencial a que o complexo é reduzido (E_{ML}^{\ominus}) está relacionada com o E^{\ominus} do metal e as constantes de estabilidade de oxidação (β_{ox}) e redução (β_{rd}) do complexo.¹⁴



$$E_{ML}^{\ominus} = E^{\ominus} - (RT/nF) \ln(\beta_{ox}/\beta_{rd})$$

R é a constante universal dos gases perfeitos, T é a temperatura em K, F a constante de Faraday e n o número de electrões transferidos. Desta forma como a natureza dos átomos dadores como O, N ou S afetam as constantes de estabilidade também vai afetar o potencial redox. Assim, a presença de substituintes retiradores de electrões no ligando é esperada que torne o processo de redução mais difícil e

o de oxidação mais fácil. Mais ainda o grau de insaturação e conjugação do ligando também afeta o potencial redox do complexo, verificando-se que quanto maior for o grau de insaturação e conjugação no ligando, mais fácil é a adição de elétrons e sendo desta forma mais fácil reduzir o complexo.

1.3.2 COBRE: O ELEMENTO E A COORDENAÇÃO

Em relação as suas propriedades químicas este metal apresenta algumas diferenças para os outros membros da primeira série de transição. A sua camada de valência apresenta configuração eletrônica de Cu [Ar] 4s¹ 3d¹⁰ contendo a camada d completamente preenchida e forma compostos com estado de oxidação +1 perdendo o elétron da camada 4s. Tal como o seu precedente metálico na tabela periódica, o cobre apresenta o estado de oxidação +2 (os restantes estado de oxidação são desprezáveis).¹⁴ Isto acontece pois o metal pode adotar a configuração [Ar] 4s² 3d⁹ facilitando a remoção dos dois elétrons da camada 4s e surgindo assim o ião com carga e estado de oxidação +2.

Os compostos de cobre são usados como fungicidas e catalisadores em reações de oxidação, mais especificamente, em reações de aziridinação de olefinas. Este metal é encontrado em plantas e animais (cobras e caranguejos) na proteína hemocianina envolvido no transporte de oxigênio entre outras.¹⁴

DERIVADOS DE IMIDAZOL COMPLEXADOS COM COBRE:

A estrutura cristalina do complexo [Cu(O₂CMe)₂(MPhIM)₂] indica que as duas moléculas do 1-metil-4,5-difenilimidazol, (contendo imidazol), são ligados com a cobre(II) por ação dos átomos de nitrogénio da piridina e os dois grupos acetato estão coordenados com ião metálico, formando um plano quadrado. O ião de cobre(II) está portanto coordenado com seis átomos na totalidade (2N e 4O) formando um complexo com uma geometria octaédrica ligeiramente distorcida. As semelhanças deste complexo com o caso [Cu(O₂CMe)₂(HIm)₂] são essencialmente na estrutura geometria com os dois complexos a terem número de coordenação 6. Outros complexos de complexos de cobre(II) contendo imidazol são os exemplos [Cu(TBZH)₂(H₂O)₂], [Cu(TBZH)₂Cl]Cl.H₂O.EtOH, [Cu(TBZH)₂(NO₃)₂] e [Cu(TBZH)(O₂C-CH₂CH₂-CO₂)], todos coordenados com o ligando 2-(4'-tiazolilo)benzimidazol (tiabendazol (TBZH)). O composto [Cu(TBZH)₂Cl]Cl.H₂O.EtOH tem na sua estrutura o centro metálico coordenado com cinco átomos dadores derivados do três ligandos (duas moléculas de TBZH e um ião de cloro) formando uma geometria bipiramidal.²⁰ Todos estes compostos apresentam semelhanças de coordenação podendo resumir-se que a coordenação do ião de cobre(II) com o grupo imidazol toma lugar essencialmente no átomo de N³ e no caso de dimeros, (dois iões de Cu(II) ou outro metal) existe coordenação dos dois átomos de nitrogénio do anel de imidazol com os iões metálicos.²¹ À parte do anel de imidazol, os derivados de imidazol surgem muitas vezes coordenados em átomos de nitrogénio de grupos como NH₂ localizados noutras regiões da molécula e por vezes requererem que ocorre a

²⁰ Devereux, M., McCann, M., Shea, D.O. et al., *J. Inorg. Biochem.* 2004, 98 1023–1031.

²¹ Baran, E. J., *Biochemistry (Moscow)* 2000, 65 789-797.

desprotonação destes grupos. O átomo de N com ligações duplas ou apenas com um próton, NH são também locais de coordenação do íon cobre(II).^{22, 23, 24}

Além disso cobre(II) pode também coordenar com átomos de oxigênio, de grupos hidroxilo ou carbonilo (*Figura 6*).^{22, 23, 24}

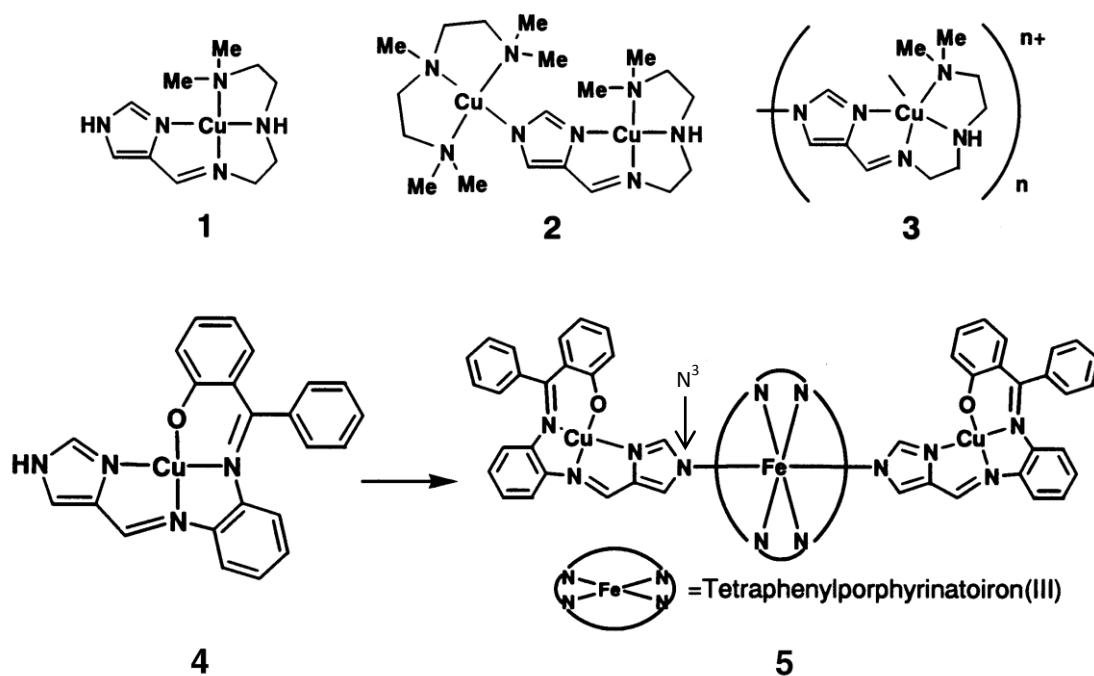


Figura 6. Vários tipos de coordenação do grupo imidazol em diferentes compostos contendo o grupo imidazol.

²² Sunatsuki, Y., Motoda, Y., Matsumoto, N., *Coord. Chem. Rev.* 2002, **226** 199–209

²³ Scarpellini, M. et al, *Inorg. Chem.* 2003, **42**(25) 8353–8365

²⁴ Rodríguez-Argüelles, M. et al, *J. Inorg. Biochem* 2005, **99** 2231–2239

1.4 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

Anticancerígenos envolvendo íons metálicos normalmente são administrados como pró-drogas (forma inativa que é metabolizada tornando-se ativa) que são ativadas antes de alcançarem o seu alvo por substituições ou transformações induzidas por transferência de eletrões, reduções ou oxidações. A técnica de voltametria cíclica permite caracterizar o comportamento redox de uma substância de uma maneira relativamente rápida e quantificável.²⁵

As técnicas eletroquímicas, como a voltametria cíclica têm várias aplicações incluindo controlo ambiental, controlo de qualidade ou análises biomédicas. Mais especificamente, a voltametria cíclica é uma técnica muito importante para adquirir informação sobre o comportamento redox de um determinado composto. A razão por que esta técnica é tão usada é pela sua capacidade de rapidamente

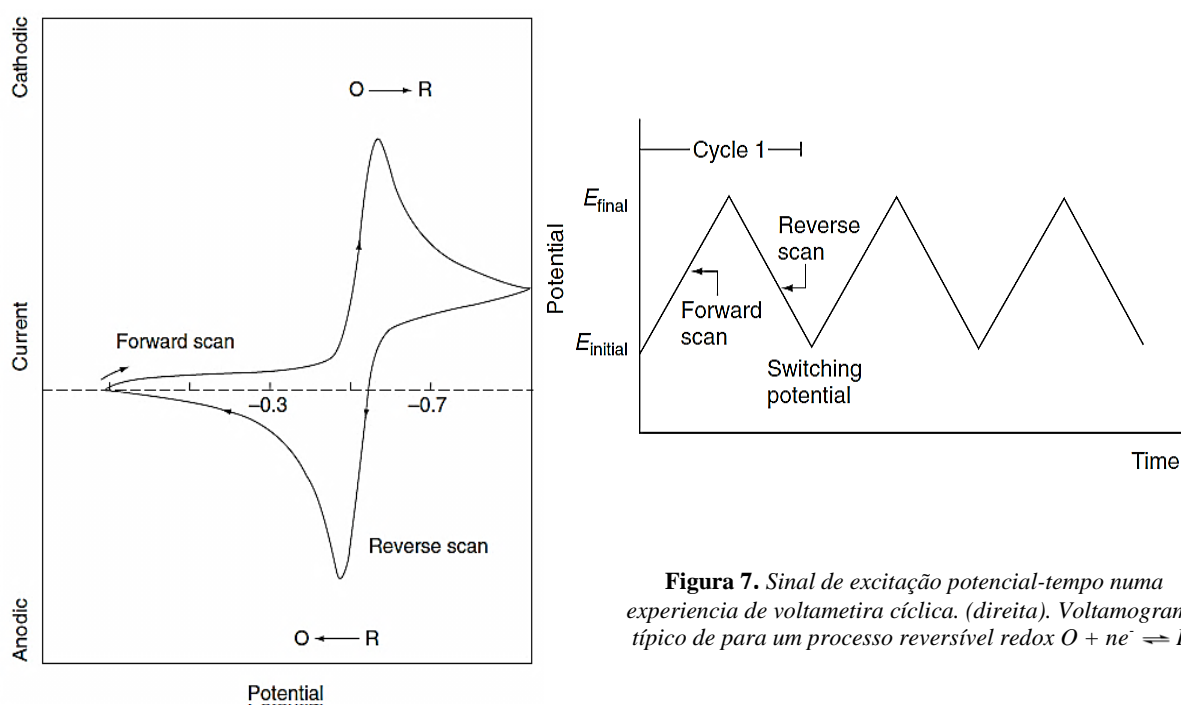


Figura 7. Sinal de excitação potencial-tempo numa experiência de voltametria cíclica. (direita). Voltamograma típico de para um processo reversível redox $O + ne^- \rightleftharpoons R$.

prover o utilizador com informação sobre a termodinâmica de processo de oxidação-redução, a cinética das reações de transferência eletrónica, e ainda, informação sobre processos de adsorção e reações químicas acopladas.²⁶ Permite, de um modo simples a determinação dos potenciais redox das espécies em análise. Esta técnica consiste em variar linearmente o potencial de um eléctrodo estacionário, aplicando um perfil de potencial triangular (Figura 7), podendo usar-se ciclos de potencial simples ou múltiplos. Durante a variação de potencial, o potencióstato mede a corrente resultante e o resultante gráfico corrente-potencial é denominado de voltamograma cíclico.

Na Figura 7 é apresentado um exemplo de um voltamograma cíclico típico, obtido para a resposta de um par redox durante um ciclo de potencial simples. No varrimento direto, quando o potencial aplicado

²⁵ Reisner, E., Arion, V.B, Keppler, B.K., Pombeiro, A.J.L. *Inorg. Chim. Acta* 2008, 361 1569–1583

²⁶ Joseph Wang. **Analytical Electrochemistry**, Third Edition. John Wiley & Sons, Inc. All, New Jersey 2006

é inferior (em valor absoluto) ao potencial padrão de eléctrodo (E°) não ocorrendo redução de O. Quando o potencial aplicado alcança o potencial padrão de eléctrodo (E°) para o processo redox, a corrente catódica aumenta observando-se um pico. Quando o potencial é invertido (varrimento inverso) ocorre a reoxidação das moléculas R formadas no varrimento direto (à superfície da solução em contacto com o eléctrodo de trabalho) observando como consequência deste processo de oxidação um pico anódico.

A interpretação de quaisquer dados de voltametria cíclica está dependente de alguns parâmetros relacionados com o gráfico, como o comportamento dos picos, a sua forma e a sua posição (potencial). Por exemplo, a altura dos picos, é um parâmetro importante para a análise dos voltamogramas, e desta forma surge o parâmetro corrente de pico, isto é, a altura dos picos. O potencial ou a posição dos picos é talvez dos parâmetros mais importantes, pois pelo valor do potencial é possível identificar compostos com capacidade de redução ou oxidação.

Nos voltamogramas cíclicos reversíveis existem sempre dois picos, um pico catódico e um pico anódico, com o primeiro pico a ser correspondente à parte de redução do voltamograma e o segundo correspondente à parte de oxidação. A posição dos picos no eixo dos potenciais (E_p) permite atribuir reduções e oxidações a grupos ou compostos específicos e, desta forma, tem uma grande importância na caracterização de novos compostos. Considerando o processo envolvido numa medição por voltametria cíclica, a posição de cada pico está relacionada com o potencial formal de eléctrodo (E°), isto é, o correspondente potencial padrão de eléctrodo quando as condições não são as condições padrão. O potencial formal de eléctrodo de uma espécie pode ser calculado a partir dos potenciais de pico catódico e anódico, $E_{p,a}$ e $E_{p,c}$ determinados num voltamograma reversível:

$$E^\circ = \frac{E_{p,a} + E_{p,c}}{2}$$

E a separação entre os dois picos é obtida pela fórmula:

$$\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c} = \frac{0.059}{n} \text{ V}$$

Na realização das experiências de voltametria é preciso ter algumas considerações em relação ao material utilizado e as condições das soluções. Primeiramente, para realizar uma voltametria cíclica é necessário uma célula com um sistema de três eléctrodos e um sistema voltamétrico que consiste num potencióstato e um software capaz de representar os dados de corrente obtidos em função do potencial aplicado, em forma de gráfico. Algo a ter em consideração é que a realização destes ensaios deve ser feita num ambiente livre de interferências eléctricas, vibrações ou alterações bruscas de temperatura, a presença de uma gaiola de Faraday pode ajudar a remover grande parte das interferências eléctricas.

A célula eletroquímica contém três eléctrodos (*Figura 8*). Esta célula é, normalmente, um recipiente em vidro com volume de 5-50 mL contendo os três eléctrodos, o eléctrodo de trabalho, o de referência e o auxiliar que estão imersos na solução²⁶. O eléctrodo de trabalho é o eléctrodo onde a reacção de interesse ocorre, o eléctrodo de referência cria um potencial estável e reproduzível independentemente do tipo de

solução, contra o qual o potencial do eletrodo de trabalho é comparado. Desta forma o eletrodo de referência mantém um potencial fixo que é alcançado pela composição constante de ambas as formas de um par redox no eletrodo, como por exemplo os pares Ag/AgCl ou $\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$. Para evitar contaminação o eletrodo de referência pode estar isolado da amostra. Platina ou grafite são normalmente usados como material para o eletrodo auxiliar.

Para terminar, os eletrodos de trabalho, podem ser de vários materiais e este pode influenciar em grande escala as medições electroquímicas. Os eletrodos de trabalho devem ter uma reprodutibilidade na sua resposta e devem ter características que salientam o sinal e minimizam o ruído. A seleção do tipo de eletrodo é dependente, principalmente em dois factores, o comportamento redox do composto em análise, e a corrente de fundo no intervalo em que serão realizadas as medições. Outras considerações incluem a sua condutividade eléctrica, propriedades mecânicas, preço e disponibilidade. Estes eletrodos podem ser de vários materiais desde mercúrio, carbono, ou metais como platina ou outro.²⁶

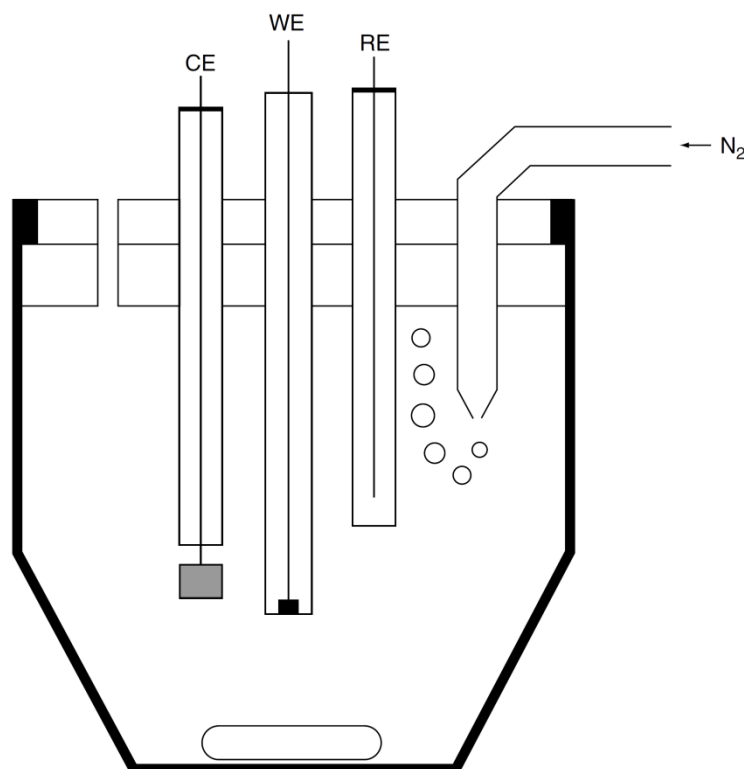


Figura 8. Diagrama esquemático de uma célula voltamétrica. WE – Eletrodo de trabalho; RE – Eletrodo de referência; CE – Eletrodo auxiliar.

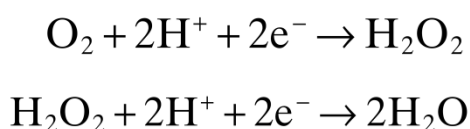
As medições eletroquímicas são normalmente efetuadas num meio contendo um eletrólito suporte e um solvente. A escolha de solvente está absolutamente relacionada com a solubilidade do composto analisado e a sua atividade redox. Mas a escolha do solvente deve ter em conta também a sua condutividade eléctrica, a sua atividade electroquímica e a sua reatividade química. Desta forma o solvente não deve reagir com o composto em análise ou os seus produtos e não deve ter qualquer atividade electroquímica num grande intervalo de potencial. São exemplos de solventes comuns utilizados em electroquímica: água, acetonitrilo, propileno, dimetilformamida, dimetilsulfóxido e

metanol mas podem até utilizar-se mistura de solventes. A utilização de solventes orgânicos requer normalmente que estes sejam secos e purificados.

São necessários eletrólitos suporte para controlar o potencial da experiência reduzindo a resistência da solução, eliminando migração elétrica da espécie eletroativa e para manter a força iônica constante. Os eletrólitos suporte, que são inertes, podem ser um sal inorgânico, um ácido mineral ou uma solução tampão. Compostos como o cloreto ou nitrato de potássio, o cloreto de amônio ou o ácido clorídrico são muitas vezes usados quando o solvente é a água e para solventes orgânicos recorre-se a sais de amônio quaternário. As soluções tampão mais comuns são o fosfato, acetato ou citrato e são utilizados quando o pH deve ser controlado para as medições.

A composição do eletrólito pode afetar a seletividade das medições voltamétricas, por exemplo, a tendência para grande parte dos eletrólitos complexarem íons metálicos pode beneficiar a análise de misturas de metais podendo mesmo adicionar-se agentes quelantes como EDTA. Devem ser reagentes puros e não devem ser facilmente oxidados ou reduzidos com as concentrações normalmente entre 0,1-1,0 M.²⁶

A presença de oxigênio pode dificultar e interferir com a análise eletroquímica de compostos, sendo, nessas situações, crucial remover o oxigênio da solução. Esta redução do oxigênio ocorre por dois passos separados. O primeiro passo corresponde à formação de peróxido de hidrogênio e o segundo corresponde à redução do peróxido (causando interferências nos voltamogramas):



O método mais comum para remover o oxigênio das soluções consiste em fazer passar um gás inerte, normalmente nitrogênio, durante 4 a 8 minutos antes de se registrar quaisquer dados, podendo ser preciso, mais tempo para volumes grandes da solução. Outros métodos como o uso de sulfureto de sódio ou ácido ascórbico podem ser usados.²⁶

CAPÍTULO II

SÍNTESE DE BI-IMIDAZOIS E PIRROLIL-IMIDAZOIS E FORMAÇÃO DE COMPLEXOS

O anel aromático de imidazol (*Figura 9*) está presente em várias moléculas de relevância biológica como é o caso do aminoácido histidina e da hormona histamina. Está igualmente presente na estrutura de drogas antifúngicas e antibióticos^{27,28}. Os derivados de imidazol apresentam, portanto, uma grande variedade de actividades farmacológicas, como antitumorais, com o anel presente nas drogas dacarbazina (inibidor de purinas), temozolomida (agente alquilante) e azatioprina (por-droga da mercaptopurina, um inibidor da síntese de ADN) (*Figura 22 - anexos*).^{1, 2} Actividades como antiviral anti-inflamatório e antidepressivo estão também associadas à presença do grupo imidazol em fármacos²⁹.

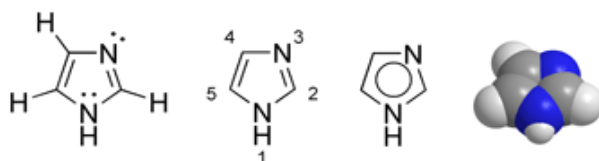


Figura 9. *Várias representações da estrutura química do imidazol*

O imidazol não substituído é solúvel em água e em solventes orgânicos, sendo este um composto com alta polaridade. A sua dualidade de acção como base ou ácido resulta da sua estrutura poder existir sob a forma de dois tautómeros, com um próton na posição 1 ou 3 do anel aromático (*Figura 9*).

A acção anticancerígena e acção como agente antiproliferativo, do anel de imidazol faz deste grupo uma boa escolha para preparar novos fármacos com potencial actividade anticancerígena. Neste trabalho recorreu-se à síntese de moléculas com anéis de imidazol (*Figura 10*) já que este grupo de compostos era bastante familiar para o grupo de investigadores que me orientou³⁰.

Os bi-imidazois e pirrolil-imidazois substituídos sintetizados neste trabalho foram usados como ligandos na complexação de cobre(II). Para a síntese do imidazol é invariavelmente necessário considerar uma série de métodos de síntese divergente dependendo dos substituintes que se pretendem incluir no anel. Para a síntese do imidazol não substituído o método de Debus é uma possibilidade. Este foi um dos primeiros métodos a ser usado³¹ onde ocorre a reacção de um dialdeído com formaldeído em água e amoníaco.

Tanto este como outros métodos podem ser usados para a síntese de imidazois substituídos. A reacção de Wallach³² por exemplo usada na síntese de cloro- imidazois e a síntese de imidazois baseada na reatividade do TosMIC³³ são também amplamente usadas. Para além deste tipo de reacções o imidazol pode ser sintetizado a partir de amidinas ou β -cetaminas^{34,35}. (*Figura 11*)

²⁷ Katritzky, A.R. e Rees, C.W., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. 1984, **5**, 469-498

²⁸ Grimmett M. R.: **Imidazole and Benzimidazole Synthesis**. Academic Press, 1997.

²⁹ Tiwari R.K., et al: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, **16**: 413-416.

³⁰ Zaki M.E.A. e Proença M.F. *Tetrahedron*. 2007, **63**: 3745-3753.

³¹ Debus H.: *Liebigs Ann. Chem.* 1858, **107**: 199

³² Wallach O.: *Ber. Dtsch. Chim. Ges.* 1881, **14**: 420

³³ Horne D.A., Yakushijin K., Buchi G.: *Heterocycles*, 1994, **39**, 139-153

³⁴ Shilcart S.C., Mokahallalati M.K., Fortunak J.M.D., Priggen L.N.: *J. Org. Chem.* 1997, **62**: 8449

³⁵ Claiborne C.F., Liverton, N.J., Nguyen, K.: *Tetrahedron Lett.* 1998, **39**, 8939

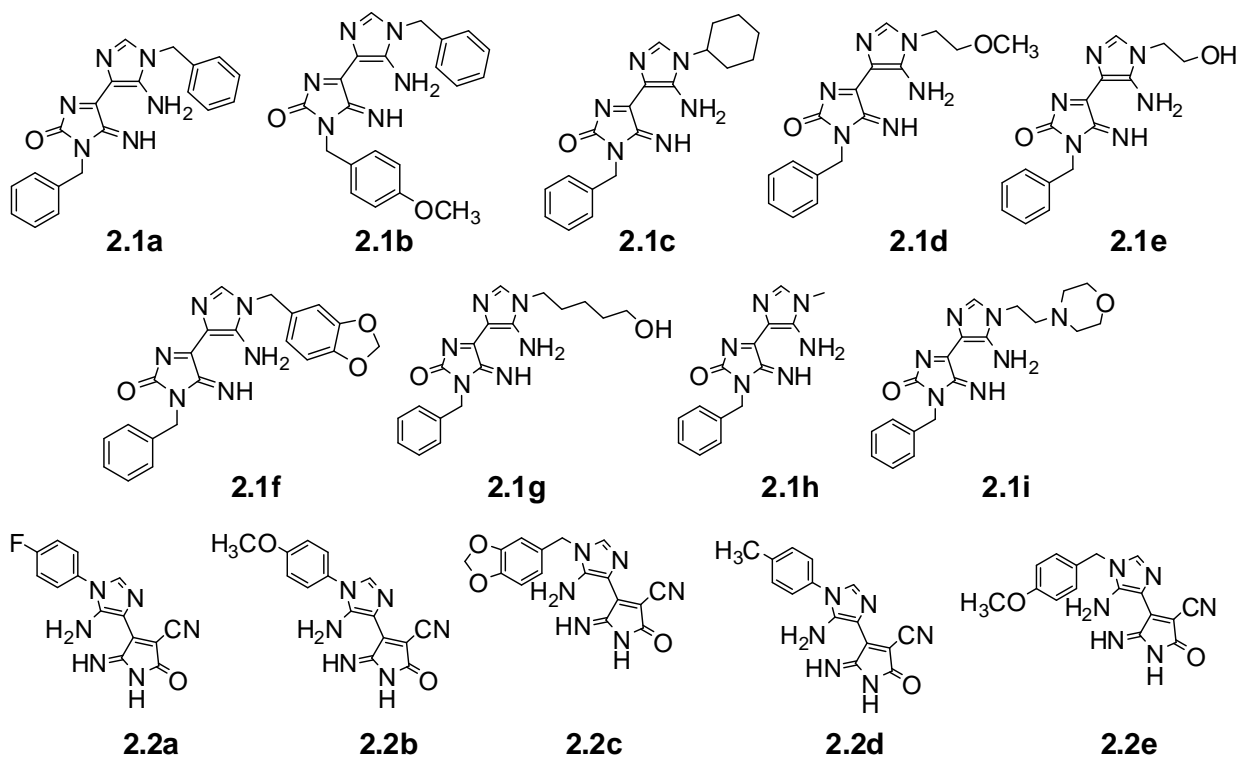
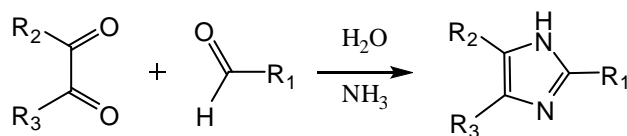
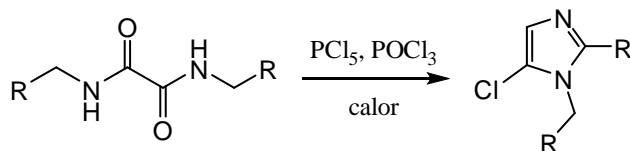


Figura 10. Todos os derivados de bi-imidazóis **2.1** e pirroli-imidazóis **2.2** sintetizados neste trabalho.

Método Debus-Radziszewski



Reacção de Wallach



Síntese baseada na reactividade do TosMIC

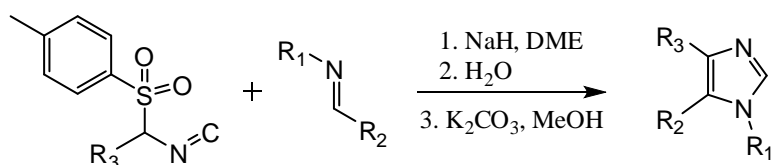
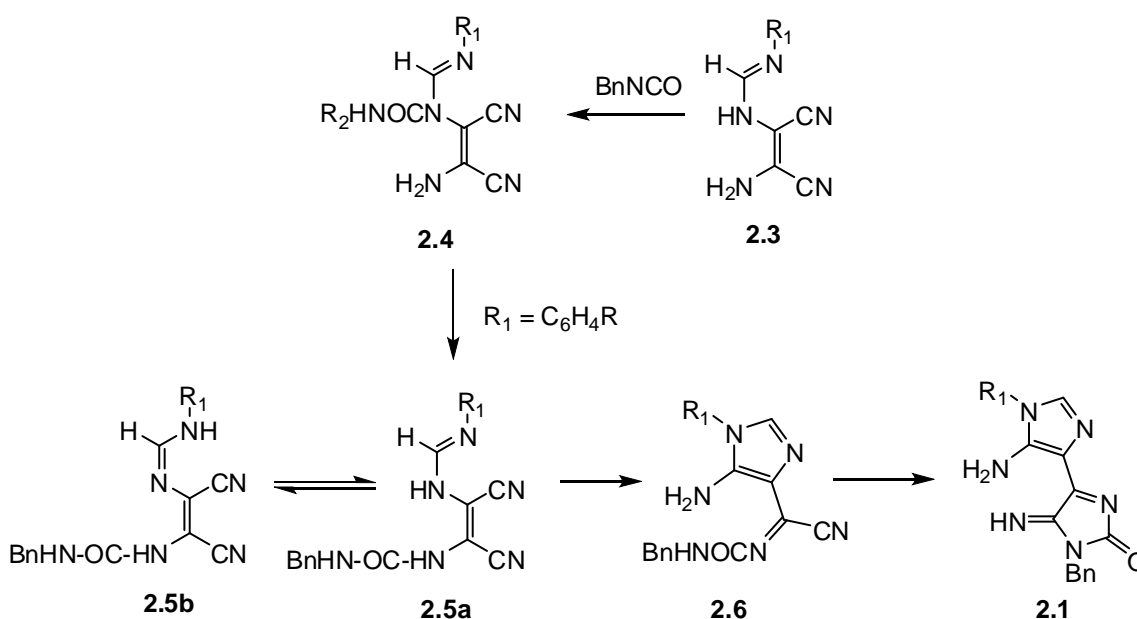


Figura 11. Métodos de síntese mais conhecidos para a formação do anel de imidazol.

2.1 SÍNTESE DE BI-IMIDAZOIS E PIRROLIL-IMIDAZOIS

Escassos trabalhos existem na literatura sobre a síntese de derivados de bi-imidazois e alguns artigos são pertencentes ao grupo de investigadores em que estive inserido durante este trabalho^{36,37}. A síntese de bi-imidazois descrita nestes trabalhos usa a reação de 5-amino- α -imino-1*H*-imidazol-4-acetonitrilo e o produto é posteriormente ciclizado de modo a formar os dois anéis de imidazol (*Esquema 1*) usando *N*-aril- e *N*-alquilamidinas **2.3** como reagentes de partida e isocianato de benzilo. A síntese foi realizada à temperatura ambiente, usando etanol e acetonitrilo como solventes. Para que a ciclização da amidina **2.5a/2.5b** aconteça rapidamente, é posteriormente adicionado DBU sendo que este não é estritamente necessário para a ciclização, apenas a acelera. Em solução estão presentes os dois tautómeros da forma aberta, **2.5b** e **2.5a** e o produto cíclico correspondente ao imidazol **2.6**. Contudo, se adicionarmos DBU a esta solução contendo estas três espécies, uma outra ciclização tem lugar formando-se assim o bi-imidazol **2.1**.

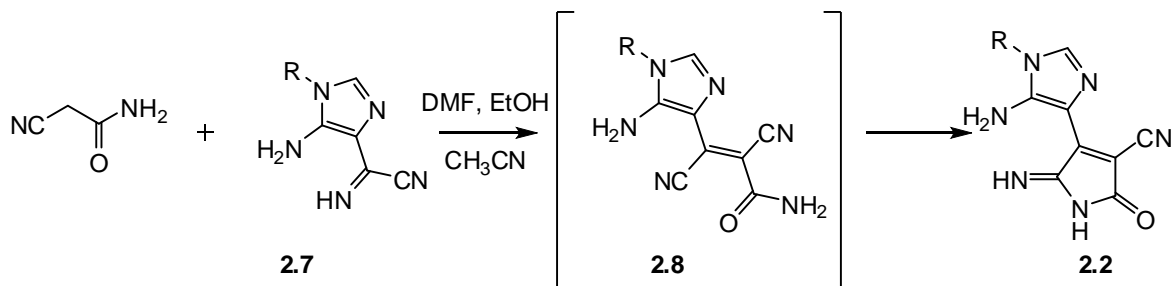


Esquema 1: Esquema da reação da síntese de bi-imidazois a partir da amidina **2.3**.

Foi ainda utilizado um método de síntese que usa a reação de cianoacetamida com o imidazol **2.7** para gerar os derivados **2.2** (*Esquema 2*) usando etanol, acetonitrilo ou DMF como solvente. Assim geraram-se dois grandes grupos de compostos, os derivados de **2.1** e os derivados de **2.2**.

³⁶ Dias A.M., Cabral I., Proença M.F., Booth B.L.: *J. Org. Chem.* 2002, **67**: 5546-5552

³⁷ Zaki M.E.A., Proença M.F., Booth B.L.: *J. Org. Chem.* 2003, **68**: 276-282

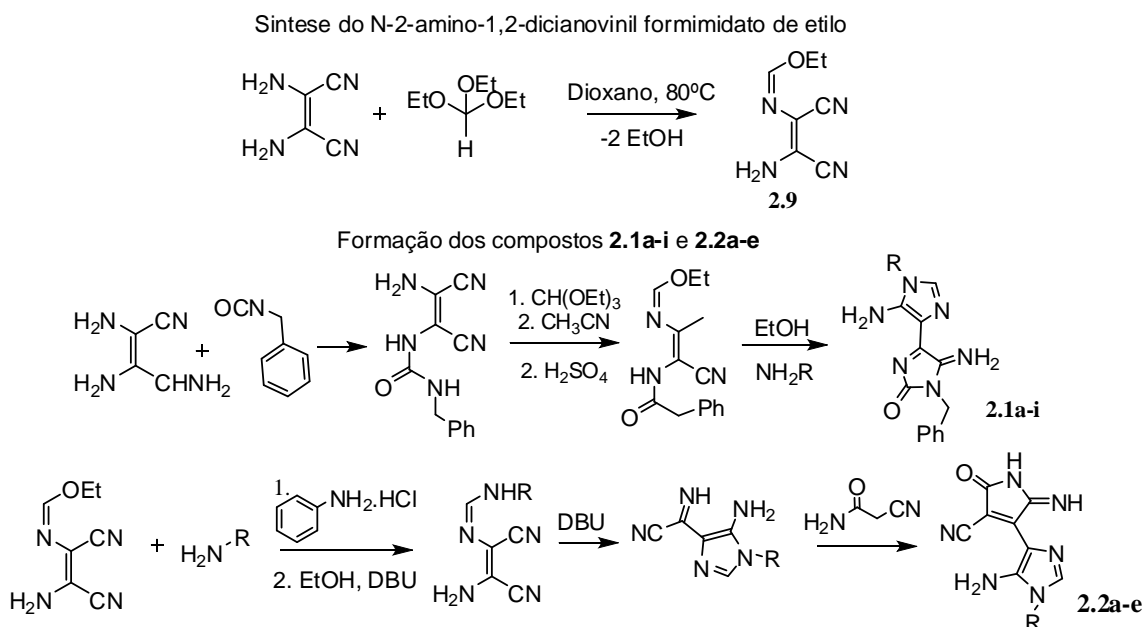


Esquema 2: Esquema do método de síntese de pirrolil-imidazóis usando cianoacetamida e 5-amino-4-cianoformimidazóis como reagentes de partida

2.1.1 SÍNTESE DE *N*-((*Z*)-2-AMINO-1,2-DICIANOVINIL)FORMIMIDATO DE ETILO

A síntese de parte dos imidazóis realizada nesta tese requer que seja sintetizado antecipadamente um formimidato de etilo **2.9** (*Esquema 3*). Este composto é usado no método de síntese como precursor de amidinas substituídas, por reação com amina apropriadas. A síntese deste imidato encontra-se patenteada^{38,39} e envolve a reação de diaminomaleonitrilo e ortoformiato de etilo a uma temperatura de 80°C. O produto **2.9** foi obtido na forma de cristais aciculares brancos após purificação por cromatografia em *flash* seca e recristalização em éter etílico.

Para a primeira série de compostos **2.1a-i** a síntese ocorre em três passos, em que, no primeiro se introduz uma unidade de ureia no diaminomaleonitrilo. Segue-se a formação do grupo imidato, que na presença de uma amina primária gera directamente o produto final. No caso da série de compostos **2.2a-e**, parte-se do formimidato de etilo **2.9**, usado como precursor da amidina, por reação com uma amina. A ciclização intramolecular ocorre na presença de base e gera um imidazol substituído que evolui para o produto final por reação com uma cianoacetamida (*Esquema 3*).



Esquema 3. Esquema da síntese do *N*-2-amino-1,2-dicianovinil formimidato de etilo e as posteriores reações para a formação de bi-imidazóis (**2.1a-i**) e pirrolil-imidazóis (**2.2a-e**).

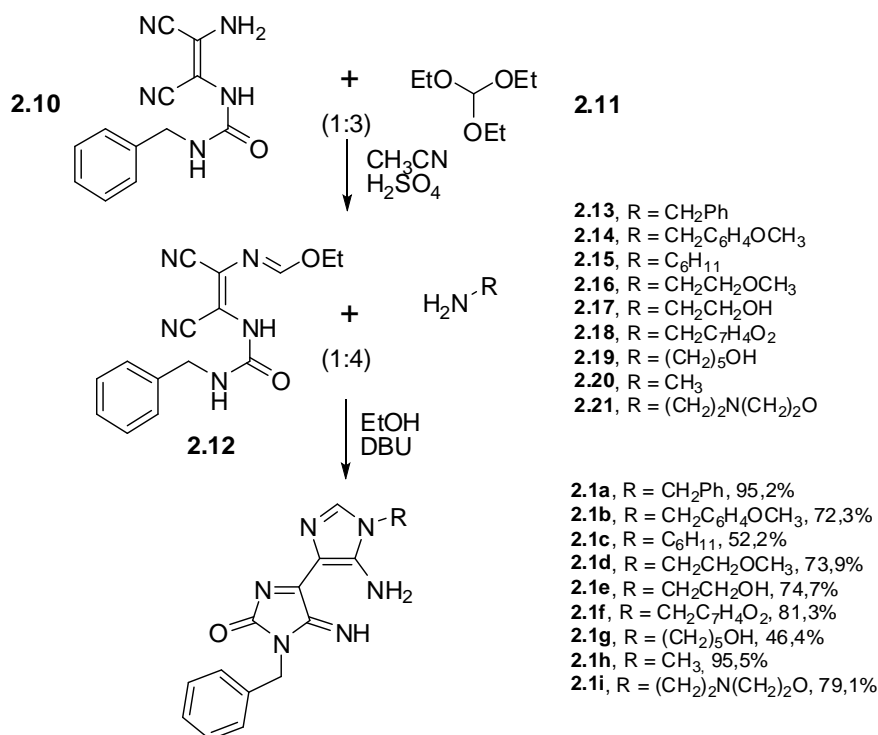
³⁸ Woodward, D.W.: *Patented 2,534,331. U.S. Patent. Dec. 19, 1950*

³⁹ Bredereck H., Schmötzer G.: *Annalen der Chemie. 1956, 600(2): 95–108*

2.1.2 SÍNTESE DE 4-(5-AMINO-1-BENZIL-1H-IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-1H-IMIDAZOL-2(5H)-ONA

Iniciou-se o trabalho com a preparação de vários compostos com diferentes substituintes no grupo amina da 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (**2.10**). Para as sínteses realizadas nesta dissertação, foi usado o método representado no Esquema 4. A síntese foi iniciada pela reacção de **2.10** com ortoformiato de etilo na proporção de 1:3 em acetonitrilo e com catálise de H₂SO₄ à temperatura ambiente (20-30 minutos). O produto desta primeira reacção reagiu com diversas aminas em etanol. Desta forma obtiveram-se vários derivados de bi-imidazois **2.1a-i**.

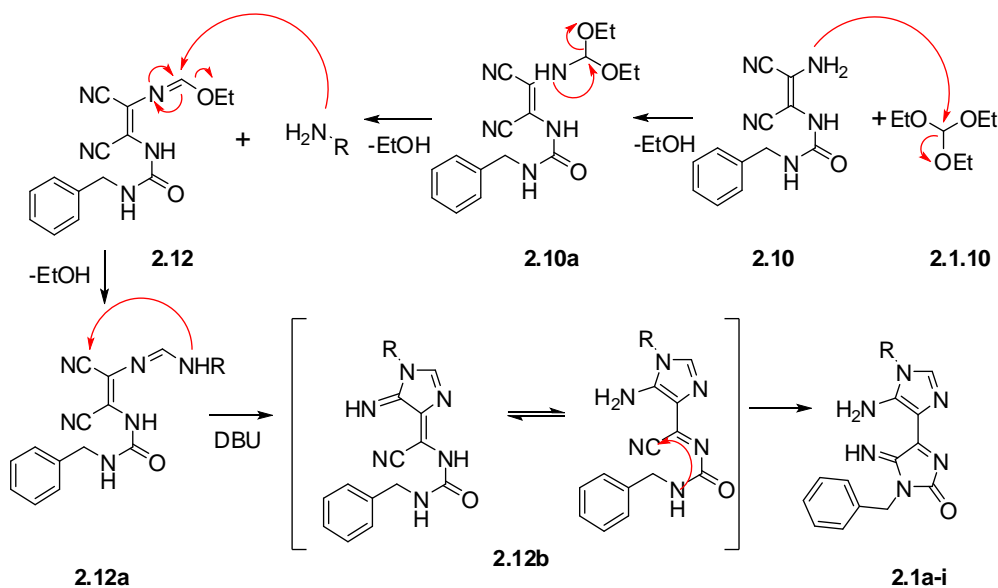
O mecanismo proposto para este tipo de reacção envolve como primeiro passo o ataque ao centro de carga positiva do ortoformiato (**2.11**) por parte do grupo amina livre da benzilureia **2.10** levando à formação da função imidato com a libertação de etanol (composto **2.12**). O composto **2.12** (*Esquema 5*) é o precursor dos produtos **2.1a-i**, gerados após reacção com aminas primárias e ciclização induzida por base (DBU).



Esquema 4: Esquema da síntese dos compostos **2.1a** e **2.1b** demonstrando as proporções estequiométricas usadas e os solventes utilizados durante em todo o processo.

A amina irá substituir o grupo OEt do composto **2.12** na sequência do ataque nucleofílico ao carbono da função imidato. O ataque desta amina ao grupo CN do mesmo composto conduz assim à ciclização, formando o primeiro anel de imidazol. A presença do outro grupo CN permite uma outra ciclização que conduz à formação do segundo anel de imidazol formando assim os bi-imidazois com os diversos grupos R (*Esquema 5*).

Nove compostos foram produzidos utilizando este mesmo método de síntese, alterando-se apenas a natureza da amina usada num dos passos da sequência reacional.



Esquema 5: Esquema do mecanismo proposto para a síntese dos compostos 2.1a-i.

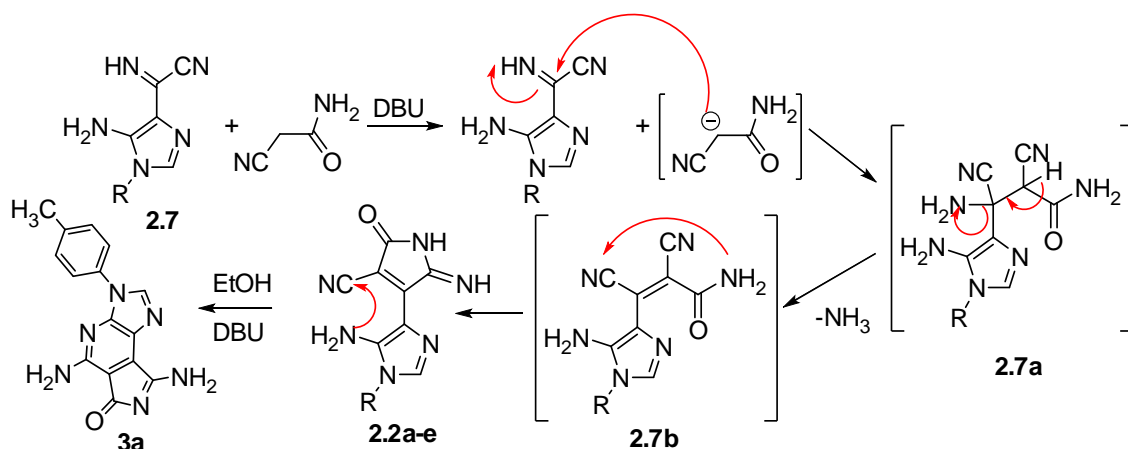
Contudo a síntese de derivados de imidazois não ficou por aqui. Outros compostos foram ainda sintetizados, a partir do 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-formimidato usado como precursor do anel de imidazol. É depois, por uma reação com cianoacetamida, que se forma o segundo anel, este de pirrol, produzindo assim vários pirrolil-imidazois.

2.1.3 SÍNTESE DE 4-(5-AMINO-1H-IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-2-OXO-2,5-DI-HIDRO-1H-PIRROLE-3-CARBONITRIL

Este método de síntese permitiu a produção de cinco compostos (2.2a-e) com grupos substituintes diferentes. Num primeiro passo (Esquema 3) é gerado o imidazol substituído 2.7, que incorpora diferentes grupos R em N¹ do anel. Assim a sequência reacional é diferente da usada para preparar os compostos 2.1a-i. O mecanismo proposto inicia-se com a ação da base (DBU), removendo um portão da cianoacetamida para levar a um ataque nucleofílico ao composto 2.7. Este ataque ocorre no carbono ligado à função imina transformando-a numa amina e formando o composto intermediário 2.7a (Esquema 6). Este composto perde uma molécula de NH₃ formando 2.7b. O composto 2.7b gera o anel de pirrol por ataque nucleofílico intramolecular do azoto da amida ao carbono do grupo nitrilo. O uso de uma quantidade catalítica de DBU neste processo não só ativa a cianoacetamida como também acelera a ciclização que leva à formação do anel de pirrol. Quando foi adicionado DBU a uma solução do composto 2.2d em etanol e a mistura foi mantida à temperatura ambiente, precipitou um outro produto identificado como a estrutura tricíclica 3a.

A síntese destas duas famílias de compostos, 2.1a-i e 2.2a-e, pretende providenciar um largo espectro de compostos que possam posteriormente ser complexados com iões metálicos. Todos estes compostos foram complexados posteriormente com o ião de cobre(II). A molécula 3a foi também complexada com o iões de cobre(II).

Os dois grupos de compostos e os seus complexos foram inspirados no complexo e no ligando ATICAR (*5-amino-1-tolylimidazole-4-carboxylate*)⁴⁰ (**2.23**), que quando é complexado com cobre(II) (**2.22**) já demonstrou atividade anticancerígena.



Esquema 6: Esquema do mecanismo proposto para a síntese dos compostos 2.2a-h.

Durante o trabalho realizado nesta tese tentou-se sintetizar o composto **2.23** (Figura 12) a partir do 5-amino-4-ciano imidazol correspondente, mas a síntese não foi bem-sucedida, apesar de várias tentativas. As tentativas realizadas para a síntese deste composto incluíram a reação com HCl em diferentes concentrações, com NaOH e com H₂SO₄ (Tabela 1). A reação, efectuada sob refluxo, deveria permitir a hidrólise do grupo ciano para gerar inicialmente a amida, que posteriormente deveria evoluir para o ácido carboxílico, de acordo com o Esquema 7. Não foi possível obter o produto em nenhuma das tentativas, apenas no método A se observou a formação vestigial do composto **2.23**. Este produto apresentava sempre um aspeto viscoso, possivelmente por se tratar de uma mistura e não foi possível isolar material na forma sólida.

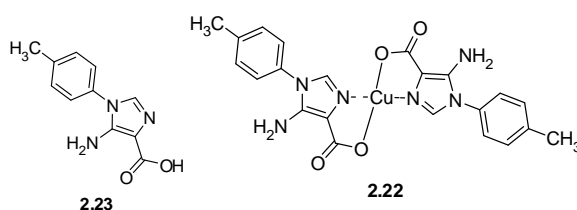
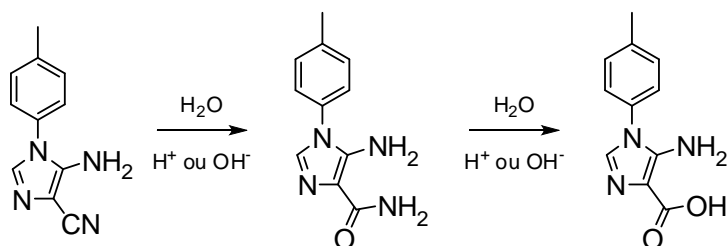


Figura 12. Ácido 5-amino-1-tolylimidazol-4-carboxílico e o seu complexo como descritos em Collins et al.



Esquema 7. Esquema da síntese que se previa acorrer para formar o composto 5-amino-1-tolylimidazol-4-carboxílico (ATICAR)

⁴⁰ Collins M., et al. *Inorg. Chem. Communications*. 2000, 3(9) 453–457

Tabela 1. Tabela das principais tentativas realizadas para a síntese do ácido 5-amino-1-tolimidazol-4-carboxílico (ATICAR) a partir do 5-amino-4-ciano imidazol correspondente.

Método	Solvente	Solução	Refluxo	Produto
Método A	H ₂ O	HCl 4M (aq)	6 horas	Reagente e produto vestigial
Método B	H ₂ O	HCl 6M (aq)	4 horas	Apenas reagente
Método C	H ₂ O	NaOH 4M (aq)	4 horas	Amida resultante do reagente
Método D	H ₂ O	H ₂ SO ₄ 6M (aq)	2 horas	Reagente e amida resultante

2.1.4 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA

ESPECTROSCOPIA ¹H RMN:

A estrutura dos bi-imidazois **2.1a-i** foi atribuída tendo em consideração os dados de espectroscopia de IV e ¹H RMN por comparação com os espectros dos compostos já sintetizados e completamente caracterizados. Todos os espectros de ¹H RMN das duas famílias de compostos têm semelhanças referentes aos prótons do esqueleto de cada um. No caso dos compostos **2.1a-i** os prótons do grupo fenilo aparecem como um multiplete a δ 7.20-7.35 ppm seguido por um singleto que integra para dois prótons e um singleto largo entre δ 7.70-8.00 ppm correspondendo ao próton do grupo CH do imidazol e ao próton do grupo NH₂, respectivamente. O próton do grupo NH localiza-se a δ 9.7-9.9 ppm como um singleto normal e o grupo CH₂ que liga o fenilo ao imidazol aparece por volta de δ 5.00 ppm (Tabela 2). É de considerar que estes valores sofrem algumas alterações dependendo do substituinte.

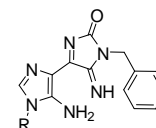


Tabela 2: Dados espectroscópicos de ¹H RMN (400 MHz DMSO-d₆) dos compostos **2.1a-i**.

COMP.	Grupo R	NH/NH ₂	CH (Im.)	
2.1a	CH ₂ Ph	9.80(s;1H) 7.92 (sl;2H)	7.75 (s;1H)	4.70 (s;2H, CH ₂) 5.21 (s; 2H, CH ₂) 7.24-7.30 (m; 10H, 2xPh)
2.1b	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-OCH ₃)	9.79(s;1H) 7.82 (sl;2H)	7.73 (s;1H)	3.72 (s;3H, CH ₃) 4.70 (s;2H, CH ₂) 5.11 (s;2H, CH ₂) 6.91-7.30 (m; Ph e C ₆ H ₄)
2.1c	C ₆ H ₁₁ (ciclohexanilo)	9.78(s;1H) 7.88 (sl;2H)	7.80 (s;1H)	1.36-1.93 (m;11H, C ₆ H ₁₁) 4.04 (t; J=3,6Hz; 2H, CH ₂) 4.70 (s;2H CH ₂) 7.24-7.30 (m; Ph)
2.1d	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	9.77(s;1H) 7.84 (sl;2H)	7.57 (s;1H)	3.25 (s;3H, CH ₃) 3.57 (t; J=4,8Hz; 2H, CH ₂) 4.09 (t; J=5,2Hz; 2H, CH ₂) 4.70 (s;2H, CH ₂) 7.23-7.32 (m; Ph)
2.1e	CH ₂ CH ₂ OH	9.78(s;1H) 8.00(sl;1H)	7.57(s;1H)	3.63 (t; J=6,4Hz; 2H, CH ₂) 4.00 (t; J=6,4Hz; 2H, CH ₂) 4.70 (s;OH) 7.23-7.31 (m; Ph)
2.1f	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₂ O (Benzodioxolilo)	9.77(s;1H) 7,83(sl;1H)	7.74(s;1H)	4.70 (s;2H, CH ₂) 5.07 (s;2H, CH ₂) 6.00 (s;2H, CH ₂) 6.8-6.95 (m: benz.) 7.22-7.32 (m; Ph)
2.1g	(CH ₂) ₅ OH	9.78(s;1H) 7.68(s;2H)	7.68(s;1H)	1.25-1.67 (m;3xCH ₂) 3.37 (t; J=6,4Hz; CH ₂) 3.89 (t; J=7,2Hz; CH ₂) 4.37 (s;OH) 4.70(s;2H, CH ₂) 7.25-7.30 (m;Ph)
2.1h	CH ₃	9.77(s;1H) 7.79(sl;2H)	7.59 (s;1H)	3.47 (s;3H, CH ₃) 4.69 (s;2H, CH ₂) 7.20-7.33 (m; Ph)
2.1i	(CH ₂) ₂ N(CH ₂ CH ₂) ₂ (Morfolinilo)	9.76(s;1H) 7.96(sl;2H)	7.61(s;1H)	2.43-2.50 (m; morfolina) 3.54(t; J=4,4Hz; CH ₂) 4.02 (t; J=5,6Hz; CH ₂) 4.70 (s;2H, CH ₂) 7.24-7.30 (m; Ph)

No caso dos compostos pirrolil-imidazóis ou carbonitrilos **2.2a-e**, é visível o equilíbrio tautomérico no anel de pirrol entre o grupo NH da imina e o grupo NH do anel. No espectro, estes tautômeros aparecem como singletos largos (dois ou três singletos entre δ 10.9-9.28 ppm) com integração total de 4 prótons indicando que estarão associados ao sinal da função amina. Nestes compostos, o pico do próton do anel de imidazol localiza-se por volta de δ 7.7 ppm (*Tabela 3*).

Os restantes sinais do espectro dizem respeito aos grupos R em que existe sempre um grupo fenilo. Os valores dos deslocamentos químicos associados a este grupo encontram-se predominantemente entre δ 7 e 8 ppm conforme seria de esperar.

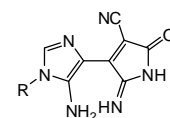


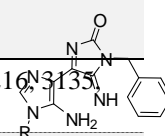
Tabela 3: Dados espectroscópicos de ^1H RMN (400 MHz DMSO- d_6) dos compostos **2.2a-e**.

COMP.	Grupo R	NH ₂ /NH (tautómeros)	CH (imidazol)	
2.2a	C ₆ H ₄ (4-F)	9.38(sl;3H) 10.25(sl;1H)	7.76(s;1H)	7.42-7.61 (m; Ph)
2.2b	C ₆ H ₄ (4-OCH ₃)	9.321sl;3 H 10.16 (sl;1H)	7.71 (s;1H)	3.82 (s;3H, CH ₃) 7.28 (dd; J ₁ =10Hz, J ₂ =106Hz Ph)
2.2c	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₂ O (Benzodioxolilo)	9.30(sl) 9.53 (sl) 10.11 (sl;1H)	7.74 (s;1H)	4.70 (s;2H, CH ₂) 5.99 (s;2H, CH ₂) 6.77-6.29 (m; Ph)
2.2d	C ₆ H ₄ (4-CH ₃)	9.36(sl;3H) 10.86(sl;1H)	7.74(s;1H)	3.313 (3H, CH ₃) 7.39-7.43 (q;4H)
2.2e	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-OCH ₃)	9.29(sl) 9.54(sl) 10.14(sl;1H)	7.73(s;1H)	3.72 (s;3H, CH ₃) 5.03 (s;2H, CH ₂) 7.08 (dd; J ₁ =12Hz, J ₂ =113Hz; 4H, C ₆ H ₄)
3a	--	9.11(sl) 6.78 (sl) 10.67(sl;1H)	8.66(s;1H)	7.68-7.70 (q;4H) 7.37-7.39 (q;4H)

ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO:

Tabela 4. Dados espectroscópicos de IV (Nujol/cm-1) dos ligandos **2.1a-i**.

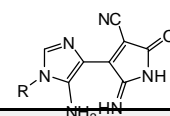
Comp.	R (Grupo)	2000-1000 cm ⁻¹	4000-3000 cm ⁻¹
2.1a.	CH ₂ Ph	1698, 1644, 1602, 1549, 1510, 1494, 1415	3583, 3359, 3269, 3216, 3135, 3087, 3065, 3029
2.1b.	CH ₂ C ₆ H ₄ (4-OCH ₃)	1705, 1699, 1651, 1598, 1546, 1515, 1419	3583, 3376, 3285, 3252-3031
2.1c.	C ₆ H ₁₁ (ciclohexanilo)	1712, 1659, 1637, 1600, 1548	3556, 3360, 3236, 3128
2.1d.	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	1720, 1644, 1598, 1551, 1519, 1496	3608, 3583
2.1e.	CH ₂ CH ₂ OH	1708, 1651, 1551, 1526, 1496, 1418	3294, 3255, 3154
2.1f.	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₂ O (Benzodioxolilo)	1698, 1650, 1644, 1547, 1517, 1503, 1487, 1418	3557, 3368, 3287, 3257, 3136
2.1g.	(CH ₂) ₅ OH	1727, 1656, 1627, 1585, 1519, 1417	3609, 3583, 3332, 3267
2.1h.	CH ₃	1713, 1658, 1647, 1594, 1551, 1528, 1493	3583, 3372, 3273, 3218, 3135, 3118, 3096
2.1i.	(CH ₂) ₂ N(CH ₂ CH ₂) ₂ (Morfolinilo)	1702, 1660, 1638, 1607, 1552, 1519, 1494, 1416	3608, 3583, 3557, 3343, 3245, 3167, 3142, 3085



Nos espectros de IV dos compostos **2.1a-i** é de realçar a presença, em todos os compostos, de bandas com intensidade fraca entre 3000 e 3600 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento da ligação N-H dos grupos amina e imina e as bandas entre 1700 e 1730 cm^{-1} correspondentes à vibração de estiramento da ligação C=O presente num dos anéis de imidazol de todos os compostos.

Os espectros de infravermelho dos compostos **2.2a-e** (Tabela 5) são caracterizados pela presença de uma banda por volta dos 2210-2260 cm^{-1} correspondente à vibração de estiramento do grupo CN e a presença de algumas bandas na região 3000-3500 correspondendo às vibrações de deformação angular do grupo amina. Este grupo é ainda responsável por bandas no intervalo 1550-1640 cm^{-1} relacionadas com as vibrações de deformação angular desta ligação. Em alguns espectros a banda correspondente à vibração de estiramento do grupo CN não é visível (**2.2a** e **2.2b**) sugerindo que esta ligação, $\text{C}\equiv\text{N}$, se encontra muito pouco polarizada.

Tabela 5. Dados espectroscópicos de IV (Nujol/ cm^{-1}) dos ligandos **2.2a-e**.



Comp.	R (Grupo)	2000-1000 cm^{-1}	4000-2000 cm^{-1}
2.2a.	$\text{C}_6\text{H}_4(4\text{-F})$	1751, 1681, 1625, 1591, 1553, 1500	3203(l),
2.2b.	$\text{C}_6\text{H}_4(4\text{-OCH}_3)$	1750, 1681, 1633, 1590, 1550, 1496	3241(l),
2.2c.	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{O}$ (Benzodioxolilo)	1748, 1680, 1625, 1590, 1543, 1494	3199(l), 2227
2.2d.	$\text{C}_6\text{H}_4(4\text{-CH}_3)$	1720, 1667, 1630, 1575, 1531, 1513	3445(l), 3235(l), 2215
2.2e.	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4(4\text{-OCH}_3)$	1707, 1670, 1641, 1625, 1580, 1542, 1513	3436(l), 3324, 3230, 3205(l), 2217
3a.	--	1714, 1676, 1624, 1594	3351(l)

2.2 SÍNTESE DE COMPLEXOS METÁLICOS

A síntese dos ligandos **2.1a-i**, **2.2a-e** tinha como intuito a sua posterior coordenação com metais de modo a conferir alguma atividade anticancerígena aos produtos resultantes. Este tipo de ligandos contendo o grupo imidazol, em estudos anteriores, demonstraram que a coordenação com cobre confere elevada atividade cancerígena.^{18,19} Este trecho da dissertação diz respeito ao processo usado para a síntese dos complexos, a sua caracterização por análise elementar e IV e também uma breve descrição de cada um desses complexos obtidos. No capítulo final o método de síntese é abordado em maior detalhe para cada um dos complexos obtidos com sucesso.

2.2.1 METAIS E LIGANDOS: A COMPLEXAÇÃO

A complexação dos vários ligandos e a caracterização dos seus complexos com os iões de cobre(II) foi realizada neste trabalho onde os ligandos sintetizados neste trabalho podem coordenar um metal de diferentes modos. Os ligandos derivados de imidazol podem coordenar o metal formando ligações entre o metal e azoto (do imidazol, imina ou amina). Os ligandos derivados do ácido carboxílico podem coordenar o metal com a formação das ligações M-O (grupo hidroxilo ou carboxilo).

A metodologia de síntese do complexo de cobre(II) com ácido 5-amino-1-tolilimidazole-4-carboxílico e sua estrutura molecular foram publicadas na literatura.⁴⁰ Por existirem diferenças na solubilidade e propriedades dos ligandos selecionados neste trabalho e deste ácido carboxílico, esta metodologia não foi adotada para a síntese dos complexos de cobre(II) com derivados do imidazol.

Todos os complexos com ligandos selecionados foram obtidos da mesma forma, consistindo em dissolver o próprio ligando e sal do cobre em soluções separadas em proporções de 1:2 ou 1:1 e de seguida misturar ambas as soluções. Os complexos do cobre(II) com os ligandos derivados de imidazol são normalmente coloridos – castanhos escuros. A ausência de mudança de cor da solução do ligando depois da adição da solução do sal do metal, sugere que não existem interações do ligando, com o metal ou o rendimento do complexo formado a ser muito baixo. Neste caso, adicionaram-se algumas gotas de DBU até ocorrer a mudança de cor. A presença desta base forte facilita a desprotonação do grupo NH₂ ou/e NH_(imina) presentes na estrutura dos ligandos.

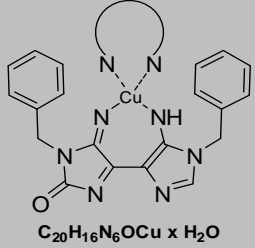
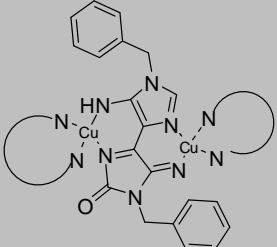
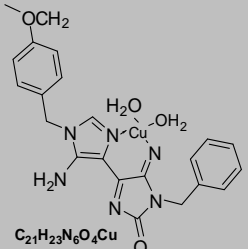
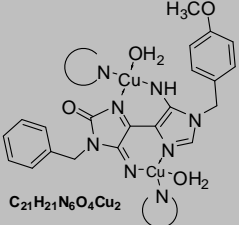
A mistura reacional deve depois ser deixada em agitação à temperatura ambiente ou em refluxo durante algumas horas ou até dias dependendo do composto. O tratamento da solução para precipitar o complexo foi variável. Por exemplo, a adição ao meio reacional de um solvente não-polar como n-hexano ou éter etílico, nos quais o produto não é solúvel ajuda a precipitar o complexo. A outra metodologia que foi usada envolve a redução do volume do solvente por evaporação para obter o complexo em estado sólido. A separação dos produtos sólidos foi feita depois por uma filtração simples da mistura. A coordenação do ácido 5-amino-1-tolilimidazole-4-carboxílico⁴⁰ não foi realizada porque não foi possível sintetizar o ácido carboxílico livre.

Todos os ligandos sintetizados neste trabalho (**2.1a-i**, **2.2a-e** e **3a**) foram usados como substratos para as reações de complexação do cobre(II). Contudo, nem todos os ligandos produziram resultados evidentes de complexação verificados por análise elementar. Apenas para os ligandos contendo metoxifenilo **2.1b**, fenilo **2.1a** e ciclohexilo **2.1c** foi possível obter resultados viáveis, para o caso dos bi-imidazois (*Tabela 6* e *Tabela 7*). Foi possível obter complexos usando as proporções 1:1 e 1:2 de ligando: cobre(II). Durante a síntese dos complexos foram usados solventes diferentes para dissolver os ligandos (DMF) e para dissolver o sal de cobre(II) (EtOH) devido à fraca solubilidade dos ligandos em outros solventes orgânicos e também inorgânicos. A água, foi usada como solvente e, neste caso, a reação de complexação ocorreu no sistema bifásico, na presença trietilamina. Esta experiência foi realizada de modo a tornar a reação de complexação num processo mais “verde” evitando solventes prejudiciais ao ambiente. Após separação, cada sólido resultante foi analisado por análise elementar para verificar a pureza e estequiometria dos compostos obtidos.

Em relação ao ligando substituído com o grupo fenilo (**2.1a**) dois complexos de cobre foram sintetizados com sucesso. Quando a síntese foi realizada na mistura dos solventes DMF/EtOH apenas existe coordenação com o ligando e uma molécula de água. Os valores teóricos relativamente à análise elementar apresentam uma diferença para a média no máximo de 0,54 (% carbono). Estes valores estão no intervalo aceitável para se poder afirmar que, a estrutura proposta corresponde ao complexo

preparado (*Tabela 6* – complexo **1.1a**). Contudo quando o complexo foi preparado em meio aquoso (1:2 ligando: íão cobre(II)) parece plausível que o ligando seja capaz de coordenar com dois átomos de cobre. Os valores da % de H, N e C, neste caso, não variam muito relativamente aos valores teóricos, desde 0,37 a 0,10 (%N e %C respectivamente) (*Tabela 6* – complexo **1.2a**). No caso do ligando contendo o grupo metoxifenil (**2.1b**) a complexação foi bem-sucedida de duas maneiras, no sistema DMF/EtOH (**1.1b**) e em água (**1.2b**). Quando este ligando foi complexado usando DMF/EtOH e a proporção de ligando livre : cobre(II) foi de 1:1, obteve-se um sólido acastanhado.

Tabela 6. Resultados da análise elementar dos três complexos sintetizados a partir do ligando **2.1a** e **2.1b** (GRUPO R: fenilo e metoxifenilo respectivamente) incluindo os valores teóricos a negrito. * O cobre foi quantificado usando a metodologia espectroscopia UV-VIS (capítulo 2.2.3).

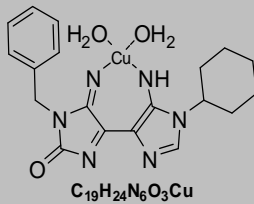
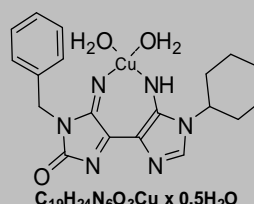
COMPLEXO 1.1a	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
 <p>C₂₀H₁₆N₆OCu x H₂O</p>	437,94	54,85	4,14	19,19	14,51
	<i>Análise 1</i>	54,39	4,27	18,71	--
	<i>Análise 2</i>	54,35	4,37	18,70	--
	<i>Análise 3</i>	54,24	4,86	18,97	--
	<i>Análise 4</i>	54,26	4,06	18,97	--
	<i>Média</i>	54,31	4,39	18,84	14,20*
Δ	-0,54	0,25	-0,35	0,31	
COMPLEXO 1.2a	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
 <p>C₂₀H₁₆N₆OCu₂ x H₂O</p>	501,50	47,9	3,62	16,76	25,34
	<i>Análise 1</i>	48,03	3,88	16,45	--
	<i>Análise 2</i>	47,65	4,03	16,35	--
	<i>Análise 3</i>	47,75	4,06	16,37	--
	<i>Média</i>	47,81	3,99	16,39	--
Δ	0,09	0,37	-0,37	--	
COMPLEXO 1.1b	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
 <p>C₂₁H₂₃N₆O₄Cu</p>	486,99	51,79	4,76	17,26	13,05
	<i>Análise 1</i>	52,07	4,60	16,84	--
	<i>Análise 2</i>	52,06	4,61	16,76	--
	<i>Média</i>	52,07	4,61	16,80	--
Δ	0,28	-0,16	-0,46	--	
COMPLEXO 1.2b	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
 <p>C₂₁H₂₁N₆O₄Cu₂</p>	548,52	45,98	3,86	15,32	23,17
	<i>Análise 1</i>	46,77	4,23	15,55	--
	<i>Análise 2</i>	46,02	4,235	15,42	--
	<i>Média</i>	46,40	4,23	15,49	--
	Δ	0,42	0,37	0,16	--

Pelos valores da análise elementar pôde aferir-se que na estrutura do complexo **1.1b** estão presentes duas moléculas de água e uma molécula do ligando. Isto faz com que o complexo possua massa molecular de 486,99 g/mol. Baseado nestes valores e nos espectros de infravermelho do ligando e do complexo (capítulo 2.2.2) pode propor-se que existe um íon metálico por duas moléculas de água e uma do ligando neste complexo (Tabela 6).

No segundo caso, quando o complexo (**1.2b**) foi sintetizado em água os valores da análise elementar sugerem a presença de dois íões de cobre por uma molécula do ligando e uma molécula de água. O complexo apresenta portanto tem uma massa molecular de 548,52 g/mol com a média das diferenças entre valores teóricos e reais a não ser superior a 0,42 (%C).

Para o ligando com o grupo ciclohexilo (**2.1c**) como grupo substituinte na sua estrutura (Tabela 7), foi possível obter também dois complexos de cobre(II), usando como solventes uma mistura de DMF/EtOH (**1.1c**) e outro apenas em água (**1.2c**). Nestes casos as análises elementares e espectros de IV confirmam que a coordenação (inferida por IV) do metal é a mesma em ambos os casos. Isto faz com que o complexo em DMF/EtOH apresente uma massa teórica (**1.1c**) de 447,98 g/mol e o complexo produzido em água possui massa de 456,98 g/mol (**1.2c**).

Tabela 7. Resultados da análise elementar dos dois complexos sintetizados a partir do ligando **2.1c** (GRUPO R: ciclohexilo) incluindo os valores teóricos a negrito.

COMPLEXO 1.1c	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
 $C_{19}H_{24}N_6O_3Cu$	447,98	50,94	5,4	18,76	14,19
	<i>Análise 1</i>	51,16	4,99	18,30	--
	<i>Análise 2</i>	50,94	5,05	18,20	--
	<i>Média</i>	51,05	5,02	18,25	--
	Δ	-0,11	0,38	0,51	--
COMPLEXO 1.2c	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
 $C_{19}H_{24}N_6O_3Cu \times 0,5H_2O$	456,98	49,89	5,47	18,18	13,89
	<i>Análise 1</i>	49,35	4,927	18,16	--
	<i>Análise 2</i>	49,26	4,89	18,12	--
	<i>Média</i>	49,31	4,91	18,14	--
	Δ	-0,59	-0,56	-0,04	--

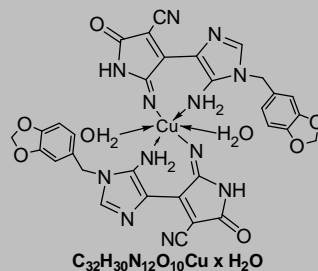
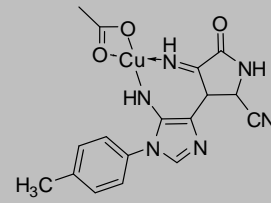
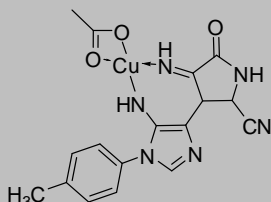
A Tabela 8 apresenta os dados da complexação da segunda família de ligandos (**2.2c-d**), estes foram sintetizados usando a metodologia mencionada anteriormente. Prepararam-se complexos também em proporções de 1:1 e 1:2 (ligando:sal de metal) em dois meios, DMF/EtOH e em água. Contudo, no caso dos pirrolil-imidazóis não foi possível obter complexos quando foi usada a proporção de 1:2.

O complexo **2.1c**, formado a partir dos ligandos derivados de pirrolil-imidazóis, diz respeito ao composto contendo o grupo substituinte benzodioxolo (**2.2c**). No caso deste ligando, os dados da análise elementar indicam que o íon metálico está coordenado com duas moléculas do ligando e duas moléculas de água. Esta é uma forma de coordenação diferente das observadas anteriormente pois até agora

nenhum dos complexos apresenta duas moléculas do ligando. As comparações entre as percentagens de cada elemento químico são bastante viáveis para que se possa afirmar que esta é a forma estrutural presente no complexo **2.1c**.

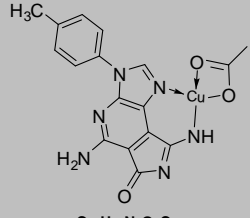
O complexo **2.2d** sintetizado em água apresenta valores um pouco mais altos com as médias das diferenças nos valores de 0,62 e 0,74. Estes valores indicam a presença de algumas impurezas e, como não foi realizada qualquer purificação, os dados fazem prever que o complexo apresenta na sua estrutura um íon de cobre(II), o ligando de **2.2d** e uma molécula de acetato.

Tabela 8. Resultados da análise elementar dos três complexos sintetizados a partir do ligando **2.2c** e **2.2d** (GRUPO R: benzodioxolo e tolilo respetivamente) incluindo os valores teóricos a negrito.

<p>COMPLEXO 2.1c</p>  <p>$C_{32}H_{30}N_{12}O_{10}Cu \times H_2O$</p>	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
	806,20	47,67	3,75	20,85	7,88
	<i>Análise 1</i>	47,59	3,028	20,26	--
	<i>Análise 2</i>	47,41	3,183	20,02	--
	<i>Análise 3</i>	47,27	3,183	20,21	--
	<i>Análise 4</i>	47,29	3,101	20,08	--
<i>Média</i>	47,39	3,12	20,14	--	
Δ	-0,28	-0,63	-0,71	--	
<p>COMPLEXO 2.1d</p>  <p>$C_{17}H_{16}N_6O_3Cu \times 0.2H_2O$</p>	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
	419,50	48,67	3,94	20,03	15,15
	<i>Análise 1</i>	48,49	3,921	20,53	--
	<i>Análise 2</i>	48,54	3,89	20,51	--
	<i>Média</i>	48,52	3,90	20,52	--
Δ	-0,16	-0,04	0,49	--	
<p>COMPLEXO 2.2d</p>  <p>$C_{17}H_{16}N_6O_3Cu \times 0.5H_2O$</p>	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
	424,90	48,05	4,03	19,78	14,96
	<i>Análise 1</i>	47,83	4,687	20,51	--
	<i>Análise 2</i>	47,93	4,614	20,53	--
	<i>Média</i>	47,88	4,65	20,52	--
Δ	-0,17	0,62	0,74	--	

Tal como no caso anterior, também para o ligando **2.2d** (com o grupo R tolilo), a constituição dos seus dois complexos difere das anteriores. Os dois complexos (**2.1d** e **2.2d**) produzidos deste ligando apresentam o íon de cobre, uma molécula do ligando e uma molécula de acetato, proveniente do contraíon do sal do metal usado no método de síntese. A complexação do ligando **3a** com a estrutura apresentada na Tabela 9 foi bem-sucedida e com resultados da análise elementar apreciáveis. Tal como os complexos do ligando **2.2b**, o complexo **3.1a** do ligando **3a** apresenta valores para a análise elementar que suportam a presença de uma molécula do ligando e uma molécula de acetato no complexo conjuntamente com o íon de cobre(II). Com diferenças para a média de 0,31 e 0,04 esta constituição parece ser a mais plausível para o complexo **3.1a** (Tabela 9).


Tabela 9 Resultados da análise elementar do complexo sintetizado a partir do ligando **3a** (três anéis adjacentes) incluindo os valores teóricos a negrito.

COMPLEXO 3.1a  C₁₇H₁₄N₆O₃Cu	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
		417,87812	49,33	3,41	20,31
	<i>Análise 1</i>	49,21	3,767	20,35	--
	<i>Análise 2</i>	49,32	3,681	20,18	--
	<i>Média</i>	49,27	3,72	20,27	--
	Δ	-0,06	0,31	-0,04	--

Foram realizadas no total dezassete análises elementares para os vários complexos, entre os mais de quarente complexos sintetizados, contudo alguns dos complexos foram um pouco complicados de identificar e assim ter uma ideia da sua constituição. Isto terá acontecido porque o complexo no estado sólido não está numa forma pura impossibilitando obter dados de análise elementar viáveis.

O complexo **1.3aN**, (*Tabela 10*) apresenta o íon de níquel como íon central. A análise elementar confirma a pureza do complexo que é constituído por duas moléculas de água, uma do ligando por um átomo de níquel com a diferença para os valores teóricos a ser no máximo de 0,47.

Tabela 10. Resultados da análise elementar do complexo com níquel sintetizado a partir do ligando **2.1a** (**GRUPO R:** fenil) incluindo os valores teóricos a negrito.

COMPLEXO 1.3aN  C₂₀H₂₁N₆NiO₃	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu
		452,11	53,13	4,68	18,59
	<i>Análise 1</i>	53,69	4,552	18,38	--
	<i>Análise 2</i>	53,51	4,547	18,48	--
	<i>Média</i>	53,60	4,55	18,43	--
	Δ	0,47	-0,13	-0,16	--

2.2.2 A COORDENAÇÃO E A ESPECTROSCÓPIA IV E RMN

As análises elementares de cada complexo confirmam a pureza dos compostos mas não são capazes de prever o modo de coordenação. De modo a podermos estabelecer a forma de coordenação para cada composto sintetizado foram realizados espectros de infravermelho dos complexos. Os espectros IV dos complexos foram comparados com os espectros dos ligandos correspondentes. As variações no espectro de infravermelho do complexo comparando com o espectro do ligando (*Tabela 11*) dir-nos-á quais os grupos da molécula que podem estar integrados com ao íon metálico.

Baseado nos dados obtidos para os vários complexos (*Tabela 11*), observa-se que os picos por volta de 3000-3500 cm⁻¹ nos espectros dos ligandos livres sofrem desvios nos espectros dos respectivos complexos. Indicando assim, que nos complexos este o grupo NH₂ interagem com o íon cobre(II). A coordenação com o ligando em alguns casos inclui a perda de um protão deste grupo transformando-o em NH. Esta região dos compostos parece ser uma posição crucial para a coordenação mas existe ainda um outro local importante na coordenação. Devido à sua proximidade com o grupo NH₂, o átomo N

(C=N) no anel de 5 membros do grupo imidazol está também envolvido na coordenação com o íon e cobre(II) observando-se desvios destes picos nos espectros dos complexos. O par de elétrons não-ligantes deste átomo está disponível para interagir com o íon de cobre conferindo-lhe os elétrons que ele necessita. Os complexos de cobre(II), a partir dos dados de IV e das análises elementares, parecem apresentar um número de coordenação 6 estabelecendo interações com o ligando e por vezes moléculas de água ou acetato.

Os espectros de infravermelhos apontam o grupo NH₂ ou NH como uma posição de coordenação como o íon de cobre(II) pelo desvio dos picos por volta de 3000-3500 cm⁻¹ visível, por exemplo, comparando os picos do ligando **2.1c** com os seus dois complexos **1.1c** e **1.2c**. Os dados dos espectros de IV apontam também para a influência do íon de cobre no grupo C=N dos anéis de imidazol. O átomo de oxigénio não parece estar envolvido na coordenação com o metal estando este diretamente ligado ao anel aromático com uma dupla ligação. Assim os dados indicam que são essencialmente os átomos de nitrogénio os locais de coordenação com o íon de cobre ou níquel como no caso do complexo **1.3aN**.

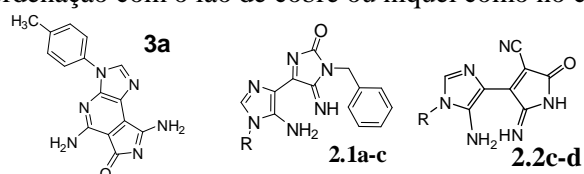


Tabela 11. Dados espectroscópicos de IV (Nujol/cm-1) dos ligandos e dos seus respetivos complexos de cobre(II).

Comp ^a	R ^b	NH (3300-3500 cm ⁻¹)	C≡N (2260-2220 cm ⁻¹)	C=O (1780-1650 cm ⁻¹)	C=N (1650-1550 cm ⁻¹)
L ^c 2.1a		3359		1698	1644, 1602
Cx ^d 1.1a		3362(l)		1715	1636, 1606
Cx 1.2a		3377(s)		1698	1643, 1602
L 2.1b		3376		1705, 1699	1651, 1598
Cx 1.1b		3347(s)		1695, 1679	1627
Cx 1.2b		3358(s)		1705, 1650	1598
L 2.1c		3360		1712, 1659	1637, 1600
Cx 1.1c				1789, 1651	1586
Cx 1.2c		3369(l)		1712, 1659	1639, 1600
L 2.2c		3199(l)	2227	1748, 1680	1625, 1590
Cx 2.1c		3412, 3327		1702, 1643	1619, 1603
L 2.2d		3445(l)	2215	1720, 1667	1630, 1575
Cx 2.1d		3325		1694, 1673	1601
Cx 2.2d		3369(l)		1699, 1682	1627
L 3a.	--	3351(l)		1714, 1676	1624, 1594
Cx 3.1a	--	3434, 3338		1698	1619

^a Composto; ^b R-Grupo substituinte; ^c L-Ligando; ^d Cx-complexos de cobre(II)
(l) sinal largo, (s) sinal de fraca intensidade

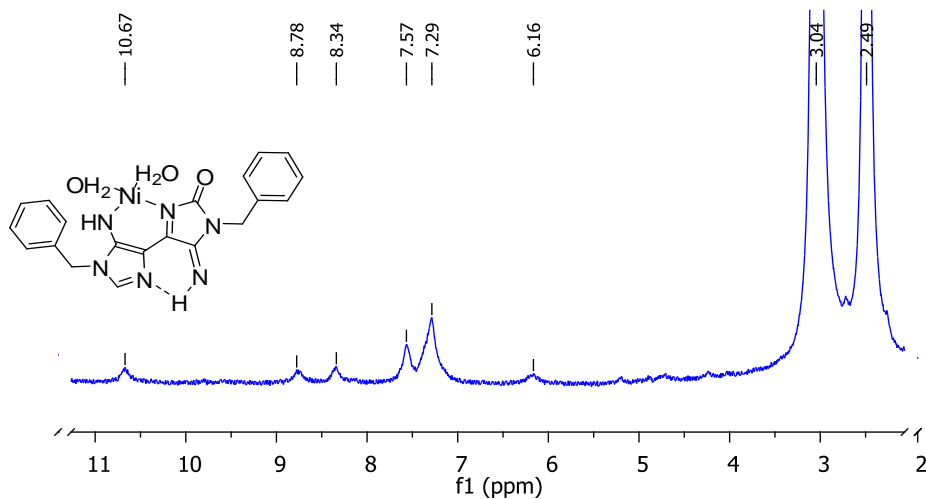
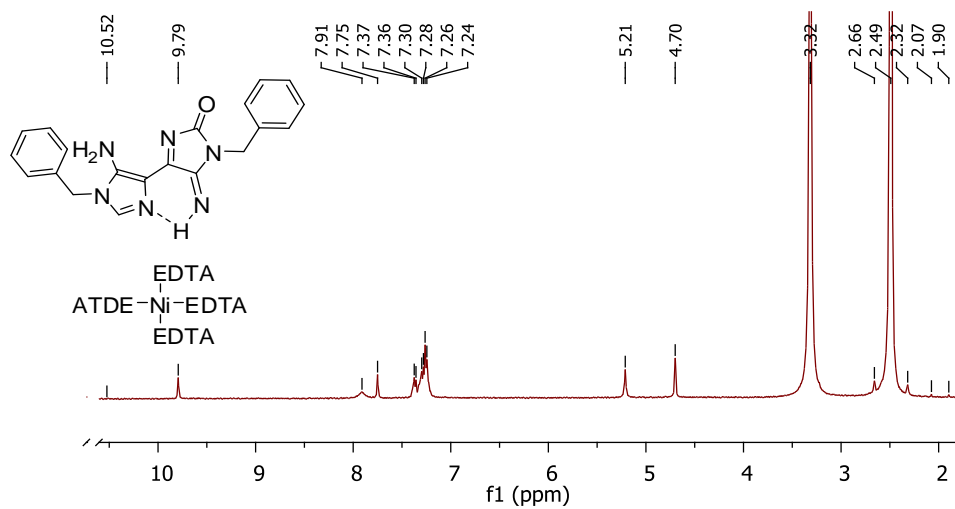
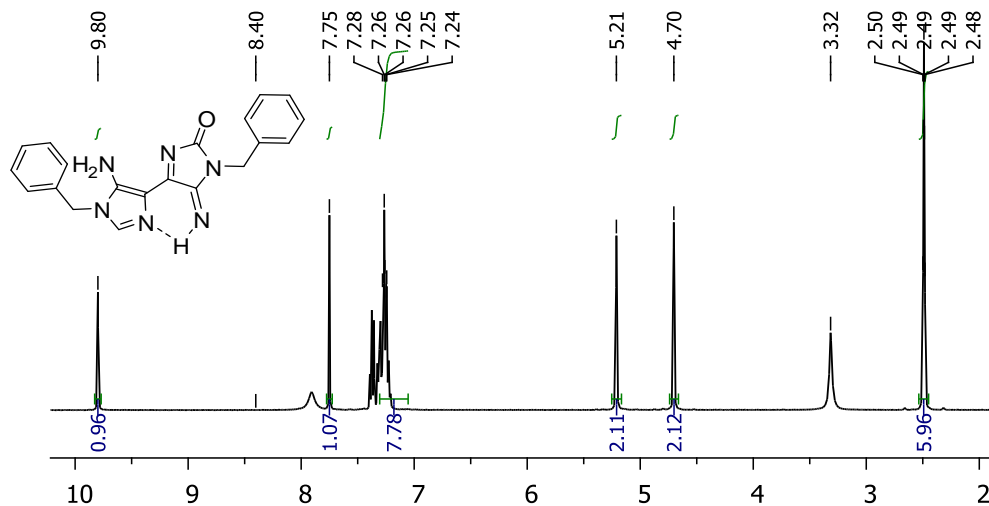


Figura 13. Espectro de ^1H RMN para, o ligando 2.1a (topo), Solução após a adição de EDTA ao complexo 1.3aN (meio) e do complexo 1.3aN (fundo).

A partir dos dados do espectro de ^1H RMN do complexo **1.3aN** (Tabela 12), coordenando o ligando **2.1a** com um íon de níquel(II) pode sustentar-se a ideia que a coordenação do íon metálico acontece envolvendo os átomos de nitrogénio nomeadamente o grupo NH_2 . Comparando com o espectro ^1H RMN do ligando com o espectro do complexo observa-se que no complexo os picos por volta de δ 9.80 ppm e δ 7.90 ppm correspondentes a NH_2 e NH sofrem alterações indicando que estes grupos estarão envolvidos na coordenação com o íon de níquel(II). Pelos dados pode ainda afirmar-se que existe desprotonação do grupo NH_2 . Para verificar a estrutura do ligando na forma complexada, o ligando **2.1a** foi substituído por ligando mais forte – EDTA, adicionado à solução contendo o complexo **1.3aN**. O espectro de ^1H RMN do complexo $[\text{Ni}(\text{EDTA})]$ mostra que o ligando na forma complexada de mantém estável não sofrendo alterações estruturais, pois o espectro realizado depois da substituição do ligando por EDTA é exatamente o mesmo que o do ligando livre (Figura 13).

Tabela 12. Dados espectroscópicos de ^1H RMN (400 MHz DMSO-d_6) do composto **2.1a** e do complexo **1.3aN**.

COMP.	Grupo R	NH/NH ₂	CH (Im.)	H (esqueleto e R)
2.1a	CH ₂ Ph	9.80(s;1H) 7.92 (sl;2H)	7.75 (s;1H)	4.70 (s;2H) 5.21 (s;2H) 7.24-7.30 (m; 10H, 2xPh)
1.3aN	CH ₂ Ph	10.67 (sl;1H) 8.76 (sl;1H)	8.34 (s;1H)	4.70 (s;2H) 6.16 (s;2H) 7.57 sl (sl;5H) 7.29 (sl;5H)

A estruturado ligando na forma complexada foi atribuída e representada na Figura 14 atendendo sobretudo à presença de um próton ácido (10.67 ppm) que evidencia a formação de uma ponte de hidrogénio intramolecular. Baseando neste dados não foi possível atribuir a estrutura do complexo de níquel(II).

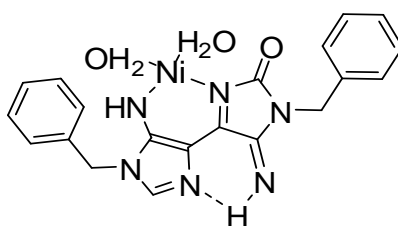


Figura 14. Ligando **2.1a** demonstrando a formação da ponte de hidrogénio intramolecular estabelecida aquando da coordenação como Níquel(II)

2.2.3 ESPECTROSCOPIA UV-VIS E QUANTIFICAÇÃO DO IÃO DE COBRE

QUANTIFICAÇÃO DO IÃO COBRE POR COMPLEXAÇÃO COM CUPRIZONA

A determinação do ião de cobre foi feita para os complexos selecionados que apresentaram dos quais valores ambíguos para a análise elementar, como forma de confirmar a percentagem de cobre e verificar se apenas existia um ião de cobre nos complexos. A metodologia usada para determinar o cobre(II) foi anteriormente descrita na literatura ^{41,42}.

A quantificação do ião cobre no complexo **1.2a** foi realizada com 0.02g de complexo ao qual se adicionou 1 ml de H₂SO₄ concentrado e 1ml de HNO₃ concentrado, deixando-se a mistura em refluxo durante 2 horas. Após as 2 horas deixou-se arrefecer durante 30 min transferindo-se a solução para um balão perfazendo um volume de 50 ml com água. Retiram-se 3 amostras da solução final adicionando-se 2,5 ml de citrato de amónio. O pH da solução deve estar entre 8,5 e 9 e foi ajustado usando solução de amónia concentrada. De seguida adicionou-se cuprisona 5 ml (c=10% em água) para se formar o complexo de cuprizona (observável pela formação de um cor azul na região de contacto). As medidas de pH foram feitas usando um eléctrodo medidor de pH. Deixou-se a solução em repouso durante 10 min antes de se medir a absorvância a $\lambda=600$ nm obtendo-se

$$UV_{600nm} = 0.220 \text{ (pH } 8,49 - 0,5\text{cm}^3)$$

$$UV_{600nm} = 0.270 \text{ (pH } 8,77 - 0,8\text{cm}^3)$$

$$UV_{600nm} = 0.322 \text{ (pH } 8,80 - 1,2 \text{ cm}^3)$$

A massa de cobre (em mg) foi calculada usando a equação da recta de calibração estabelecida anteriormente $A = 4.722155 \times m_{Cu} \text{ (mg)} + 0.0023$. O valor da percentagem de cobre é 14,23% o que sugere a presença de apenas um ião de cobre(II) complexado com um ligando e está com acordo com os resultados da análise elementar.

ESPECTROSCOPIA DE UV-VIS

Os estudos de espectroscopia de UV-vis foram realizados de modo a verificar a estabilidade dos ligandos ao longo do tempo (*Figura 15*) e a diferentes concentrações. Usaram-se concentrações entre $1,24 \times 10^{-5}$ mol - $4,12 \times 10^{-6}$ mol do ligando **2.1b** para caracterizar o seu comportamento em acetonitrilo. O uso deste solvente deve-se à dificuldade de dissolução do complexo em outros solventes e porque este solvente não emite qualquer banda de UV no intervalo de 200 a 800 nm no qual foi realizada a medição. Não se observou alteração significativa para as diferentes concentrações do ligando após 24 horas para concentrações altas 4×10^{-5} M comprovando-se que o ligando não sofre alterações significativas após intervalos de tempo relativamente longos em solução.

No *Figura 16* à esquerda observa-se que o ligando **2.1a** apresenta três picos a 225 nm, 265 nm e a 415 nm e estes aumentam de intensidade com o aumento da sua concentração. A variação da intensidade dos picos como consequência do aumento da concentração respeita a lei de Lambert-Beer e isto é comprovado pelas retas de calibração para os picos: $\lambda = 415$ nm: $A = 3842C + 0.0139$ ($R^2 = 0.99$)

⁴¹ D.F. Wood, R.T. Clark. *Analyst*. 1958, **83** 509.

⁴² Paolo Rumori, Victor Cerdà. *Analytica Chimica Acta*. 2003, **486** 227–235.

e $\lambda = 226 \text{ nm}$: $A = 4120.6C - 0.0095$ ($R^2 = 0.998$). Com estes dados pode afirmar-se que o ligando estará na mesma forma que a forma inicial não sofrendo qualquer alteração devido à concentração.

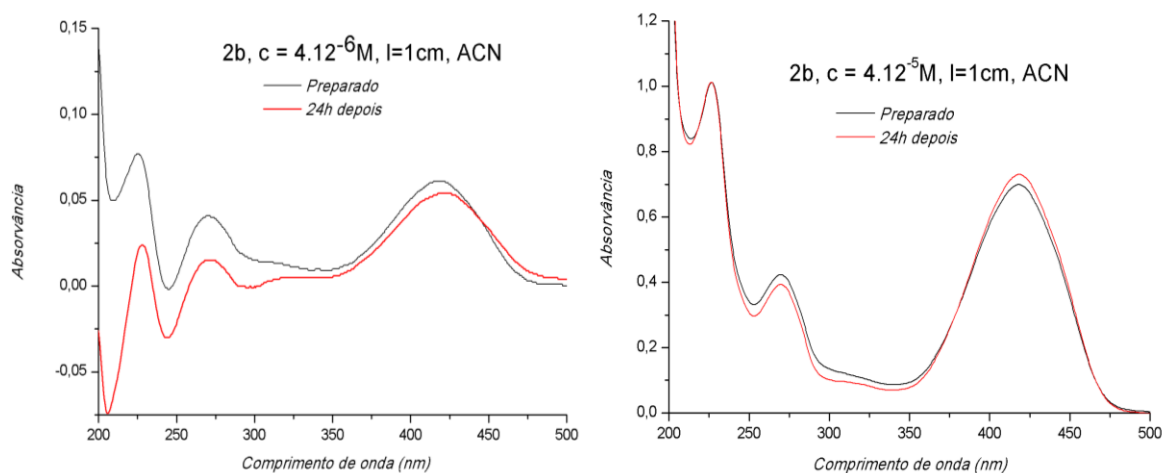


Figura 15. Gráficos das absorvâncias para o ligando **2.1a** imediatamente após a preparação das soluções (preparado) e 24 horas depois (24h depois) para o mínimo e máximo da concentração do intervalo das medições realizadas

Relativamente ao gráfico da direita correspondente a um complexo de cobre(II) com ligando **2.1a** observa-se um deslocamento dos picos correspondentes ao ligando, surgindo dois picos a 280 nm e 450 nm.

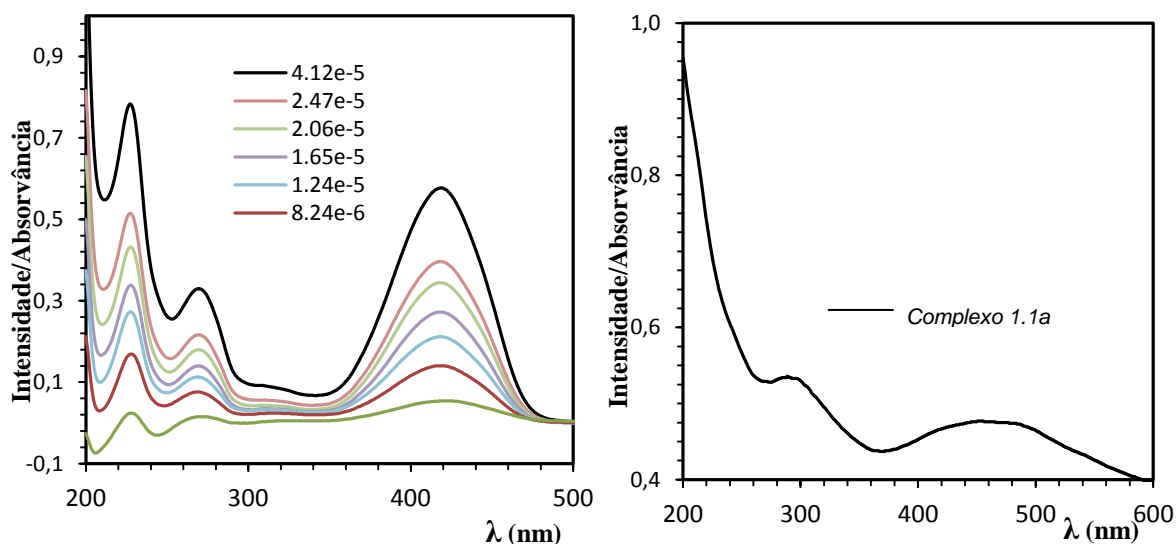


Figura 16. Variação da absorvância para o ligando **2.1a** com diferentes concentrações em moles/dm³ (Esquerda). Espectro do complexo **1.1a** (Direita) em ACN.

Foi ainda realizado um estudo por UV de uma titulação (*Figura 17*) do ligando **2.1a** com uma solução de acetato de cobre(II). Este estudo permitiu compreender o comportamento dos picos na conversão do ligando para forma complexada, sendo visível a diminuição de intensidade do pico a 415 nm com a adição do ião cobre(II) e nota-se um ligeiro deslocamento da posição do pico. O mesmo comportamento é observável para o pico a 260nm.

Baseado nestes dados pode dizer-se que a banda que surge a aproximadamente 460 nm corresponde a uma transição eletrónica d-d. A posição desta mesma banda está de acordo com as interações do complexos, acordando com a coordenação do ião cobre(II) com 4 átomos de nitrogénio sugerida anteriormente por dados de IV e análise elementar.

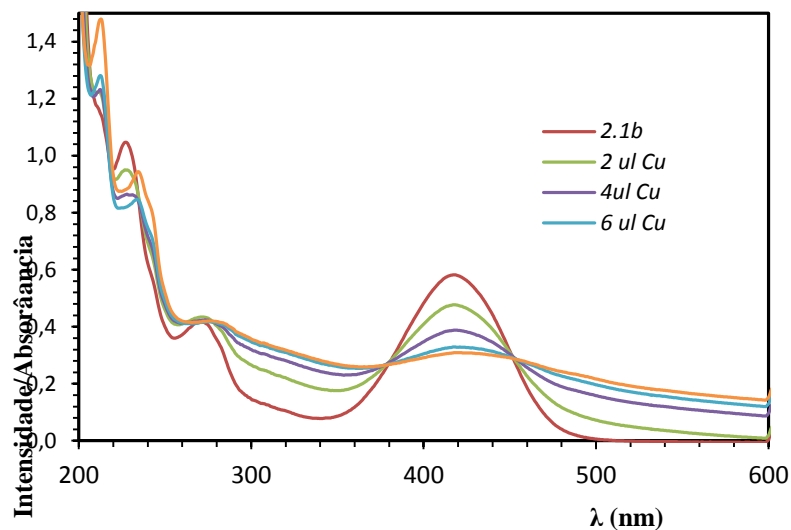


Figura 17. Titulação do ligando **2.1a** com o ião de cobre(II). A 2 ml de uma solução de **2.1a** ($c=8 \times 10^{-5}$ mmol/ml) adicionou-se o volume de 2ul de uma solução de acetato de cobre(II) ($c=8 \times 10^{-5}$ mmol/ml) até a um máximo de 8 ul da solução de acetato de cobre.

CAPÍTULO III

CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA POTENCIAL ATIVIDADE BIOLÓGICA

Têm vindo a ser utilizados no tratamento de doentes com cancro compostos baseados em platina(II), infelizmente a sua utilização apresenta alguns problemas estando atualmente a serem investigados como agentes anticancerígenos promissores numerosos compostos de coordenação com diversos metais. Estes fármacos são distribuídos no corpo como pro-drogas e atingem o seu alvo após ativação por substituição ou transformações induzidas por transferência eletrónica. A presença de iões metálicos conjuntamente com as propriedades eletroquímicas dos ligandos é algo a ter em conta quando se pretende que os complexos ou ligandos sintetizados neste trabalho possam ser usados como agentes anticancerígenos. A determinação das propriedades eletroquímicas permite uma compreensão acrescida do comportamento dos compostos, permitindo relacionar o potencial de redução e a atividade anticancerígena.

3.1 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA: VOLTAMETRIA CÍCLICA

Foi realizada a caracterização eletroquímica dos diversos ligandos e complexos sintetizados utilizando a voltametria cíclica. Durante a realização destes ensaios tornou-se evidente que alguns complexos apresentavam uma certa dificuldade de solubilização em DMSO, o primeiro solvente utilizados sendo desta forma necessário fazer este estudo num novo solvente, o acetonitrilo. Devido à dificuldade de solubilização dos complexos em DMSO não foi possível determinar com rigor a sua concentração nas soluções usadas nestes ensaios

3.1.1 ESTUDOS VOLTAMÉTRICOS DOS LIGANDOS

Para caracterizar o comportamento eletroquímico dos ligandos sintetizados foram traçados voltamogramas cíclicos de soluções destes em DMSO contendo 0,1 M de tetrafluorborato de tetrabuutilamónio em elétrodos de carbono vítreo. Foram registados voltamogramas a diferentes velocidades de varrimento e em diferentes intervalos de potencial. A velocidade de varrimento selecionada para obter os voltamogramas padrão do comportamento dos ligandos foi $0,10 \text{ V s}^{-1}$.

O comportamento eletroquímico de cada ligando é caracterizado pela presença e análise dos picos, obtidos em cada voltamograma, podendo estes variar na sua reversibilidade, posição e intensidade.

BI-IMIDAZOIS (2.1) EM DMSO:

Analisando os voltamogramas obtidos para os ligandos do grupo dos bi-imidazois verifica-se que apresentam um comportamento semelhante. Na Figura 18 é apresentado um voltamograma cíclico típico desta família. Apesar do comportamento eletroquímico dos bi-imidazois ser semelhante observam-se ligeiras diferenças nos voltamogramas obtidos para os ligandos **2.1a**, **2.1c** e **2.1i** (Tabela 13). Nos voltamogramas dos compostos **2.1c** e **2.1i** verifica-se a ausência de um pico de redução (I_c) e no do composto **2.1a** observa-se o comportamento típico e ainda a presença de um pico extra de redução

Tabela 13. Dados voltamétricos para o processo de redução de soluções dos ligandos do grupo dos bi-imidazóis (2.1a-i), em DMSO, divididos pelo em dois conjuntos: seu comportamento grupos alifático (Alifát.) ou anéis de 5 e/ou 6 membros (PheR), apresentando os respectivos grupos R's e os valores das constantes de Hammett dos substituintes considerando o efeito indutivo (σ Ind.) e de ressonância (σ Res.)

LIGANDOS		REDUÇÃO (V vs. ECS)			OXIDAÇÃO (V vs. ECS)		Grupo R	σ Ind.	σ Res.
		Pico Extra	Pico I (Ic)	Pico II (IIc)	Pico IV (Ia)	Pico V (IIa)			
PheR	2.1a	-0,755	-1,152	-1,982	-0,983	--	CH ₂ C ₆ H ₅	0	-0,13
	2.1b	-0,408	-1,171	-2,089	-1,013	--	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₃	0,04	-0,14
	2.1i	--	--	-1,996	-1,021	-0,261	(CH ₂) ₂ Morfilina	0,01	0,15
Alifát	2.1c	--	--	-2,084	-0,976	--	C ₆ H ₁₀	-0,01	-0,13
	2.1d	--	-1,150	-2,066	-0,982	--	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	0,04	-0,14
	2.1h	--	-1,162	-2,094	-0,994	--	CH ₃	-0,01	-0,16
	2.1g	--	-1,185	-2,067	-1,182	-0,492	(CH ₂) ₅ OH	0	-0,16
	2.1e	--	-1,239	-1,858	-1,026	-0,434	CH ₂ CH ₂ OH	0,06	-0,12
	2.1f	--	-1,173	-2,112	-0,989	-0,87	CH ₂ C ₇ H ₅ O ₂	0,05	-0,13

Os voltamogramas cíclicos destes compostos apresentam (Figura 18) dois picos de redução irreversíveis, quando se varia o potencial no sentido dos potenciais catódicos (Ic) e (IIc), observando-se no varrimento inverso um pico de oxidação também irreversível (Ia). Este pico corresponde à oxidação de uma espécie que se formou no segundo processo de redução (IIc) pois quando se traça o voltamograma envolvendo apenas o pico (Ic) o pico (Ia) não surge no voltamograma.

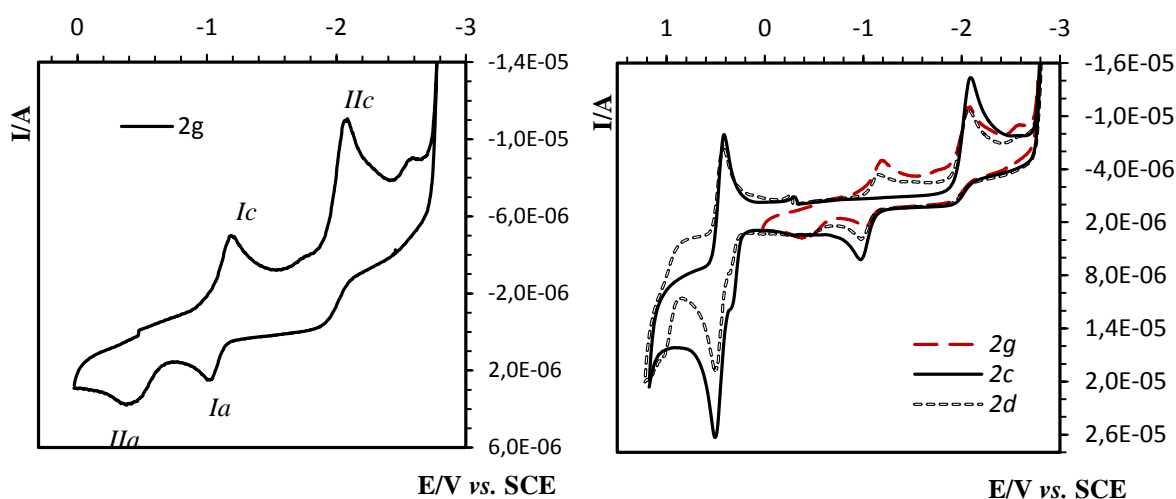


Figura 18. Voltamogramas cíclicos de uma solução 1.0 mM dos compostos 2.1c e 2.1d (direita) e dos compostos 2g (esquerda) em DMSO contendo 0.1 M nBu₄NBF₄ registrados à velocidade de 0.10 V s⁻¹ num eletrodo de carbono vítreo (a parte do voltamograma entre 0 e 1,5 V s⁻¹ apresenta os picos do ferroceno)

Surge ainda em alguns dos voltamogramas um outro pico de oxidação (IIa) que está ausente da maioria dos compostos levando a crer ser resultado de algum produto secundário formado apenas em

alguns compostos. Este pico apresenta uma largura bem maior que os outros picos e uma intensidade de corrente inferior em relação aos restantes picos.

O pico (*I_c*) surge nos voltamogramas desta família de ligandos entre os valores de -1,15 V e -1,24 V *vs.* ECS sendo este o primeiro pico de redução observável para a maioria dos compostos. Segue-se o pico (*I_{lc}*) compreendido entre -1,85 V e -2,12 V *vs.* ECS com uma intensidade superior cobrindo um intervalo de cerca 250 mV. O pico (*I_c*) para corresponder a formação de um anião radical e o pico (*I_{lc}*) que é influenciado pelo pico (*I_c*) para ser a redução da espécie formada no primeiro pico. No varrimento inverso observa-se o terceiro pico, correspondendo a um pico de oxidação (*I_a*) que surge entre os valores -0,97 V -1,19 V *vs.* ECS sendo este pico atribuído à oxidação do produto formado durante a redução que dá origem ao pico (*I_c*).

Verifica-se que o pico (*I_c*) está ausente nos voltamogramas dos dois compostos que apresentam grupos cíclicos mas sem carácter aromáticos (**2.1c** e **2.1i**), contudo o composto **2.1f** comporta-se de uma forma diferente dos dois anteriores apresentando o pico (*I_c*). Estes resultados sugerem que a presença de um anel aromático como substituinte leva a diferenças significativas nos voltamogramas sendo o carácter não-aromático do anel provavelmente responsável pelo não aparecimento do pico (*I_c*). Uma outra observação diz respeito ao pico extra que surge apenas em dois compostos, **2.1a** e **2.1b** sugerindo que este pico extra é uma consequência da presença do grupo fenilo dos grupos R de ambos os compostos.

Analisando os valores dos potenciais do primeiro pico de redução é claro que entre os vários compostos não existe uma variação muito significativa destes valores, observando-se que os compostos que apresentam o átomo de oxigénio no grupo substituinte, **2.1b**, **2.1d**, **2.1e**, **2.1f**, **2.1g** e **2.1i** têm valores de potencial mais reduzidos (em valor absoluto), ou seja são mais facilmente reduzidos do que os compostos como a mesma estrutura onde não está presente este átomo.

Em relação ao segundo pico redução (*I_{lc}*), torna-se algo complicado estabelecer entre os ligandos qualquer padrão para os valores de potencial, pois a oscilação destes valores é muito pequena. Mesmo assim a presença deste pico sugere que a redução que origina o pico (*I_{lc}*) é proveniente de uma espécie formada durante a redução do pico (*I_c*) onde se forma um radical anião.

De realçar que o pico (*I_a*) observado no varrimento inverso surge em todos os voltamogramas, isto é explicado pelo facto de esta oxidação estar relacionada como a formação do pico (*I_{lc}*) que está presente também em todos os compostos. Um facto interessante diz respeito ao pico (*I_{la}*) que surge apenas para grupos R's contendo o átomo de O exacto quando este pertence ao grupo metilo, como é o caso dos compostos **2.1g**, **2.1e** e **2.1i**.

Estudos anteriores mostram que, frequentemente, existe uma correlação entre o potencial de eléctrodo de uma família de compostos orgânicos e as constantes de Hammett para os substituintes. No entanto neste trabalho não foi possível observar qualquer relação entre os valores das constantes de Hammett para os substituintes (considerando o efeito indutivo ou o de ressonância) e os potenciais de pico de redução dos vários compostos sugerindo que não estarão apenas efeitos indutivos ou de ressonância envolvidos no comportamento eletroquímico dos ligandos.

Em conclusão, a presença do átomo de oxigénio nos substituintes tem como consequência uma diminuição dos potenciais de redução e os compostos com o grupo fenilo no grupo substituinte apresentam valores de potencial mais baixos indicando que a presença deste grupo facilita a redução dos compostos. O potencial do primeiro pico de redução (I_c) é dependente do grupo R, com grupos alquílicos possuindo o grupo hidroxilo a dificultarem o processo de redução e grupos como $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ e $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ a serem os grupos que tornam mais fácil o processo de redução.

PIRROLIL-IMDAZOIS (2.2), EM DMSO:

Foram estudados três compostos da família dos carbonitrilos que apresentam um comportamento eletroquímico diferente dos bi-imidazois (*Figura 19*) e os voltamogramas desta família de compostos apresentam apenas dois picos. Observa-se apenas um pico de redução (I_c) e um pico de oxidação (I_a) localizados nos intervalos -1,6 V a -1,7 V vs. ECS e -0,85 V a -0,93 V vs. ECS respetivamente. Comparando os voltamogramas dos compostos **2.2d** e **2.2e** pode dizer-se que a presença do grupo metoxilo facilita o processo de redução, com o pico de redução do composto **2.2d** a surgir por volta de -1,667 V vs. SCE (*Tabela 14*) em comparação como o valor de -1,715 V vs. SCE do composto **2.2e** sugerindo que a presença do átomo de oxigénio é responsável por esta variação. Devido à sua alta electronegatividade este atrai a densidade electrónica para seu redor estabilizando o anião radical formado por redução. Comparando com os voltamogramas dos ligandos bi-imidazois a principal diferença é a ausência do pico I_c por volta de -1,1 V vs. ECS e que o único pico de redução para os carbonitrilos surge na mesma zona de potencial que o pico I_{1c} das bi-imidazois.

Figura 19. Voltamogramas cíclicos para a redução de uma solução 1.0 mM dos compostos **2.2e** e **2.2d** em DMSO contendo 0.1 M $n\text{Bu}_4\text{NBF}_4$ registado à velocidade de 0.10 V s^{-1} num eletrodo de carbono vítreo (a parte do voltamograma entre 0 e $1,5 \text{ V s}^{-1}$ apresenta os picos do ferroceno)

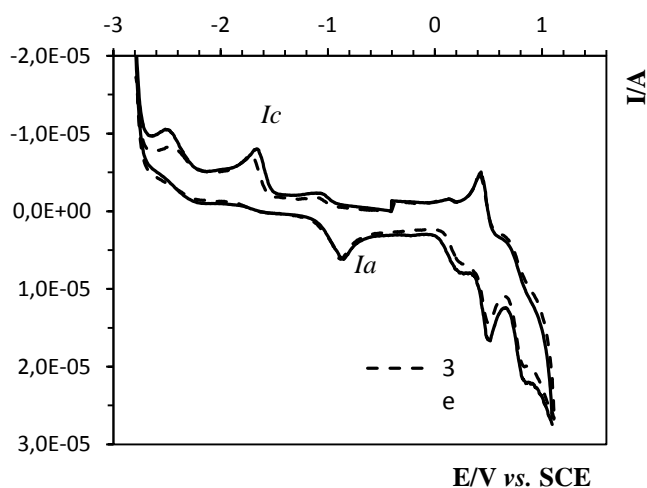


Tabela 14. Dados voltamétricos para o processo de redução de soluções dos ligandos da família dos carbonitrilos (**2.2e, d e c**) em DMSO, apresentando os respectivos grupos R e os valores das constantes de Hammett dos substituintes considerando o efeito indutivo ($\sigma_{Ind.}$) e de ressonância ($\sigma_{Res.}$)

LIGANDOS		REDUÇÃO (V vs. ECS)	OXIDAÇÃO (V vs. ECS)	Grupo R	$\sigma_{Ind.}$	$\sigma_{Res.}$
		Pico I (Ic)	Pico II (Ia)			
PheR	2.2e	-1,715	-0,882	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₃	0,04	-0,14
	2.2d	-1,660	-0,858	C ₆ H ₄ CH ₃	0,10	-0,13
	2.2c	-1,753	-0,926	CH ₂ C ₇ H ₅ O ₂	0,05	-0,13

BI-IMIDAZOIS (2.1a e 2.1b), EM ACN:

Não sendo possível realizar os estudos voltamétricos para os complexos em DMSO foi necessário realizar medições para os ligandos no mesmo solvente que os complexos, em ACN. O ligando **2.1a** apresenta um pico de redução a -1,795 V vs. ECS e o ligando **2.1b** dois picos de redução a -0,886 V vs. ECS e a -1,91 V vs. ECS (Tabela 15). Ambos os ligandos **2.1a** e **2.1b** apresentam dois picos de oxidação por volta de -0,9 V vs. ECS (-0,96 V e -0,999 V respectivamente) e um pico a -1,598 V vs. ECS para o ligando **2.1a** e a -1,796 V vs. ECS para o ligando **2.1b**.

Os valores dos potenciais de pico de oxidação (Ia) para os ligandos em ACN são praticamente iguais para os observados em DMSO para o mesmo processo. Quando em ACN os ligandos **2.1a** e **2.1b**, apresentando apenas dois picos de redução (Ic) e (IIc) contrariamente ao 3 observados quando em DMSO. A diferença do pico (Ic), apenas presente para o ligando **2.1b** apresenta valores mais baixos (valores absolutos) quando em ACN, observando-se o oposto para o pico (IIIc).

3.1.2 ESTUDOS VOLTAMÉTRICOS DOS COMPLEXOS

Porque a solubilidade dos complexos em DMSO é muito baixa e se observou que ocorria a dissociação dos complexo substitui-se o DMSO por ACN para a realização dos voltamogramas dos complexos. A dissociação foi confirmada por comparação dos voltamogramas dos complexos com o respectivo ligando, observando-se que iram iguais variando apenas a intensidade dos picos no complexo. Como já foi referido, o ACN foi usado também para preparar as soluções dos ligandos, tendo por objetivo a comparação dos correspondentes voltamogramas. Desta forma é possível comparar as propriedades electroquímicas do ligando adequado com os seus diversos complexos (Tabela 15).

Começamos por comparar o voltamograma do ligando **2.1b** (Figura 20) com o do seu complexo **1.1b** que apresenta dois picos de redução a potenciais de -0,856 V e -1,701 V vs. ECS. O primeiro pico redução do complexo surge a um potencial idêntico ao do ligando, ao contrário do segundo pico que apresenta valores mais elevados (termos absolutos) que o ligando com um pico a -2,16 V vs. ECS. O complexo apresenta um único pico de oxidação por volta de -0,77 V vs. ECS.

No complexo **1.2b** estão presentes três picos de redução a -1,392 V, -1,431 V e -1,872 V vs. ECS e dois picos de oxidação -1,205 V e -1,708 V vs. ECS fazendo deste o complexo onde se observam mais

processos de reduções. Analisemos agora as diferenças entre o comportamento voltamétrico do ligando **2.1a** e dos seus complexos.

Tabela 15. Dados voltamétricos para o processo de redução de soluções dos ligandos **2.1a** e **2.1b** em ACN e dos seus complexos, apresentando respectivos grupos R's e o íon metálico complexado com o ligando.

LIGANDOS			OXIDAÇÃO (V vs. ECS)		REDUÇÃO (V vs. ECS)			Metal	Grupo R
			Pico I (Ia)	Pico II (IIa)	Pico III (Ic)	Pico IV (IIc)	Pico V (IIc)		
ACN	L	2.1a	-0,960	--	--	--	-1,795	--	CH ₂ C ₆ H ₅
		2.1b	-0,999	--	-0,886	--	-1,910	--	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₃
	C	1.1a	-1,050	--	--	-1,211	-2,156	Cu	CH ₂ C ₆ H ₅
		1.1b	-0,770	--	-0,856	--	-1,701	Cu	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₃
		1.2a	-0,710	-1,776	-0,900	--	-1,909	Cu	CH ₂ C ₆ H ₅
		1.2b	-1,205	-1,708	-1,392	-1,431	-1,872	Cu	CH ₂ C ₆ H ₄ OCH ₃ (sem refluxo)
		1.3aN	-0,435	--	--	--	-1,623	Ni	CH ₂ C ₆ H ₅

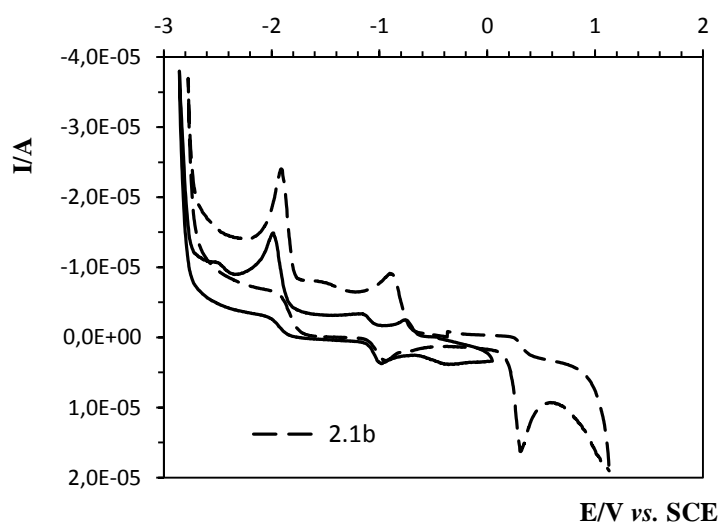


Figura 20. Voltamogramas cíclicos de uma solução 1.0 mM dos compostos **2.1a** e **2.1b** em ACN contendo 0.1 M nBu₄NBF₄ registrado à velocidade de 0.10 V s⁻¹ num eletrodo de carbono vítreo

Relativamente ao comportamento voltamétrico do complexo **1.1a**, este apresenta dois picos de redução com valores de -1,211 V e -2,156 V vs. ECS sendo este o complexo que apresenta um pico a valores de potenciais mais reduzidos de todos os complexos. Assim o complexo **1.1a** e o complexo **1.2b** (Figura 21) são os complexos com valores mais baixos de potencial (mais negativos) ou seja são os complexos mais difíceis de reduzir. Olhando para os valores de potencial de pico obtidos para o complexo de Níquel(II) (**1.3aN**), um pico de redução a -1,623 V vs. ECS e um de oxidação a -0,435 V vs. ECS e comparando-os com os valores para o ligando observa-se que tanto os picos de oxidação como os de redução surgem a potenciais superiores (valores absolutos) que para o ligando, ou seja os complexos são reduzidos mais facilmente que os ligandos.

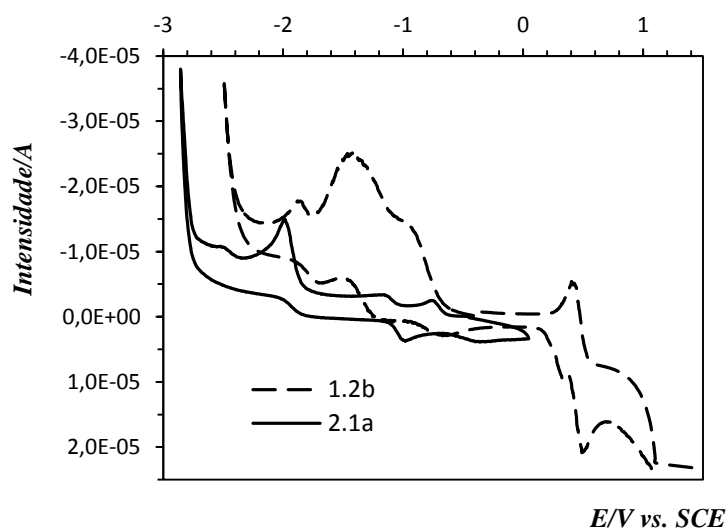


Figura 21. Voltamogramas cíclicos de uma solução 1.0 mM do ligando **2.1a** e complexo **1.2b** em ACN contendo 0.1 M $n\text{Bu}_4\text{NBF}_4$ registado à velocidade de 0.10 V s^{-1} num eléctrodo de carbono vítreo

Nestes resultados pode observar-se que a coordenação dos ligandos altera significativamente o comportamento electroquímico alterando a presença e posição de alguns picos nos complexos. Contudo de uma forma geral verifica-se que os valores dos potenciais dos picos de redução dos complexos são menos negativos que os dos correspondentes ligandos, excepto no caso **1.2b** indicando que a presença do ião metálico facilita a redução dos complexos em comparação com o ligando.

Desta forma pode concluir-se que o complexo **1.2a** e **1.1b** surgem como os complexos com o pico de redução a potenciais mais elevados, $-0,900 \text{ V}$ e $-0,856 \text{ V vs. ECS}$ respetivamente fazendo deste os compostos mais fáceis de reduzir dos complexos testados.

A presença do átomo de oxigénio, retirador de electrões, parece facilitar ambos os processos de oxidação como redução, comparativamente entre os complexos 1.1a e 1.1b. Contudo no caso dos complexos 1.2a e 1.2b a presença deste átomo parece tornar difícil ambos os processos

3.2 COMPLEXOS METÁLICOS E ATIVIDADE BIOLÓGICA

Pretendia-se que os complexos sintetizados e caracterizados nesta dissertação fossem comparados em termos de potencial de redução e comportamento electroquímico com um complexo de cobre(II) já conhecido que demonstrou apresentar atividade anticancerígena. Contudo não foi possível sintetizar o composto ATICAR o que impossibilitou alcançar uma referência que permitisse comparar com os complexos estudados neste trabalho e assim tentar prever quais poderiam apresentar atividade anticancerígena.

Mesmo assim, observaram-se algumas características importantes para os complexos sintetizados. Os complexos obtidos são difíceis de dissolver em DMSO. Contudo a partir do voltamograma traçado

para o complexo **1.1a** pode-se obter a informação que este se dissocia em DMSO. O complexo **1.1a** quando dissolvido em DMSO não é estável e os dados dos voltamogramas sugerem que o ligando no complexo é substituído por moléculas de DMSO. Este solvente tem um alto número de dador de Gutmann em comparação com o ACN, sendo menos provável que, ocorra esta substituição em soluções de ACN. Assim este solvente foi a nossa escolha para as medições dos voltamogramas.

De uma forma geral os complexos em ACN apresentam nos voltamogramas picos a valores de potencial diferentes dos ligandos e com algumas diferenças na presença dos picos de redução ou oxidação. A existência de um composto de referência com atividade anticancerígena para comparação com os complexos de cobre(II) permitiria identificar potenciais agentes anticancerígenos tanto de entre os vários complexos como dos ligandos. Considerando as aplicações do grupo imidazol em medicina os vários imidazois sintetizados neste trabalho podem demonstrar atividade como antifúngicos, antibacterianos ou de anticancerígeno.

CAPÍTULO IV

PARTE EXPERIMENTAL

4.1 INSTRUMENTAÇÃO E REAGENTES

Os reagentes de partida para a síntese de compostos foram adquiridos das firmas Sigma-Aldrich, Merck e Riedel. Os solventes usados em todas as reações efectuadas tinham a designação de puros (PA). Para as reações realizadas em meio aquoso, foi sempre usada água destilada.

Os espectros de IV foram registados num espectrofotómetro Bomen MB-Series (MB104) e a preparação das amostras sólidas foi efectuada usando Nujol, em células de cloreto de sódio. A análise elementar foi obtida usando o aparelho Leco CHNS-932.

As reações efectuadas foram seguidas por cromatografia em camada fina (TLC) e utilizaram--se placas de gel de sílica, com indicador fluorescente de 0,25 mm de espessura (Schleicher & Schuell, Thin Layer Chromatography Plates). O eluente geralmente utilizado foi uma mistura de diclorometano/etanol (9:1). As manchas foram visualizadas sob luz ultravioleta (UV λ máx 254nm). As evaporações efectuaram-se sob pressão reduzida em evaporador rotativo Buchi R-114 ou R-210.

Os espectros de ^1H RMN foram registados num espectrofotómetro Varian Unity Plus (^1H : 300 MHz) ou Bruker Avance 3400 (^1H : 400 MHz) à temperatura ambiente. O solvente usado para o traçado dos espectros foi o sulfóxido de dimetilo deuterado (DMSO- d_6). O solvente foi usado como referência interna nos espectros de ^1H RMN e os deslocamentos químicos foram registados em unidades ppm.

Para realizar as experiências eletroquímicas utilizou-se uma célula de vidro de três eléctrodos, em que o eléctrodo de trabalho era um disco de carbono vítreo (diâmetro 3 mm), o electrodo secundário um fio de platina e o electrodo de referência era o eléctrodo de calomelanos saturado (ECS).

Os voltamogramas cíclicos foram registados à temperatura ambiente e os valores dos potenciais apresentados usam como referência o eléctrodo de calomelanos saturado (ECS). Antes de fazer as medições fez-se passar nas soluções uma corrente de árgon para eliminar qualquer oxigénio dissolvido e limpou-se o eléctrodo de trabalho usando uma suspensão aquosa de 0.05 μm alumina.. Estas medições foram realizadas num potenciostato Autolab PGSTAT 30 controlado pelo *software* GPES (General Purpose Electrochemical System) versão 4.9 (Ecochimie, Utrecht, The Netherlands).

4.2 SÍNTESE DE LIGANDOS ORGÂNICOS

4.2.1 *N*-((*Z*)-2-AMINO-1,2-DICIANOVINIL)FORMIMIDATO DE ETILO

N-((*Z*)-2-amino-1,2-dicianovinil)formimidato de etilo

Dissolveu-se diaminomaleonitrilo (10.80g; 0.10 mol) em 150 ml de dioxano. A esta solução foi adicionado ortoformiato de etilo (14.80g; 0.10 mol) misturando-se até se obter uma solução homogênea pelo uso de banho de ultrassons. Procedeu-se à destilação da solução usando uma coluna de Vigreux e mantendo a temperatura a 90° C até o solvente recolhido alcançar o volume de 85 ml. Fez-se de seguida uma cromatografia em “flash” seca usando gel de sílica. À solução resultante adicionou-se éter etílico e n-hexano e colocou-se no frio por 30 minutos. Precipitaram impurezas de cor escura. Filtrou-se a solução através de gel de sílica removendo assim o material negro. Da solução precipitou um sólido branco que foi filtrado e lavado com éter etílico e n-hexano. O sólido foi identificado como *N*-((*Z*)-2-amino-1,2-dicianovinil) formimidato de etilo (3.03g 0.01 mol; 9.80%) com base nos dados analíticos e espectroscópicos (IV e ¹H RMN).

4.2.2 TENTATIVA DE SÍNTESE DO ÁCIDO 5-AMINO-1-TOLILIMIDAZOL-4-CARBOXÍLICO

Ácido 5-amino-1-tolilimidazole-4-carboxílico (1a)

Método A: Dissolveu-se 5-amino-1-tolilimidazole-4-carbonitrilo (0.57g; 2.88 mmol) em HCl aquoso (2 ml: 4M) perfazendo o volume de 8 ml com água. A solução foi refluxada durante 6 horas seguindo a reação por TLC. No final do refluxo deixou-se arrefecer à temperatura ambiente. Assim que a temperatura desceu precipitou um sólido amarelo. Filtrou-se a solução obtendo-se um sólido forma de agulhas de tom amarelado que foi caracterizado por métodos analíticos e espectroscópicos identificando-se quantidade vestigiais do ácido 5-amino-1-tolilimidazole-4-carboxílico (IV e ¹H RMN). (0.23g; 19.04%).

Método B: Dissolveu-se 5-amino-1-tolilimidazole-4-carbonitrilo (0.2g; 1.16 mmol) em HCl aquoso (2 ml: 4M) perfazendo o volume de 8 ml com água. A solução foi refluxada durante 4 horas seguindo a reação por TLC. Não precipitando qualquer sólido evaporou-se o solvente até se observar precipitação e filtrou-se o sólido. O sólido obtido com cor esverdeada foi caracterizado por métodos analíticos e espectroscópicos identificando-se como sendo o 5-amino-1-tolilimidazole-4-carbonitrilo (IV e ¹H RMN).

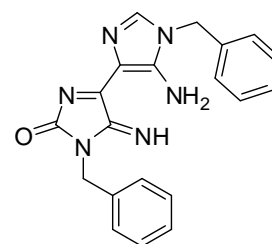
Método C: Dissolveu-se 5-amino-1-tolilimidazole-4-carbonitrilo (0.45g; 2.27 mmol) em NaOH aquoso (2 ml: 4M) perfazendo o volume de 6 ml com água. A solução foi refluxada durante 4 horas seguindo a reação por TLC. No final do refluxo colocou-se a solução no frio durante a noite. Não precipitando qualquer sólido evaporou-se o solvente até se observar precipitação e filtrou-se o sólido. O sólido obtido com cor esverdeada foi caracterizado por métodos analíticos e espectroscópicos identificando-se como sendo o 5-amino-1-tolilimidazole-4-carbonitrilo (IV e ¹H RMN).

Método D: Dissolveu-se 5-amino-1-tolilimidazole-4-carbonitrilo (0.21g; 1.06 mmol) em H₂SO₄ aquoso (2 ml: 6M) perfazendo o volume de 6 ml com água. A solução foi refluxada durante 4 horas seguindo a reação por TLC. No final do refluxo colocou-se a solução no frio durante a noite. Não precipitando qualquer sólido evaporou-se o solvente até se observar precipitação e filtrou-se o sólido. O sólido obtido com cor esverdeada foi caracterizado por métodos analíticos e espectroscópicos identificando-se como sendo o 5-amino-1-tolilimidazole-4-carbonitrilo (IV e ¹H RMN).

4.2.3 DERIVADOS DE 4-(5-AMINO-1-BENZIL-1*H*-IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-1*H*-IMIDAZOL-2(5*H*)-ONA

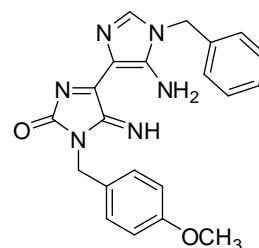
4-(5-amino-1-benzil-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (2.1a)

Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.50g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e benzilamina (1.50g; 0.01 mol; 1.53 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-benzil-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (1.14g; 3.18 mmol; 95.2%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



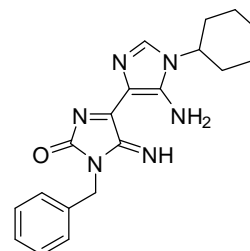
4-(5-amino-1-benzil-1*H*-imidazol-4-il)-5-imino-1-(4-metoxibenzil)-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (2.1b)

Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.5g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e 4-metoxifenil metanamina (1.85g; 0.01 mol; 1.76 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-benzil-1*H*-imidazol-4-il)-5-imino-1-(4-metoxibenzil)-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (0.94g; 2.42 mmol; 72.3%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



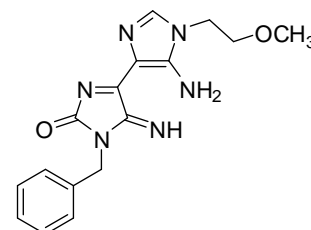
4-(5-amino-1-ciclo-hexil-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (2.1c)

Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.5g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e ciclo-hexilamina (1.32g; 0.01 mol; 1.53 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-ciclo-hexil-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (0.6165g; 1.76 mmol; 52.2%) pelos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



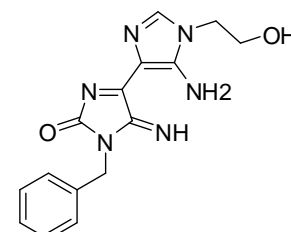
4-(5-amino-1-(2-metoxietil)-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (2.1d)

Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.5g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e 2-metoxietilamina (1.01 g; 0.01 mol; 1.2 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-(2-metoxietil)-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (0.81g; 2.48 mmol; 73.9%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



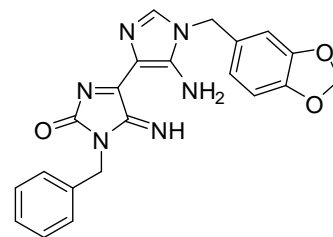
4-(5-amino-1-(2-hidroxietil)-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (2.1e)

Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.5g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e 2-aminoetanol (1.01 g; 0.01 mol; 1.2 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-(2-hidroxietil)-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (0.67g; 2.14 mmol; 74.7%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



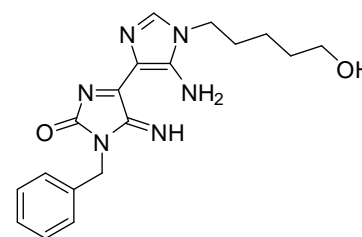
4-(5-amino-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (2.1f)

Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.5g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetanamina (1.01 g; 0.01 mol; 1.2 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (0.93g; 2.31 mmol; 81.3%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



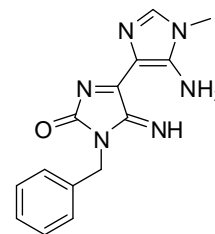
4-(5-amino-1-(5-hidroxipentil)-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (2.1g)

Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.5g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e 5-aminopentanol (1.01 g; 0.01 mol; 1.2 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-(5-hidroxipentil)-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (0.55g; 1.74 mmol; 46.4%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



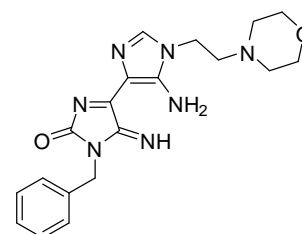
4-(5-amino-1-metil-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (2.1h)

Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.5g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e metilamina (1.01 g; 0.01 mol; 1.2 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-metil-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (0.91g; 3.74 mmol; 95.5%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



4-(5-amino-1-(2-morfolinoetil)-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (2i)

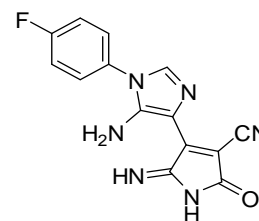
Adicionou-se 1-(2-amino-1,2-dicianovinil)-3-benzilurea (3.00g; 0.01 mol) a ortoformiato de etilo (5.5g; 0.03 mol; 6 ml) em 10 ml de EtOH, adicionando-se 2 gotas de H₂SO₄. A mistura ficou em repouso à temperatura ambiente durante 20 a 30 min, obtendo-se uma solução esbranquiçada que clareia com o passar do tempo. O sólido final foi filtrado e lavado com CH₃CN. Ao produto obtido adicionou-se 10 ml de EtOH e 2-morfolinoetilamina (1.01 g; 0.01 mol; 1.2 ml) e a mistura ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente durante 3 horas. O sólido foi filtrado e lavado com éter etílico e identificando como 4-(5-amino-1-(2-morfolinoetil)-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (1.02g; 2.99 mmol; 79.1%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



4.2.4 DERIVADOS DE 4-(5-AMINO-1H-IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-2-OXO-2,5-DI-HIDRO-1H-PIRROLE-3-CARBONITRILLO

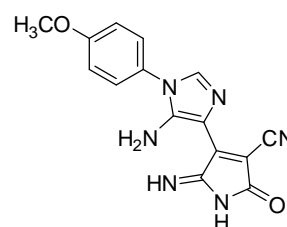
4-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (2.2a)

Adicionou-se uma solução de cianoacetamida (0.73g; 8.68 mmol) em 20 ml de acetonitrilo a cianeto de 5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-imidazole-4-carbimidoílo (1.00g; 4.37 mmol) e duas gotas de DBU. A mistura ficou à temperatura ambiente com agitação durante 4 horas até o reagente inicial desaparecer (TLC). O precipitado vermelho foi filtrado e lavado com éter etílico e acetonitrilo e de seguida seco sob vácuo. O sólido resultante foi identificado como 4-(5-amino-1-(4-fluorofenil)-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (0.53g; 1.79 mmol; 41.1%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



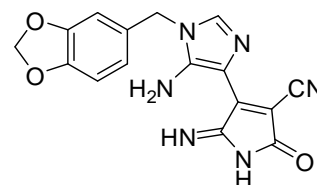
4-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (2.2b)

Adicionou-se uma solução de cianoacetamida (0.88g; 0.01 mol) em 20 ml de acetonitrilo a cianeto de 5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazole-4-carbimidoílo (1.00g; 5.26 mmol) e duas gotas de DBU. A mistura ficou à temperatura ambiente com agitação durante 4 horas até o reagente inicial desaparecer (TLC). O precipitado vermelho foi filtrado e lavado com éter etílico e acetonitrilo e de seguida seco sob vácuo. O sólido resultante foi identificado como 4-(5-amino-1-(4-metoxifenil)-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (0.24g; 0.78 mmol; 18.4%) por dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



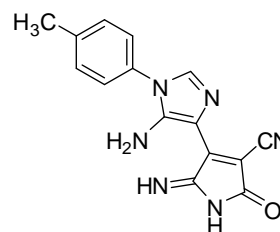
4-(5-amino-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (2.2c)

Adicionou-se uma solução de cianoacetamida (0.49g; 5.83 mmol) em 20 ml de acetonitrilo a cianeto de 5-amino-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-imidazole-4-carbimidoílo (1.00g; 2.93 mmol) e duas gotas de DBU. A mistura deixou-se à temperatura ambiente com agitação durante 4 horas até o reagente inicial desaparecer (TLC). O precipitado vermelho foi filtrado e lavado com éter etílico e acetonitrilo e depois seco a vácuo. O sólido resultante foi identificado como 4-(5-amino-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (0.59g; 1.76 mmol; 39.6%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



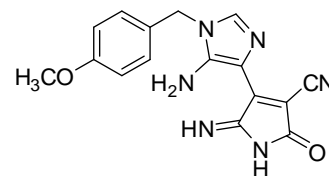
4-(5-amino-1-p-tolil-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (2.2d)

Adicionou-se uma solução de cianoacetamida (0.88g; 0.01 mol) em 20 ml de acetonitrilo a cianeto 5-amino-1-p-tolil-1H-imidazole-4-carbimidoílo (1.00g; 5.26 mmol) e duas gotas de DBU repousando à temperatura ambiente com agitação durante 4 horas até o reagente inicial desaparecer (TLC). O precipitado vermelho foi filtrado e lavado com éter etílico e acetonitrilo e de seguida seco a vácuo. O sólido resultante foi identificado como 4-(5-amino-1-p-tolil-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (0.24g; 0.82 mmol; 18.4%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ¹H RMN).



2-(5-amino-1-(4-metoxibenzil)-1H-imidazol-4-il)-3-metileno-5-oxociclopent-1-enocarbonitrilo (2.2e)

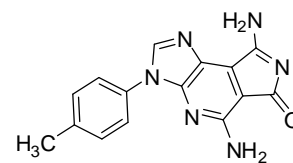
Adicionou-se uma solução de cianoacetamida (0.66g; 7.85 mmol) em 25 ml de acetonitrilo e 20 ml de etanol a cianeto de 5-amino-1-(4-metoxibenzil)-1H-imidazole-4-carbimidoil (1.00g; 3.92 mmol) e duas gotas de DBU. A mistura ficou à temperatura ambiente com agitação durante 4 horas até o reagente inicial desaparecer (TLC). O precipitado vermelho foi filtrado e lavado com éter etílico e acetonitrilo e de seguida seco a vácuo. O sólido resultante foi identificado como sendo 2-(5-amino-1-(4-)1H-imidazol-4-il)-3-metileno-5-oxociclopent-1-enocarbonitrilo (0.30g; 0.93 mmol; 23.4%) com base nos dados espectroscópicos (IV e ^1H RMN).



4.2.5 5,8-DIAMINO-3-P-TOLILIMIDAZO[4,5-B]PYRROLO[3,4-D]PIRIDIN-6(3H)-ONA

5,8-diamino-3-p-tolilimidazo[4,5-b]pirrolo[3,4-d]piridin-6(3H)-ona (3a)

Dissolveu-se em etanol (30 ml) 4-(5-amino-1-p-tolil-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (0.22g; 0.72 mmol) e uma gota de DBU. A solução ficou à temperatura ambiente durante 10 min e precipitou um sólido que foi filtrado e lavado com éter etílico. O sólido obtido foi identificado como 5,8-diamino-3-p-tolilimidazo[4,5-b]pirrolo[3,4-d]piridin-6(3H)-ona no final foi caracterizado por métodos analíticos e espectroscópicos (IV e ^1H RMN). (0.19g; 0.66 mmol; 90.4%)



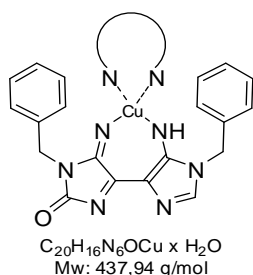
4.3 COMPLEXAÇÃO DOS IÕES METÁLICOS E LIGANDOS

4.3.1 DERIVADOS DE 4-(5-AMINO-1-BENZIL-1H-IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-1H-IMIDAZOL-2(5H)-ONA

4-(5-amino-1-benzil-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona

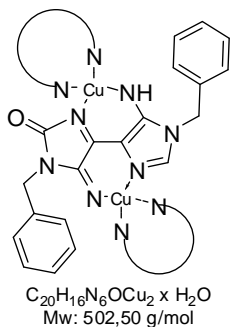
Complexo 1.1a (Cu:Lig-2.1a)

Preparam-se duas soluções. Solução **A**: Solubilizou-se 4-(5-amino-1-benzil-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (**2.1a**) (0.40g; 1.12 mmol) em DMF (40 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $\text{Cu}(\text{Ac})_2\text{xH}_2\text{O}$ (224.4 mg; 1.12 mmol) em etanol (50 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. As soluções **A** e **B** foram misturadas e a solução resultante (**C**) foi colocada em refluxo durante 2 horas. Depois das 2 horas adicionou-se éter etílico e n-hexano de modo a precipitar o sólido e filtrou-se. Foi obtido um sólido castanho-escuro (0.19g; 0.43 mmol; 38.78%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

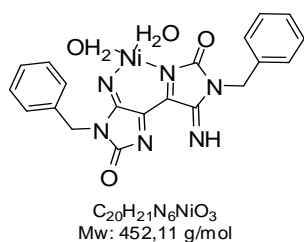


Complexo 1.2a (Cu:Lig-2.1a)

Preparou-se uma solução e uma suspensão. Suspensão **A**: colocou-se 4-(5-amino-1-benzil-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (**2.1a**) (0.10g; 0.28 mmol) em H_2O (150 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $\text{Cu}(\text{Ac})_2\text{xH}_2\text{O}$ (90.2 mg; 0.45 mmol) a H_2O (40 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. A suspensão e a solução foram misturadas á suspensão resultante (**C**) adicionou-se DBU até a cor mudar e foi colocada em agitação durante 3 dias à temperatura ambiente filtrando-se depois o sólido. Foi obtido um sólido esverdeado (0.03g; 0.06 mmol; 21.32%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).



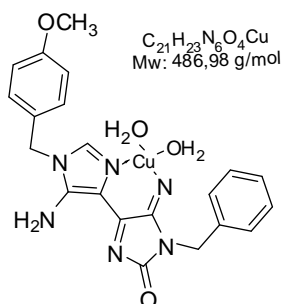
Complexo 1.3aN (Cu:Lig-2.1a)



Preparou-se uma solução e uma suspensão. Suspensão **A**: colocou-se 4-(5-amino-1-benzil-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (**2.1a**) (0.10g; 0.28 mmol) em H_2O (20 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $Ni(Ac)_2 \cdot 4H_2O$ (70.3 mg; 0.40 mmol) a H_2O (20 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. A suspensão e a solução foram misturadas á suspensão resultante (**C**) adicionou-se DBU até a cor mudar e foi colocada em agitação durante 3 dias à temperatura ambiente filtrando-se depois o sólido Foi obtido um sólido esverdeado (0.03g; 0.06 mmol; 21.32%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

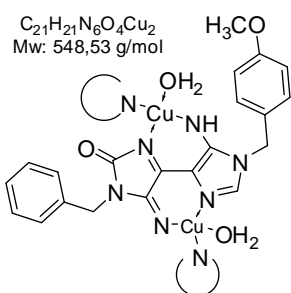
4-(5-amino-1-benzil-1*H*-imidazol-4-il)-5-imino-1-(4-metoxibenzil)-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona

Complexo 1.1b (Cu:Lig-2.1b)



Preparou-se uma solução e uma suspensão. Suspensão **A**: colocou-se 4-(5-amino-1-benzil-1*H*-imidazol-4-il)-5-imino-1-(4-metoxibenzil)-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (**2.1b**) (0.40g; 1.03 mmol) em DMF (15 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $Cu(Ac)_2 \cdot xH_2O$ (207.6 mg; 1.03 mmol) em etanol (40 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. A suspensão e a solução foram misturadas á suspensão resultante (**C**) adicionou-se DBU até a cor mudar e foi colocada em agitação durante 3 dias à temperatura ambiente filtrando-se depois o sólido. Foi obtido um sólido esverdeado (0.44g; 0.90 mmol; 88.00%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

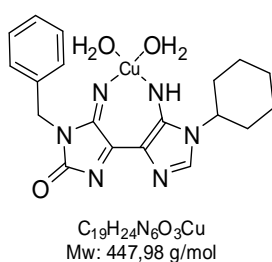
Complexo 1.2b (Cu:Lig-2.1b)



Preparam-se duas soluções. Solução **A**: Solubilizou-se 4-(5-amino-1-benzil-1*H*-imidazol-4-il)-5-imino-1-(4-metoxibenzil)-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (**2.1b**) (0.10g; 0.26 mmol) em H_2O (150 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $Cu(Ac)_2 \cdot xH_2O$ (90.3 mg; 0.45 mmol) em H_2O (20 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. As soluções **A** e **B** foram misturadas e à solução resultante (**C**) adicionou-se DBU até a cor da solução mudar e foi colocada em refluxo durante 3 horas. Depois das 3 horas adicionou-se éter etílico e n-hexano de modo a precipitar o sólido e filtrou-se. Foi obtido um sólido esverdeado (0.08g; 0.15 mmol; 57.14%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

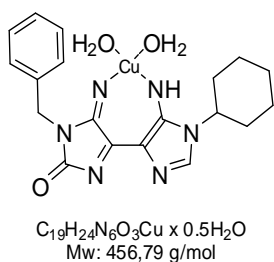
4-(5-amino-1-ciclo-hexil-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona

Complexo 1.1c (Cu:Lig-2.1c)



Preparou-se uma solução e uma suspensão. Suspensão **A**: colocou-se 4-(5-amino-1-ciclo-hexil-1*H*-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1*H*-imidazol-2(5*H*)-ona (0.40g; 1.14 mmol) em DMF (20 ml) Solução **B**: Solubilizou-se $Cu(Ac)_2 \cdot xH_2O$ (228.4 mg; 1.14 mmol) em etanol (20 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. A suspensão e a solução foram misturadas á suspensão resultante (**C**) adicionou-se DBU até a cor mudar e foi colocada em agitação durante 3 dias à temperatura ambiente filtrando-se depois o sólido. Foi obtido um sólido castanho-esverdeado (0.47g; 1.05 mmol; 92.15%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

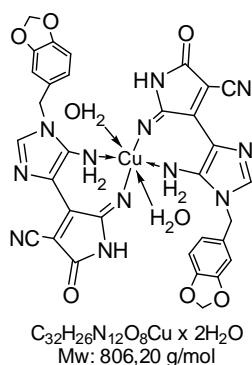
Complexo 1.2c (Cu:Lig-2.1c)



Preparam-se duas soluções. Solução **A**: Solubilizou-se 4-(5-amino-1-ciclo-hexil-1H-imidazol-4-il)-1-benzil-5-imino-1H-imidazol-2(5H)-ona (0.10g; 0.29 mmol) em H_2O e EtOH (15+5 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $Cu(Ac)_2 \times H_2O$ (57.2 mg; 0.29 mmol) em H_2O (20 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. As soluções **A** e **B** foram misturadas e a solução resultante (**C**) foi colocada em agitação à temperatura ambiente durante 3 dias. Depois de 3 dias adicionou-se éter etílico e n-hexano de modo a precipitar o sólido e filtrou-se. Foi obtido um sólido com tonalidade verde-escuro (0.12g; 0.27 mmol; 92.30%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

4.3.2 DERIVADOS DE 4-(5-AMINO-1H-IMIDAZOL-4-IL)-5-IMINO-2-OXO-2,5-DI-HIDRO-1H-PIRROLE-3-CARBONITRILU

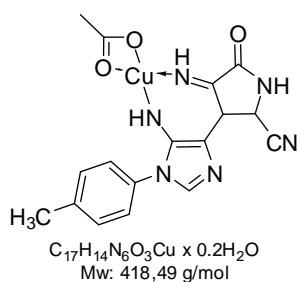
4-(5-amino-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo



Complexo 2.1c (Cu:Lig-2.2c)

Preparam-se duas soluções. Solução **A**: Solubilizou-se o composto 4-(5-amino-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (**2.2c**) (0.10g; 0.03 mmol) em DMF (10 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $Cu(Ac)_2 \times H_2O$ (59.40 mg; 0.03 mmol) em EtOH (20 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. As soluções **A** e **B** foram misturadas e a solução resultante (**C**) colocada em agitação à temperatura ambiente durante 3 dias. Depois de 3 dias adicionou-se éter etílico e n-hexano de modo a precipitar o sólido e filtrou-se. Foi obtido um sólido com tonalidade vermelho (0.02g; 4.83 mmol; 83.33%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

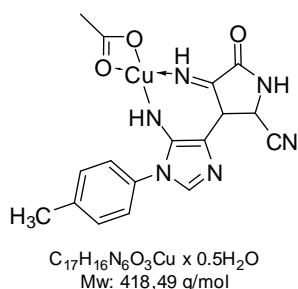
4-(5-amino-1-p-tolil-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (2.2d)



Complexo 2.1d (Cu:Lig-2.2d)

Preparam-se duas soluções. Solução **A**: Solubilizou-se o composto 4-(5-amino-1-p-tolil-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (**2.2d**) (0.10g; 0.34 mmol) em DMF (20 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $Cu(Ac)_2 \times H_2O$ (59.20 mg; 0.30 mmol) em EtOH (25 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. As soluções **A** e **B** foram misturadas e a solução resultante (**C**) foi colocada em agitação à temperatura ambiente durante 3 dias. Depois de 3 dias adicionou-se éter etílico e n-hexano de modo a precipitar o sólido e filtrou-se. Foi obtido um sólido com tonalidade castanha (0.03g; 0.07 mmol; 4.83%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

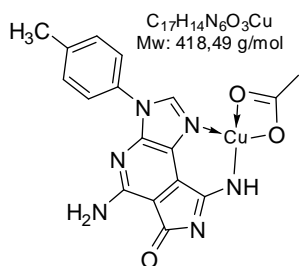
Complexo Metálico 2.2d (Cu:Lig-2.2d)



Preparam-se duas soluções. Solução **A**: Solubilizou-se o composto 4-(5-amino-1-p-tolil-1H-imidazol-4-il)-5-imino-2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-3-carbonitrilo (**2.2d**) (0.10g; 0.34 mmol) em H_2O e EtOH (15+5 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $Cu(Ac)_2 \times H_2O$ (59.20 mg; 0.30 mmol) em H_2O (20 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. As soluções **A** e **B** foram misturadas e a solução resultante (**C**) adicionando-se DBU até a cor mudar e foi colocada em agitação à temperatura ambiente durante 3 dias. Depois de 3 dias adicionou-se éter etílico e n-hexano de modo a precipitar o sólido e filtrou-se. Foi obtido um sólido com tonalidade castanha (0.0265g; $6,32 \times 10^{-2}$ mol; 21.11%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

5,8-diamino-3-p-tolilimidazo[4,5-b]pyrrolo[3,4-d]piridin-6(3H)-ona (3a)

Complexo Metálico 3.1a (Cu:Lig-3a)

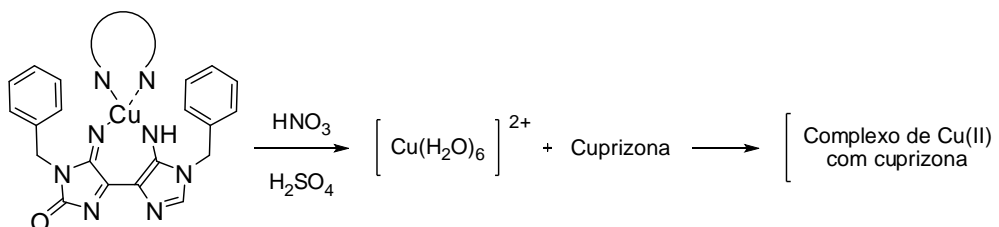


Preparam-se duas soluções. Solução **A**: Solubilizou-se o composto 5,8-diamino-3-p-tolilimidazo[4,5-b]pyrrolo[3,4-d]piridin-6(3H)-ona (**3a**) (0.10g; 0.34 mmol) em DMF (20 ml). Solução **B**: Solubilizou-se $Cu(Ac)_2 \cdot xH_2O$ (59.20 mg; 0.30 mmol) em EtOH (20 ml). Para aumentar a solubilidade dos compostos usou-se banho de ultrassons quando necessário. As soluções **A** e **B** foram misturadas e a solução resultante (**C**) foi colocada em agitação à temperatura ambiente durante 3 dias. Depois de 3 dias adicionou-se éter etílico e n-hexano de modo a precipitar o sólido e filtrou-se. Foi obtido um sólido com tonalidade esverdeada (0.04g; 0.10 mol; 6.34%) caracterizado por análise elementar e espectroscopia de infravermelho (IV).

4.3.3 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DO COBRE NO COMPLEXO

Preparou-se uma solução de cuprizona (agente para a determinação de cobre), colocando-se num balão de diluição de 100ml 0,1013g de cuprizona ($3,63 \times 10^{-4}$ moles) e completou-se o volume com uma solução de aquosa 50% de EtOH.

Num balão de 25ml adicionaram-se 0,0200g de complexo livre, 1ml de HNO_3 e 1ml de H_2SO_4 concentrados. A solução ficou em refluxo durante 2 horas e depois transferiu-se para um balão de diluição de 50ml perfazendo-se o volume com água. Retiraram-se 3 amostras dessa solução, 0,8ml, 1ml e 1,2ml para 3 frascos para análise. Adicionou-se a cada frasco 2,5ml ($c=10\%$ em água) de hidrogenocitrato de amónia (agente para mascarar outros iões, caso eles existissem). O pH ideal para cuprizona complexar com o cobre é 8,5-9,0 então para acertar o pH das amostras adicionou-se solução de amónia concentrada, até o valor de pH desejado. Mediu-se o pH de cada amostra com eléctrodo medidor de pH. Após o acerto do pH de cada amostra, colocaram-se num balão de diluição de 50ml, 5ml da solução de cuprizona preparada anteriormente, e a primeira amostra e completou-se o volume com água (esquema 8). Aguardaram-se 10 minutos, para que pudessemos fazer a análise no espectrofotómetro. No espectrofotómetro seleccionou-se o valor de comprimento de onda de 600nm (caraterística para complexo cobre com cuprizona), colocou-se a solução e registou-se o valor da absorvância indicado no aparelho. Repetiu-se este procedimento 2 vezes para as 3 amostras.



Esquema 8. Reação de formação do complexo de cobre com cuprizona

4.4 ELETROQUÍMICA: VOLTAMETRIA CÍCLICAS

As medições eletroquímicas foram realizadas usando como solvente o dimetilsulfóxido (DMSO, anidro 99.7%) ou acetonitrilo (99.8%) sem purificação e como eletrólito de suporte o tetrafluorborato de tetrabutilamónio (nBu_4NBF_4 , 98 %) que foi mantido por 24 horas em vácuo à temperatura de 70-80 °C para remover qualquer água. Entre cada medição fez se passar uma corrente de argon durante 5-8 minutos.

As soluções dos vários compostos testados (1 mM) foram preparadas em DMSO ou ACN contendo 0.1 M de nBu_4NBF_4 preparado antes das medições eletroquímicas. As medições foram realizadas numa célula de dois compartimentos de vidro com três eléctrodos recorrendo a um eléctrodo de trabalho de carbono vítreo (3 mm de diâmetro) e um eléctrodo auxiliar de platina. O eléctrodo de referência consistiu num fio de prata submerso em DMSO contendo nBu_4NBF_4 (0.1 M) e como padrão foi usado o par de catiões ferroceno/ferrocênio. No final da experiência o potencial do eléctrodo de referência foi medido relativamente ao ECS.

O ferroceno foi ainda usado como referencia para confirmar os potenciais de picos.

Recorreu-se ao solvente ACN pois para os complexos de cobre e níquel foi complicado dissolve-los em DMSO desta forma foi preciso realizar as medições eletroquímicas dos ligandos e complexos em acetonitrilo.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÕES

A síntese dos compostos derivados de bi-imidazóis e de pirrolil-imidazóis foi realizada com bons rendimentos. Foram sintetizados nove compostos derivados de bi-imidazol, **2.1a-i** e cinco compostos derivados de pirrolil-imidazol, **2.2a-e**. A síntese de cada uma das famílias de compostos seguiu a seqüências reacionais distintas, usando, em ambos os casos, diamino-maleonitrilo como reagente de partida. Os derivados de bi-imidazóis foram preparados por ciclização intramolecular da unidade de diaminomaleonitrilo substituída pela função urea e pela função amidina, em cada um dos grupos amino. O método de síntese dos derivados de pirrolil-imidazóis envolve um passo inicial onde se formou o 5-amino-4-cianoformimidoil imidazol, que por reação com cianoacetamidas gerou o anel de pirrole posterior.

A síntese dos complexos de cobre foi feita com os ligandos **2.1a.i**, **2.2a-e** e **3a**. Os complexos sintetizados foram obtidos de forma simples e com rendimentos razoáveis. O número de coordenação de cobre(II) é na maior parte dos complexos 4, excepto no caso do complexo **2.1c** que é 6. Os dados de IV e de análise elementar confirmam a pureza dos complexos de cobre(II). A coordenação do íon cobre(II) é realizada pela intervenção de átomos de nitrogénio. Destaca-se assim o átomo N³ do anel de imidazol, o átomo de azoto da função amina no anel de imidazol e ou átomo da função imina do anel imidazol ou pirrol dependendo do grupo de compostos (**2.1** ou **2.2**). Nos casos em que a complexação de cobre(II) ocorre em água feita nas proporções de 1:2, cada ligando parece coordenar com dois íons do metal e em DMF/EtOH a complexação conduz a complexos com um ligando orgânico por cada íon de cobre(II).

O comportamento eletroquímico dos complexos e ligandos foi estudado através da técnica de voltametria cíclica. Apesar de não ser possível utilizar DMSO para as medições dos complexos, o uso de ACN permitiu alcançar bons resultados. Como não foi possível sintetizar o ligando ATICAR em que o complexo de cobre(II) apresentou actividade cancerígena foi impossível determinar o potencial redox do seu complexo, o que não permitiu estabelecer a relação entre o comportamento eletroquímico dos diversos ligandos e a sua possível actividade como anticancerígenos.

Desta forma, assim que se possa fazer uma análise comparativa do potencial redox destes complexos e testar a sua actividade anticancerígena será possível verificar se existe uma correlação entre estes dados experimentais. Mais ainda, estes complexos e mesmo os ligandos sintetizados poderão apresentar outras ações como antibacterianos ou antifúngicos devido à presença do grupo imidazol, possibilitando outras aplicações para estes compostos.

ANEXOS

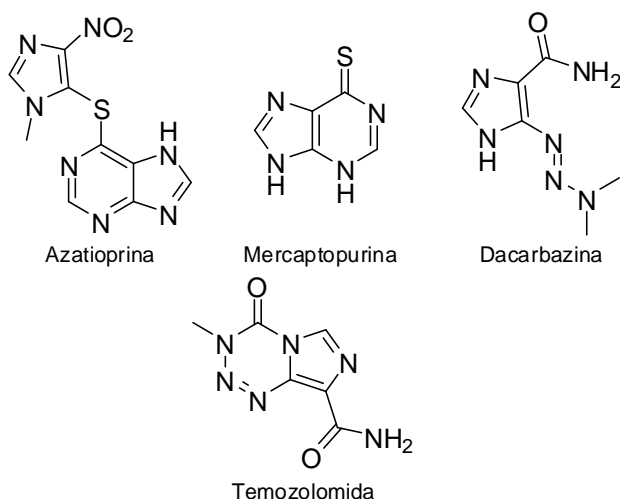


Figura 22. Algumas drogas com actividade anticancerígena contendo o grupo imidazol ou derivados.

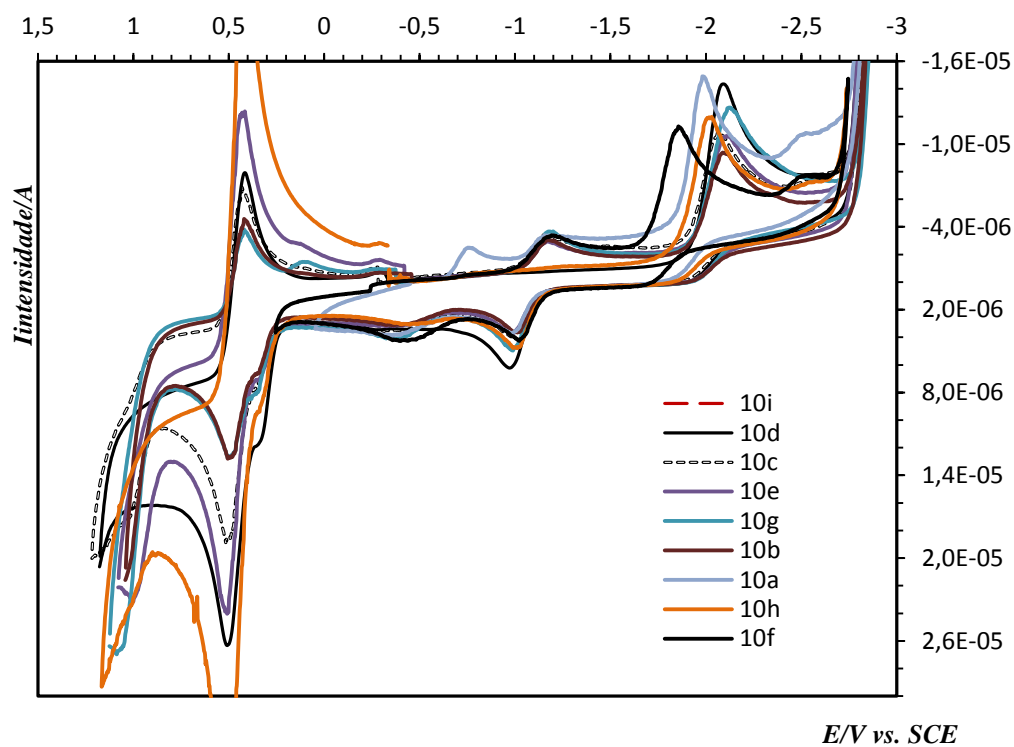

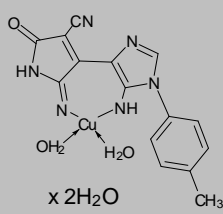
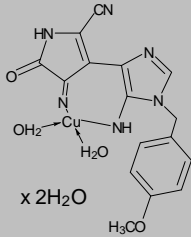
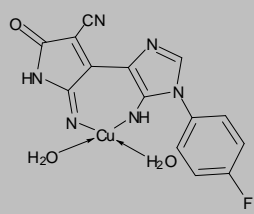


Figura 23. Voltamogramas cíclicos das solução 1.0 mM dos compostos **2.1a-i** em DMSO contendo 0.1 M $n\text{Bu}_4\text{NBF}_4$ registado à velocidade de 0.10 V s^{-1} num eletrodo de carbono vítreo (a parte do voltamograma entre 0 e $1,5 \text{ V s}^{-1}$ apresenta os picos do ferroceno)

Tabela 16. Análises elementares de alguns de alguns complexos de cobre(II) para os quais os valores das análises não foram viáveis. Apresentado e uma sugestão de interação entre os ligandos e o metal

<p>COMPLEXO 3a</p>  <p>x 2EtOH</p>	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu	$C_{21}H_{24}N_6O_7Cu$ DMF/EtOH (1Cu:1L)	
	628,14	47,8	5,78	13,38	10,43		
	<i>Análise 1</i>	47,42	3,78	13,48	--		
	<i>Análise 2</i>	47,57	3,92	13,53	--		
	<i>Média</i>	47,50	3,85	13,51	--		
Δ	-0,30	-1,93	0,12	--			
<p>COMPLEXO 3b</p>  <p>x 2H₂O</p>	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu	$C_{15}H_{18}N_6O_4Cu$ DMF/EtOH (1Cu:1L)	
	389,86	46,21	3,62	20,56	16,3		
	<i>Análise 1</i>	45,77	3,75	19,15			
	<i>Análise 2</i>	46,10	3,73	18,94			
	<i>Média</i>	45,94	3,74	19,05			
Δ	-0,27	0,12	-1,52				
<p>COMPLEXO 3c</p>  <p>x 2H₂O</p>	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu	$C_{16}H_{22}N_6O_6Cu$ DMF/EtOH (1Cu:1L)	
	457,93	41,97	4,84	18,35	13,88		
	<i>Análise 1</i>	41,78	3,83	17,60			
	<i>Análise 2</i>	41,75	4,06	17,45			
	<i>Média</i>	41,77	3,95	17,53			
Δ	-0,20	-0,89	-0,83				
<p>COMPLEXO 3d</p> 	Massa Mol.	%C	%H	%N	%Cu	$C_{17}H_{18}FN_6O_4Cu$ DMF/EtOH (1Cu:1L)	
	466,91	43,73	3,89	21	13,61		
	<i>Análise 1</i>	43,82	3,33	19,66			
	<i>Análise 2</i>	43,07	3,165	19,37			
	<i>Análise 3</i>	43,35	3,31	19,28			
<i>Média</i>	43,41	3,27	19,44				
Δ	-0,32	-0,62	-1,56				

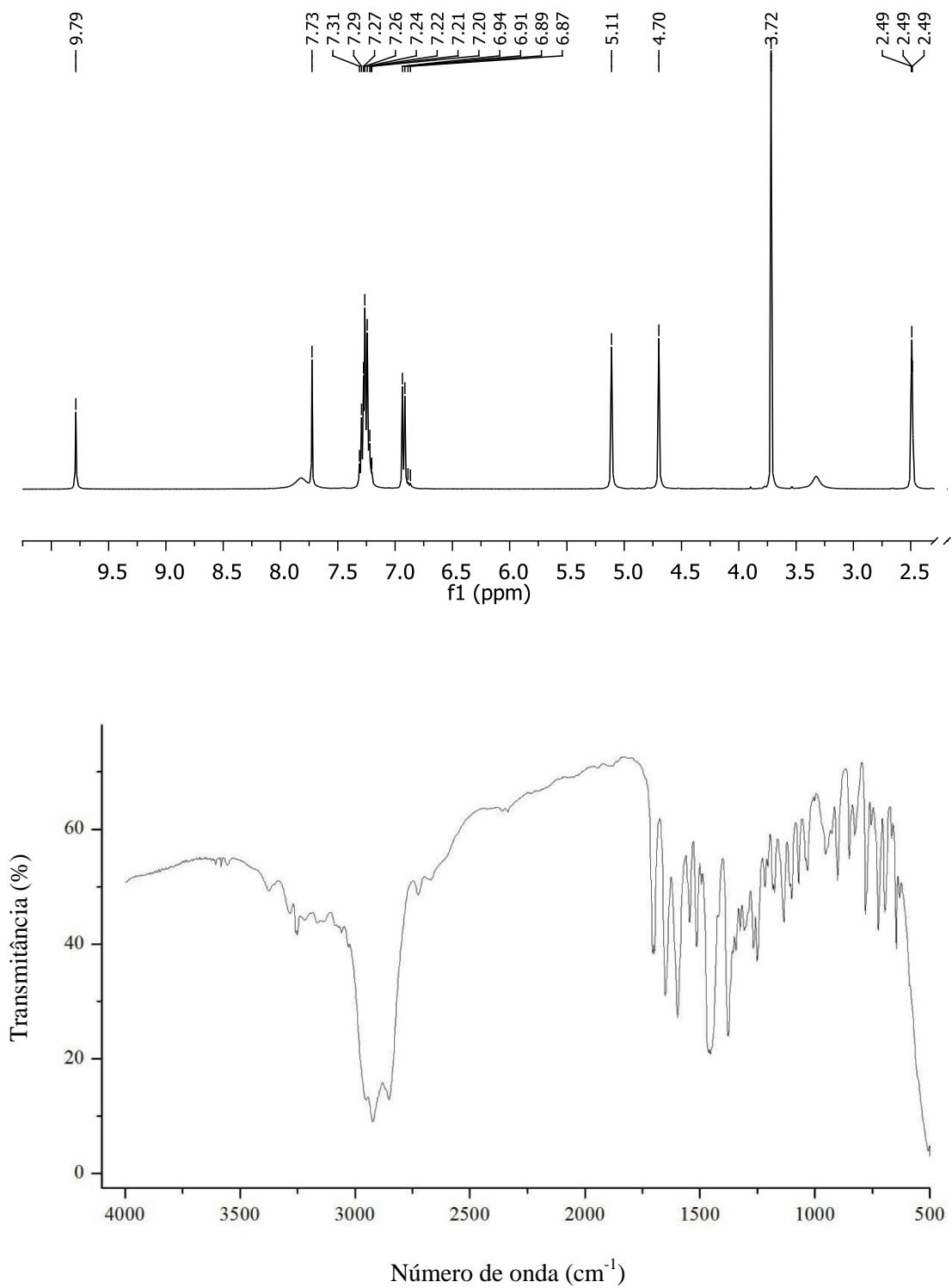


Figura 24. Espectros de ¹H RMN (topo) e IV (fundo) para o compostos **2.1a**.

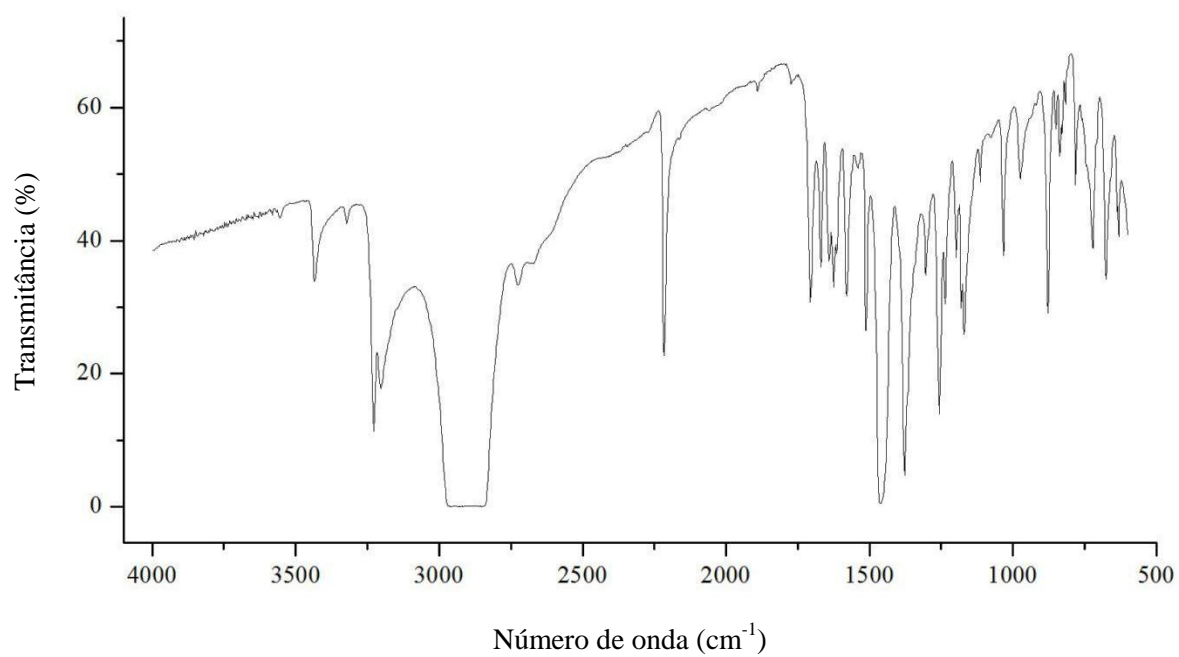
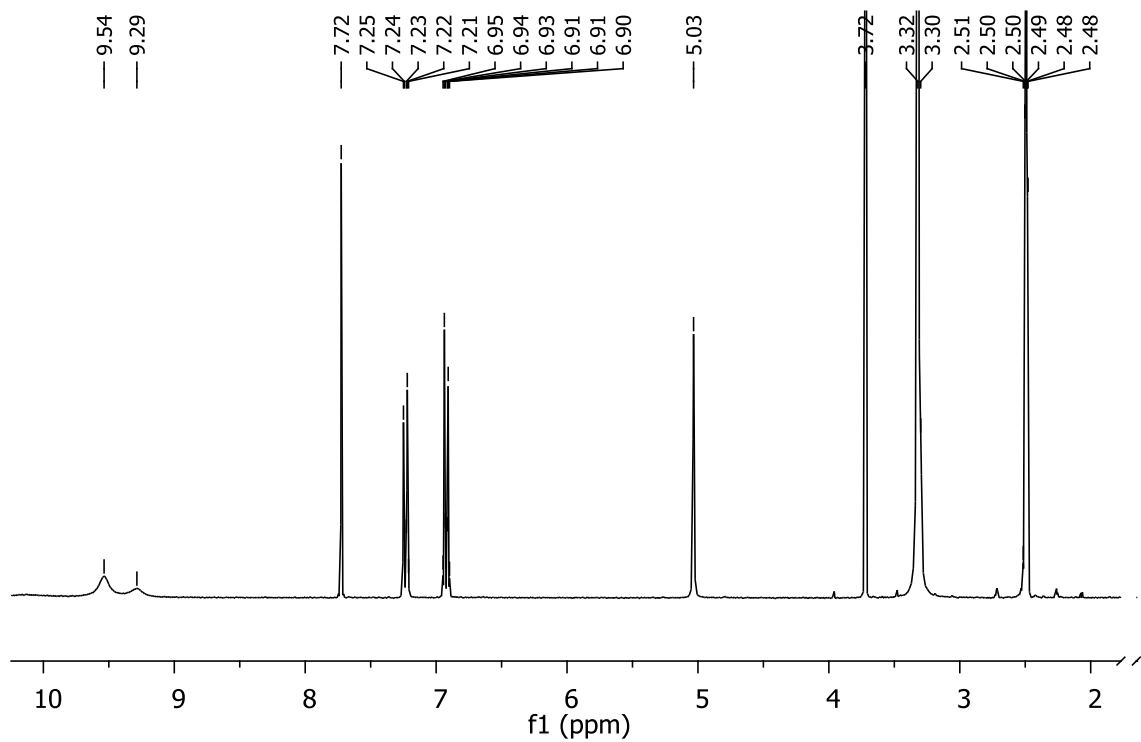


Figura 25. Espectros de ¹H RMN (topo) e IV (fundo) para o compostos **2.2e**.

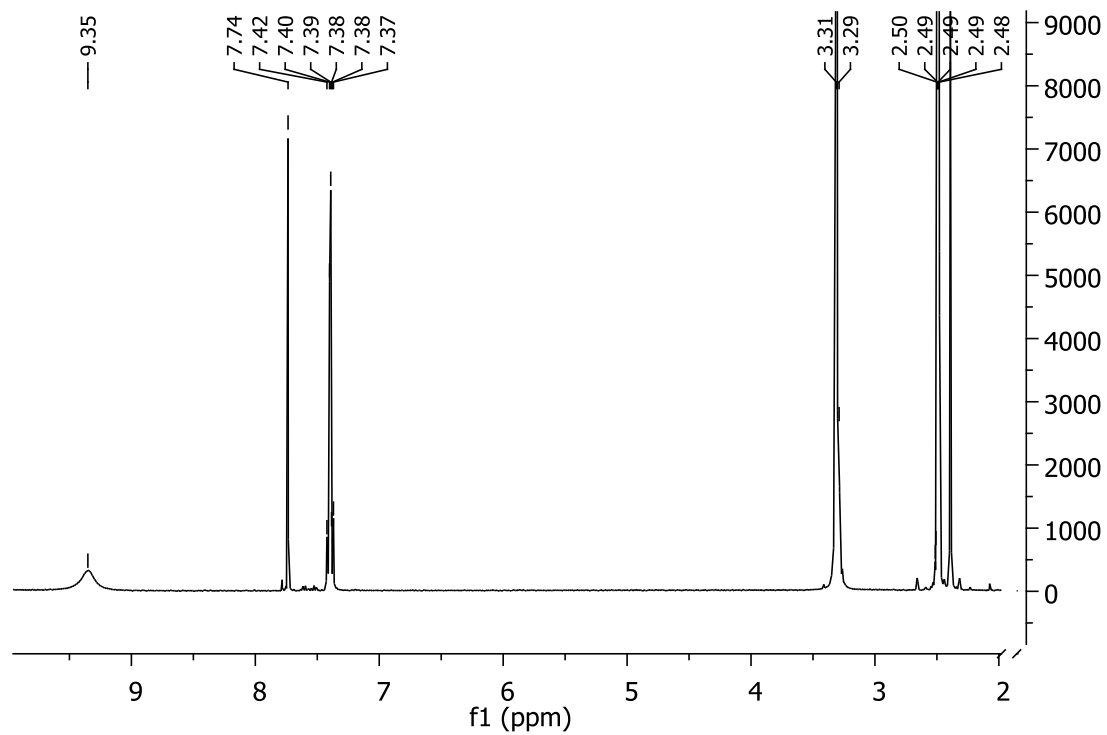


Figura 26. Espectro de 1H RMN do 2.2d.

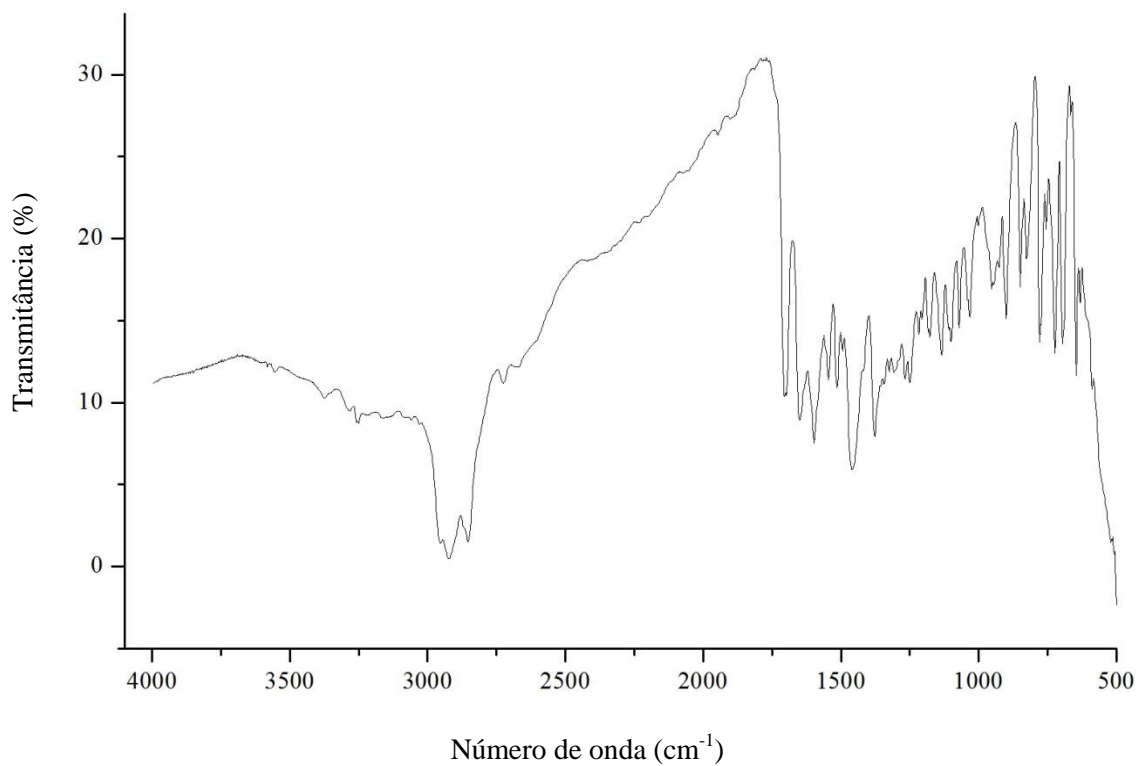


Figura 27. Espectro de IV do complexo 1.2b.

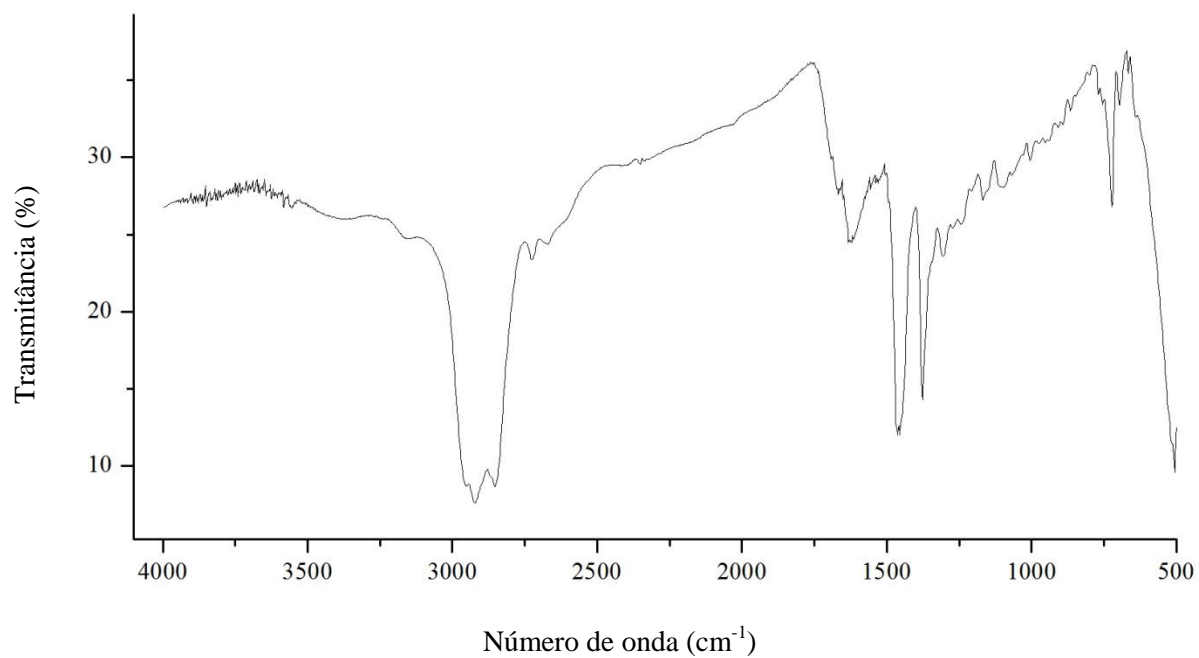


Figura 28. Espectro de IV do complexo **1.1a**.

REFERÊNCIAS

1. Nussbaumer S., Bonnabrya P., Veutheyb J., Fleury-Souverain S.: **Analysis of anticancer drugs: A review.** *Talanta* 2011 **85**(5): 2265-89
2. Thurston D.E.: **Chemistry and Pharmacology of Anticancer Drugs**, CRC Press. Taylor and Francis Group, Boca Raton, 2007.
3. Pierigè F., Serafini S., Rossi L., Magnani M.: **Cell-based drug delivery.** *Adv. Drug Deliv Rev* 2008, **60**:286-295.
4. Maton D., Hopkins J., McLaughlin Ch W., Johnson S., Warner M.Q., LaHart D., & Wright J.D., Deep V. Kulkarni: **Human Biology and Health.** Englewood Cliffs, New Jersey, USA: *Prentice Hall*. 1993
5. Wilbur Beth, editor: **The World of the Cell**, Becker W.M., et al., *7th ed.* San Francisco, CA; 2009.
6. Bishop J.M., Weinberg R.A., eds.: **Molecular Oncology**, *SciAm*. New York, 1996.
7. Hanahan D., and Weinberg R.A.: **The Hallmarks of Cancer.** *Cell*, 100:57-70, 2000.
8. Yarnold J.R. et al., eds.: **Molecular Biology for Oncologists**, 2nd ed. London: Chapman & Hall, 1996. Lancaster EPrints
9. Mann M.R., Bartolomei M.S.: **Epigenetic reprogramming in the mammalian embryo: struggle of the clones.** *Genome Biol.* **3**: reviews 2002 1003.1–1003.4
10. Kusters J.G., van Vliet A.H., Kuipers E.J.: **Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection.** *Clin. Microbiol Rev.* 2006 **19** (3): 449–90
11. Williams D.R.: **Metals, ligands, and cancer.** *Chem. Rev.*, 1972, **72**(3): 203–213
12. Shewach D.S., Kuchta R.D.: **Introduction to Cancer Chemotherapeutics.** *Chem. Rev.* 2009, **109**(7): 2859-2861.
13. Trzaska S.: **Cisplatin.** *C&EN News.* 2005, **83**(25).
14. Chris Jones & John Thornback. **Medicinal Applications of Coordination Chemistry.** The Royal Society of Chemistry, Mass Tag Technologies Ltd, Oxford, UK 2007.
15. Kelland, L.: **The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy.** *Nat. Rev. cancer* 2007, **7** 573-584
16. Habib, N.S., Rida, S.M., Badawey, E.A.M. et al.: **Synthesis and biological investigations of some novel thiazolylbenzimidazoles, and benzimidazolyl-thiazolo[4,5-d]pyrimidines.** *Pharmazie* 1997, **52** 346–349.
17. Tamura, H., Imai, H., Kuwahara, J., e Sugiura. Y: **A new antitumor complex: bis(acetato)bis(imidazole) copper(II).** *J. Am. Chem. Soc.* 1987, **109** 6870–6871
18. Frame, A. S., MacKenzie, G., Wightman R. H.: **Synthesis of 5-amino-4-sulfonamidoimidazole nucleosides as Potential Inhibitors of Purine Nucleotide Biosynthesis, and of an Imidazothiadiazine Dioxide Analogue of Adenosine.** *Tetrahedron*, 1996, **52** 9219-9236
19. Kusak, N.J., Shaw, G., Litchfield, G.J.: **Purines, pyrimidines, and imidazoles. Part XXXVI. Carboxylation of some 5-aminoimidazoles and related compounds, including nucleosides and nucleotides, with potassium hydrogen carbonate in aqueous solution.** *J. Chem. Soc.(C)* 1971, 1501-1507
20. Devereux, M., McCann, M., Shea, D.O. et al.: **Synthesis, antimicrobial activity and chemotherapeutic potential of inorganic derivatives of 2-(4'-thiazolyl)benzimidazole{thiabendazole}: X-ray crystal structures of [Cu(TBZH)₂Cl]Cl·H₂O·EtOH and TBZH₂NO₃ (TBZH=thiabendazole).** *J. Inorg. Biochem.* 2004, **98** 1023–1031
21. Baran, E. J.: **Metal Complexes of Carnosine.** *Biochemistry (Moscow)* 2000, **65** 789-797
22. Sunatsuki, Y., Motoda, Y., Matsumoto, N.: **Copper(II) complexes with multidentate Schiff-base ligands containing imidazole groups: ligand-complex or self-complementary molecule?.** *Coord. Chem. Rev.* 2002, **226** 199–209
23. Scarpellini, M. et al, **Phosphate Diester Hydrolysis and DNA Damage Promoted by New cis-Aqua/Hydroxy Copper(II) Complexes Containing Tridentate Imidazole-rich Ligands.** *Inorg. Chem.* 2003, **42**(25) 8353-8365

24. Rodríguez-Argüelles, M. et al.: **Copper complexes of imidazole-2-, pyrrole-2- and indol-3-carbaldehyde thiosemicarbazones: Inhibitory activity against fungi and bacteria** *J. Inorg. Biochem* 2005, **99** 2231–2239
25. Reisner, E., Arion, V.B, Keppler, B.K., Pombeiro, A.J.L.: **Electron-transfer activated metal-based anticancer drugs.** *Inorg. Chim. Acta* 2008, 361 1569–1583
26. Joseph Wang, **Analytical Electrochemistry**, Third Edition. *John Wiley & Sons, Inc. All*, New Jersey 2006
27. Katritzky, A.R. e Rees, C.W.: *Comprehensive Heterocyclic Chemistry* 1984, **5**, 469-498
28. Grimmett M. Ross.: **Imidazole and Benzimidazole Synthesis.** *Academic Press*, 1997.
29. Tiwari R.K, Singh D., Singh J., Yadav V., Phatak A.K., Dabur R., Chhillar A., Singh R., Sharma G.L., Chandra R., Verma A.K.: **Synthesis and antibacterial activity of substituted 1,2,3,4-tetrahydropyrazino [1,2-a] indoles,** *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, **16**: 413-416.
30. Zaki M.E.A. and Proença M.F. **The synthesis of imidazol[4,5-d]pyridines from a substituted imidazole and acyl or sulfonyl acetonitrile.** *Tetrahedron.* 2007, **63**: 3745-3753.
31. Debus H.: **Ueber die Einwirkung des Ammoniaks auf Glyoxal.** *Liebigs Ann. Chem.* 1858, **107**: 199
32. Wallach O.: **Ueber amidinartige Basen aus zweibasischen Säuren.** *Ber. Dtsch. Chim. Ges.* 1881, **14**: 420
33. Horne D.A., Yakushijin, K., Buchi, G.: **A two-step synthesis of imidazoles from aldehydes via 4-tosyloxazolines.** *Heterocycles*, 1994, **39**, 139-153.
34. Shilcart S.C., Mokahallalati, M.K., Fortunak, J.M.D., Priggen, L.N.: **A New, Regioselective Synthesis of 1,2,5-Trisubstituted 1H-Imidazoles and Its Application to the Development of Eprosartan.** *J. Org. Chem.* 1997, **62**: 8449
35. Claiborne C.F., Liverton N.J., Nguyen K.: **An efficient synthesis of tetrasubstituted imidazoles form N-(2-oxo)-amides** *Tetrahedron Lett.* 1998, **39**, 8939-894.
36. Dias A.M., Cabral I., Proença M.F., Booth B.L.: **Efficient synthesis of 4,4'-bi-1H-imidazol-2-ones from 5-amino-alpha-imino-1H-imidazole-4-acetonitriles and isocyanates.** *J. Org. Chem.* 2002, **67**: 5546-5552
37. Zaki M.E.A., Proença M.F., Booth B.L.: **Efficient Synthesis of 3H-Imidazo[4,5-b]pyridines from Malononitrile and 5-Amino-4-(cyanoformimidoyl)imidazoles.** *J. Org. Chem.* 2003, **68**: 276-282
38. Woodward, D.W.: **4,5.imidazoledicarbonitrile and Method of Preparation.** *Patented Dec.* 19, 1950
39. Bredereck H., Schmötzer G.: **Die Reaktionen der tetrameren Blausäure.** *Annalen der Chemie.* 1956, **600**(2): 95-108.
40. Collins M., Ewinga D., Mackenzie G., Sinn E., Sandbhorb U., Padhyeb S., Padhye S.: **Metal complexes as anticancer agents: 2. Synthesis, spectroscopy, magnetism, electrochemistry, X-ray crystal structure and antimelanomal activity of the copper (II) complex of 5-amino-1-tolyimidazole-4-carboxylate in B16F10 mouse melanoma cells.** *Inorg. Chem. Communications.* 2000, **3**(9) 453–457