



**DANIEL DE MORAES PROFIRIO**

**ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E CITOTÓXICA DE UM COMPLEXO DE  
Au(III) CONTENDO LIGANTE PIRROLIL-IMINA**

**CAMPINAS  
2014**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**DANIEL DE MORAES PROFIRIO**

**ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E CITOTÓXICA DE UM COMPLEXO DE  
Au(III) CONTENDO LIGANTE PIRROLIL-IMINA**

**ORIENTADOR: PROF. DR. ANDRÉ LUIZ BARBOZA FORMIGA**

**DISSERTAÇÃO DE Mestrado APRESENTADA AO  
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA OBTENÇÃO  
DO TÍTULO DE MESTRE EM QUÍMICA NA ÁREA DE  
QUÍMICA INORGÂNICA**

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA POR DANIEL DE MORAES PROFIRIO, E ORIENTADA PELO PROF. DR. ANDRÉ LUIZ BARBOZA FORMIGA.

---

**Assinatura do orientador**

**CAMPINAS  
2014**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca do Instituto de Química  
Simone Lucas Gonçalves de Oliveira - CRB 8/8144

P943a Profirio, Daniel de Moraes, 1989-  
Atividades antibacteriana e citotóxica de um complexo de Au(III) contendo ligantes pirrolil-imina / Daniel de Moraes Profirio. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: André Luiz Barboza Formiga.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Pirrolil-imina. 2. Complexo de Au(III). 3. Atividade antibacteriana. 4. Atividade citotóxica. 5. DNA. I. Formiga, André Luiz Barboza. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Antibacterial and cytotoxic activities of a Au(III) complex with pyrrolyl-imine ligands

**Palavras-chave em inglês:**

Pyrrolyl-imine  
Au(III) complex  
Antibacterial activity  
Cytotoxic activity  
DNA

**Área de concentração:** Química Inorgânica

**Titulação:** Mestre em Química na Área de Química Inorgânica

**Banca examinadora:**

André Luiz Barboza Formiga [Orientador]  
Alzir Azevedo Batista  
Jackson Dirceu Megiatto Júnior

**Data de defesa:** 14-02-2014

**Programa de Pós-Graduação:** Química



*“A mente que se abre  
a uma nova idéia jamais  
voltará ao seu tamanho original.”*

(Albert Einstein)

*“Cada pessoa deve trabalhar  
para o seu aperfeiçoamento e,  
ao mesmo tempo, participar da  
responsabilidade coletiva  
por toda a humanidade.”*

(Marie Curie)



## Dedicatória

Dedico esta dissertação ao casal mais importante, minha mãe Mônica Profirio e ao meu pai Paulo Profirio, os principais responsáveis pela minha vida e à formação do meu caráter. Através deles que se deram a motivação e as condições para que este trabalho se concretizasse. Vocês são a minha inspiração. Amo vocês!



# Agradecimentos

Primeiramente, agradeço aos meus pais Paulo e Mônica que sempre acreditaram em mim, no meu potencial e deram todo o suporte e apoio para que eu nunca desistisse dos meus objetivos. Ao meu irmão Fernando que torce por mim, me apóia e também me incentiva.

Agradeço profundamente aos meus avós Marlene e José Luis que também sempre me incentivaram e estiveram comigo nos momentos mais importantes de minha vida. Vocês tem o meu respeito e minha admiração. Também agradeço aos demais tios e parentes pelos encontros familiares sempre muito animados e divertidos! Seria impossível citar todos pois são igualmente importantes.

Aos meus amigos da época da Graduação pelas intermináveis horas de estudo, mas também de descontração e companheirismo, que passamos juntos por tanto tempo: Renata Costenaro, Ariadne Bido, Bruna Toledo, William Dantas, Vicente Gomes, Priscila Ramos, Renan Zorzatto.

Aos meus amigos dos laboratórios LQC e LQBM, pelas agradáveis conversas, discussões, cafezinhos e reuniões. Em especial à Irlene, Helen, Eduardo, Sabrina, Sérgio por fazermos parte do mesmo grupo e por todos os momentos que passamos juntos. Agradeço também a todo o pessoal do LQBM, Raphael Enoque (obrigado por me aturar desde os tempos da Graduação!), Fernando, Camilla, Bárbara, Marcos

e Júlia por serem sempre atenciosos. À incrível técnica do nosso laboratório, Cíntia Saito, sempre à disposição e muito prestativa.

Ao meu orientador, Prof. André Formiga, que acreditou no meu trabalho, aceitando-me em seu grupo de pesquisa. Pela sensibilidade e disposição de sempre poder ajudar e ter me passado um pouco da sua experiência.

Ao Prof. Pedro Corbi pelas conversas, mostrando a importância do meu trabalho como também pelas suas atitudes que me fizeram crescer como pessoa e como profissional.

Agradeço a todos os funcionários do Instituto de Química pela disposição e eficiência. Em especial aos técnicos dos laboratórios, Cláudia (UV-Visível), Márcia (Infravermelho), Sônia e Paula (RMN), e a todos os professores que contribuíram totalmente para a minha formação.

# Curriculum Vitae

## 1. Dados pessoais

---

Daniel de Moraes Profirio

Filiação: Paulo Roberto Profirio e Mônica Denise de Moraes Profirio

Data de nascimento: 07/11/1989

## 2. Formação Acadêmica

---

### 2012-2014 Mestrado em Química

Universidade Estadual de Campinas

Título: Atividades antibacteriana e citotóxica de um complexo de Au(III) contendo ligante pirrolil-imina.

Orientador: Prof. Dr. André Luiz Barboza Formiga

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

### 2008-2011 Bacharelado em Química

Universidade Estadual de Campinas

Iniciação Científica: Avaliação da técnica LIBS para a determinação de íons metálicos em águas empregando fases sensoras.

Orientador: Prof. Dr. Ivo Milton Raimundo Jr.

Período: 08/2010-07/2011

Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

### **3. Produção Científica**

---

#### **3.1 Publicações**

Silva, I. M. P.; Profirio, D. M. ; Paiva, R. E. F.; Lancellotti, M.; Formiga, A. L. B.; Corbi, P. P.; A silver complex with ibuprofen: Synthesis, solid state characterization, DFT calculations and antibacterial assays. *Journal of Molecular Structure*, 1049 (2013) 1-6.

#### **3.2 Trabalhos científicos apresentados em congresso**

1) Profirio, D. M.; Paiva, R. E. F.; Abbehausen, C.; Lustri, W. R.; Corbi, P. P.; Formiga, A. L. B.; Synthesis, characterization and antibacterial assays of a bis(pyrrrolyl-imine) gold(III) Schiff base complex. 16<sup>th</sup> International Conference on BioInorganic Chemistry, 2013.

2) Silva, I. M. P.; Profirio, D. M.; Paiva, R. E. F.; Lancellotti, M.; Formiga, A. L. B.; Corbi, P. P.; A silver complex with ibuprofen: synthesis, solid state characterization, DFT calculations and antibacterial assays. 12<sup>th</sup> International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine, 2013.

3) Profirio, D. M.; Raimundo Jr, I. M.; Avaliação da técnica LIBS para a determinação de íons metálicos em águas empregando fases sensoras. XIX Congresso Interno de Iniciação Científica - Unicamp, 2011.

#### **4. Monitorias**

---

Bosista do Programa de Estágio Docente (PED) na disciplina Química Inorgânica Experimental II (QI542), Unicamp.



# Resumo

ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E CITOTÓXICA DE UM COMPLEXO DE Au(III) CONTENDO LIGANTE PIRROLIL-IMINA. Neste trabalho realizou-se a síntese de três ligantes contendo a unidade pirrolil-imina e de um complexo de Au(III). Os ligantes foram sintetizados partindo-se do pirrol-2-carboxaldeído e etilenodiamina ou orto-fenilenodiamina, obtendo-se assim o N,N'-bis(pirrol-2-il-metileno)etano-1,2-diamina (pyren), o N,N'-bis(pirrol-2-il-metileno)benzeno-1,2-diamina (bis-pyrophén), o N-(pirrol-2-il-metileno)benzeno-1,2-diamina (monopyrophén) e o complexo [Au(pyren)]PF<sub>6</sub> como produtos. Os compostos foram caracterizados por análise elementar, MS, espectroscopia no IV e UV-Visível, RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e HMBC <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N, cálculos teóricos por DFT e TD-DFT. Foram realizados também ensaios antibacterianos e citotóxicos com o complexo [Au(pyren)]<sup>+</sup> e com o ligante pyren, sendo que o complexo apresentou maior atividade em ambos os ensaios comparado ao ligante. Com isso um mecanismo de ação via interação com o DNA foi investigado por estudos de fluorescência, ensaios de competição com brometo de etídio e espectroscopia de dicroísmo circular, revelando que o DNA é um possível alvo biológico do complexo.



# Abstract

ANTIBACTERIAL AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF A Au(III) COMPLEX CONTAINING PYRROLYL-IMINE LIGAND. In this work the syntheses of three ligands containing the pyrrolyl-imine unit and a Au(III) complex were performed. The ligands were synthesized starting from pyrrole-2-carboxaldehyde and ethylenediamine or ortho-phenylenediamine, to obtain N,N'-bis (pyrrol-2-yl-methylene)ethane-1,2-diamine (pyren), N,N'-bis(pyrrol-2-yl-methylene)benzene-1,2-diamine (bis-pyrophen), N-(pyrrol-2-yl-methylene)benzene-1,2-diamine (mono-pyrophen) and the complex [Au(pyren)]PF<sub>6</sub> as products. The compounds were characterized by elemental analysis, MS, IR, UV-Visible, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and (<sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N) HMBC NMR spectroscopies and theoretical calculations by DFT and TD-DFT. Cytotoxic and antibacterial assays with [Au(pyren)]<sup>+</sup> and the free ligand pyren were performed, and the complex showed a higher activity in both cases in comparison to the ligand. A mechanism of action via interaction with DNA was investigated by fluorescence techniques, competition studies with ethidium bromide and circular dichroism spectroscopy, showing that DNA is a potential biological target for the complex.



# Sumário

<b>Abreviaturas, Acrônimos e Símbolos</b>	<b>xxv</b>
<b>Lista de Tabelas</b>	<b>xxvii</b>
<b>Lista de Figuras</b>	<b>xxix</b>
<b>1 Introdução</b>	<b>1</b>
1.1 Motivação: Câncer e as infecções bacterianas . . . . .	1
1.2 Complexos metálicos na clínica médica . . . . .	3
1.2.1 Química Bioinorgânica e metalofármacos . . . . .	3
1.2.2 Compostos de ouro na Medicina . . . . .	4
1.2.3 Mecanismo de ação dos íons Au(I) e Au(III) . . . . .	6
1.3 Ligantes N-doadores do tipo pirrolil-imina . . . . .	10
<b>2 Objetivos</b>	<b>15</b>
<b>3 Parte Experimental</b>	<b>17</b>
3.1 Reagentes . . . . .	17
3.2 Medidas físicas . . . . .	17
3.3 Estudos de fluorescência . . . . .	19

3.4	Dicroísmo circular . . . . .	20
3.5	Modelagem molecular . . . . .	20
3.6	Síntese do ligante pyren . . . . .	21
3.7	Síntese do ligante bis-pyropheen . . . . .	22
3.8	Síntese do ligante mono-pyropheen . . . . .	23
3.9	Síntese do complexo de Au(III) com o ligante pyren . . . . .	24
3.10	Ensaio antibacteriano . . . . .	25
3.11	Ensaio citotóxico . . . . .	27
<b>4</b>	<b>Resultados e Discussão</b>	<b>29</b>
4.1	Ligante pyren . . . . .	29
4.1.1	Composição química . . . . .	29
4.1.2	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho . . .	31
4.1.3	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear . . . . .	32
4.1.4	Modelagem da geometria por DFT . . . . .	34
4.1.5	Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível . . . . .	36
4.2	Ligante bis-pyropheen . . . . .	38
4.2.1	Composição química . . . . .	38
4.2.2	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho . . .	40
4.2.3	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear . . . . .	41
4.2.4	Modelagem da geometria por DFT . . . . .	42
4.2.5	Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível . . . . .	43
4.3	Ligante mono-pyropheen . . . . .	46
4.3.1	Composição química . . . . .	46

4.3.2	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho . . .	48
4.3.3	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear . . . . .	49
4.3.4	Modelagem da geometria por DFT . . . . .	51
4.3.5	Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível . . . . .	53
4.4	Complexo [Au(pyren)]PF <sub>6</sub> . . . . .	55
4.4.1	Composição química . . . . .	55
4.4.2	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho . . .	57
4.4.3	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear . . . . .	59
4.4.4	Modelagem da geometria por DFT . . . . .	63
4.4.5	Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível . . . . .	65
4.4.6	Estudos biológicos . . . . .	69
4.4.7	Estudos de interação com DNA . . . . .	73
<b>5</b>	<b>Conclusões e Perspectivas</b>	<b>85</b>
	<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>89</b>
<b>A</b>	<b>Apêndice A - Tabelas</b>	<b>97</b>
A.1	Contribuição (em porcentagem) dos pirróis e da imina nos principais orbitais para o pyren . . . . .	97
A.2	Transições eletrônicas calculadas para o pyren . . . . .	98
A.3	Contribuição (em porcentagem) dos pirróis e do grupo fenil nos principais orbitais para o bis-pyropheen . . . . .	100
A.4	Transições eletrônicas calculadas para o bis-pyropheen . . . . .	100

A.5	Contribuição (em porcentagem) do pirrol e do grupo fenil nos principais orbitais para o mono-pyrophen . . . . .	102
A.6	Transições eletrônicas calculadas para o mono-pyrophen . . . . .	102
A.7	Contribuição (em porcentagem) dos pirróis, da imina e do ouro nos principais orbitais para o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	104
A.8	Transições eletrônicas calculadas para o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	104

# Abreviaturas, Acrônimos e Símbolos

<b>ATCC</b>	<i>American Type Culture Collection</i>
<b>[Au(TPP)]<sup>+</sup></b>	[Au(tetrafenil-porfirina)] <sup>+</sup>
<b>B3LYP</b>	<i>Becke, three parameter, Lee-Yang-Parr hybrid functional</i>
<b>[Bu<sub>4</sub>N]OH</b>	Hidróxido de tetrabutil-amônio
<b>CD</b>	Dicroísmo circular
<b>CLSI</b>	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
<b>DMEM</b>	<i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i> , Meio de Cultura de Eagle modificado por Dulbecco
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>CT-DNA</b>	<i>Calf thymus DNA</i> , DNA de timo de bezerro
<b>DFT</b>	<i>Density Functional Theory</i> , Teoria do Funcional de Densidade
<b>DNA</b>	<i>Deoxyribonucleic acid</i> , ácido desoxirribonucleico
<b>ESI</b>	<i>Electrospray ionization</i> , Ionização por eletrospray
<b>EtBr</b>	<i>Ethidium bromide</i> , brometo de etídio
<b>GAMESS</b>	<i>General Atomic and Molecular Electronic Structure System</i> , Sistema de Estrutura Geral Atômica e Eletrônica Molecular

<b>HMBC</b>	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i> , Correlação heteronuclear a múltipla ligação
<b>HOMO</b>	<i>Highest occupied molecular orbital</i>
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentração necessária para 50% de inibição <i>in vitro</i>
<b>LANL2DZ</b>	<i>Los Alamos National Laboratory 2 Double Zeta</i>
<b>LANL2TZ</b>	<i>Los Alamos National Laboratory 2 Triple Zeta</i>
<b>LUMO</b>	<i>Lowest unoccupied molecular orbital</i>
<b>MIC</b>	<i>Minimum inhibitory concentration</i> , Concentração Inibitória Mínima
<b>MS</b>	<i>Mass spectrometry</i> , Espectrometria de massas
<b>MTT</b>	Brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
<b>PBE0</b>	<i>Perdew-Burke-Ernzerhof Exchange Correlation Functional</i> , Funcional de Correlação de Troca de Perdew-Burke-Ernzerhof
<b>PBS</b>	<i>Phosphate Buffer Saline</i> , Tampão fosfato salino
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>TD-DFT</b>	<i>Time-dependent Density Functional Theory</i> , Teoria do Funcional de Densidade dependente do tempo
<b>Trx</b>	Tioredoxina
<b>TrxR</b>	Tioredoxina redutase
<b>UFC</b>	Unidades formadoras de colônia
<b>UV-Vis</b>	Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível

# Lista de Tabelas

1.1	Alguns compostos metálicos de uso clínico. . . . .	4
3.1	Marcas e graus de pureza dos reagentes utilizados. . . . .	18
4.1	Parâmetros geométricos obtidos por DFT usando PBE0 para o pyren.	36
4.2	Transições observadas no espectro experimental e suas atribuições para o pyren. . . . .	37
4.3	Parâmetros geométricos obtidos por DFT usando PBE0 para o bis-pyrophen. . . . .	45
4.4	Transições observadas no espectro experimental e suas atribuições para o bis-pyrophen. . . . .	46
4.5	Parâmetros geométricos obtidos por DFT usando PBE0 para o mono-pyrophen. . . . .	53
4.6	Transições observadas no espectro experimental e suas atribuições para o mono-pyrophen. . . . .	54
4.7	Atribuições dos hidrogênios, deslocamentos químicos e valores de $\Delta\delta$ para o pyren e $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	60
4.8	Atribuições dos carbonos, deslocamentos químicos e valores de $\Delta\delta$ para o pyren e $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	61

4.9	Parâmetros geométricos obtidos por DFT usando LANL2TZ/PBE0 para o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	67
4.10	Transições observadas no espectro experimental e suas atribuições para o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	68
4.11	Perfil antibacteriano de cepas bacterianas contra $\text{A} = [\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$ , $\text{B} = \text{pyren}$ e $\text{C} = [\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . $+$ $\rightarrow$ Crescimento positivo e $-$ $\rightarrow$ Crescimento negativo. . . . .	70
4.12	Valores de concentração inibitória mínima, em $\text{mg L}^{-1}$ . . . . .	71
4.13	Valores de $\text{IC}_{50}$ (em $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) para compostos de $\text{Au(III)}$ em células tumorais. () = Referência. . . . .	74

# Lista de Figuras

1.1	Estruturas dos compostos de Au(I) (a) solganal, (b) miocrisina, (c) auranofina e de Au(III) <sup>19</sup> . . . . .	6
1.2	Mecanismo proposto da atividade do [Au(d2pypp) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em células. Trx = tioredoxina, TrxR = tioredoxina redutase. . . . .	8
1.3	Modos de interação não-covalente entre pequenas moléculas e o DNA. . . . .	9
1.4	Estruturas esquemáticas dos ligantes bis(pirrolil-imina), onde n = 1, 2, 3... . . . . .	11
1.5	Estruturas dos complexos de Cu(II), Pt(II), Ag(I) e Mn(II) relatados por Yang <sup>43</sup> , Xiang <sup>59</sup> , Zhang <sup>44</sup> e Franceschi <sup>42</sup> , respectivamente. . . . .	12
3.1	Esquema de síntese para o ligante pyren. . . . .	21
3.2	Esquema de síntese para o ligante bis-pyrophén. . . . .	23
3.3	Esquema de síntese para o ligante mono-pyrophén. . . . .	24
3.4	Esquema de síntese para o complexo [Au(pyren)] <sup>+</sup> . . . . .	25
3.5	Esquema de incubação das cepas bacterianas com os 96 poços. . . . .	26
4.1	Esquema do mecanismo de formação de iminas com o pirrol-2-aldeído. . . . .	30
4.2	Reação envolvida na síntese do pyren. . . . .	30
4.3	Espectro de massas (ESI-MS) do pyren. . . . .	31

4.4	Espectro experimental no infravermelho do pyren. . . . .	32
4.5	Estrutura esquemática do pyren com numeração nos carbonos. . . .	33
4.6	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do pyren. Condições: Avance 500 MHz, CD <sub>3</sub> CN. . . . .	33
4.7	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do pyren. Condições: Avance 500 MHz, CD <sub>3</sub> CN. . . . .	34
4.8	Estrutura otimizada para o pyren com o funcional PBE0. . . . .	35
4.9	Estrutura do ligante análogo relatada por Munro e Camp <sup>41</sup> . . . . .	35
4.10	Transições eletrônicas experimental e teórica (linhas verticais) do pyren. Os eixos do topo e da direita correspondem aos parâmetros do espectro teórico. . . . .	36
4.11	Diagrama de energia dos orbitais de Kohn-Sham para o pyren. . . .	38
4.12	Reação envolvida na síntese do bis-pyrophén. . . . .	39
4.13	Estruturas de ressonância para a anilina. . . . .	39
4.14	Espectro de massas (ESI-MS) do bis-pyrophén. . . . .	40
4.15	Espectro experimental no infravermelho do bis-pyrophén. . . . .	41
4.16	Estrutura esquemática do bis-pyrophén com numeração nos carbonos.	42
4.17	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do bis-pyrophén. Condições: Avance 500 MHz, CDCl <sub>3</sub> . . . . .	43
4.18	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do pyren. Condições: Avance 500 MHz, CDCl <sub>3</sub> . . . . .	44
4.19	Estrutura otimizada para o bis-pyrophén com o funcional PBE0. . .	44

4.20	Transições eletrônicas experimental e teórica (linhas verticais) do bis-pyrophen. Os eixos do topo e da direita correspondem aos parâmetros do espectro teórico. . . . .	45
4.21	Diagrama de energia dos orbitais de Kohn-Sham para o bis-pyrophen.	46
4.22	Reação envolvida na síntese do mono-pyrophen. . . . .	47
4.23	Espectro de massas (ESI-MS) do mono-pyrophen. . . . .	48
4.24	Espectro experimental no infravermelho do mono-pyrophen. . . . .	49
4.25	Estrutura esquemática do mono-pyrophen com numeração nos carbonos. . . . .	50
4.26	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do mono-pyrophen. Condições: Avance 400 MHz, DMSO-d6. . . . .	51
4.27	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do mono-pyrophen. Condições: Avance 400 MHz, DMSO-d6. . . . .	52
4.28	Estrutura otimizada para o mono-pyrophen com o funcional PBE0. .	52
4.29	Transições eletrônicas experimental e teórica (linhas verticais) do mono-pyrophen. Os eixos do topo e da direita correspondem aos parâmetros do espectro teórico. . . . .	53
4.30	Diagrama de energia dos orbitais de Kohn-Sham para o mono-pyrophen. . . . .	55
4.31	Reação envolvida na síntese do complexo $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	56
4.32	Espectro de massas (ESI-MS) do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	57
4.33	Análise térmica do complexo $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	58
4.34	Espectros experimentais no infravermelho do pyren e do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .	59
4.35	Estrutura esquemática do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ com numeração nos carbonos.	60

4.36	Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Condições: Avance 400 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}$ . . . . .	61
4.37	Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Condições: Avance 400 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}$ . . . . .	62
4.38	Espectro de correlação HMBC [ $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ ] do pyren. Condições: Avance 400 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}$ . . . . .	63
4.39	Espectro de correlação HMBC [ $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ ] do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Condições: Avance 400 MHz, $\text{CD}_3\text{CN}$ . . . . .	64
4.40	Geometria otimizada para o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	65
4.41	Distâncias de ligação e ângulos associados ao átomo de ouro nos compostos I, II e III <sup>13</sup> . . . . .	66
4.42	Transições eletrônicas experimental e teórica (linhas verticais) do (a) pyren e (b) $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Os eixos do topo e da direita correspondem aos parâmetros do espectro teórico. . . . .	67
4.43	Diagrama de energia dos orbitais de Kohn-Sham para o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . . . . .	69
4.44	Citotoxicidade do pyren e do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ em diferentes concentrações ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) contra 4 diferentes linhagens celulares. Dados de 2 experimentos diferentes foram normalizados para os valores máximos obtidos para o grupo controle. . . . .	73
4.45	Estrutura dos compostos de Au(III) descritos na Tabela 4.45. . . . .	74
4.46	Estrutura de compostos intercaladores com o DNA <sup>32</sup> . . . . .	75
4.47	Espectros de fluorescência de soluções de CT-DNA na ausência e presença do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ em concentrações crescentes. A seta indica a evolução da banda de emissão com a adição do complexo. . . . .	77

4.48	Representação dos modos de supressão estático e dinâmico. . . . .	78
4.49	Gráfico da intensidade de fluorescência relativa com $\lambda_{em} = 345$ nm em função da concentração do $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ em acetonitrila. . . . .	79
4.50	Estruturas do corante Nile blue <sup>106</sup> e do complexo de Pt(II) <sup>107</sup> . . . . .	79
4.51	Estrutura do brometo de etídio e o modo de intercalação entre 2 pares de base. . . . .	80
4.52	Emissão do sistema brometo de etídio/DNA com $\lambda_{em} = 600$ nm após a incubação com o pyren e o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ por 24h. . . . .	81
4.53	Princípio da espectroscopia de dicroísmo circular. . . . .	82
4.54	Polimorfismo conformacional do DNA: Formas A, B e Z. . . . .	82
4.55	Perfis dos espectros de dicroísmo circular para as 3 formas do DNA <sup>109</sup> . . . . .	83
4.56	Espectros de dicroísmo circular do CT-DNA e do CT-DNA incubado com o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ a diferentes valores de $r_j$ . . . . .	84



# Capítulo 1

## Introdução

### 1.1 Motivação: Câncer e as infecções bacterianas

A palavra câncer vem do grego *karkínos*, que significa caranguejo, e foi utilizada pela primeira vez por Hipócrates, o pai da medicina. O câncer não é uma doença nova. O fato de ter sido detectado em múmias egípcias comprova que ele já comprometia o homem há mais de 3 mil anos antes de Cristo.<sup>1</sup> Atualmente, câncer é o nome geral dado a um conjunto de mais de 100 doenças, que têm em comum o crescimento desordenado de células que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinhos. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores malignos, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo. As causas de câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando inter-relacionadas. As causas externas referem-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de uma sociedade. As causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, e estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas.<sup>2</sup>

O câncer se tornou um grande problema de saúde pública em muitas partes do

mundo. Nos Estados Unidos uma em cada quatro mortes está associada ao câncer. Segundo estatísticas recentes divulgadas pela *American Cancer Society*, o câncer já é a segunda maior causa de mortes na população norte-americana em ambos os sexos, ficando atrás apenas de doenças cardíacas.<sup>3</sup> No Brasil a mortalidade pelo câncer vem crescendo consideravelmente ao longo das últimas décadas, sendo que para 2014 o Ministério da Saúde estima que haverá 576.580 novos casos de câncer diagnosticados no país, representando um aumento de 11% em relação a 2012.<sup>4</sup>

A cisplatina é, atualmente, um dos fármacos mais utilizados na terapia contra o câncer. Seu uso clínico, no entanto, é limitado devido aos seus efeitos colaterais tais como neuro-, hepato- e nefrotoxicidade. Estes fatos têm estimulado o desenvolvimento de novos potenciais fármacos baseados em diferentes metais e ligantes, tendo como consequência a obtenção de novos agentes que apresentem toxicidade reduzida.<sup>5</sup>

Em relação às doenças infecciosas, a introdução dos agentes antibacterianos, comumente denominados antibióticos, levaram a uma revolução no tratamento de infecções bacterianas. Atualmente o termo “Era pós-antibióticos” vem sendo empregado para descrever a situação atual, na qual os antibióticos vem perdendo seu efeito contra diversos tipos de bactérias causadoras de infecções em humanos devido à resistência adquirida por estes microrganismos.<sup>6</sup>

Os principais mecanismos de resistência a antibióticos incluem transformações enzimáticas, modificação do alvo molecular, efluxo a partir do interior da célula e prevenção da entrada de compostos. A resistência surge tanto de forma passiva, como o resultado de mecanismos inatos pré-existentes, quanto de forma ativa via aquisição de material genético por meio de plasmídeos ou transposons.<sup>7</sup>

Assim como no caso do câncer, visando-se contornar o problema da resistência bacteriana várias abordagens tem sido empregadas e dentre elas a coordenação de metais a antibióticos e outros ligantes aparece como uma estratégia de reversão da resistência e como uma plataforma para a produção de novos fármacos.

## 1.2 Complexos metálicos na clínica médica

### 1.2.1 Química Bioinorgânica e metalofármacos

A química bioinorgânica, uma área importante que se encontra na interface da química inorgânica e a biologia,<sup>8</sup> lida com o estudo de íons metálicos e seus complexos em sistemas biológicos, expandindo novos horizontes na pesquisa científica de compostos de coordenação. Numerosos processos vitais, tais como respiração celular, contrações musculares, metabolismo e proteção contra agentes tóxicos e mutagênicos requerem a presença de íons metálicos. Alguns metais são essenciais para funções biológicas e são encontrados em enzimas e cofatores, como por exemplo o complexo Fe(II)-porfirina usado no transporte de oxigênio.<sup>9</sup> Já metais como cobre, zinco, e manganês estão presentes em proteínas que catalisam diversas reações químicas necessárias para a vida.<sup>10</sup>

Nos últimos 40 anos houve um interesse crescente pela química de compostos de coordenação com atividades biológicas, com destaque para o estudo de complexos de platina com atividade antitumoral, complexos de ouro no tratamento de artrite reumatóide e como novos agentes antitumorais e complexos de prata como agentes antimicrobianos.<sup>11</sup> Incluem-se também os estudos de síntese e viabilidade de aplicação de complexos de vanádio no tratamento do diabetes, complexos de bismuto

no tratamento de distúrbios gastrointestinais e complexos de tecnécio e rênio como agentes de contraste para imageamento por ressonância magnética.<sup>9</sup>

Na Tabela 1.1 são apresentados alguns dos fármacos utilizados no diagnóstico e no tratamento de doenças contendo metais.<sup>8</sup>

**Tabela 1.1:** Alguns compostos metálicos de uso clínico.

Nome comercial	Princípio ativo	Função
Platinol®	<i>cis</i> -[PtCl <sub>2</sub> (NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]	Anticâncer
Dermazine®	Sulfadiazina de prata	Tratamento de infecções em queimaduras
Miocrisina®	Na[Au(tiomalato)]	Artrite reumatóide
Nipride®	Na <sub>2</sub> [Fe(CN) <sub>5</sub> (NO)]	Anti-hipertensivo
Foznol®	La <sub>2</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	Insuficiência renal
Cardiolite®	[ <sup>99m</sup> Tc(CNCH <sub>2</sub> C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ] <sup>+</sup>	Imageamento cardíaco
Carbolitium®	Li <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Transtornos bipolares
Vitamin B12®	Cobalamina	Vitamina do complexo B
De-Nol®	K <sub>3</sub> [Bi(citrato) <sub>3</sub> ]	Antiúlcera
Mylanta Plus®	Al(OH) <sub>3</sub> e Mg(OH) <sub>2</sub>	Antiácido

Contudo, muitos candidatos a fármacos fracassam nos testes clínicos por causa de suas características farmacocinéticas, resultando na incapacidade do fármaco em atingir seu alvo biológico *in vivo*. Vale ressaltar que a atividade farmacológica dos complexos não depende somente do íon metálico que, na maioria das vezes, é a característica chave do seu mecanismo de ação, mas também da estrutura dos ligantes.<sup>9</sup>

## 1.2.2 Compostos de ouro na Medicina

A utilização de compostos metálicos em medicina pode ser rastreado até por volta de 3500 a.C., quando o ouro metálico foi usado para afastar doenças ou maus espíritos mas somente de maneira empírica, sem nenhum entendimento dos mecanismos de ação até a Idade Média.<sup>12</sup> No século XIX, as atividades medicinais de compostos de ouro vieram gradualmente a serem descobertas, começando com a desco-

berta da atividade do  $K[Au(CN)_2]$  para o tratamento de tuberculose por Robert Koch em 1890.<sup>13</sup> Koch mostrou que o  $K[Au(CN)_2]$  apresentava uma atividade promissora em relação às outras substâncias testadas, sendo que ele retardava o crescimento do bacilo da tuberculose *Mycobacterium tuberculosis*.<sup>14</sup>

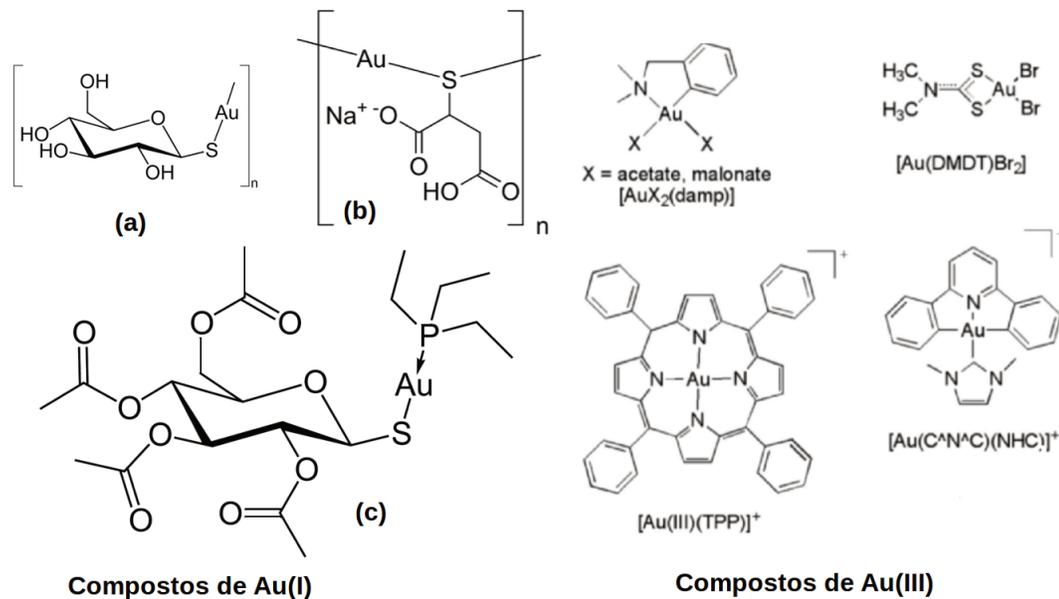
A segunda fase da história da terapia do ouro, mais duradoura que o tratamento da tuberculose, iniciou-se em 1928, quando Jacques Forestier começou a tratar a artrite reumatóide, sendo que a introdução de compostos de ouro para este tratamento foi baseada nas atividades antibacterianas destes compostos pois presumiu-se que as bactérias eram responsáveis pela artrite.<sup>14</sup>

A utilização do ouro(0) é extensa, sendo mais empregado no comércio como troca monetária, na confecção de jóias e em contatos elétricos devido a resistência à corrosão, condutividade elétrica, ductilidade e baixa toxicidade.<sup>15</sup> Na medicina ouro coloidal é utilizado nas áreas de pesquisa tais como biologia e ciência de materiais, o isótopo  $^{198}\text{Au}$  é empregado na medicina nuclear e a maior parte dos compostos de ouro relatados para possíveis aplicações farmacológicas contém Au(I) ou Au(III).<sup>16</sup>

Compostos de Au(I) desempenham diversos papéis em bioquímica por causa de suas propriedades estruturais: é um íon metálico mole e com configuração  $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10}$ , que tem uma tendência a se coordenar com compostos contendo enxofre e fósforo (por exemplo tióis e fosfinas) numa geometria de coordenação linear. Já o Au(III) é um íon metálico duro de configuração  $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^8$  que tende a se coordenar a compostos contendo oxigênio e nitrogênio (bases duras) numa geometria de coordenação quadrada.

O estudo de complexos de Au(I) tem focado principalmente sobre atividades antiartríticas e antitumorais, sendo que alguns compostos são bem conhecidos. Já o

Au(III) também vem sendo utilizado na preparação de compostos farmacológicos,<sup>17</sup> mas a escassez de dados sobre complexos de Au(III) provavelmente se origina de sua baixa estabilidade devido ao seu elevado potencial de redução, tornando seu uso problemático sob condições fisiológicas.<sup>18</sup> Por isso, a coordenação de um ligante fortemente quelante que possa estabilizar o Au(III) é de grande importância. A Figura 1.1 contém as estruturas de compostos de Au(I) utilizados no tratamento de artrite reumatóide e compostos de Au(III) que apresentaram atividade anticâncer *in vivo*.<sup>19</sup>



**Figura 1.1:** Estruturas dos compostos de Au(I) (a) solganal, (b) miocrisina, (c) auranofina e de Au(III)<sup>19</sup>.

### 1.2.3 Mecanismo de ação dos íons Au(I) e Au(III)

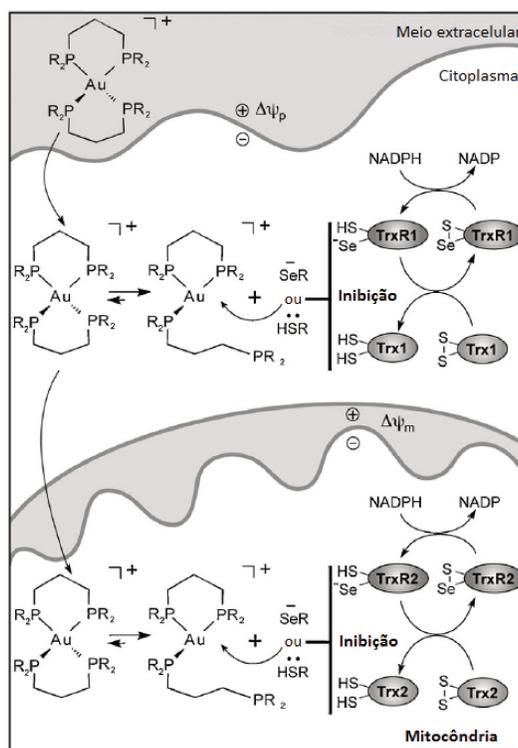
Em relação aos mecanismos de ação estudos tem mostrado que os compostos de ouro podem atingir diferentes alvos no meio celular e que incluem principalmente tiol- e selenoproteínas. Estes alvos são interessantes já que suas disfunções nas células podem ser a causa de diversas doenças humanas, como por exemplo obesidade,

câncer e doenças autoimune. Além disso o sistema tioredoxina, formado pela selenoproteína tioredoxina redutase (TrxR) e a tiol-proteína tioredoxina (Trx), desempenha um papel importante na regulação redox intracelular e também está relacionado a doenças crônicas como em certos tipos de câncer, artrite reumatóide e a síndrome de Sjögren.<sup>19</sup>

Com isso, os alvos biológicos mais estudados dos compostos de ouro são as enzimas TrxR já que estes compostos se mostraram os inibidores mais efetivos destas enzimas. As formas encontradas no citosol são conhecidas como TrxR1 e Trx1, enquanto as presentes na mitocôndria são conhecidas como TrxR2 e Trx2. A inibição da TrxR leva à apoptose (morte celular programada) de células cancerosas, fazendo com que muitos estudos para o desenvolvimento de fármacos anticâncer utilizem a TrxR como um alvo.<sup>19</sup>

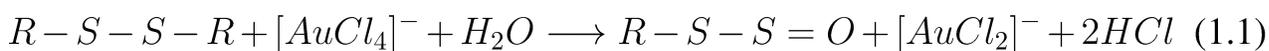
A inibição efetiva da atividade da TrxR pela auranofina e outros compostos de Au(I) com fosfinas (mono- e bidentadas) e carbenos N-heterociclos é atribuída à ligação do Au(I) ao sítio ativo selenilsulfeto/selenoltioliol da enzima.<sup>19</sup> Rackham e colaboradores mostraram que o composto  $[\text{Au}(\text{d}2\text{pypp})_2]^+$  se acumula preferencialmente na mitocôndria de células cancerosas devido ao elevado potencial de membrana mitocondrial em comparação com células normais, assim como um mecanismo de ação possível<sup>20</sup> conforme observado na Figura 1.2.

Compostos de Au(III) têm sido estudados em relação à atividade antitumoral desde a década de 1980, e diversos compostos foram relatados como sendo mais efetivos que a cisplatina.<sup>5,12</sup> Contudo, a maioria destes compostos sofreu redução em meio biológico para Au(I) ou ouro coloidal,<sup>12,21</sup> sendo que poucos exemplos foram relatados sobre uma atividade antitumoral significativa e estabilidade em solução.<sup>22</sup>



**Figura 1.2:** Mecanismo proposto da atividade do  $[\text{Au}(\text{d}2\text{pypp})_2]^+$  em células. Trx = tioredoxina, TrxR = tioredoxina redutase. Adaptado de Rackham<sup>20</sup>.

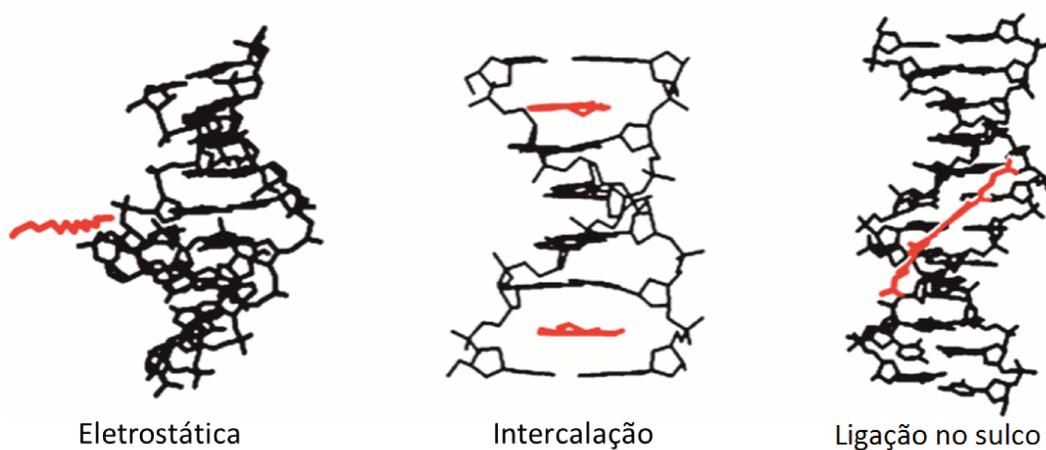
A redução do Au(III) para Au(I) e ligações covalentes dos íons Au(I) em alvos biológicos vem sendo proposta para explicar a citotoxicidade dos compostos de Au(III). Por exemplo, peptídeos e proteínas bem como ligações dissulfeto são capazes de reduzir Au(III) para Au(I),<sup>23</sup> conforme ilustrado na Equação 1.1. Relatos recentes mostram que compostos de Au(III) podem se ligar ou interagir com proteínas e pequenos peptídeos incluindo albumina de soro humano<sup>24</sup> e tioredoxina redutase (TrxR)<sup>25</sup> *in vitro*.



Ligantes do tipo porfirina são conhecidos pela estabilização do Au(III) e com isso

começaram a ser estudados para aplicações biológicas,<sup>26</sup> embora o entendimento do mecanismo de ação não seja claro. Historicamente, propõe-se que os compostos de Au(III) atuem de maneira análoga à cisplatina, que forma ligações covalentes com o DNA.<sup>12,19,21,27</sup> Contudo, a desmetalção e a liberação de Au(III) por complexos com porfirinas são incomuns. A intercalação com o DNA é um mecanismo possível para estes compostos devido à sua estrutura planar rígida.<sup>28</sup>

Em geral, os modos de interação entre pequenas moléculas e o DNA incluem interações covalentes e não-covalentes, como por exemplo intercalação, inserção, ligação no sulco (“groove binding”) e interações eletrostáticas.<sup>29</sup> A intercalação de pequenas moléculas com o DNA por stacking entre os pares de base foi sugerido pela primeira vez por Lerman<sup>30</sup> para explicar a alta afinidade de corantes planares pelo DNA. Corantes do tipo aminoacridina, agentes antimicrobianos como o brometo de etídio (EtBr) e a antinomicina foram estudados como uma classe de intercaladores planares.<sup>31</sup> A Figura 1.3 ilustra os 3 modos de interação não-covalente entre pequenas moléculas e o DNA: eletrostática, intercalação e ligação no sulco.<sup>32</sup>



**Figura 1.3:** Modos de interação não-covalente entre pequenas moléculas e o DNA. Adaptado de Blackburn<sup>32</sup>.

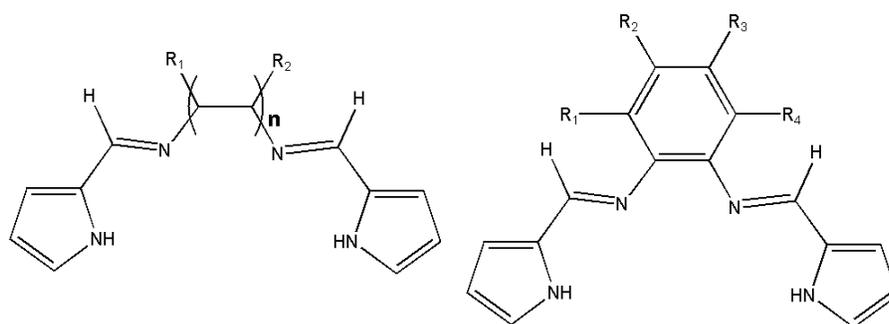
Atualmente a tioredoxina e o proteassoma vêm sendo propostos como alvos já que

os compostos  $[\text{Au}(\text{porfirina})]^+$  são cátions lipofílicos planares, e o emprego desses cátions em células cancerosas tem sido explorado.<sup>33-35</sup> Sun e colaboradores<sup>36</sup> estudaram uma série de complexos Au(III)-porfirina com o intuito de entender a relação estrutura/atividade antitumoral. Para todos os complexos a atividade relatada variou de compostos não-tóxicos para compostos com baixos valores de  $\text{IC}_{50}$ . As observações foram atribuídas à lipofilicidade dos complexos, em concordância com compostos já relatados do tipo bis-fosfina Au(I).<sup>37,38</sup> Dentre os alvos estudados, o DNA e enzimas mitocondriais se mostraram os mais prováveis. O entendimento da atividade antitumoral dos compostos  $[\text{Au}(\text{porfirina})]^+$  necessita de investigações futuras, mas abrem caminho para o planejamento de novos agentes antitumorais.<sup>36</sup>

### 1.3 Ligantes N-doadores do tipo pirrolil-imina

Ligantes derivados de bases de Schiff e seus complexos têm sido estudados extensivamente a fim de se elucidar diversos aspectos como atividade catalítica, propriedades magnéticas, espectroscópicas e antitumorais, bem como o papel dos íons metálicos em sistemas biológicos. A relação entre a estrutura e tamanho do anel quelato de ligantes multidentados em compostos de coordenação é um assunto de considerável importância já que a química de coordenação dos metais é afetada tanto pelo tipo de átomo doador quanto por requisitos estéricos. Embora ligantes derivados do bis(salicil-imina) (conhecido como salen) e seus complexos sejam extensivamente estudados neste contexto, poucas informações são conhecidas sobre os ligantes originados a partir do pirrol-2-carboxaldeído e diaminas alifáticas ou aromáticas (Figura 1.4), sendo estes compostos denominados bis-(pirrol-2-il-metilenoamina) ou

bis(pirrolil-imina).<sup>39</sup>

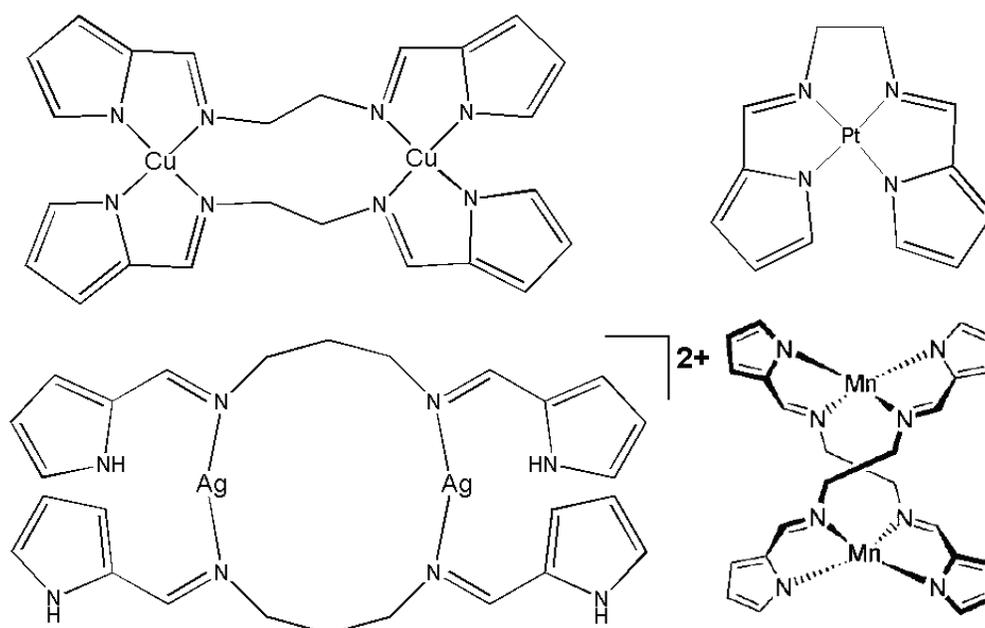


**Figura 1.4:** Estruturas esquemáticas dos ligantes bis(pirrolil-imina), onde  $n = 1, 2, 3...$

Os ligantes mostrados na Figura 1.4 já são conhecidos desde o final da década de 1930 quando Pfeiffer e colaboradores<sup>40</sup> relataram a síntese de complexos de Ni(II) e Cu(II) com 2 ligantes: o primeiro contém um grupo alifático com  $n = 1$  e o segundo contém o grupo fenil com  $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H$ . Contudo, relatos e estudos tanto dos ligantes livres quanto de seus complexos são limitados.

A coordenação destes ligantes a íons metálicos geralmente ocorre com a desprotonação dos grupos NH pirrólicos, gerando ligantes tetradentados e dianiônicos.<sup>41</sup> Esta classe de ligantes tetradentados é semelhante a dois tipos de compostos que vem sendo amplamente utilizados: os derivados de porfirinas e de bases de Schiff tetradentadas. Estes 2 compostos, que diferem na natureza de seus átomos doadores, aromaticidade e grupos orgânicos constituintes, possuem diferentes vantagens que estão presentes nos ligantes bis(pirrolil-imina): a presença dos ânions pirrolil e um conjunto de 4 átomos de nitrogênio doadores, como no esqueleto porfirínico; a estrutura macrocíclica aberta como no caso das bases de Schiff derivadas do salicilaldeído<sup>42</sup> e diversos graus de aromaticidade e flexibilidade geométrica devido ao espaçador entre as unidades pirrol-2-il-metilenoamina. Com isso, a natureza e o

tamanho dos espaçadores entre as duas unidades pirrolil-imina tem um papel decisivo na estrutura e nas propriedades destes compostos e de seus complexos. A Figura 1.5 contém alguns exemplos de complexos de Cu(II),<sup>43</sup> Pt(II),<sup>59</sup> Ag(I)<sup>44</sup> e Mn(II)<sup>42</sup> na qual se observa a diversidade de estruturas obtidas dependendo do íon metálico e do ligante.



**Figura 1.5:** Estruturas dos complexos de Cu(II), Pt(II), Ag(I) e Mn(II) relatados por Yang<sup>43</sup>, Xiang<sup>59</sup>, Zhang<sup>44</sup> e Franceschi<sup>42</sup>, respectivamente.

Outros exemplos de complexos com esta classe de ligantes incluem compostos de Ru(II),<sup>45</sup> Pd(II),<sup>46</sup> Ni(II),<sup>46–50</sup> Cu(II),<sup>49,51,52</sup> Zn(II),<sup>53–58</sup> Pt(II)<sup>59,60</sup> e até mesmo íons lantanídeos como Nd(III), Sm(III), Gd(III) e Dy(III).<sup>61</sup> Em relação a estudos biológicos de complexos com os ligantes pirrolil-imina tem-se os trabalhos publicados por Patra<sup>62</sup> e Sanders<sup>63</sup> que relataram a síntese e a reatividade biológica de espécies do tipo {FeNO} que contém um grupo nitroxil (NO<sup>-</sup>) coordenado.

Contudo, na literatura há poucas informações e estudos sobre compostos de Au(III) com ligantes pirrolil-imina. Em 2011 uma patente foi depositada por Munro e co-

laboradores<sup>16</sup> sobre novos complexos de Au(III) com ligantes do tipo bis(pirrolil-imina) e bis(imidazolil-imina) como possíveis agentes para o tratamento de câncer. Porém apenas alguns compostos foram sintetizados e tiveram suas propriedades citotóxicas investigadas, como por exemplo determinação dos valores de IC<sub>50</sub>, ensaios de inibição de topoisomerase I e II e ensaios *in vivo* de crescimento de tumor em ratos em função do tempo e do composto anticâncer. Já Akerman e colaboradores<sup>64</sup> relataram a biodistribuição *in vivo* de um composto de Au(III), marcado com <sup>198</sup>Au, com um ligante tetradentado do tipo bis(pirrolil-imina). Os resultados mostraram que a meia-vida do complexo tanto em plasma de rato quanto humano é cerca de 20 min e grandes concentrações do composto foram encontradas em órgãos com grande volume de sangue como os pulmões, o coração e o baço. Além disso a excreção ocorre através dos rins com aproximadamente 30% da dose injetada sendo eliminada em um intervalo de 24 h.



## Capítulo 2

### Objetivos

O objetivo geral deste trabalho envolve o estudo de ligantes análogos a porfirinas e bases de Schiff que atuam como tri- e tetradentados contendo apenas átomos de nitrogênio como doadores, sendo denominados pirrolil-imina e bis(pirrolil-imina), respectivamente. Desta forma, teve-se como objetivos específicos a síntese de ligantes pirrolil-imina e bis(pirrolil-imina) com as unidades etileno (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-) e *orto*-fenileno (-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-), a síntese de um complexo de Au(III) com um dos ligantes sintetizados, a caracterização dos compostos obtidos através de técnicas espectroscópicas e estudos teóricos por DFT e TD-DFT e o estudo da atividade biológica do complexo por meio de ensaios antibacterianos, citotóxicos e de interação com DNA.



# Capítulo 3

## Parte Experimental

### 3.1 Reagentes

Os reagentes utilizados bem como suas marcas e grau de pureza encontram-se na Tabela 3.1. Todos os reagentes foram empregados sem purificações prévias, com exceção da etilenodiamina que foi destilada antes do uso. A solução estoque de DNA foi preparada pela dissolução do ácido desoxirribonucleico de timo de bezerro (calf thymus ou CT-DNA) em tampão de  $\text{NaClO}_4$   $10 \text{ mmol L}^{-1}$ . Esta solução foi dialisada por 24 h numa solução de  $\text{NaClO}_4$   $10 \text{ mmol L}^{-1}$ , utilizando uma membrana de diálise Sigma com corte de massa molar de 14000 Da. A concentração final de DNA foi determinada espectrofotometricamente em termos da concentração de nucleotídeos, considerando-se o coeficiente de extinção molar  $\varepsilon$  (260 nm) =  $6600 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .<sup>65</sup>

### 3.2 Medidas físicas

As análises elementares para carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas com um equipamento Perkin Elmer 2400 CHNS/O Analyzer. Os espectros de massas

**Tabela 3.1:** Marcas e graus de pureza dos reagentes utilizados.

Reagente	Marca	Pureza
Acetonitrila	Synth	99,5%
Ácido acético glacial	Cromoline Química Fina	99,7%
Ácido tetracloroáurico	Aldrich	99,99%
Brometo de etídio (solução aquosa 10 mg mL <sup>-1</sup> )	Aldrich	—
Diclorometano	Synth	99,5%
Dimetilsulfóxido	Synth	99,9%
DNA de timo de bezerro (sal sódico)	Aldrich	—
Etanol	Synth	99,8%
Éter etílico	Synth	98%
Etilenodiamina	J. T. Baker Chemical Co.	98,8%
Hexafluorofosfato de amônio	Aldrich	95%
Hidróxido de tetrabutil-amônio (solução aquosa 1,0 mol L <sup>-1</sup> )	Aldrich	—
Orto-fenilenodiamina	Aldrich	99,5%
Perclorato de sódio	Aldrich	98%
Pirrol-2-carboxaldeído	Acros Organics	98%

foram realizados utilizando-se o método de ionização por eletrospray (ESI) em baixa resolução com o espectrômetro Waters Quattro Micro API. As amostras foram analisadas no modo positivo em uma solução de água:acetonitrila 50:50 com 0,10% (v/v) de ácido fórmico numa concentração de 0,01 mg cm<sup>-3</sup>. Condições de aquisição típicas foram: voltagem do capilar 3 kV, voltagem do cone 20 V, temperatura da fonte 100°C, temperatura de dessolvatação 200°C, fluxo do gás do cone 30 L h<sup>-1</sup>. As análises termogravimétricas foram realizadas num equipamento TGA/DTA SEIKO EXSTAR 6000 Thermoanalyzer com as seguintes condições: fluxo de ar sintético 50 cm<sup>3</sup> min<sup>-1</sup> e taxa de aquecimento 10°C min<sup>-1</sup>, de 25°C a 1000°C.

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram medidos utilizando-se um espectrofotômetro FT-IR Bomem MB- Series Modelo B100 na região de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup> com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> sendo que as amostras foram preparadas em forma de pastilhas de KBr. Os espectros de ressonância magnética nuclear de

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e de correlação [ $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ ] foram realizados em soluções de  $\text{CD}_3\text{CN}$  (pyren e  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ ),  $\text{CDCl}_3$  (bis-pyrophén) ou  $\text{DMSO-d}_6$  (mono-pyrophén) utilizando um equipamento Bruker Avance III 400 MHz (9,395T) operando em 400,1 MHz. Os espectros de absorção na região do UV-Vis foram realizados em soluções de acetonitrila (pyren e  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ ) ou diclorometano (mono- e bis-pyrophén) utilizando-se um espectrofotômetro HP Agilent 8453 com lâmpadas de tungstênio e deutério (200 a 1100 nm), com detecção por arranjo de diodos em cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico.

### 3.3 Estudos de fluorescência

Os espectros de fluorescência de uma solução de CT-DNA  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{NaClO}_4$   $10 \text{ mmol L}^{-1}$  foram adquiridos antes e após a adição de uma solução do complexo em acetonitrila (concentrações finais = 20, 30, 40, 50, 60 e  $70 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e foram monitorados num  $\lambda_{exc} = 260 \text{ nm}$  e  $\lambda_{em} = 340 \text{ nm}$  com um espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse. Para o experimento de competição com brometo de etídio ( $\text{MM} = 394,29 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{BrN}_3$ ) uma solução de CT-DNA  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  foi preparada numa solução contendo  $\text{NaClO}_4$   $10 \text{ mmol L}^{-1}$ . Soluções estoque de CT-DNA com o ligante ( $r_i = 0,2$ ) ou o complexo com  $r_i = 0,1/0,2$  ( $r_i =$  razão molar composto/nucleotídeo), ambos em  $\text{DMSO}$ , foram preparadas e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 24 h. Quantidades crescentes de brometo de etídio na faixa 0-0,05 de EtBr/nucleotídeo foram adicionadas às soluções de CT-DNA e CT-DNA tratado com o ligante ou o complexo. Os experimentos foram realizados em triplicata sendo monitorados num  $\lambda_{exc} = 525 \text{ nm}$  e  $\lambda_{em} = 600 \text{ nm}$  com um espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse.

### 3.4 Dicroísmo circular

Os espectros de dicroísmo circular de uma solução de CT-DNA  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{NaClO}_4$   $10 \text{ mmol L}^{-1}$  foram adquiridos após a adição de uma solução do complexo em DMSO com diferentes razões molares de composto/nucleotídeo ( $r_i = 0,0-0,50$ ). Todas as soluções de CT-DNA foram preparadas e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 24 h. Os espectros de CD foram obtidos à temperatura ambiente num espectropolarímetro Jasco J720 ORD 306 e em cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico, sendo que cada amostra foi lida 8 vezes numa faixa de 225-320 nm com velocidade de  $20 \text{ nm min}^{-1}$ , e portanto os espectros obtidos são a média de 8 scans independentes.

### 3.5 Modelagem molecular

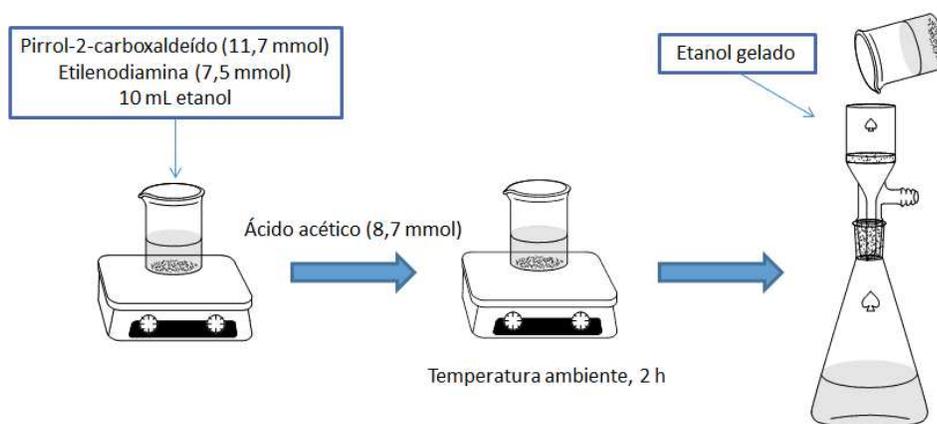
As otimizações de geometria foram realizadas com o software GAMESS<sup>66</sup> com um critério de convergência de  $10^{-4}$  u.a. O potencial efetivo de caroço LANL2TZ<sup>67</sup> foi usado para o ouro e o conjunto de funções de base 6-31G(d,p)<sup>68-71</sup> para os ligantes e 6-311G(d) para o ligante pyren no complexo. Cálculos por Teoria do Funcional de Densidade (DFT) foram feitos com o uso do funcional híbrido PBE0<sup>72</sup> para resolver as equações de Kohn-Sham. As geometrias finais foram confirmadas como mínimos da superfície de energia potencial. Cálculos de TD-DFT foram empregados para a obtenção dos espectros eletrônicos teóricos no mesmo nível de teoria com 30 excitações singlete para cada composto.

As frequências vibracionais harmônicas e as intensidades foram calculadas no mesmo nível de teoria com a avaliação da derivada segunda da energia em função das coordenadas atômicas, e as intensidades calculadas foram usadas para gerar os

espectros teóricos. As frequências foram corrigidas por um fator de 0,9547 conforme recomendado por Merrick, Moran e Radom<sup>73</sup> sendo que os espectros simulados foram obtidos com o software Molden 4.7.<sup>74</sup>

### 3.6 Síntese do ligante pyren

O ligante pyren (N,N'-bis(pirrol-2-il-metileno)etano-1,2-diamina) foi preparado a partir de um procedimento descrito na literatura.<sup>43</sup> Pirrol-2 carboxaldeído (1,11 g = 11,7 mmol) e etilenodiamina (500  $\mu$ L = 7,5 mmol) foram dissolvidos em 10 mL de etanol. A mistura foi agitada e ácido acético glacial (0,52 g = 8,7 mmol) foi adicionado. Após poucos segundos um precipitado branco se formou. A suspensão foi agitada à temperatura ambiente por 2 h. O sólido branco foi coletado por filtração, lavado com etanol gelado e seco sob vácuo até massa constante. O rendimento da síntese foi 68% (0,85 g) e a Figura 3.1 contém um esquema do procedimento.



**Figura 3.1:** Esquema de síntese para o ligante pyren.

RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ) ( $\delta$ , ppm): 3,74 (s, 2H, H6); 6,10 (dd,  $^3\text{J} = 2,6$  e 3,4 Hz, 2H, H2); 6,43 (dd,  $^3\text{J} = 3,5$  Hz,  $^4\text{J} = 1,4$  Hz, 2H, H3); 6,86 (m, 2H, H1);

8,08 (s, 2H, H5). RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ) ( $\delta$ , ppm): 61,4 (C6); 109,3 (C2); 113,6 (C3); 121,8 (C1); 130,6 (C4); 152,6 (C5). UV-Vis ( $\text{CH}_3\text{CN}$ )  $\lambda_{max}/\text{nm}$  ( $\epsilon = \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 284 (55000). ESI-MS (+): 215,2 (90%); 216,2 (10%).

### 3.7 Síntese do ligante bis-pyrophen

O ligante bis-pyrophen (N,N'-bis(pirrol-2-il-metileno)benzeno-1,2-diamina) foi preparado a partir de um procedimento descrito por Munro e colaboradores,<sup>75</sup> porém com algumas modificações. Pirrol-2-carboxaldeído (0,62 g = 6,5 mmol) foi dissolvido em 20 mL de etanol. Em seguida *orto*-fenilenodiamina (0,35 g = 3,2 mmol) foi adicionada e a mistura reacional ficou sob agitação à 65°C por 24 h, ocorrendo a formação de uma solução laranja. A solução foi resfriada à temperatura ambiente e o etanol foi removido por rotaevaporação, obtendo-se um sólido laranja. A este sólido foi adicionado cerca de 10 mL de éter etílico, sendo obtido um sólido levemente amarelado que foi filtrado, lavado com éter etílico gelado e seco sob vácuo até massa constante. O rendimento da síntese foi 27% (0,23 g) e a Figura 3.2 contém um esquema do procedimento.

RMN de  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$ , ppm): 6,09 (t,  $^3\text{J} = 2,8 \text{ Hz}$ , 2H, H2); 6,38 (s, 2H, H1); 6,48 (dd,  $^3\text{J} = 3,5 \text{ Hz}$ ,  $^4\text{J} = 0,9 \text{ Hz}$ , 2H, H3); 7,11 (dd,  $^3\text{J} = 5,8 \text{ Hz}$ ,  $^4\text{J} = 3,4 \text{ Hz}$ , 2H, H8); 7,28 (m, 2H, H7); 7,81 (s, 2H, H5). RMN de  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$ , ppm): 109,8 (C1); 117,2 (C2); 119,0 (C8); 123,8 (C3); 126,6 (C7); 131,0 (C4); 145,7 (C6); 150,5 (C5). UV-Vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{max}/\text{nm}$  ( $\epsilon = \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 303 (37000), 345 (26000). ESI-MS (+): 263,3 (100%); 264,3 (20%).

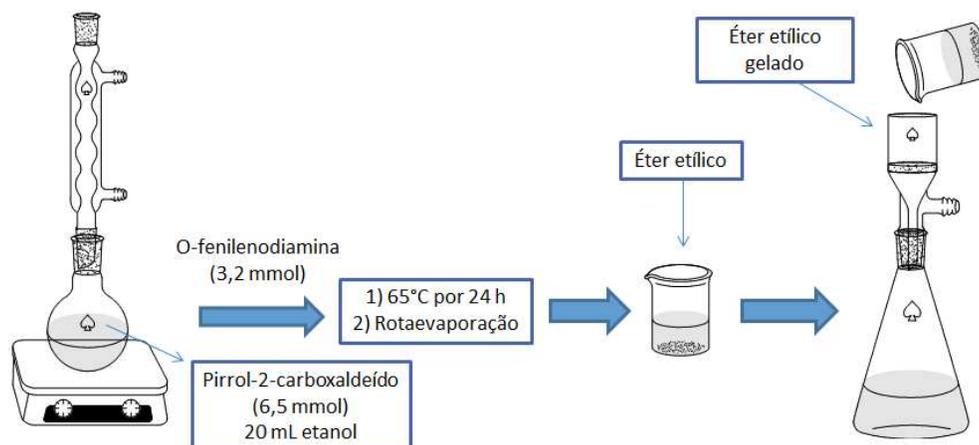
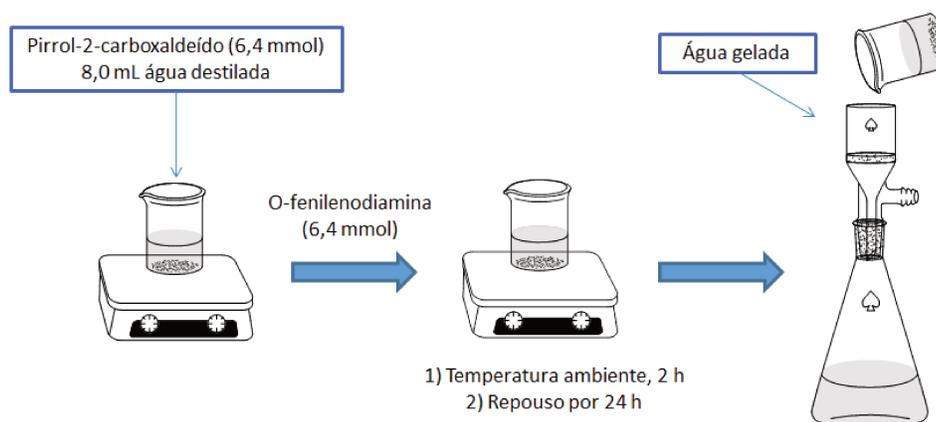


Figura 3.2: Esquema de síntese para o ligante bis-pyrophen.

### 3.8 Síntese do ligante mono-pyrophen

O ligante mono-pyrophen (N-(pirrol-2-il-metileno)benzeno-1,2-diamina) foi preparado de acordo com o procedimento relatado por Rao e colaboradores.<sup>76</sup> Pirrol-2-carboxaldeído (0,61 g = 6,4 mmol) foi suspenso em 8 mL de água destilada. Em seguida *orto*-fenilenodiamina (0,69 g = 6,4 mmol) foi adicionada e a mistura reacional ficou sob agitação à temperatura ambiente por 2 h, ocorrendo a formação de uma solução amarela. A solução foi deixada em repouso por 24 h e após este período formou-se um sólido amarelo. Este sólido foi coletado por filtração, lavado com água destilada gelada e seco sob vácuo até massa constante. O rendimento da síntese foi 65% (0,76 g) e a Figura 3.3 contém um esquema do procedimento.

RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) ( $\delta$ , ppm): 5,26 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 6,20 (m, 1H, H2); 6,53 (td,  $^3\text{J} = 7,8$  Hz,  $^4\text{J} = 1,4$  Hz, 1H, H9); 6,64 (m, 1H, H3); 6,68 (dd,  $^3\text{J} = 7,9$  Hz,  $^4\text{J} = 1,3$  Hz, 1H, H10); 6,90 (td,  $^3\text{J} = 7,2$  Hz,  $^4\text{J} = 1,4$  Hz, 1H, H8); 7,06 (m, 1H, H1); 7,10 (dd,  $^3\text{J} = 7,9$  Hz,  $^4\text{J} = 1,4$  Hz, 1H, H7); 8,41 (s, 1H, H5); 11,7 (s, 1H, NH pirrol). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ ) ( $\delta$ , ppm): 110,0 (C2); 114,8 (C10);



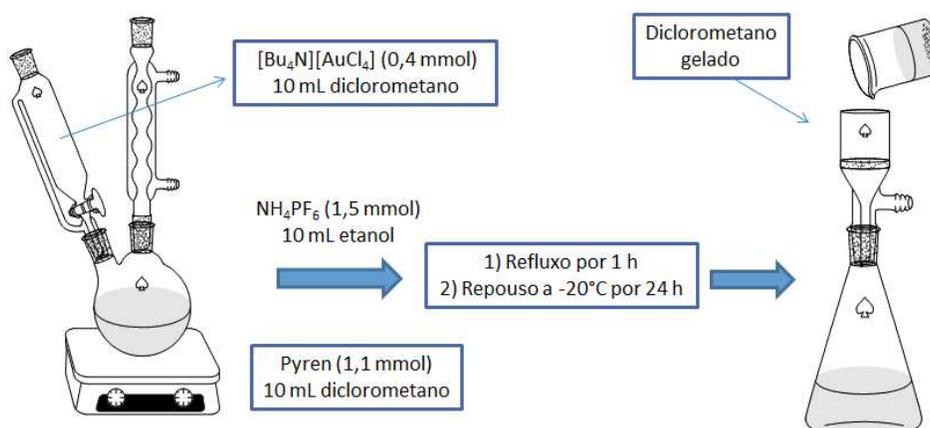
**Figura 3.3:** Esquema de síntese para o ligante mono-pyrophén.

115,5 (C3); 116,3 (C8); 116,5 (C7); 123,5 (C1); 126,9 (C9); 131,9 (C4); 135,5 (C6); 144,5 (C11); 145,9 (C5). UV-Vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )  $\lambda_{max}/\text{nm}$  ( $\epsilon = \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ): 243 (12400), 299 (16000), 363 (14000). ESI-MS (+): 186,1 (100%); 187,1 (10%).

### 3.9 Síntese do complexo de Au(III) com o ligante pyren

O complexo de Au(III), denominado  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ , foi sintetizado de acordo com o procedimento relatado por Munro e colaboradores.<sup>16</sup> Primeiramente, a uma solução de  $\text{H}[\text{AuCl}_4]$  (0,99 g = 3,0 mmol) em água destilada (15 mL) foi adicionada uma solução  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $[\text{Bu}_4\text{N}]\text{OH}$  (3,6 mL = 3,6 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h e o sólido amarelo obtido foi recolhido por filtração, lavado com água destilada e seco sob vácuo até massa constante, com rendimento de 80% (1,36 g). A uma suspensão do pyren sob agitação (0,39 g = 1,83 mmol) em 8 mL de diclorometano o composto  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  foi adicionado (0,40 g = 2,45 mmol) em 8 mL de etanol. Em seguida  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$  (0,39 g = 0,68 mmol) em 10 mL de diclorometano foi adicionado gota a gota. A mistura reacional foi aquecida sob

refluxo durante 1 hora e depois resfriada à temperatura ambiente. A solução laranja foi tampada e deixada no freezer ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) por 24 h, resultando num sólido laranja. O produto foi recolhido por filtração, lavado com diclorometano e seco sob vácuo até massa constante. O rendimento da síntese foi 74% (0,28 g) e a Figura 3.4 contém um esquema do procedimento.



**Figura 3.4:** Esquema de síntese para o complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

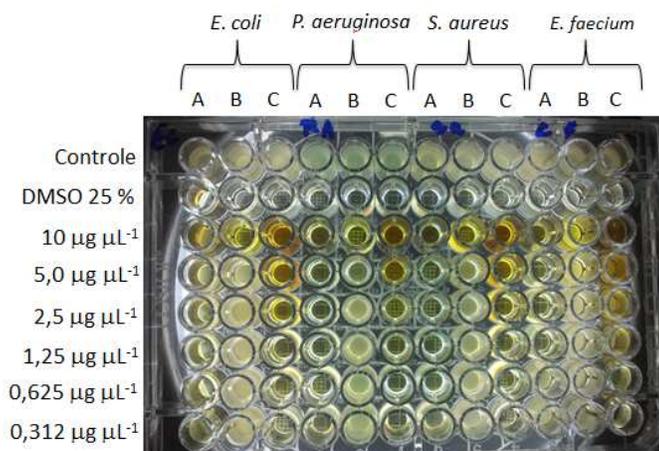
RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ) ( $\delta$ , ppm): 4,41 (s, 2H, H6); 6,48 (dd,  $^3\text{J} = 4,2$  Hz,  $^4\text{J} = 2,1$  Hz, 2H, H2); 7,07 (d,  $^3\text{J} = 4,3$  Hz, 2H, H3); 7,45 (d,  $^3\text{J} = 1,4$  Hz, 2H, H1); 7,85 (s, 2H, H5). RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ) ( $\delta$ , ppm): 62,5 (C6); 112,8 (C2); 125,6 (C3); 139,9 (C1); 143,3 (C4); 161,2 (C5). UV-Vis ( $\text{CH}_3\text{CN}$ )  $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$  ( $\epsilon = \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 289 (13500), 382 (7500). ESI-MS (+): 409,1 (100%); 410,1 (20%).

### 3.10 Ensaios antibacterianos

As atividades do ligante pyren, do precursor  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$  e do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  foram testadas sobre 4 cepas bacterianas patogênicas: *Staphylococcus aureus* - ATCC 25923 e *Enterococcus faecium* - ATCC 6569 (Gram-positivas), *Pseudomonas aeru-*

*ginosa* - ATCC 27853 e *Escherichia coli* - ATCC 25922 (Gram-negativas). Estes estudos foram realizados nos laboratórios de Micro e Imunobiologia do Centro Universitário de Araraquara-UNIARA, em colaboração com o Prof. Dr. Wilton Rogério Lustru.

Soluções estoque do pyren e do precursor  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$  foram preparadas em dimetilsulfóxido ( $10.0 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$ ) anteriormente a uma diluição em série. Inóculos suficientes das cepas bacterianas foram adicionados a uma placa com 96 poços até um nível de turbidez equivalente a 0,5 McFarland ( $\sim 1.5 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ ). Os compostos testados foram sequencialmente diluídos nos poços, conforme observado na Figura 3.5. Em 1 conjunto de poços de cada cepa bacteriana não foi feita a adição dos compostos testados enquanto que em outro conjunto foi adicionado DMSO 25%. Os valores de concentração inibitória mínima foram estimados de acordo com as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute*.<sup>77</sup>



**Figura 3.5:** Esquema de incubação das cepas bacterianas com os 96 poços.

### 3.11 Ensaios citotóxicos

As atividades citotóxicas do ligante pyren e do complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  foram testadas sobre células epiteliais basais de adenocarcinoma de pulmão (A549), células de câncer de próstata (PC3), células de adenocarcinoma endometrial (HEC1B) e células não-tumorais de fibroblastos de rato (Balb/3T3). Estes estudos foram realizados no Laboratório de Biotecnologia do Instituto de Biologia da Unicamp, em colaboração com o Prof. Dr. Marcelo Lancellotti.

As linhagens celulares foram cultivadas em um meio de cultura de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com 10% de serum de vitelo, usando estreptomicina e penicilina como antibióticos, numa atmosfera de 5% de  $\text{CO}_2$  a  $37^\circ\text{C}$ . Todos os reagentes de cultura celular foram obtidos da Costar (Corning Inc., NY). O sal 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) foi adquirido da Sigma Aldrich. As linhagens celulares foram colocadas numa placa contendo 96 poços ( $5 \times 10^3$  células/poço) 24 h antes do início do experimento. Soluções estoque do pyren e do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  foram preparadas em dimetilsulfóxido numa concentração de  $10 \text{ mmol L}^{-1}$ . Os compostos foram diluídos no meio celular com o intuito de se obter diferentes concentrações ( $100\text{-}3,125 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Quarenta e oito horas após a adição dos compostos o sal MTT foi adicionado (com uma concentração final de  $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e as células foram incubadas por um período de 3 h.<sup>78</sup> Após o período de incubação as células foram lavadas com tampão fosfato salino (PBS) e isopropanol foi adicionado. A viabilidade celular foi determinada por medidas de absorvância em 570 nm.



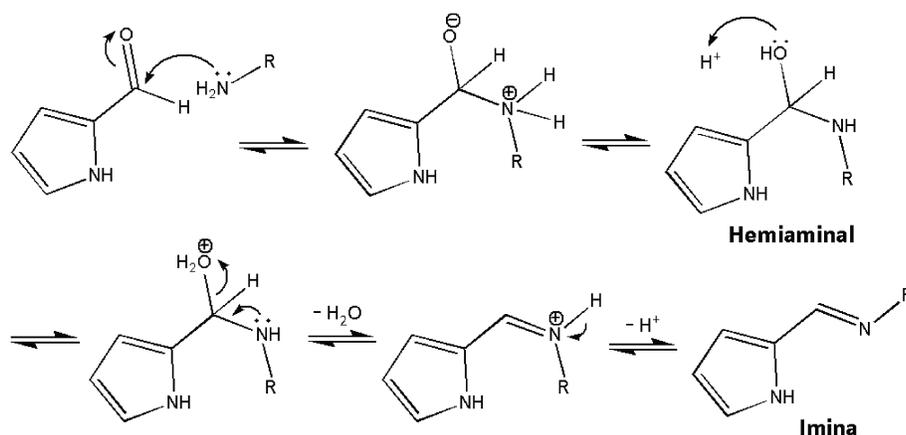
# Capítulo 4

## Resultados e Discussão

### 4.1 Ligante pyren

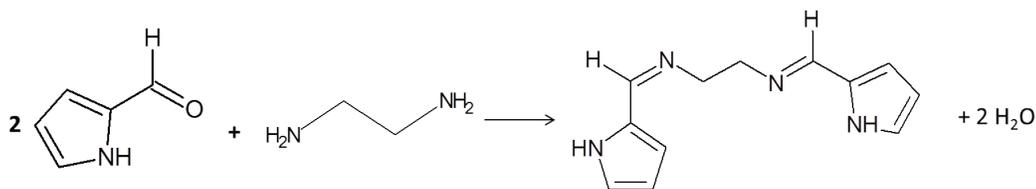
#### 4.1.1 Composição química

Convencionalmente, as bases de Schiff podem ser preparadas através do refluxo da amina e do aldeído num solvente orgânico, como etanol ou metanol, com diversas variações tais como o tratamento da mistura à temperatura ambiente na presença de ácido acético, refluxo da mistura em heptano ou formando uma mistura azeotrópica com benzeno num tubo Dean-Stark na presença de ácido. Além disso, para favorecer a reação o equilíbrio deve ser deslocado por meio da remoção da água<sup>76</sup> já que esta reação é uma condensação entre um aldeído ou cetona com uma amina primária, onde ocorre a perda de 1 mol de água por mol de amina. Em relação ao mecanismo, primeiramente a carbonila sofre um ataque nucleofílico da amina e o intermediário hemiaminal é formado. Em seguida uma etapa de desidratação do intermediário produz a imina.<sup>79</sup> A Figura 4.1 ilustra o mecanismo com o pirrol-2-aldeído, conforme descrito por Clayden.<sup>79</sup>



**Figura 4.1:** Esquema do mecanismo de formação de iminas com o pirrol-2-aldeído. Mecanismo adaptado de Clayden<sup>79</sup>.

A síntese do ligante N,N'-bis(pirrol-2-il-metileno)etano-1,2-diamina, aqui definido como pyren, foi realizada através da condensação entre pirrol-2-carboxaldeído e uma diamina primária (etilenodiamina) em etanol com ácido acético à temperatura ambiente, conforme mostrado na Figura 4.2. A reação ocorre na presença de um ácido fraco pois a formação de iminas é mais rápida em uma faixa de pH = 4-6: em pH mais baixo uma grande quantidade de amina se encontra protonada e a velocidade da primeira etapa (ataque nucleofílico) é lenta; em pH mais alto a concentração de próton é baixa e com isso a etapa de protonação do grupo OH no intermediário hemiaminal é mais lenta.<sup>79</sup>



**Figura 4.2:** Reação envolvida na síntese do pyren.

A análise elementar do pyren confirma a composição para  $C_{12}H_{14}N_4$  - Calculado: C (67,2); H (6,53); N (26,1%). Experimental: C (67,3); H (6,09); N (26,2%).

O espectro de massas, obtido no modo positivo, mostrou um pico com intensidade 90% em  $m/z$  215,2 atribuído ao ligante protonado  $[\text{pyren} + \text{H}]^+$  conforme observado na Figura 4.3. Já o sinal em  $m/z$  216,2 (intensidade 10%) corresponde ao padrão isotópico correspondente a  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$ . O ligante é solúvel em metanol, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, clorofórmio, acetona e insolúvel em éter etílico e n-hexano.

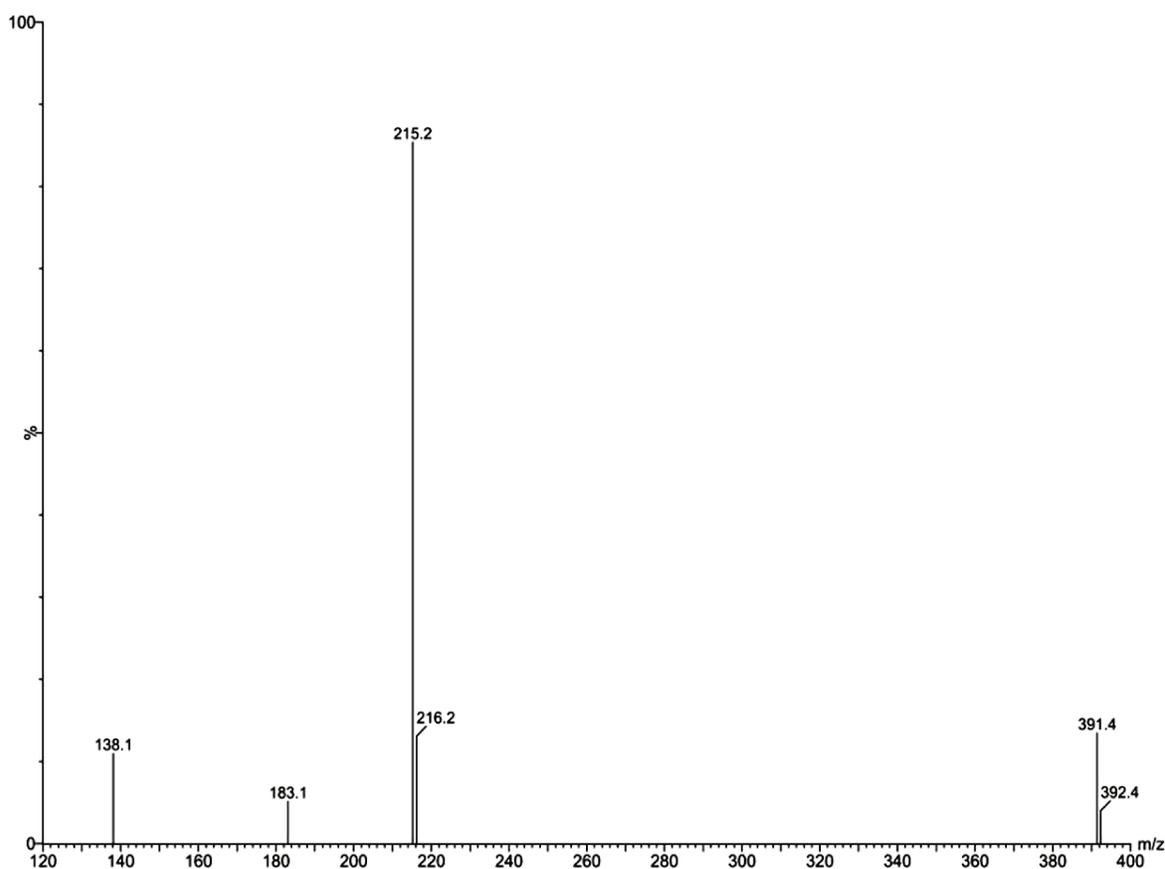
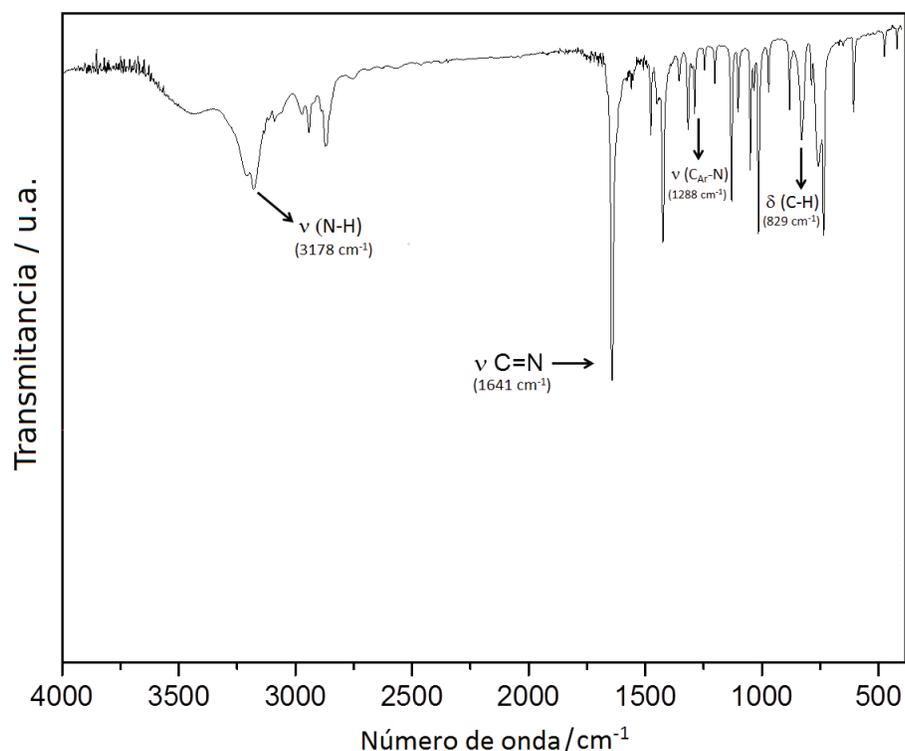


Figura 4.3: Espectro de massas (ESI-MS) do pyren.

#### 4.1.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

O espectro de infravermelho experimental do pyren é mostrado na Figura 4.4. O espectro do pyren exibe o estiramento (N-H) do pirrol em  $3178\text{ cm}^{-1}$ . Os estiramentos assimétrico e simétrico (C-H) do grupo  $\text{CH}_2$  da cadeia etil aparecem em

2941 e 2871  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Uma banda fina e intensa em 1641  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento ( $\text{C}=\text{N}$ ) do grupo imino. Além disso o estiramento ( $\text{C}_{\text{Ar}}-\text{N}$ ) do anel pirrólico em 1288  $\text{cm}^{-1}$  e a deformação ( $\text{C}-\text{H}$ ) fora do plano de compostos heteroaromáticos em 829  $\text{cm}^{-1}$  também são observadas.<sup>52</sup>

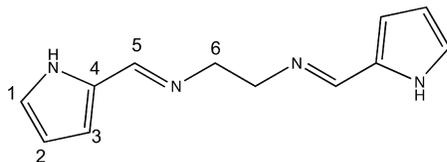


**Figura 4.4:** Espectro experimental no infravermelho do pyren.

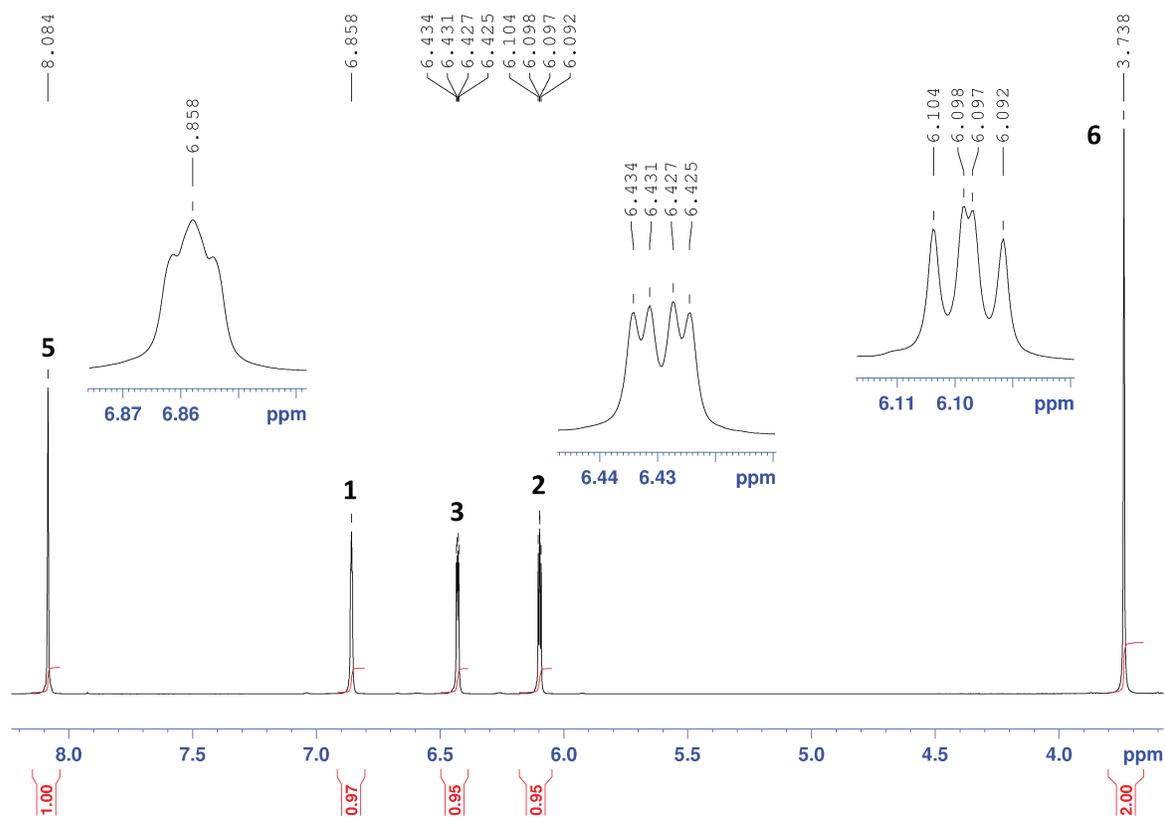
### 4.1.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A estrutura do pyren com a atribuição dos carbonos é mostrada na Figura 4.5. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para o pyren é apresentado na Figura 4.6. Os hidrogênios da ponte etileno aparecem como um singlete em 3,74 ppm. Os hidrogênios do anel pirrólico aparecem na região de prótons aromáticos como duplo dublete (H2, 6,10 ppm com  $^3\text{J} = 2,6$  e 3,4 Hz), duplo dublete (H3, 6,43 ppm com  $^3\text{J} = 3,5$  Hz e  $^4\text{J} =$

1,4 Hz) e multiplete (H1, 6,86 ppm). Os hidrogênios do grupo imino (H5) também aparecem como um singlete em 8,08 ppm,<sup>54</sup> sendo que esta desblindagem é atribuída à anisotropia da ligação C=N.<sup>80</sup>



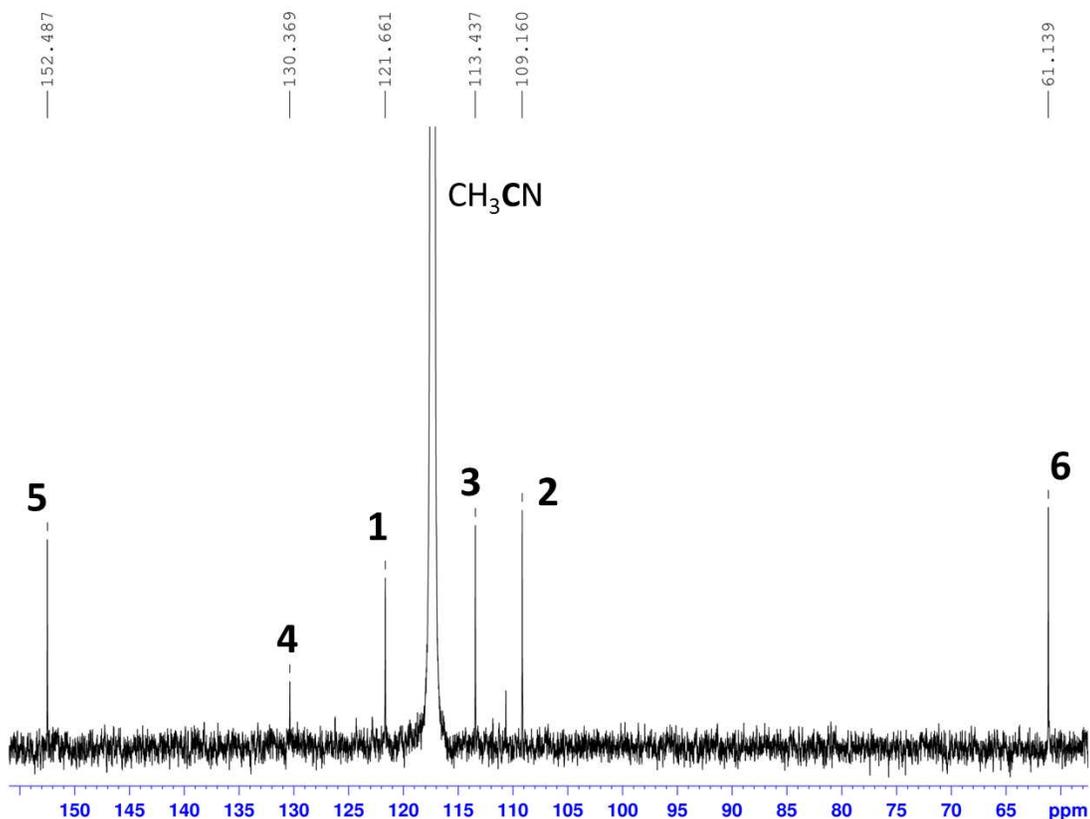
**Figura 4.5:** Estrutura esquemática do pyren com numeração nos carbonos.



**Figura 4.6:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do pyren. Condições: Avance 500 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ .

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtido para o pyren é apresentado na Figura 4.7. Os átomos de carbono da ponte etileno (C6) aparecem em 61,4 ppm, conforme esperado para grupos alcano substituídos por heteroátomos. Os carbonos do anel

pirrólico aparecem na região de compostos heteroaromáticos em 109,3 (C2), 113,6 (C3), 121,8 (C1) e 130,6 (C4) ppm, enquanto os carbonos do grupo imino (C5) aparecem em 152,6 ppm devido à hibridização do átomo de carbono ( $C sp^2$ ) e a eletronegatividade do átomo de nitrogênio.<sup>81</sup>

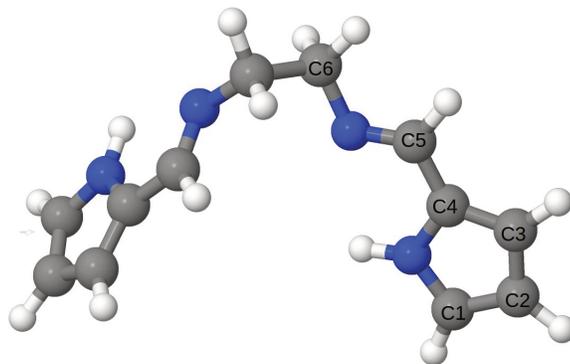


**Figura 4.7:** Espectro de RMN de  $^{13}C$  do pyren. Condições: Avance 500 MHz,  $CD_3CN$ .

#### 4.1.4 Modelagem da geometria por DFT

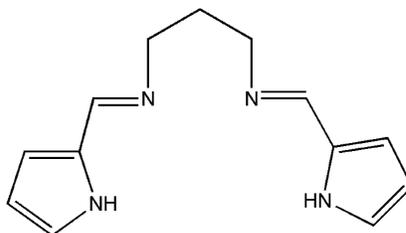
A fim de confirmar a estrutura do complexo de Au(III) com o pyren, cálculos teóricos usando a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) com uma coordenação através dos 4 átomos de nitrogênio foram realizados, conforme será discutido na seção 4.4.4. Contudo, primeiramente a geometria de equilíbrio do ligante livre foi

determinada com o funcional PBE0 já que a geometria do complexo foi obtida com este funcional. A Figura 4.8 mostra a geometria otimizada.



**Figura 4.8:** Estrutura otimizada para o pyren com o funcional PBE0.

A geometria obtida para o pyren está em boa concordância com dados cristalográficos relatados para um ligante análogo bis(pirrol-imina),<sup>41</sup> que difere do pyren pela presença de 1 grupo ( $\text{CH}_2$ ) a mais na ponte alquil (Figura 4.9). Alguns parâmetros geométricos obtidos para o pyren juntamente com parâmetros experimentais do ligante análogo relatado por Munro e Camp<sup>41</sup> são mostrados na Tabela 4.1. A geometria do grupo imino é exclusivamente o isômero *E*, consistente com o fato de que o isômero *Z* levaria a interações estéreas entre o grupo NH do pirrol e os grupos  $\text{CH}_2$  adjacentes da ponte etil. Além disso os grupos  $\text{CH}_2$  da ponte etil estão numa conformação alternada enquanto as unidades (pirrol-2-il-metileno)amina apresentam uma configuração *anti*.



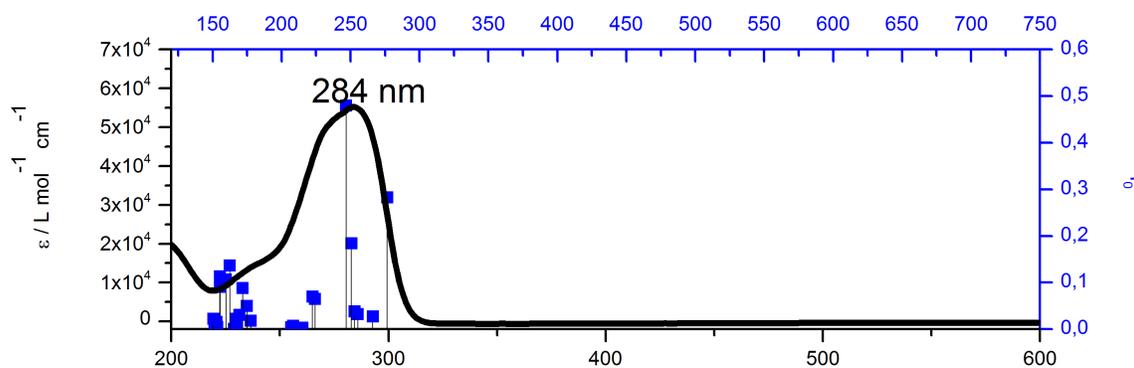
**Figura 4.9:** Estrutura do ligante análogo relatada por Munro e Camp<sup>41</sup>.

**Tabela 4.1:** Parâmetros geométricos obtidos por DFT usando PBE0 para o pyren.

Distâncias / Å	Teórico	Ligante análogo
NH-C1	1,357; 1,358	1,367; 1,368
C1-C2	1,383	1,381; 1,378
C2-C3	1,412	1,411; 1,416
C3-C4	1,387	1,388; 1,389
C4-C5	1,442; 1,443	1,446; 1,447
C5-N	1,276; 1,277	1,280; 1,281
Ângulo / grau		
C1-NH-C4	110,1	108,9; 109,0
C5-N-C6	117,7; 118,2	116,9; 117,0

#### 4.1.5 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível

O espectro eletrônico experimental do pyren, juntamente com as absorções calculadas por TD-DFT, encontram-se na Figura 4.10. O espectro apresenta uma banda de absorção intensa em 284 nm ( $\epsilon = 55000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) que é atribuída a uma transição  $n-\pi^*$  do par de elétrons não-ligantes do nitrogênio do grupo imino.<sup>82</sup> Contudo, de acordo com Holland e colaboradores<sup>50</sup> a natureza das transições observadas nos espectros eletrônicos de ligantes bis(pirrol-imina) e seus complexos ainda é incerta e somente uma tentativa de atribuição é possível, já que as propriedades eletrônicas do anel pirrólico não são completamente compreendidas.

**Figura 4.10:** Transições eletrônicas experimental e teórica (linhas verticais) do pyren. Os eixos do topo e da direita correspondem aos parâmetros do espectro teórico.

Com isso cálculos de DFT dependente do tempo foram empregados com o intuito de explicar a natureza das transições observadas no espectro experimental, já que na literatura a atribuição das bandas é feita por analogia a ligantes similares. Os resultados mostraram que a banda de absorção intensa observada em 284 nm corresponde a uma transição de orbitais predominantemente do pirrol para orbitais predominantemente da imina, basicamente envolvendo transições HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO e HOMO  $\rightarrow$  LUMO+1. Portanto para o pyren propõe-se uma atribuição diferente da relatada na literatura ( $n-\pi^*$ ), sendo na verdade uma transição do tipo pirrol-imina  $\pi-\pi^*$ .

A Tabela 4.2 contém apenas as transições mais importantes observadas no espectro experimental do pyren enquanto o Apêndice A.1 contém a contribuição dos anéis pirrólicos e da imina na composição dos principais orbitais do pyren. A tabela completa contendo as 30 excitações, força do oscilador, transições inicial e final e suas atribuições se encontra no Apêndice A.2. Já a Figura 4.11 ilustra o diagrama de distribuição eletrônica nos orbitais de Kohn-Sham para o pyren.

**Tabela 4.2:** Transições observadas no espectro experimental e suas atribuições para o pyren.

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
1	4,48	277	0,28	57	58	98	pirrol-imina
5	4,95	251	0,18	56	59	79	pirrol-imina
6	5,02	247	0,48	56	58	33	pirrol-imina
				57	59	54	pirrol-imina

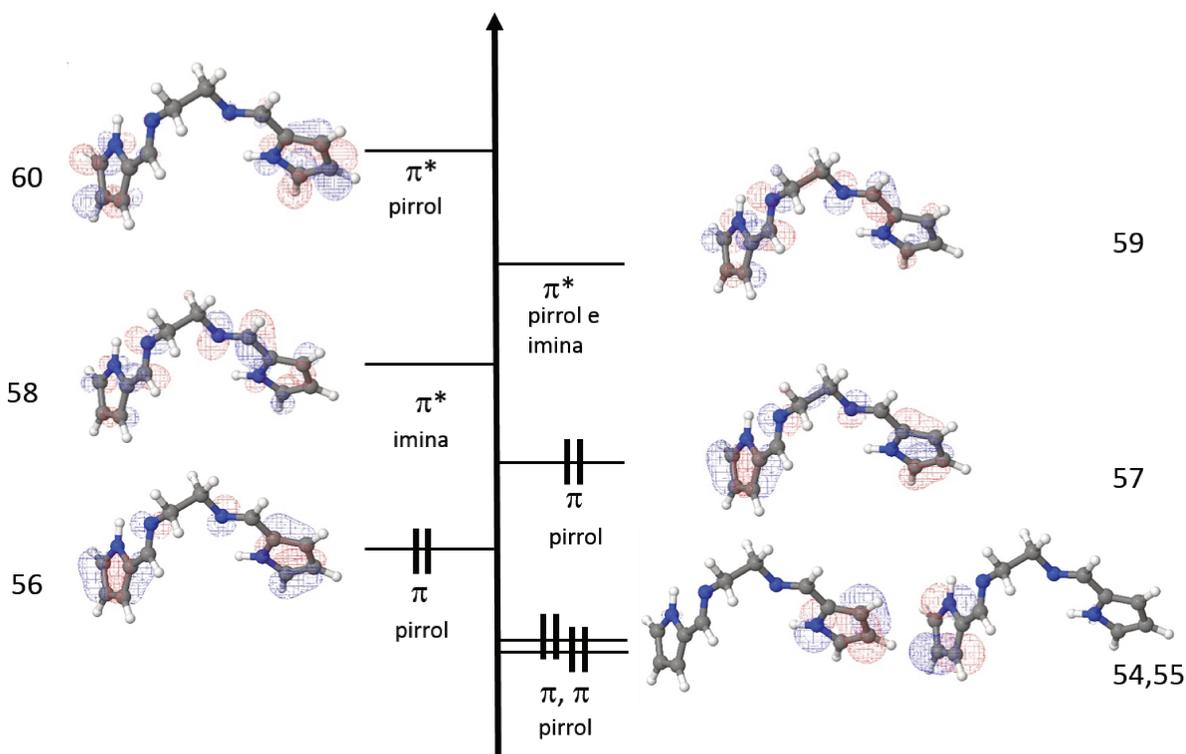


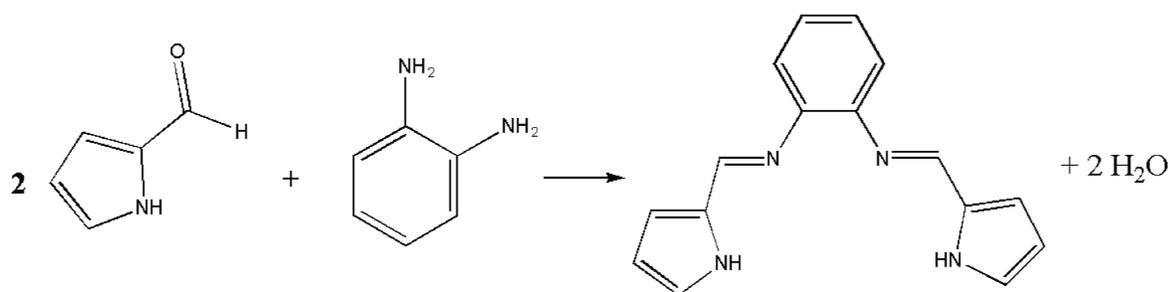
Figura 4.11: Diagrama de energia dos orbitais de Kohn-Sham para o pyren.

## 4.2 Ligante bis-pyrophén

### 4.2.1 Composição química

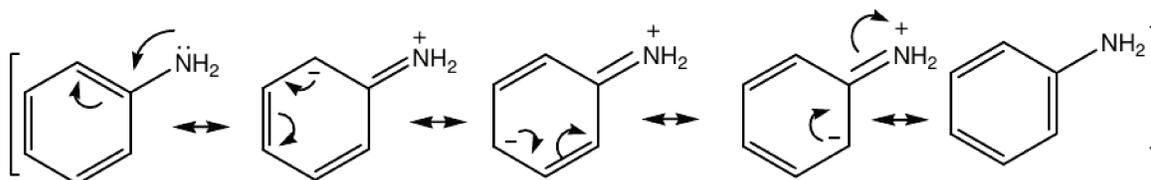
A síntese do ligante N,N'-bis(pirrol-2-il-metileno)benzeno-1,2-diamina, denominado bis-pyrophén, foi realizada através da condensação entre pirrol-2-carboxaldeído e a diamina aromática *orto*-fenilenodiamina em etanol numa temperatura de 65°C por 24 h, conforme observado na Figura 4.12. A análise elementar do bis-pyrophén confirma a composição para um composto de fórmula  $C_{16}H_{14}N_4$  - Calculado: C (73,2); H (5,34); N (21,4%). Experimental: C (73,4); H (4,69); N (21,2%).

No caso desta síntese o aquecimento e o maior tempo de reação são necessários pois aminas aromáticas são bases mais fracas do que aminas alifáticas<sup>79</sup> e para favorecer a condensação nos dois grupos amino da *orto*-fenilenodiamina. Este efeito



**Figura 4.12:** Reação envolvida na síntese do bis-pyrophen.

pode ser explicado pelas contribuições de ressonância que deslocalizam o par de elétrons não-compartilhado do nitrogênio sobre as posições *orto* e *para* do anel, fazendo com que este par esteja menos disponível para um ataque nucleofílico.<sup>83</sup> A Figura 4.13 mostra as estruturas de ressonância para a anilina, onde é possível observar a participação do par de elétrons do nitrogênio.



**Figura 4.13:** Estruturas de ressonância para a anilina. Adaptado de Solomons<sup>83</sup>

O espectro de massas, obtido no modo positivo, mostrou um pico com intensidade 100% em  $m/z$  263,3 atribuído ao ligante protonado  $[\text{bis-pyrophen} + \text{H}]^+$  conforme observado na Figura 4.14. Já o sinal em  $m/z$  264,3 (intensidade 20%) corresponde ao padrão isotópico correspondente a  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$ . O ligante é solúvel em diversos solventes orgânicos como etanol, metanol, acetonitrila, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, diclorometano, clorofórmio, acetona e éter etílico mas insolúvel em água.

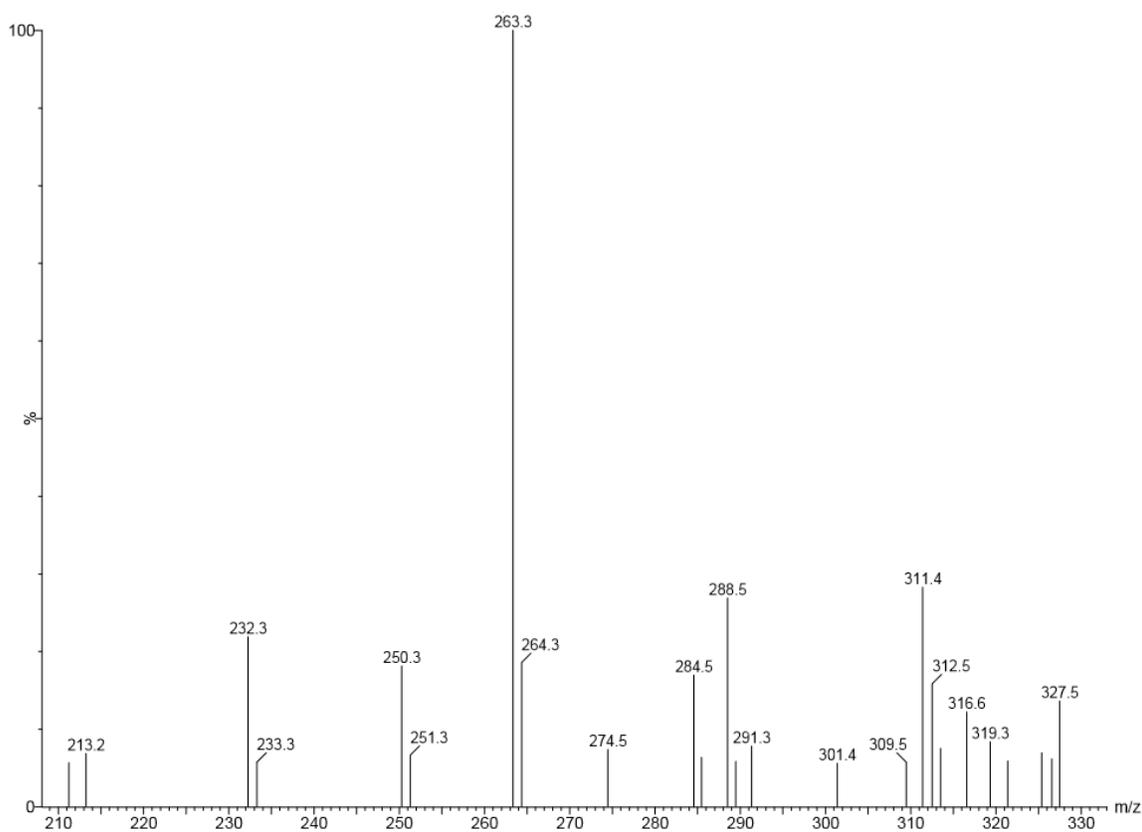
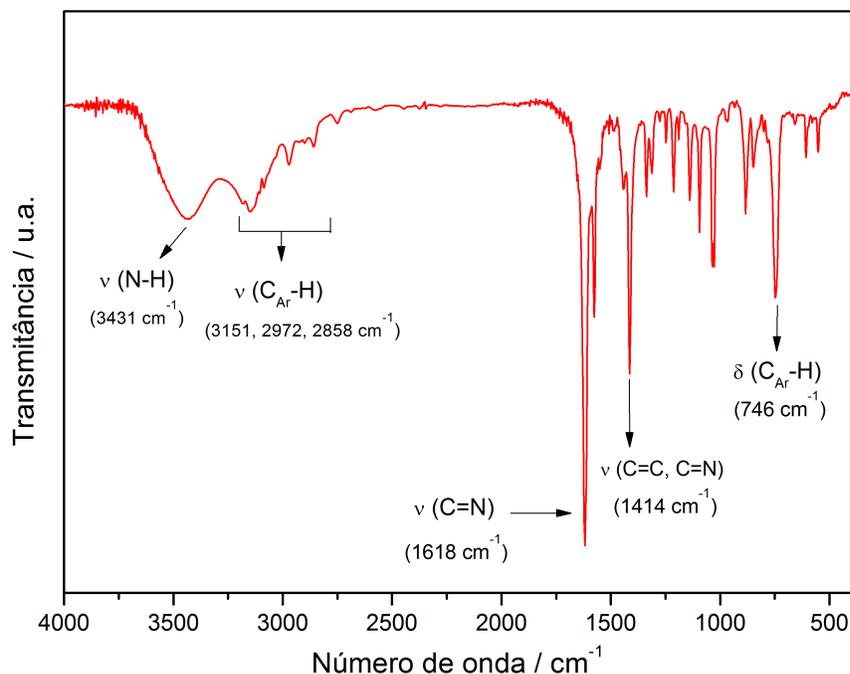


Figura 4.14: Espectro de massas (ESI-MS) do bis-pyropheen.

#### 4.2.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

O espectro de infravermelho experimental do bis-pyropheen se encontra na Figura 4.15. No espectro é possível observar uma banda larga referente ao estiramento (N-H) do pirrol em  $3431\text{ cm}^{-1}$ . Os estiramentos ( $C_{Ar}\text{-H}$ ) do grupo fenil e do anel pirrólico aparecem em  $3151$ ,  $2972$  e  $2858\text{ cm}^{-1}$ . Uma banda fina e intensa em  $1618\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento (C=N) do grupo imino, sendo observada em menor frequência devido à maior conjugação com o grupo aromático fenil.<sup>84</sup> A banda em  $1414\text{ cm}^{-1}$  é atribuída aos estiramentos (C=C) e (C=N) presentes em compostos heterocíclicos aromáticos, sendo denominada como modo de estiramento do anel.<sup>85</sup> Além disso a deformação ( $C_{Ar}\text{-H}$ ) fora do plano do grupo fenil e do anel pirrólico

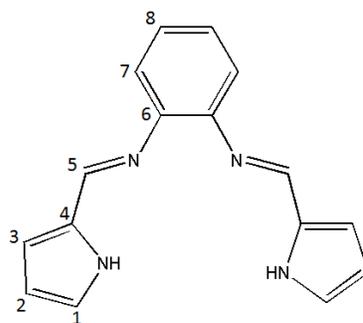
em  $746\text{ cm}^{-1}$  também é observada.



**Figura 4.15:** Espectro experimental no infravermelho do bis-pyrophén.

### 4.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A estrutura do bis-pyrophén com a atribuição dos carbonos é mostrada na Figura 4.16. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para o bis-pyrophén é apresentado na Figura 4.17. Os hidrogênios do anel pirrólico aparecem na região de prótons aromáticos como triplete (H1, 6,09 ppm com  $^3J = 2,8\text{ Hz}$ ), singlete (H3, 6,38 ppm) e duplo dublete (H2, 6,48 ppm com  $^3J = 3,5\text{ Hz}$  e  $^4J = 0,9\text{ Hz}$ ). Os hidrogênios do grupo fenil também aparecem na região de prótons aromáticos (devido à anisotropia gerada pelos elétrons  $\pi$ <sup>81</sup>) como duplo dublete (H8, 7,11 ppm com  $^3J = 5,8\text{ Hz}$  e  $^4J = 3,4\text{ Hz}$ ) e multiplete (H7, 7,28 ppm). Por fim os hidrogênios do grupo imino (H5) aparecem como um singlete em 7,81 ppm,<sup>75</sup> sendo que esta desblindagem é atribuída à anisotropia da ligação C=N.<sup>80</sup>

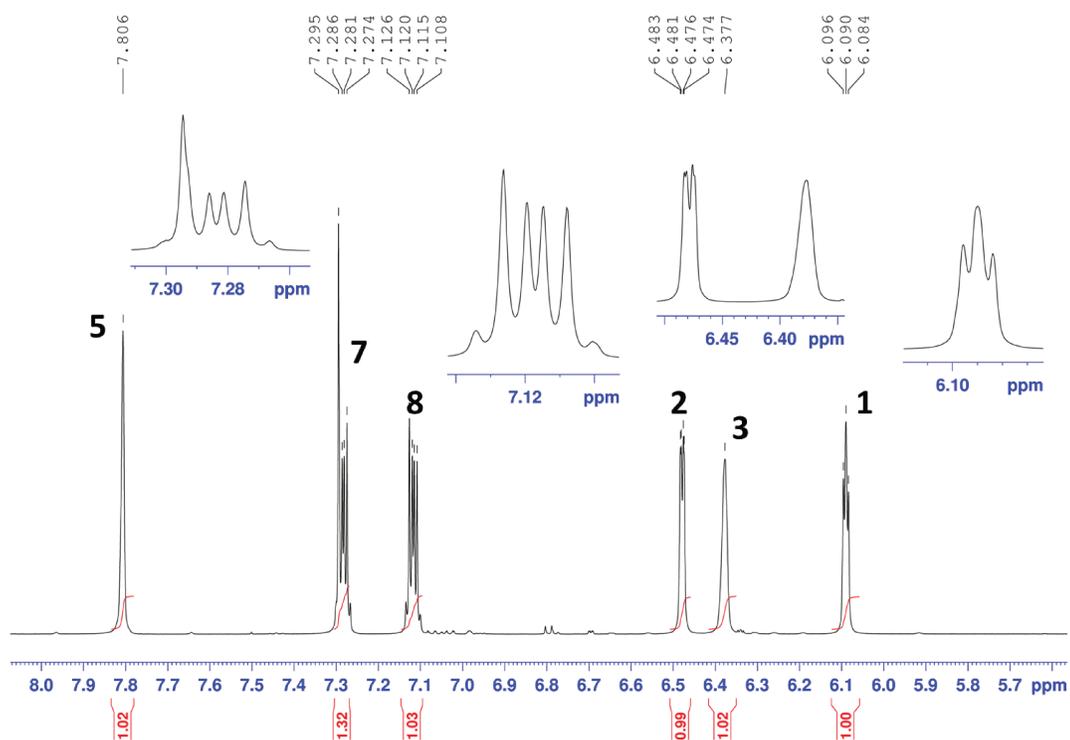


**Figura 4.16:** Estrutura esquemática do bis-pyrophene com numeração nos carbonos.

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtido para o bis-pyrophene é apresentado na Figura 4.18. Os carbonos do anel pirrólico aparecem na região de compostos heteroaromáticos em 109,8 (C1), 117,2 (C2), 123,8 (C3) e 130,9 (C4) ppm. Os átomos de carbono do grupo fenil aparecem em 119,0 (C8), 126,6 (C7) e 145,7 (C6) ppm, conforme esperado para carbonos de compostos aromáticos, sendo que o carbono C6 se encontra mais desblindado devido à ligação com o nitrogênio do grupo imino. Já os carbonos do grupo imino (C5) aparecem em 150,5 ppm e são os mais desblindados devido à hibridização do átomo de carbono ( $\text{C sp}^2$ ) e a eletronegatividade do átomo de nitrogênio.<sup>81</sup>

#### 4.2.4 Modelagem da geometria por DFT

A Figura 4.19 mostra a geometria otimizada para o bis-pyrophene com o funcional PBE0. A geometria obtida está em boa concordância com os dados cristalográficos relatados para este ligante, conforme descrito por Munro e colaboradores.<sup>75</sup> Alguns parâmetros geométricos obtidos para o bis-pyrophene juntamente com parâmetros experimentais da estrutura cristalina são mostrados na Tabela 4.3. A geometria do grupo imino é exclusivamente o isômero *E*. Uma conformação não-planar é favorecida neste ligante, na qual os anéis pirrólicos estão para fora do plano definido pelo

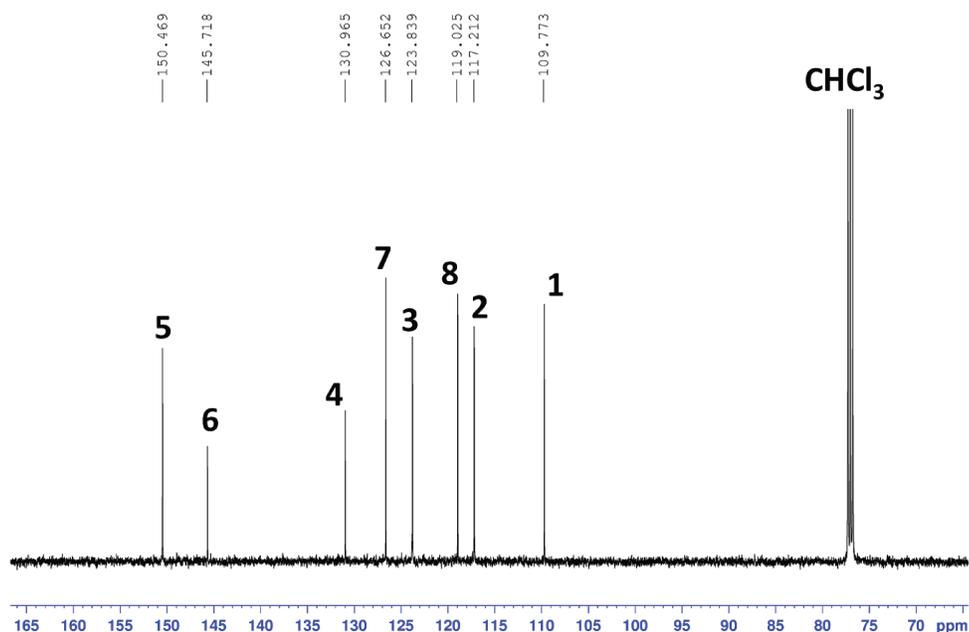


**Figura 4.17:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do bis-pyrophene. Condições: Avance 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

grupo fenil. Um fato interessante na estrutura cristalina deste ligante é a existência de ligações de hidrogênio onde o grupo NH do pirrol atua como doador enquanto o nitrogênio do grupo imino atua como aceitador.

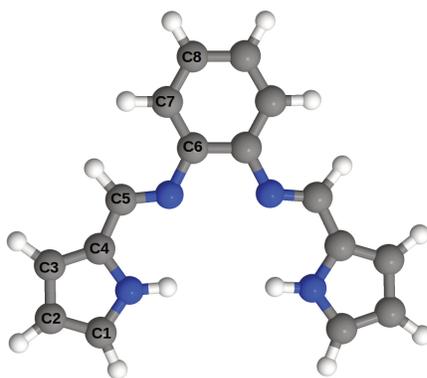
#### 4.2.5 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível

O espectro eletrônico experimental do bis-pyrophene, juntamente com as absorções calculadas por TD-DFT, encontram-se na Figura 4.20. O espectro apresenta uma banda de absorção intensa em 303 nm ( $\epsilon = 37000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) e um ombro na região de 345 nm ( $\epsilon = 26000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). No caso deste ligante a presença do grupo aromático fenil provoca o surgimento de bandas extras no espectro, como os ombros nas regiões de 250 nm e 345 nm que corresponderiam a transições  $\pi-\pi^*$  do grupo fenil, de acordo com a literatura.<sup>82,84</sup>



**Figura 4.18:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do pyren. Condições: Avance 500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ .

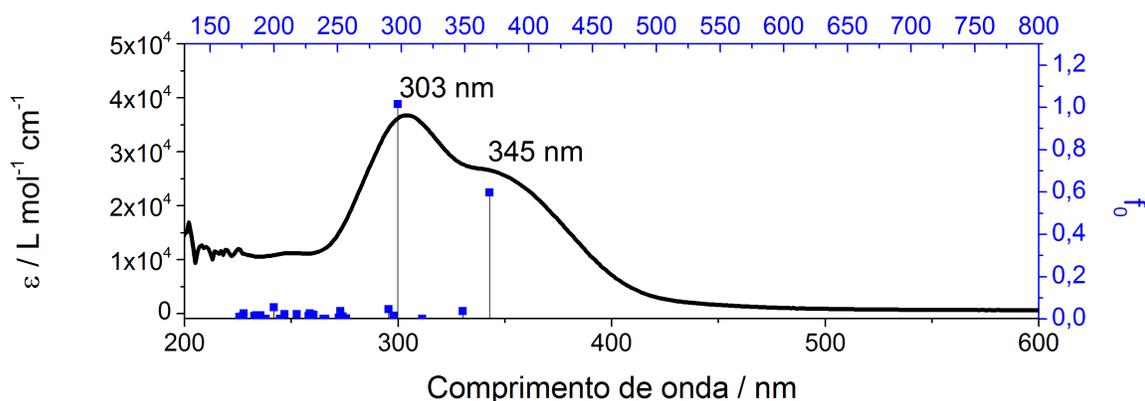
Com o intuito de entender as propriedades eletrônicas deste ligante cálculos teóricos por TD-DFT foram realizados. Os resultados mostraram que a banda em 303 nm corresponde a uma transição envolvendo orbitais dos anéis pirrólicos para orbitais do grupo fenil, basicamente envolvendo transições  $\text{HOMO}-1 \rightarrow \text{LUMO}$  e  $\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO}+1$ . Já a banda na região de 345 nm é atribuída a uma transição que envolve orbitais do pirrol e do grupo fenil para orbitais do grupo fenil, sendo praticamente



**Figura 4.19:** Estrutura otimizada para o bis-pyrophene com o funcional PBE0.

**Tabela 4.3:** Parâmetros geométricos obtidos por DFT usando PBE0 para o bis-pyrophén.

Distâncias / Å	Teórico	Experimental
NH-C1	1,356	1,362; 1,365
C1-C2	1,384; 1,385	1,370; 1,376
C2-C3	1,409	1,413; 1,416
C3-C4	1,389	1,382; 1,383
C4-C5	1,434	1,435; 1,446
C5-N	1,285	1,276; 1,278
N-C6	1,394; 1,395	1,421; 1,427
C6-C6'	1,422	1,404
Ângulo / grau		
C1-NH-C4	110,1	109,5; 109,6
C5-N-C6	122,2; 122,5	118,7; 118,9

**Figura 4.20:** Transições eletrônicas experimental e teórica (linhas verticais) do bis-pyrophén. Os eixos do topo e da direita correspondem aos parâmetros do espectro teórico.

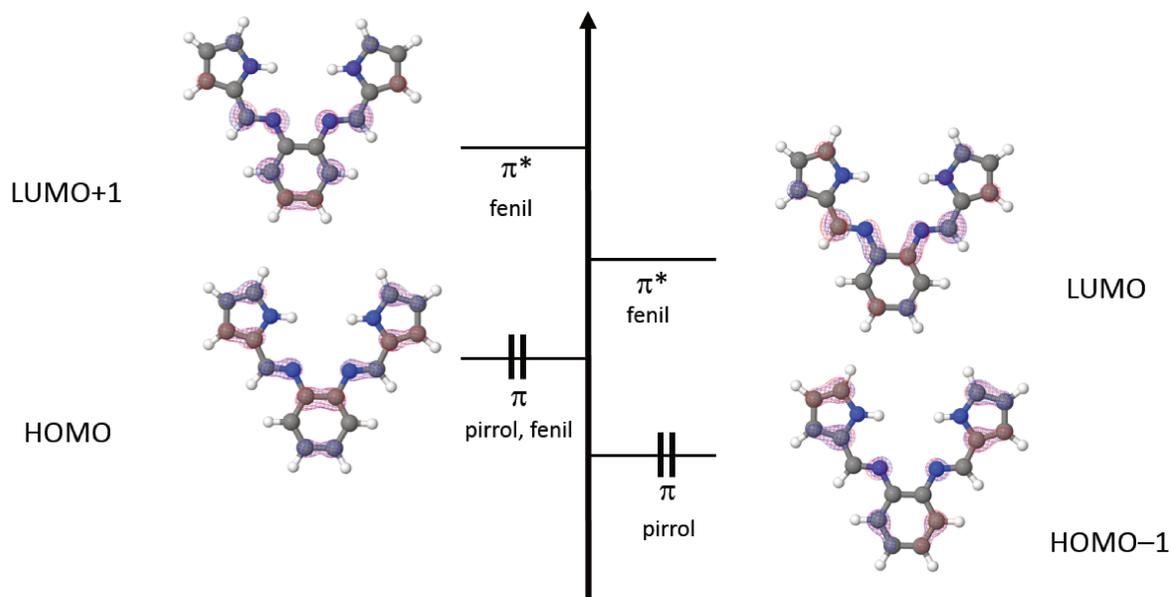
uma transição HOMO  $\rightarrow$  LUMO. É possível perceber claramente a participação dos anéis pirrólicos nas transições, mostrando o equívoco da atribuição feita na literatura.

A Tabela 4.4 contém apenas as transições mais importantes observadas no espectro experimental do bis-pyrophén enquanto o Apêndice A.3 contém a contribuição dos anéis pirrólicos e do grupo fenil na composição dos principais orbitais do bis-pyrophén. A tabela completa contendo as 30 excitações, força do oscilador, transições inicial e final e suas atribuições se encontra no Apêndice A.4. Já a Figura 4.21 ilustra o diagrama de distribuição eletrônica nos orbitais de Kohn-Sham para o

bis-pyrophen.

**Tabela 4.4:** Transições observadas no espectro experimental e suas atribuições para o bis-pyrophen.

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
1	3,36	369	0,60	69	70	100	pirrol/fenil-fenil
4	4,17	297	1,02	68	70	68	pirrol-fenil
				69	71	30	pirrol/fenil-fenil



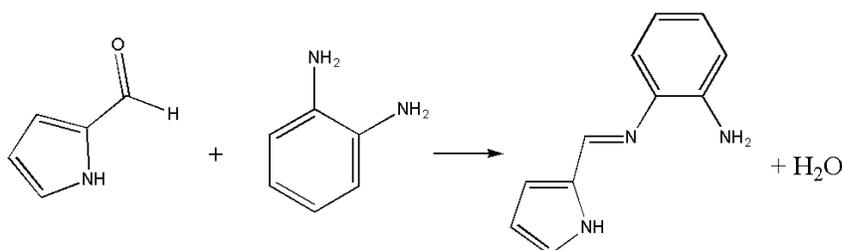
**Figura 4.21:** Diagrama de energia dos orbitais de Kohn-Sham para o bis-pyrophen.

## 4.3 Ligante mono-pyrophen

### 4.3.1 Composição química

A síntese do ligante N-(pirrol-2-il-metileno)benzeno-1,2-diamina, denominado mono-pyrophen, foi realizada através da condensação entre pirrol-2-carboxaldeído e a diamina aromática *orto*-fenilenodiamina numa razão molar de 1:1, em água à temperatura ambiente, conforme observado na Figura 4.22. A análise elementar do

mono-pyrophén confirma a composição para um composto de fórmula  $C_{11}H_{11}N_3$  - Calculado: C (71,4); H (5,94); N (22,7%). Experimental: C (71,4); H (5,33); N (22,8%).

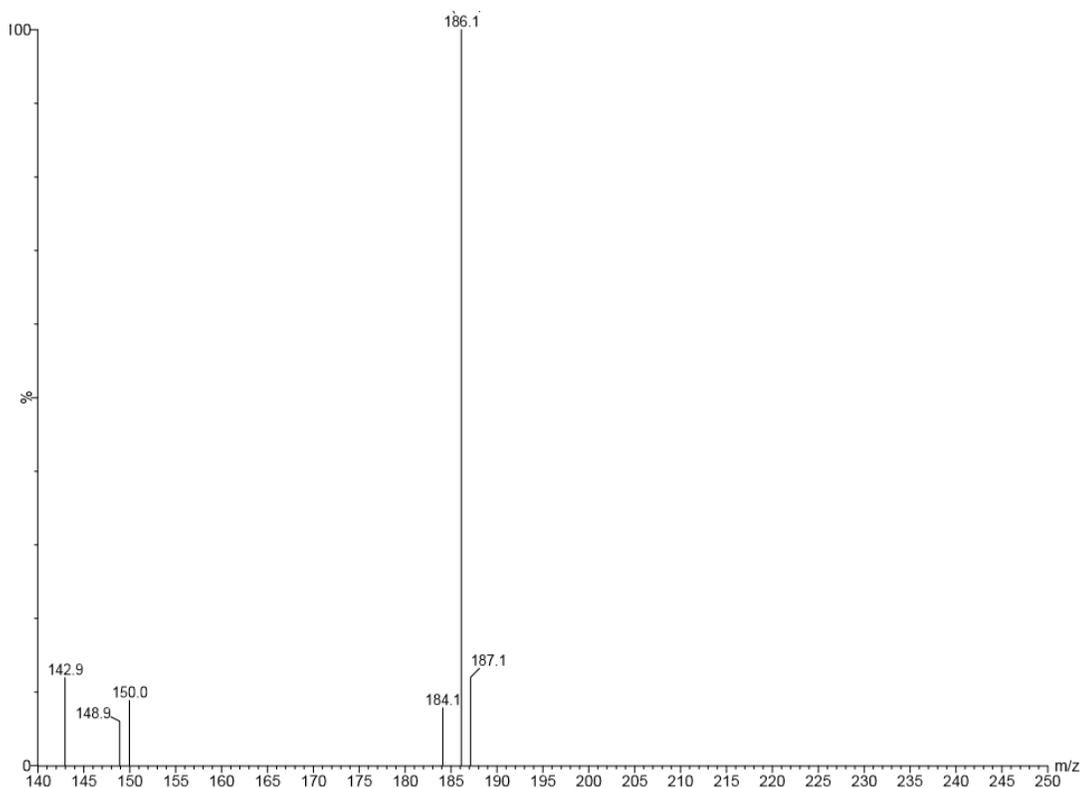


**Figura 4.22:** Reação envolvida na síntese do mono-pyrophén.

Para este ligante foi utilizada uma metodologia adaptada que foi descrita por Rao e colaboradores,<sup>76</sup> que descrevem a síntese de bases de Schiff com diferentes aldeídos aromáticos e a *orto*-fenilenodiamina em água à temperatura ambiente. Neste caso emprega-se a temperatura ambiente para evitar uma segunda reação de condensação, que levaria ao produto bis-pyrophén. De acordo com os autores o uso da água como solvente permite reações rápidas já que os produtos formados geralmente são insolúveis, facilitando sua obtenção. Conforme relatado por Munro e colaboradores<sup>86</sup> este composto é interessante já que pode atuar como um ligante tridentado bem como sofrer uma posterior funcionalização através da reação com diferentes aldeídos, formando compostos assimétricos para aplicações em catálise enantiosseletiva, por exemplo.

O espectro de massas, obtido no modo positivo, mostrou um pico com intensidade 100% em  $m/z$  186,1 atribuído ao ligante protonado [mono-pyrophén + H]<sup>+</sup> conforme observado na Figura 4.23. Já o sinal em  $m/z$  187,1 (intensidade 10%) corresponde ao padrão isotópico correspondente a <sup>13</sup>C e <sup>15</sup>N. Este ligante é solúvel em diversos solventes orgânicos como etanol, metanol, acetonitrila, dimetilsulfóxido, dimetilfor-

mamida, diclorometano, clorofórmio, acetona, éter etílico e parcialmente solúvel em água.

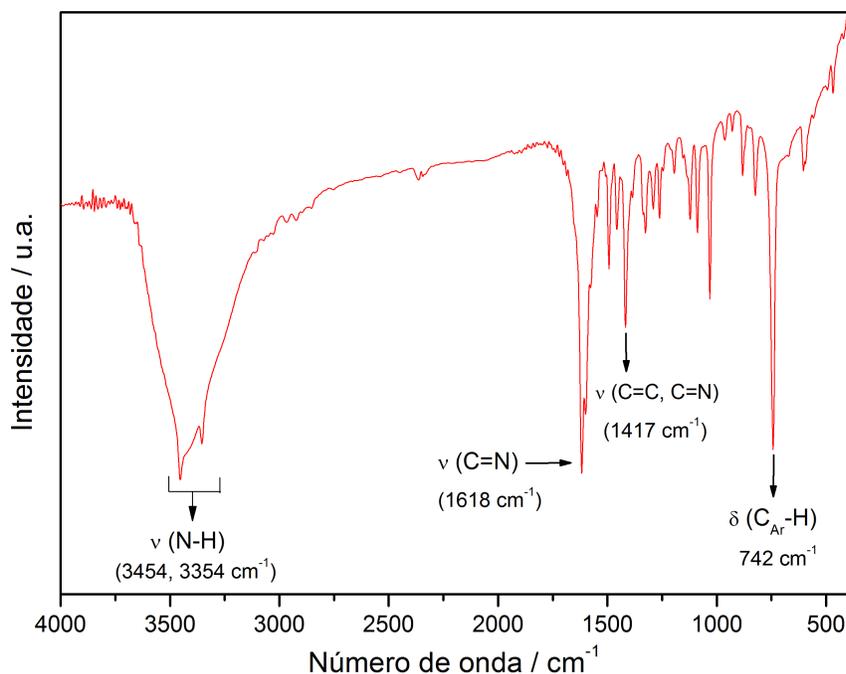


**Figura 4.23:** Espectro de massas (ESI-MS) do mono-pyrophene.

### 4.3.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

O espectro de infravermelho experimental do mono-pyrophene se encontra na Figura 4.24. No espectro é possível observar uma banda larga na região de 3400  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos (N-H) assimétrico e simétrico do pirrol e do grupo amino em 3454 e 3354  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente. Uma banda fina e intensa em 1618  $\text{cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento (C=N) do grupo imino, sendo observada em menor frequência devido à maior conjugação com o grupo aromático fenil.<sup>84</sup> Assim como no ligante bis-pyrophene, a banda em 1417  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída aos estiramentos (C=C) e

(C=N) presentes em compostos heterocíclicos aromáticos, sendo denominada como modo de estiramento do anel na qual ocorre o estiramento e contração de todas as ligações presentes no anel aromático.<sup>85</sup> Além disso a deformação ( $C_{Ar}-H$ ) fora do plano do grupo fenil e do anel pirrólico em  $742\text{ cm}^{-1}$  também é observada.

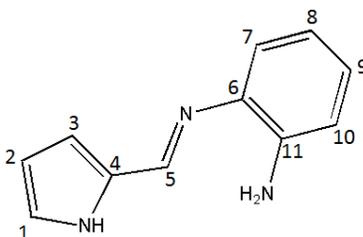


**Figura 4.24:** Espectro experimental no infravermelho do mono-pyrophén.

### 4.3.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A estrutura do mono-pyrophén com a atribuição dos carbonos é mostrada na Figura 4.25. O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  para o mono-pyrophén é apresentado na Figura 4.26. Os hidrogênios do grupo amino aparecem na região de aminas aromáticas como um singlete largo ( $\text{NH}_2$ , 5,26 ppm) devido à formação de ligações de hidrogênio.<sup>81</sup> Os hidrogênios do anel pirrólico aparecem na região de prótons aromáticos como multipletes em 6,20 ppm (H2), 6,64 ppm (H3) e 7,06 ppm (H1). Os hidrogênios do grupo fenil também aparecem na região de prótons aromáticos como

triplo dublete (H9, 6,53 ppm com  ${}^3J = 7,8$  Hz e  ${}^4J = 1,4$  Hz), duplo dublete (H10, 6,68 ppm com  ${}^3J = 7,9$  Hz e  ${}^4J = 1,3$  Hz), triplo dublete (H8, 6,90 ppm com  ${}^3J = 7,2$  Hz e  ${}^4J = 1,4$  Hz) e duplo dublete (H7, 7,10 ppm com  ${}^3J = 7,9$  Hz e  ${}^4J = 1,4$  Hz). Já o hidrogênio do grupo imino (H5) aparece como um singlete em 8,41 ppm,<sup>86</sup> e novamente a desblindagem é atribuída à anisotropia da ligação C=N.<sup>80</sup> Por fim o hidrogênio mais desblindado é o ligado ao nitrogênio do pirrol que aparece como um singlete em 11,7 ppm.



**Figura 4.25:** Estrutura esquemática do mono-pyrophén com numeração nos carbonos.

O espectro de RMN de  ${}^{13}\text{C}$  obtido para o mono-pyrophén é apresentado na Figura 4.27. Os carbonos do anel pirrólico aparecem na região de compostos heteroaromáticos em 110,0 (C2), 115,5 (C3), 123,5 (C1) e 131,9 (C4) ppm. Os átomos de carbono do grupo fenil aparecem em 114,8 (C10), 116,3 (C8), 116,5 (C7), 126,9 (C9), 135,5 (C6) e 144,5 (C11) ppm, conforme esperado para carbonos de compostos aromáticos. O carbono C11 é o que se encontra mais desblindado devido à ligação com o nitrogênio do grupo amino. Já o carbono do grupo imino (C5) aparece em 145,9 ppm e é o mais desblindado por causa da hibridização do átomo de carbono ( $\text{C } sp^2$ ) e a eletronegatividade do átomo de nitrogênio.<sup>81</sup>

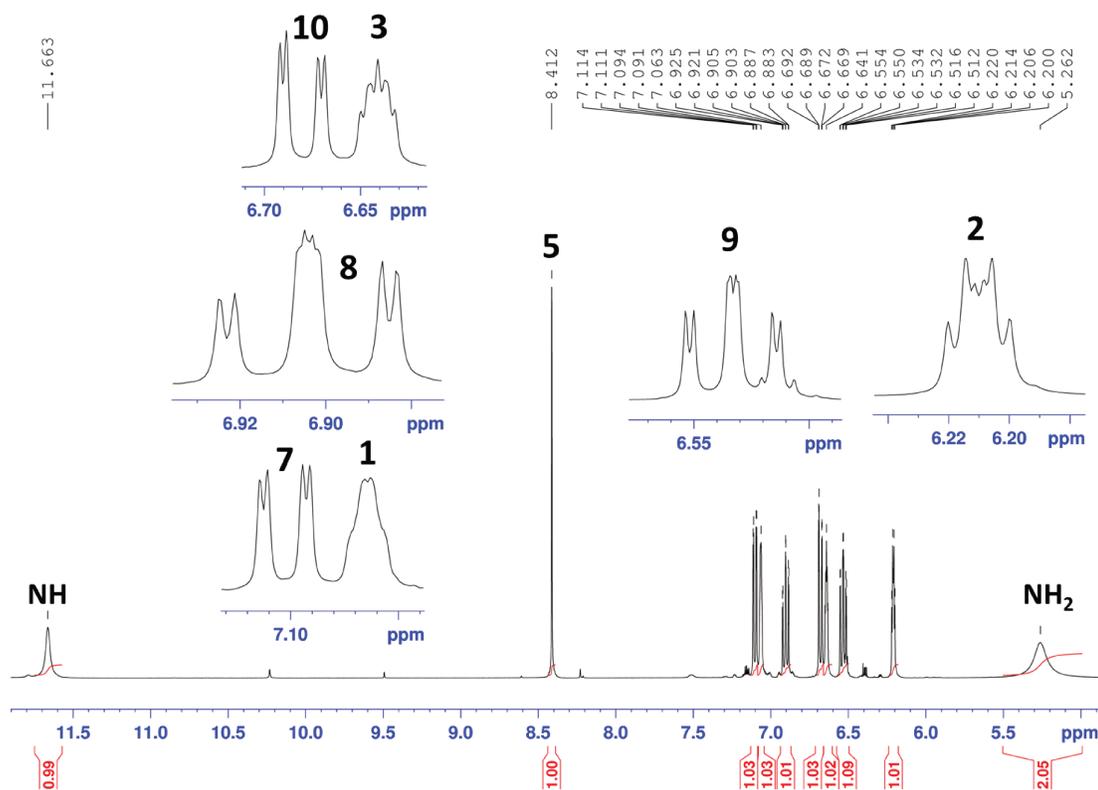
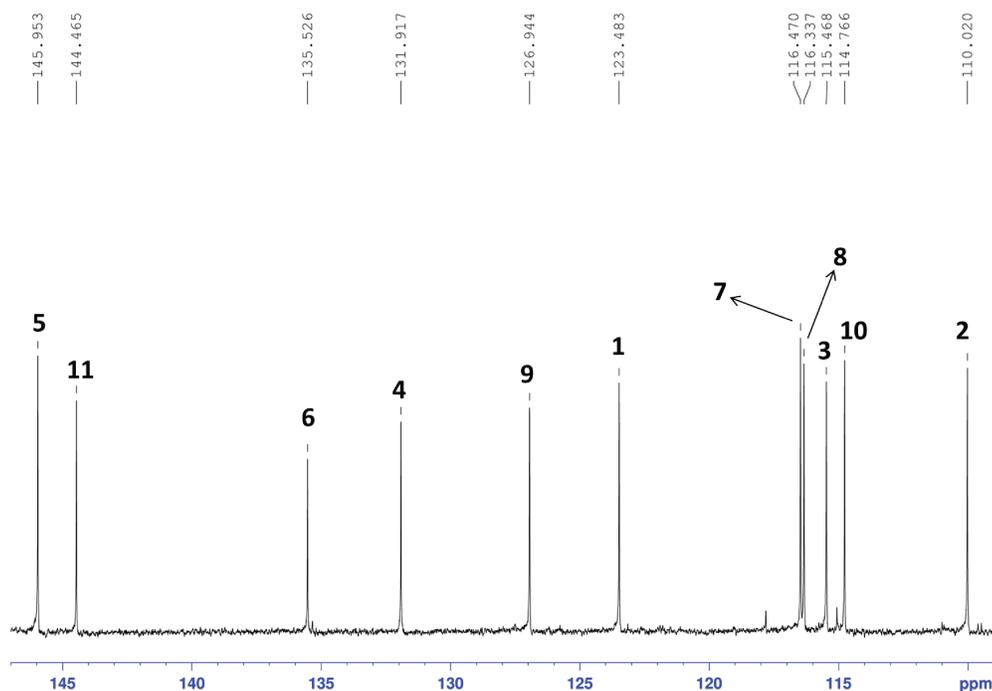


Figura 4.26: Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do mono-pyropheen. Condições: Avance 400 MHz, DMSO- $d_6$ .

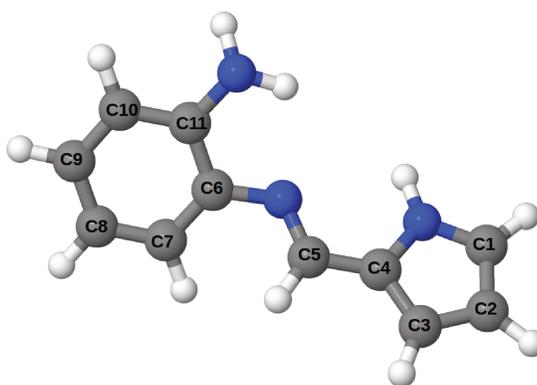
#### 4.3.4 Modelagem da geometria por DFT

A Figura 4.28 mostra a geometria otimizada para o mono-pyropheen com o funcional PBE0. A geometria obtida está em boa concordância com os dados cristalográficos relatados para este ligante, conforme descrito por Munro e colaboradores.<sup>86</sup> Alguns parâmetros geométricos obtidos para o mono-pyropheen juntamente com parâmetros experimentais da estrutura cristalina são mostrados na Tabela 4.5. Novamente a geometria do grupo imino é exclusivamente o isômero *E* já que o isômero *Z* levaria a interações estéreas entre o hidrogênio (NH) do pirrol e o H7. Uma conformação planar é observada neste ligante, inclusive no grupo amino que se encontra ligeiramente planar, sugerindo que a hibridização deste nitrogênio é melhor descrita



**Figura 4.27:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do mono-pyrophene. Condições: Avance 400 MHz, DMSO- $d_6$ .

como uma mistura  $sp^2/sp^3$ . Na estrutura cristalina deste ligante também são observadas ligações de hidrogênio entre o nitrogênio do grupo amino (aceitador) de uma molécula e o hidrogênio do NH do pirrol (doador) da molécula vizinha.



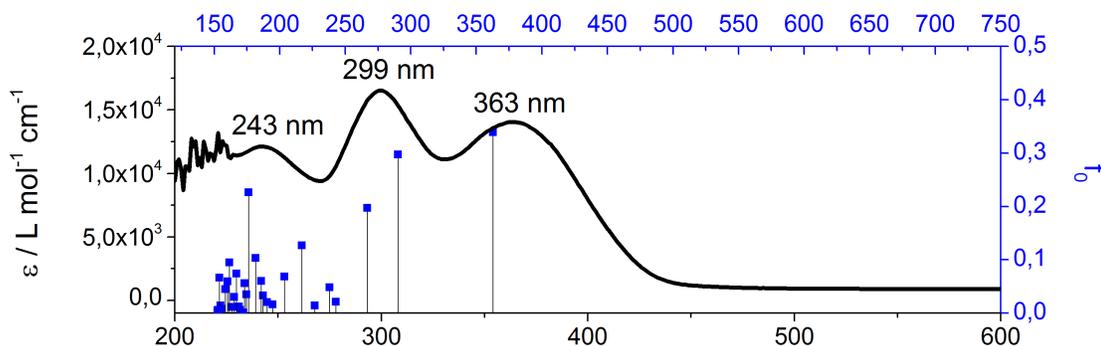
**Figura 4.28:** Estrutura otimizada para o mono-pyrophene com o funcional PBE0.

**Tabela 4.5:** Parâmetros geométricos obtidos por DFT usando PBE0 para o mono-pyrophén.

Distâncias / Å	Teórico	Experimental
NH-C1	1,357	1,367
C1-C2	1,383	1,383
C2-C3	1,410	1,416
C3-C4	1,3389	1,388
C4-C5	1,435	1,439
C5-N	1,286	1,282
N-C6	1,397	1,414
C6-C11	1,416	1,414
C11-NH <sub>2</sub>	1,381	1,386
Ângulo / grau		
C1-NH-C4	110,1	109,3
C5-N-C6	123,6	121,8

#### 4.3.5 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível

O espectro eletrônico experimental do mono-pyrophén, juntamente com as absorções calculadas por TD-DFT, encontram-se na Figura 4.29. O espectro apresenta 3 bandas de absorção em 243 nm ( $\epsilon = 12400 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), 299 nm ( $\epsilon = 16000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) e 363 nm ( $\epsilon = 14000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Embora os valores das bandas estejam concordantes com o relatado por Munro,<sup>86</sup> a atribuição das bandas não é descrita na literatura.



**Figura 4.29:** Transições eletrônicas experimental e teórica (linhas verticais) do mono-pyrophén. Os eixos do topo e da direita correspondem aos parâmetros do espectro teórico.

Os resultados de TD-DFT mostraram que a banda em 243 nm corresponde a uma

transição  $\pi-\pi^*$  envolvendo orbitais do grupo fenil, basicamente envolvendo uma transição HOMO-2  $\rightarrow$  LUMO+2. A banda em 299 nm é constituída por 2 estados sendo que ambos são transições  $\pi-\pi^*$  envolvendo orbitais do grupo fenil e correspondem a transições envolvendo o LUMO: HOMO-2  $\rightarrow$  LUMO e HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO. Já a banda em 363 nm também pode ser atribuída a uma transição  $\pi-\pi^*$  dos orbitais do grupo fenil, sendo praticamente uma transição HOMO  $\rightarrow$  LUMO.

A Tabela 4.6 contém apenas as transições mais importantes observadas no espectro experimental do mono-pyrophén enquanto o Apêndice A.5 contém a contribuição do anel pirrólico e do grupo fenil na composição dos principais orbitais do mono-pyrophén. A tabela completa contendo as 30 excitações, força do oscilador, transições inicial e final e suas atribuições se encontra no Apêndice A.6. Já a Figura 4.30 ilustra o diagrama de distribuição eletrônica nos orbitais de Kohn-Sham para o mono-pyrophén.

**Tabela 4.6:** Transições observadas no espectro experimental e suas atribuições para o mono-pyrophén.

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
1	3,42	363	0,34	49	50	94	fenil-fenil*
2	4,27	290	0,30	48	50	83	fenil-fenil*
3	4,64	267	0,20	47	50	63	fenil-fenil*
7	5,71	217	0,13	49	52	78	fenil-fenil*
14	7,03	176	0,23	47	52	55	fenil-fenil*

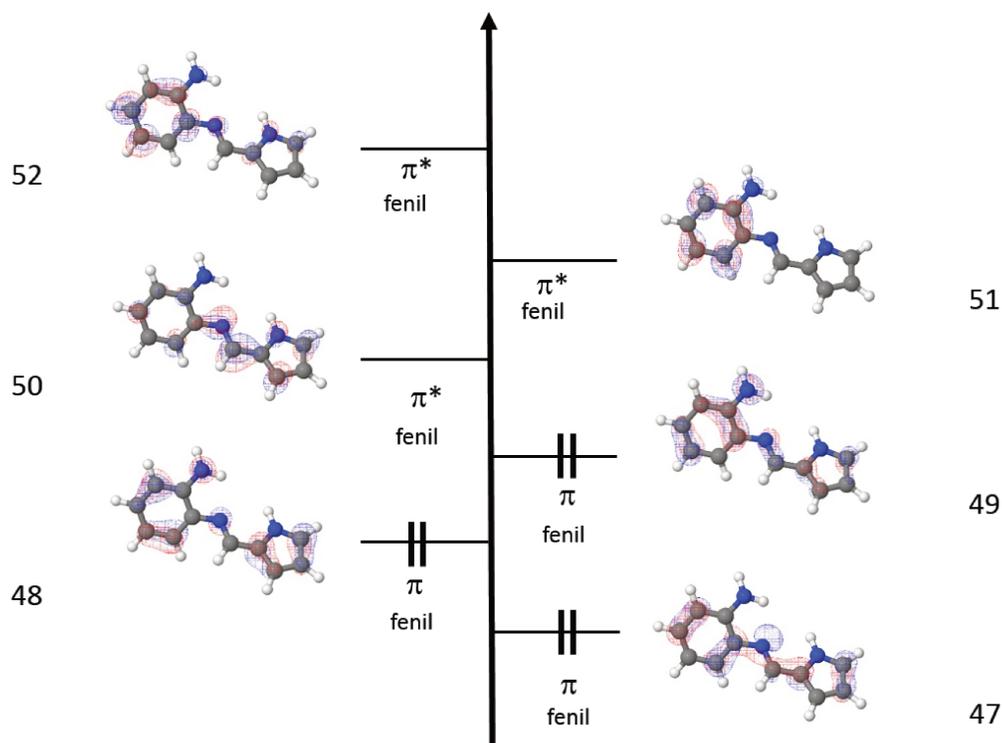
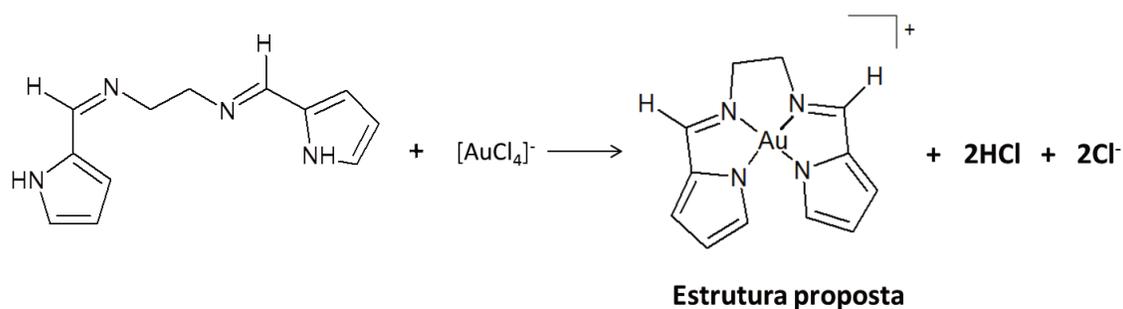


Figura 4.30: Diagrama de energia dos orbitais de Kohn-Sham para o mono-pyropen.

## 4.4 Complexo $[\text{Au}(\text{pyren})]\text{PF}_6$

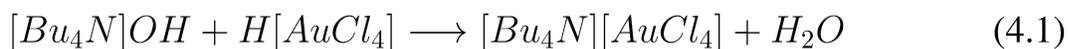
### 4.4.1 Composição química

O complexo de Au(III) foi preparado pela substituição direta com o ânion  $[\text{AuCl}_4]^-$ . De acordo com Barnholtz e colaboradores<sup>87</sup> os precursores  $\text{H}[\text{AuCl}_4]$  e  $\text{K}[\text{AuCl}_4]$  podem ser usados para formar o produto desejado, embora a síntese seja muito mais eficiente a partir do  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$ . Munro e colaboradores<sup>16</sup> também relataram que o uso do  $\text{K}[\text{AuCl}_4]$  resulta na formação do ânion  $[\text{AuCl}_2]^-$  e que o  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$  é solúvel em solventes apolares enquanto que o complexo de Au(III) não é. O composto  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  foi adicionado pois o ânion  $\text{PF}_6^-$  é volumoso e facilita a precipitação do complexo catiônico  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . A Figura 4.31 ilustra a reação envolvida na síntese do complexo, mostrando a estrutura proposta.

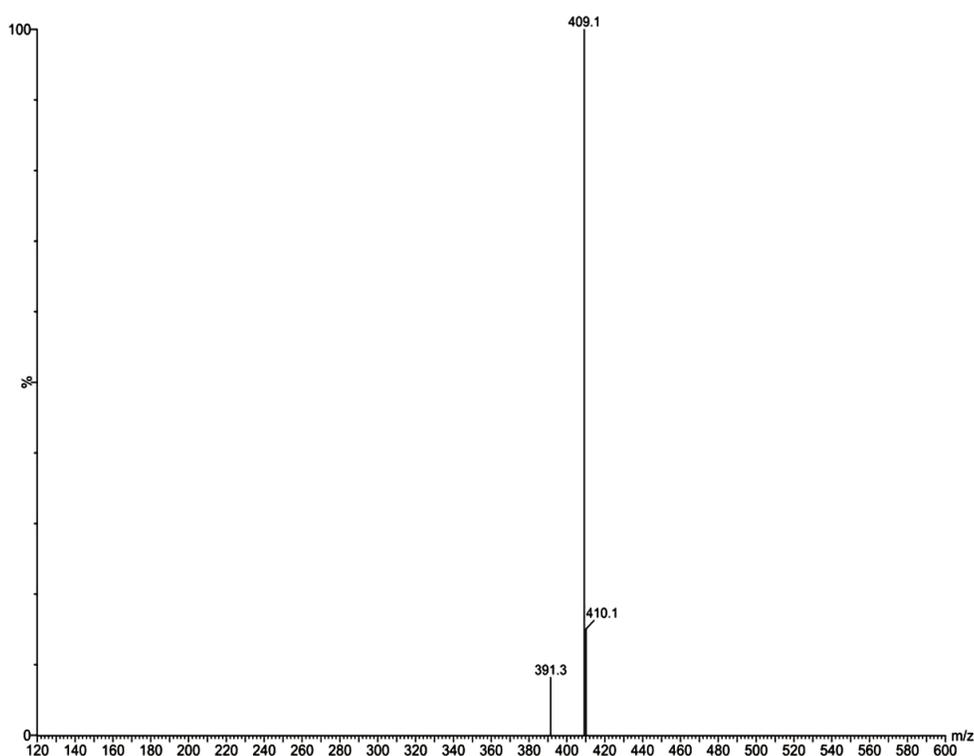


**Figura 4.31:** Reação envolvida na síntese do complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

O composto precursor  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$  também foi preparado por um procedimento modificado<sup>87</sup> que envolve a precipitação do  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$  após a adição de  $[\text{Bu}_4\text{N}]\text{OH}$  a uma solução de  $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ , conforme observado na Equação 4.1. A análise elementar do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  confirma a composição para  $\text{AuC}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{PF}_6^-$  - Calculado: C (26,0); H (2,16); N (10,1%). Experimental: C (25,6); H (1,64); N (10,1%). O espectro de massas do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  realizado no modo positivo contém um pico com intensidade 100% em  $m/z$  409,1 atribuído ao cátion  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  conforme observado na Figura 4.32. Como o ouro possui apenas 1 isótopo estável ( $^{197}\text{Au}$ ), o sinal em  $m/z$  410,1 (intensidade 20%) é atribuído ao padrão isotópico correspondente a  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  do pyren. O complexo é solúvel em acetonitrila, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, acetona e insolúvel em clorofórmio, éter etílico e n-hexano.



A análise termogravimétrica do complexo foi realizada com o intuito de confirmar a composição química assim como verificar sua estabilidade térmica. O perfil de perda de massa em função da temperatura para o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  é mostrado na

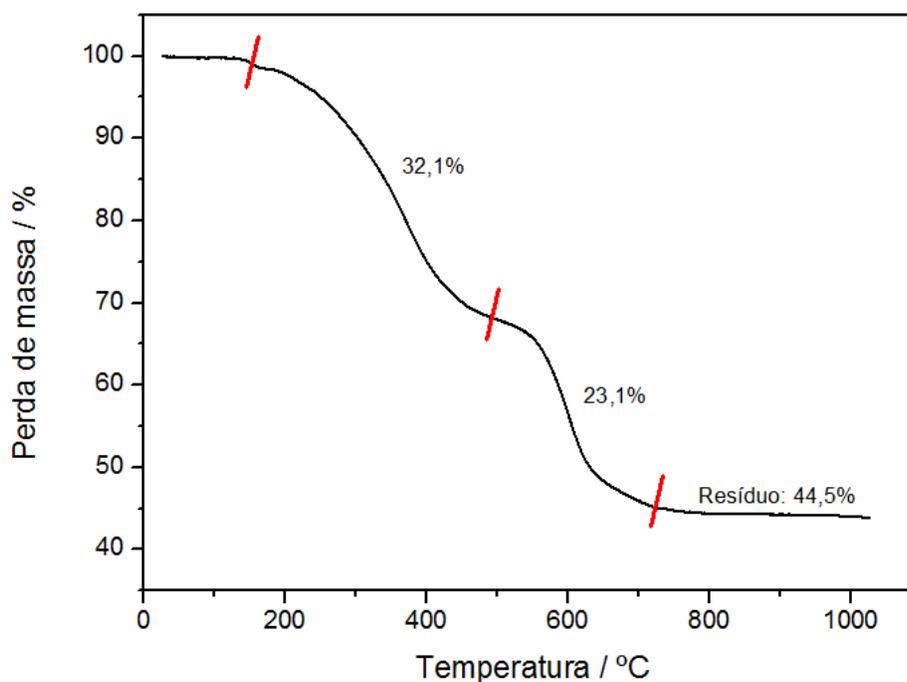


**Figura 4.32:** Espectro de massas (ESI-MS) do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

Figura 4.33. O complexo é estável até  $150^\circ\text{C}$ , temperatura na qual sua decomposição começa. O ligante pyren é perdido na primeira etapa da curva termogravimétrica na faixa  $150\text{--}480^\circ\text{C}$  (Calculado para perda de  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_4$ : 38,2%. Experimental: 32,1%). Em seguida o contra-íon  $\text{PF}_6^-$  é perdido na faixa  $450\text{--}760^\circ\text{C}$  provavelmente na forma de  $\text{PF}_5$  (Calculado para perda de  $\text{PF}_5$ : 22,7%. Experimental: 23,1%). O resíduo final do tratamento térmico corresponde com um composto de fórmula  $\text{AuOF}$  (Calculado para  $\text{AuOF}$ : 41,8%. Experimental: 44,5%), já que compostos contendo o ânion  $\text{PF}_6^-$  têm como produto de sua decomposição térmica sais de fluoreto.<sup>88</sup>

#### 4.4.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A Figura 4.34 mostra os espectros experimentais do pyren e do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  para fins de comparação. O espectro do complexo fornece evidências sobre a coor-



**Figura 4.33:** Análise térmica do complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

denação do pyren ao Au(III). A primeira evidência é o desaparecimento da banda de estiramento (N-H) devido à perda do hidrogênio do grupo pirrol com a coordenação. A banda de estiramento (C=N) do grupo imino é deslocada por  $-64 \text{ cm}^{-1}$  pois com a coordenação ocorre doação de densidade eletrônica, provocando um enfraquecimento da ligação C=N. Estas evidências sugerem a participação tanto dos nitrogênios do pirrol quanto do grupo imino na coordenação. Também é interessante notar o aparecimento de 2 novas bandas atribuídas ao contra-íon  $\text{PF}_6^-$ : o estiramento (P-F) em  $840 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_3$ ) e a deformação (F-P-F) em  $559 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu_4$ ),<sup>89</sup> sugerindo que o complexo é catiônico.

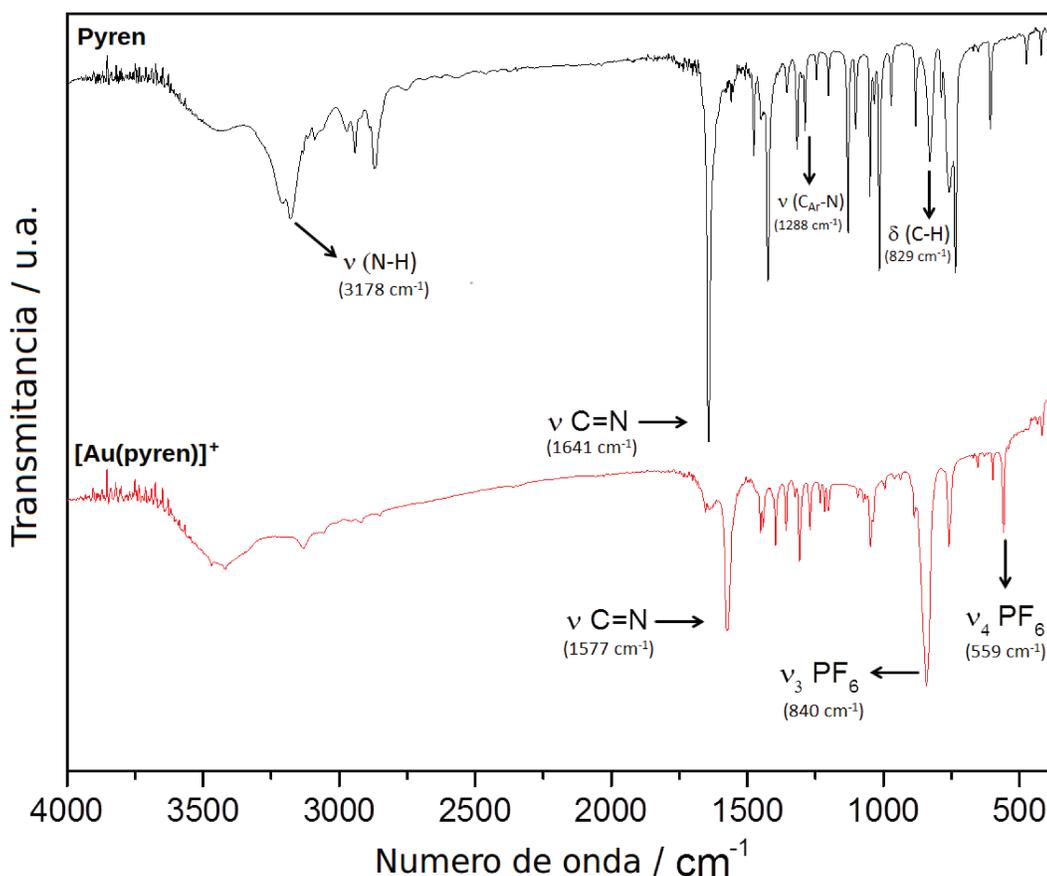
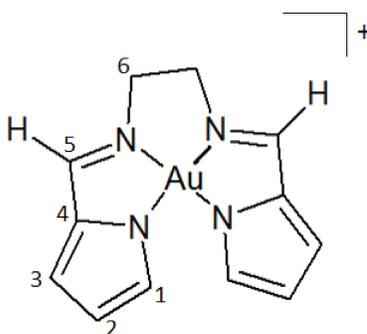


Figura 4.34: Espectros experimentais no infravermelho do pyren e do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

#### 4.4.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A estrutura do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  com a atribuição dos carbonos é mostrada na Figura 4.35 e o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  é apresentado na Figura 4.36. Os hidrogênios da ponte etileno (H6) aparecem como um singlete em 4,41 ppm. Os hidrogênios do anel pirrólico aparecem na região de prótons aromáticos como duplo dublete (H2, 6,48 ppm com  $^3J = 4,2$  Hz e 2,1 Hz), duplete (H3, 7,07 ppm com  $^3J = 4,3$  Hz) e duplete (H1, 7,45 ppm com  $^3J = 1,4$  Hz). Por fim os hidrogênios do grupo imino (H5) também aparecem como um singlete em 7,85 ppm.

A Tabela 4.7 contém as atribuições dos hidrogênios, valores de deslocamento



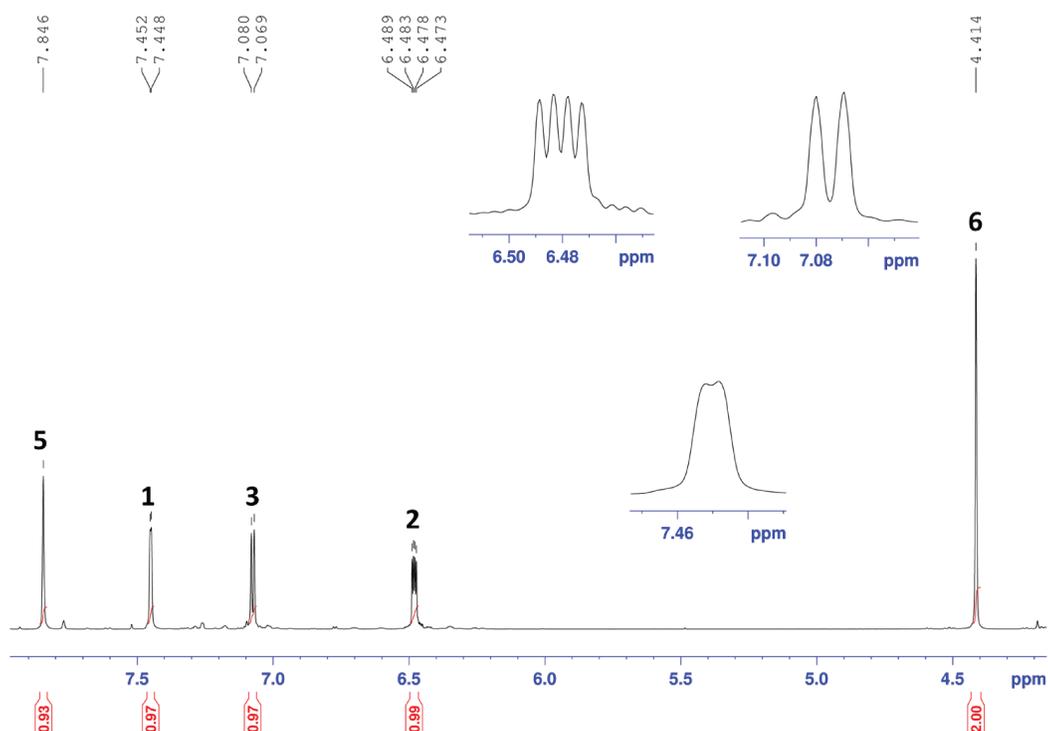
**Figura 4.35:** Estrutura esquemática do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  com numeração nos carbonos.

químico e de  $\Delta\delta$  ( $\delta$  complexo  $-\delta$  ligante) para o pyren e o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Observando os valores de  $\Delta\delta$  mostrados na Tabela 4.7 é possível notar que todos os hidrogênios foram deslocados para campo baixo com a coordenação, consistente com a doação de densidade eletrônica para o Au(III). Contudo, os hidrogênios do grupo imino foram deslocados para campo alto, indicando uma blindagem destes átomos com a coordenação.

**Tabela 4.7:** Atribuições dos hidrogênios, deslocamentos químicos e valores de  $\Delta\delta$  para o pyren e  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

Atribuição	pyren $\delta$ (ppm)	$[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ $\delta$ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
6	3,74	4,42	0,68
2	6,10	6,48	0,38
3	6,43	7,07	0,64
1	6,86	7,45	0,59
5	8,08	7,84	-0,24

O espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtido para o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  é apresentado na Figura 4.37. Os átomos de carbono da ponte etileno (C6) aparecem em 62,5 ppm, conforme esperado para carbonos de grupos alceno substituídos por heteroátomos. Os carbonos do anel pirrólico aparecem na região de compostos heteroaromáticos em 112,8 (C2), 125,6 (C3), 139,9 (C1) e 143,3 (C4) ppm. Já os carbonos do grupo imino (C5) são os mais desblindados e aparecem em 161,2 ppm, novamente por causa da hibridização ( $\text{C sp}^2$ ) e a eletronegatividade do átomo de nitrogênio.<sup>81</sup>

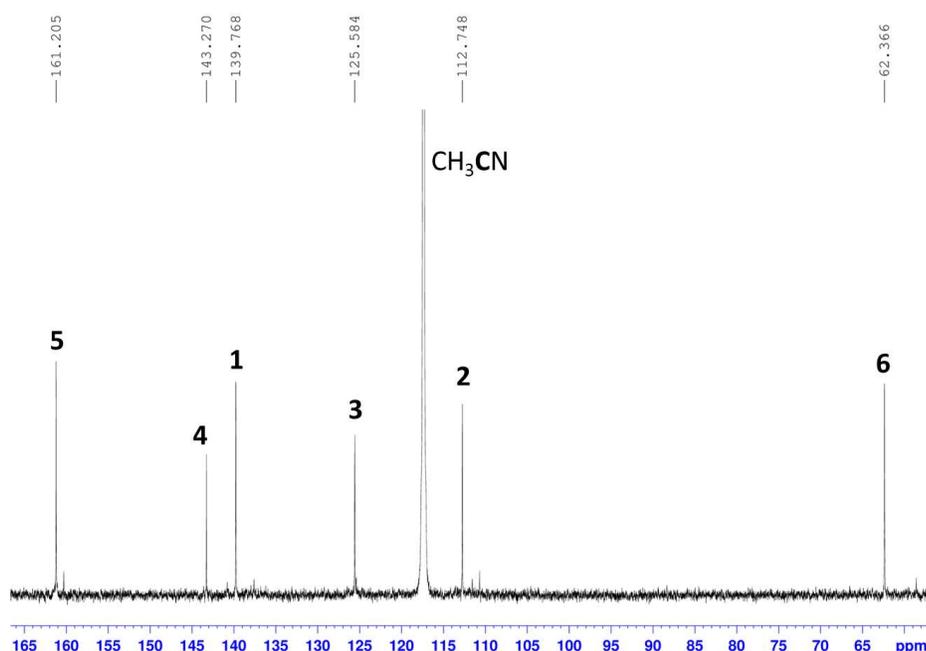


**Figura 4.36:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Condições: Avance 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ .

A Tabela 4.8 contém as atribuições dos carbonos, valores de deslocamento químico e de  $\Delta\delta$  para o pyren e o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ , na qual é possível observar que as variações de deslocamento químico para os átomos de carbono seguem o mesmo padrão observado para os hidrogênios com a coordenação: todos os carbonos são deslocados para campo mais baixo, sendo consistente com doação de densidade eletrônica do pyren ao Au(III). As evidências obtidas pelos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  indicam a coordenação do pyren ao Au(III).

**Tabela 4.8:** Atribuições dos carbonos, deslocamentos químicos e valores de  $\Delta\delta$  para o pyren e  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

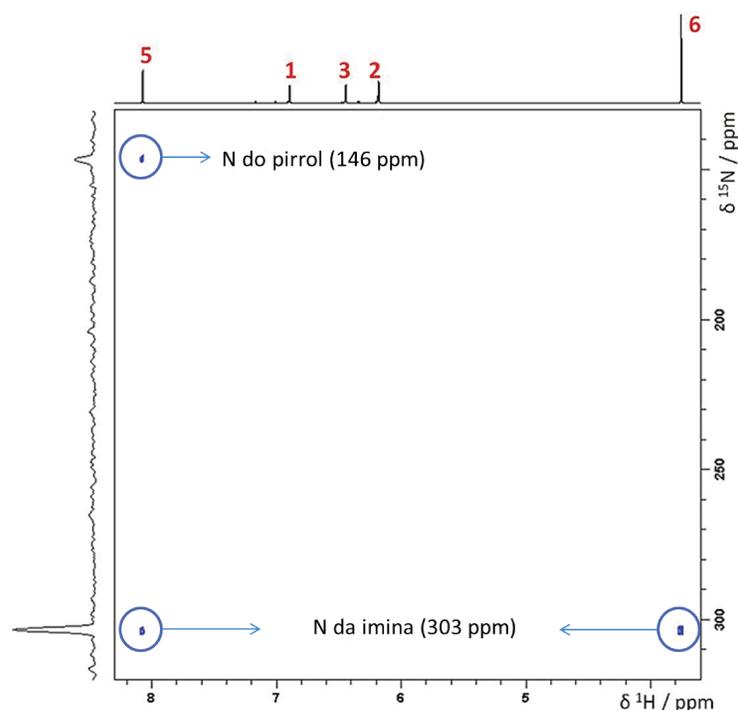
Atribuição	pyren $\delta$ (ppm)	$[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ $\delta$ (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
6	61,4	62,5	1,1
2	109,3	112,8	3,5
3	113,6	125,6	12,0
1	121,8	139,9	18,1
4	130,6	143,3	12,7
5	152,6	161,2	8,6



**Figura 4.37:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Condições: Avance 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ .

Mudanças na densidade eletrônica dos nitrogênios dos grupos pirrol e imino do pyren com a coordenação do íon  $\text{Au}(\text{III})$  foram avaliadas pela espectroscopia de correlação a múltiplas ligações (HMBC) de  $[\text{}^1\text{H}-\text{}^{15}\text{N}]$ . No espectro do pyren, ilustrado na Figura 4.38, o deslocamento químico dos átomos de nitrogênio dos grupos pirrol e imino são observados em 146 e 303 ppm, conforme esperado para nitrogênios de pirróis (na faixa de 100-150 ppm) e iminas (na faixa de 300-400 ppm).<sup>81</sup>

No espectro do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  estes sinais são deslocados para 186 ppm (N do pirrol) e 208 ppm (N da imina), conforme observado na Figura 4.39. Para os nitrogênios do pirrol foi observada uma desblindagem, que pode ser atribuída a uma  $\sigma$ -doação do par de elétrons do nitrogênio desprotonado. Contudo, uma mudança no cone de anisotropia provocada pela coordenação do  $\text{Au}(\text{III})$  ao ligante poderia causar uma blindagem dos átomos de nitrogênio do grupo imino. Os valores de  $\Delta\delta$  observados de 40 ppm para os nitrogênios do pirrol e -95 ppm para os nitrogênios do grupo

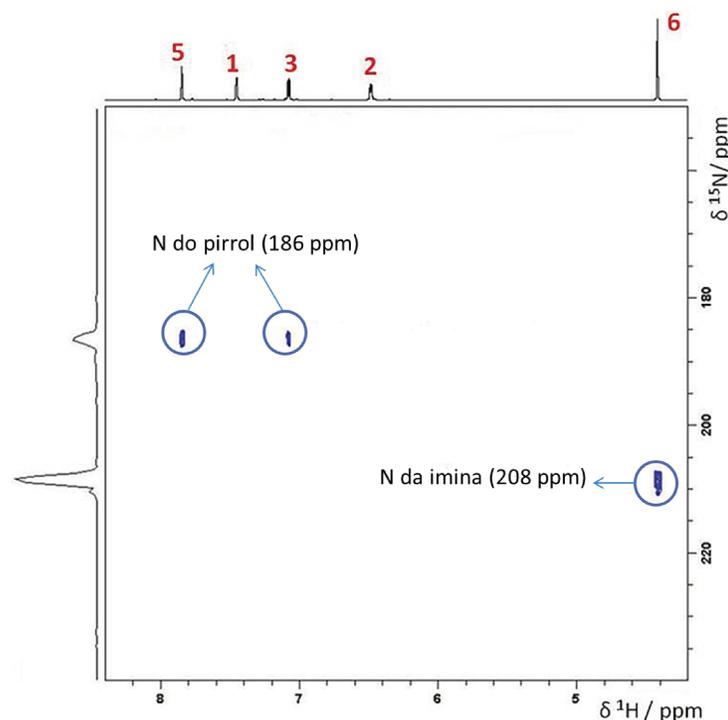


**Figura 4.38:** Espectro de correlação HMBC [ $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ ] do pyren. Condições: Avance 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ .

imino, bem como a retenção da simetria nos espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  confirmam um modo de coordenação tetradentado do  $\text{Au}(\text{III})$  ao pyren.

#### 4.4.4 Modelagem da geometria por DFT

A fim de confirmar a estrutura do complexo de  $\text{Au}(\text{III})$  com o pyren, cálculos teóricos usando DFT com uma coordenação através dos 4 átomos de nitrogênio foram realizados para determinar a geometria de equilíbrio, que se encontra na Figura 4.40. Para o cálculo da geometria foi utilizado o funcional PBE0, já que este vem sendo descrito como um dos melhores funcionais para a determinação de estruturas e propriedades moleculares,<sup>72,90</sup> e o potencial efetivo de caroço LANL2TZ para o átomo de ouro já que este descreve melhor sistemas contendo metais da segunda e terceira série de transição quando comparado com o potencial LANL2DZ.



**Figura 4.39:** Espectro de correlação HMBC [ $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ ] do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Condições: Avance 400 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ .

Os resultados obtidos pelas espectroscopias de infravermelho e RMN levam à proposição de uma coordenação tetradentada numa geometria quadrada distorcida do Au(III) ao pyren. Este é o mesmo modo de coordenação observado para complexos de Au(III) com ligantes bis(pirrolil-imina) e bis(imidazolil-imina) conforme relatado por Munro.<sup>16</sup> A estrutura calculada para o complexo mostra um ambiente de coordenação quadrado distorcido, conforme observado também em compostos de Au(III) com ligantes porfirina (I), bases de Schiff (II) e bis(piridil)carboxamida (III)<sup>13</sup> ilustrados na Figura 4.41.

Alguns parâmetros geométricos obtidos para o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  juntamente com parâmetros experimentais do complexo de Au(III) com o ligante salen<sup>87</sup> também são mostrados na Tabela 4.9. No complexo  $[\text{Au}(\text{TPP})]^+$  (Figura 4.41) a estrutura se ca-

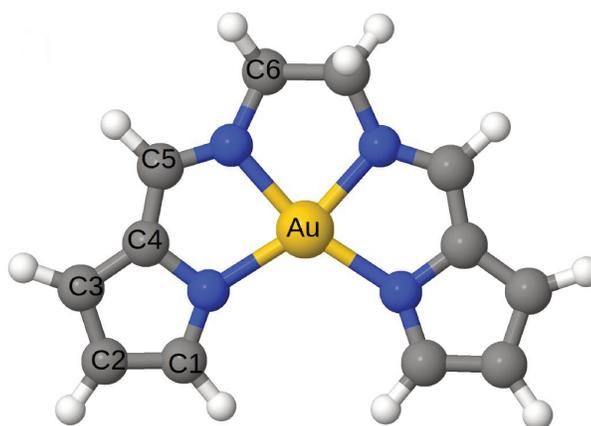
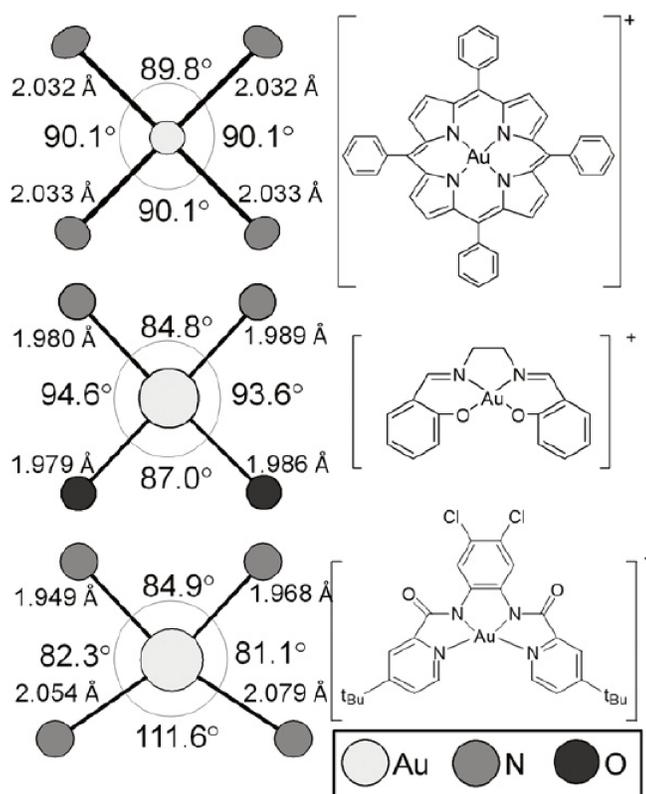


Figura 4.40: Geometria otimizada para o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

racteriza por uma geometria quadrada com ângulos de ligação N-Au-N ( $89,8-90,1^\circ$ ) e comprimentos de ligação Au-N ( $2.032-2.033 \text{ \AA}$ ) praticamente idênticos. Diferentemente dos compostos  $[\text{Au}(\text{porfirina})]^+$ , os íons Au(III) nos complexos  $[\text{Au}(\text{salen})]^+$  e  $[\text{Au}(\text{dcbpb})]^+$  (Figura 4.41) possuem uma geometria quadrada distorcida, com ângulos de ligação entre  $84,8-94,6^\circ$  e  $81,1-111,6^\circ$ , respectivamente. A distorção dos ângulos em relação a  $90^\circ$  é atribuída aos “bite angles” dos ligantes que não conseguem acomodar o Au(III) numa geometria perfeitamente quadrada.<sup>13</sup> As distâncias Au-N e os ângulos N-Au-N no complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  são bem similares ao complexo  $[\text{Au}(\text{dcbpb})]^+$ , já que ambos os compostos contém três anéis de 5 membros em suas estruturas.

#### 4.4.5 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível

Os espectros eletrônicos experimentais do pyren e do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ , juntamente com as absorções calculadas por TD-DFT, encontram-se na Figura 4.42. Conforme observado nos espectros experimentais, a coordenação do Au(III) provocou mudanças nas propriedades eletrônicas do pyren: a banda em 284 nm, atribuída à tran-



**Figura 4.41:** Distâncias de ligação e ângulos associados ao átomo de ouro nos compostos I, II e III<sup>13</sup>.

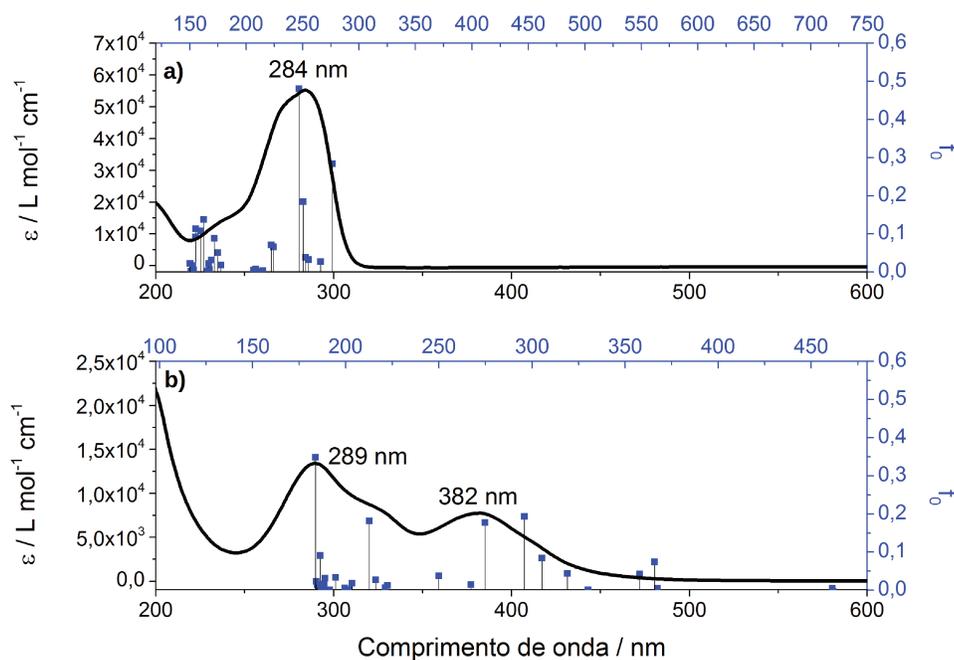
sição pirrol-imina, foi deslocada para 289 nm com uma diminuição na intensidade ( $\epsilon = 11000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), sendo concordante com a coordenação. Uma nova banda de absorção aparece em 382 nm ( $\epsilon = 7500 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), que pode ser atribuída a uma banda de transferência de carga ligante-metal,<sup>50</sup> bem como um ombro em 330 nm.

Embora a atribuição das transições observadas no espectro eletrônico do complexo seja incerta, cálculos teóricos por DFT tem se mostrado uma ferramenta na previsão de estruturas e propriedades eletrônicas de complexos. Dois estudos recentes de complexos com ligantes bis(pirrolil-imina) descrevem o uso de cálculos por DFT e TD-DFT para determinar a atribuição do espectro eletrônico de um complexo de Ni(II)<sup>50</sup> e a investigação da coordenação axial de derivados de imidazol

**Tabela 4.9:** Parâmetros geométricos obtidos por DFT usando LANL2TZ/PBE0 para o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

Distâncias / Å	Teórico	Complexo análogo
NH-C1	1,335	—
C5-N	1,313; 1,314	1,276; 1,302
N-C6	1,464	1,478; 1,491
Au-N	1,984	1,977; 1,962
Au-NH	2,023	—
Ângulo / grau		
C1-NH-C4	107,91	—
C5-N-C6	130,5; 130,7	124,0; 124,7
N-Au-N	83,3	84,0
NH-Au-NH	114,1	—

em complexos de Zn(II), Ni(II) e Cu(II).<sup>49</sup> Contudo, é importante ressaltar que o TD-DFT não é o tipo de cálculo mais confiável para a determinação da estrutura eletrônica de compostos contendo metais.

**Figura 4.42:** Transições eletrônicas experimental e teórica (linhas verticais) do (a) pyren e (b)  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . Os eixos do topo e da direita correspondem aos parâmetros do espectro teórico.

Com isso cálculos teóricos por TD-DFT foram empregados para uma primeira idéia da natureza das transições observadas no espectro experimental do complexo.

Os resultados mostraram que a banda em 289 nm corresponde a uma transição pirrol-sistema  $\pi^*$  do pyren, sendo basicamente uma transição HOMO-6  $\rightarrow$  LUMO e HOMO-6  $\rightarrow$  LUMO+1. O ombro em 330 nm também corresponde a uma transição  $\pi$ - $\pi^*$  do pyren, sendo basicamente uma transição HOMO-3  $\rightarrow$  LUMO. Por fim a banda em 382 nm possui contribuições de uma transição pirrol-sistema  $\pi^*$  (HOMO-2  $\rightarrow$  LUMO+1) e pirrol-imina (HOMO-1  $\rightarrow$  LUMO+2 e HOMO  $\rightarrow$  LUMO+2), sem a contribuição de orbitais do ouro.

A Tabela 4.10 contém apenas as transições mais importantes observadas no espectro experimental do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  enquanto o Apêndice A.7 contém a contribuição dos anéis pirrólicos, da imina e do átomo de ouro na composição dos principais orbitais. A tabela completa contendo as 30 excitações, força do oscilador, transições inicial e final e suas atribuições se encontra no Apêndice A.8.

**Tabela 4.10:** Transições observadas no espectro experimental e suas atribuições para o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
9	4,19	296	0,19	63	67	39	pirrol- $\pi^*$
				64	68	55	pirrol-imina
10	4,51	275	0,18	62	67	51	pirrol- $\pi^*$
				63	68	22	pirrol-imina
				65	68	17	pirrol-imina
16	5,83	213	0,18	61	66	62	$\pi$ - $\pi^*$
30	6,74	184	0,35	58	66	23	pirrol- $\pi^*$
				58	67	26	pirrol- $\pi^*$

A Figura 4.43 ilustra o diagrama de distribuição eletrônica nos orbitais de Kohn-Sham para o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ , sendo que os orbitais dentro do retângulo são os envolvidos nas transições eletrônicas observadas no espectro experimental.

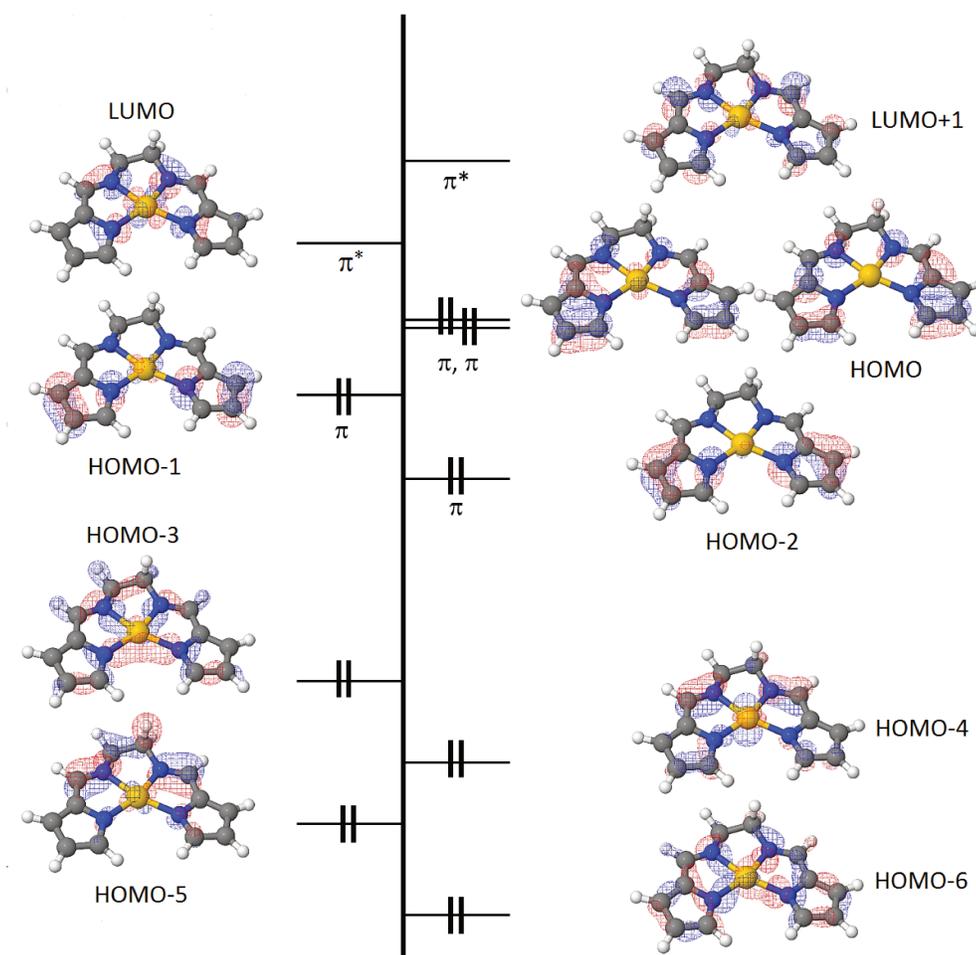


Figura 4.43: Diagrama de energia dos orbitais de Kohn-Sham para o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ .

#### 4.4.6 Estudos biológicos

##### Ensaaios antibacterianos

O complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  foi avaliado quanto à sua atividade antibacteriana e para a determinação dos valores de concentração inibitória mínima. A Tabela 4.11 contém os resultados obtidos para o pyren e o complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  contra cepas bacterianas Gram-negativas (*E. coli* and *P. aeruginosa*) e Gram-positivas (*S. aureus* and *E. faecium*). O composto  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$  foi usado como controle positivo, enquanto o pyren foi usado como controle negativo.

**Tabela 4.11:** Perfil antibacteriano de cepas bacterianas contra A =  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$ , B = pyren e C =  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . +  $\rightarrow$  Crescimento positivo e -  $\rightarrow$  Crescimento negativo.

Ensaio	<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>S. aureus</i>			<i>E. faecium</i>		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Controle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DMSO 25%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
2,5 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
1,25 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
0,625 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
0,3125 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-

Os valores de concentração inibitória mínima para os compostos testados e os antibióticos padrão vancomicina e cloranfenicol<sup>91</sup> encontram-se na Tabela 4.12. Os resultados confirmam a sensibilidade das bactérias testadas frente ao  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  com valores de concentração inibitória mínima na faixa de 312,5 mg L<sup>-1</sup>. Contudo, os valores de concentração encontrados são superiores aos valores da vancomicina e do cloranfenicol, indicando uma atividade moderada do complexo. Em comparação com o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  tanto o pyren quanto o precursor  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$  mostraram uma menor atividade inibitória contra as cepas bacterianas testadas sob as mesmas condições experimentais, indicando que a presença do ligante é importante para a atividade. Além disso é interessante notar a toxicidade do dimetilsulfóxido, que inibiu o crescimento bacteriano das 4 cepas testadas. Este efeito pode ser explicado por alterações no metabolismo e mudanças na permeabilidade da membrana das células, provocando danos celulares severos.<sup>92</sup>

Na literatura, Goss e colaboradores<sup>93</sup> relataram a síntese, caracterização e ensaios antimicrobianos de complexos Au(III)-catecolato e análogos: 2 dos complexos mostraram boa atividade contra *B. subtilis* e *P. aeruginosa*. Refat<sup>94</sup> investigou a es-

trutura e as propriedades de complexos de Ag(I), Cu(II) e Au(III) com o agente antibacteriano norfloxacino, sendo que estes apresentaram moderada atividade contra *B. subtilis* e *P. aeruginosa* mas nenhuma atividade contra *E. coli*.

**Tabela 4.12:** Valores de concentração inibitória mínima, em mg L<sup>-1</sup>.

Composto	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecium</i>
Pyren	10000	10000	10000	10000
(Bu <sub>4</sub> N)(AuCl <sub>4</sub> )	625	625	312,5	625
(Au(pyren)) <sup>+</sup>	312,5	312,5	<312,5	<312,5
Vancomicina	—	—	10	2
Cloranfenicol	4	50	—	—

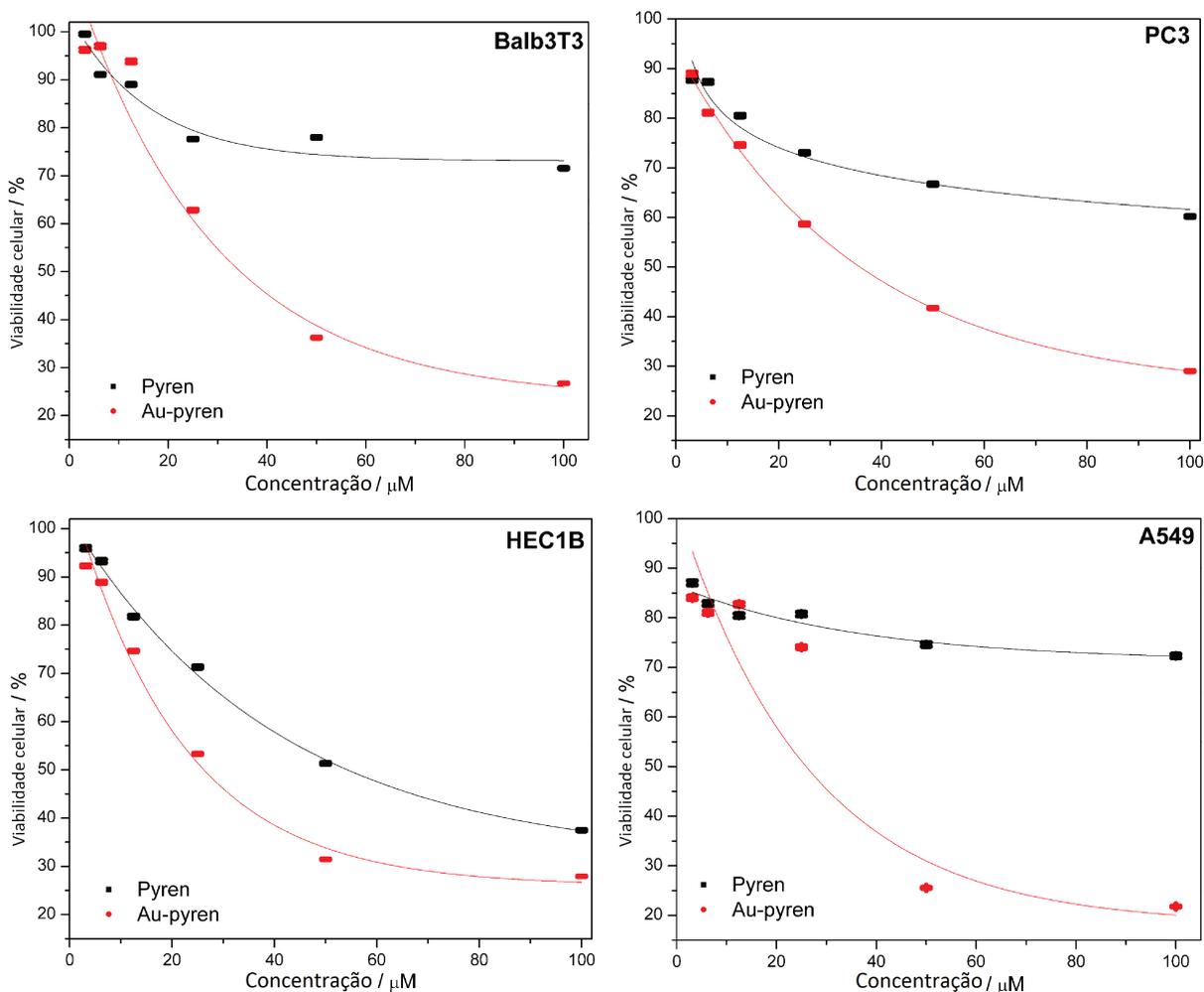
### Ensaio citotóxicos

Baseado no fato de que compostos de Au(III) com ligantes dianiônicos tetradentados se comportariam de maneira similar a cátions orgânicos lipofílicos, que vem sendo sugeridos como potenciais candidatos a compostos anti-câncer,<sup>95</sup> propõe-se que o complexo [Au(pyren)]<sup>+</sup> também atue como um cátion lipofílico. Portanto, com o intuito de explorar o seu comportamento citotóxico o complexo foi avaliado quanto à sua atividade citotóxica para a determinação dos valores da concentração necessária para 50% de inibição *in vitro* (IC<sub>50</sub>), em comparação com o ligante livre.

O estudo foi feito *in vitro* com concentrações na faixa 3,125 μmol L<sup>-1</sup> a 100 μmol L<sup>-1</sup> para células epiteliais basais de adenocarcinoma de pulmão (A549), células de câncer de próstata (PC3), células de adenocarcinoma endometrial (HEC1B) e células de fibroblastos de rato (Balb/3T3), sendo que os resultados encontram-se na Figura 4.44. Os resultados mostram que o ligante não possui efeito citotóxico significativo na faixa de concentrações testada para todas as células com exceção da HEC1B, que foi a mais sensível dentre as linhagens testadas. Para a HEC1B foi possível

encontrar um valor de  $IC_{50}$  para o pyren de  $54,6 \pm 0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ , enquanto que para as outras linhagens os valores de  $IC_{50}$  estão acima da faixa avaliada. Mesmo para a HEC1B o valor de  $IC_{50}$  do complexo é mais baixo ( $28,0 \pm 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) do que o ligante livre. Para as outras linhagens o complexo apresentou atividade com valores de  $IC_{50}$  de  $37,2 \pm 0,3$ ;  $39,0 \pm 0,2$  e  $35,8 \pm 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$  para Balb/3T3, A549 e PC3 respectivamente. Além disso é importante ressaltar que não houve seletividade para as linhagens tumorais, já que os valores de  $IC_{50}$  para as 4 linhagens se encontram na faixa de  $35 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Com isso pode-se supor que a estrutura rígida e catiônica presente no complexo, mas ausente no ligante livre, é fundamental para a atividade citotóxica.

Em comparação com outros complexos de Au(III) com ligantes nitrogenados o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  apresentou um resultado promissor em células de adenocarcinoma de pulmão: o complexo possui maior citotoxicidade do que  $[\text{Au}(\text{bipy})\text{Cl}_2]^+$ ,  $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$ ,  $[\text{Au}(\text{dach})\text{Cl}_2]^+$  e cisplatina, conforme observado na Tabela 4.13. Para as outras linhagens celulares o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  mostrou uma menor citotoxicidade, inclusive em comparação com a cisplatina. O composto  $[\text{Au}(\text{TPP})]^+$ , onde TPP = tetrafenilporfirina, apresentou atividade anti-câncer promissora frente a diversas linhagens de câncer humano incluindo carcinoma nasofaríngeo, leucemia (HL-60), carcinoma hepatocelular e carcinoma cervical (HeLa) com valores de  $IC_{50}$  entre 0,11 e  $0,73 \mu\text{mol L}^{-1}$ .<sup>26,96</sup> Intercalação com DNA e o uso de cátions lipofílicos planares que atacam a mitocôndria em células cancerosas tem sido propostos como um mecanismo possível para compostos  $[\text{Au}(\text{porfirina})]^+$  devido à estrutura planar e catiônica citobarnard, nobili. As estruturas dos compostos relatados na Tabela 4.13 são mostradas na Figura 4.45.



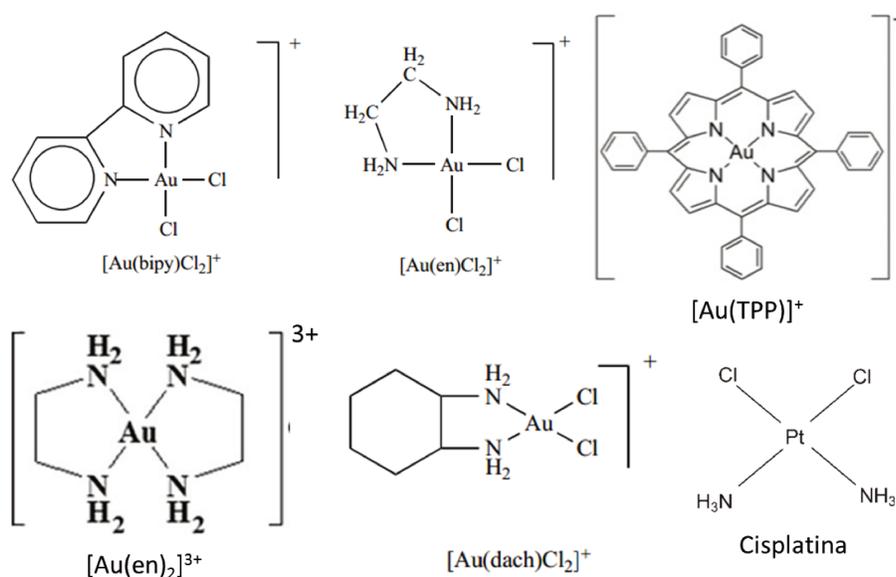
**Figura 4.44:** Citotoxicidade do pyren e do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  em diferentes concentrações ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) contra 4 diferentes linhagens celulares. Dados de 2 experimentos diferentes foram normalizados para os valores máximos obtidos para o grupo controle.

#### 4.4.7 Estudos de interação com DNA

A partir dos estudos de espectroscopia de absorção nas regiões do UV-Visível e do infravermelho, modelagem da geometria por DFT e de ressonância magnética nuclear foi possível confirmar que o ligante se encontra desprotonado e o Au(III) está tetracoordenado num ambiente de coordenação quadrado. Com a estrutura definida os estudos biológicos mostraram que o complexo apresentou atividade inibitória frente a cepas bacterianas e linhagens celulares tumorais, ao contrário do ligante

**Tabela 4.13:** Valores de  $IC_{50}$  (em  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) para compostos de Au(III) em células tumorais. () = Referência.

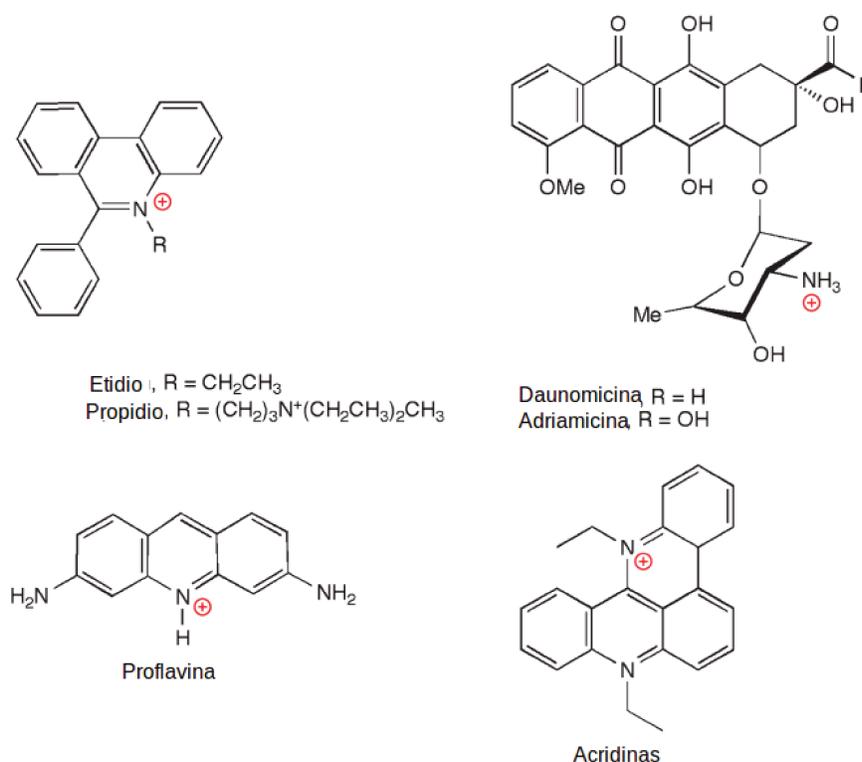
Composto	A549	PC3	HEC1B	Balb/3T3	Outras
Pyren	—	—	54,6	—	—
$[\text{Au}(\text{pyren})]^+$	39,0	35,8	28,0	37,2	—
$[\text{Au}(\text{TPP})]^+$	—	—	—	—	0,13 <sup>(96)</sup>
$[\text{Au}(\text{bipy})\text{Cl}_2]^+$	125 <sup>(97)</sup>	—	—	—	—
$[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2]^+$	125 <sup>(97)</sup>	7,5 <sup>(98)</sup>	—	—	—
$[\text{Au}(\text{dach})\text{Cl}_2]^+$	125 <sup>(97)</sup>	8,1 <sup>(99)</sup>	—	—	—
$[\text{Au}(\text{en})_2]^{3+}$	—	1,0 <sup>(98)</sup>	—	—	—
Cisplatina	64 <sup>(100)</sup>	0,18 <sup>(101)</sup>	26 <sup>(102)</sup>	—	27 <sup>(16)</sup>

**Figura 4.45:** Estrutura dos compostos de Au(III) descritos na Tabela 4.45.

livre, sugerindo que a estrutura rígida e catiônica obtida com a coordenação é fundamental para a atividade. Desta forma foram realizados estudos de interação entre o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  e o DNA, um possível alvo biológico, já que o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  é um composto planar e catiônico<sup>103</sup> podendo interagir por intercalação.

Uma característica comum dos intercaladores é que eles possuem um sistema aromático planar, estendido e deficiente em elétrons. Estes compostos tipicamente possuem 2 ou mais anéis de 6 membros que formam uma plataforma com aproximadamente o mesmo tamanho que os pares de base do DNA. Nos últimos 40 anos

numerosos estudos de sistemas DNA-intercalador vem esclarecendo o processo de intercalação. Quando um composto intercala os pares de base se afastam aproximadamente 3,4 Å para acomodar o ligante. Esta separação só ocorre graças à rotação das ligações no esqueleto fosfato, fazendo com que ocorra uma alteração no eixo da dupla hélice. A Figura 4.46 ilustra as estruturas de alguns compostos intercaladores.<sup>32</sup>



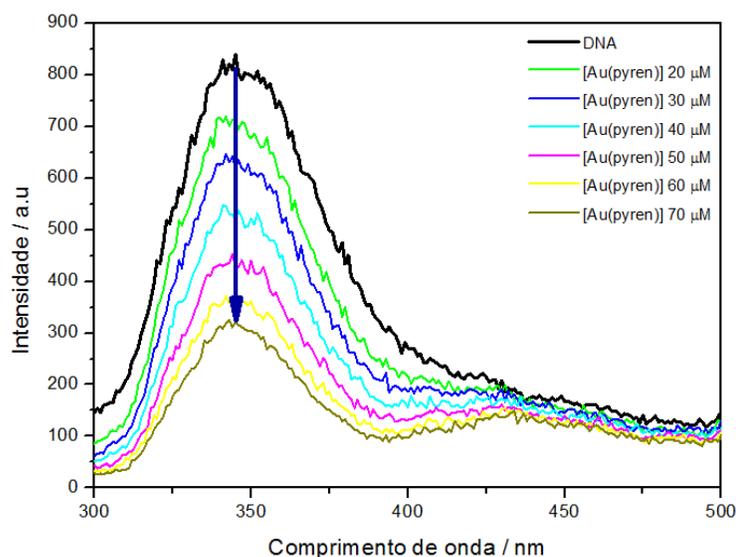
**Figura 4.46:** Estrutura de compostos intercaladores com o DNA<sup>32</sup>.

Com isso a formação do complexo DNA-intercalador leva a modificações significativas na estrutura do DNA, resultando na supressão de suas funções em processos fisiológicos e conseqüentemente levando à morte celular. Como esta influência é um requisito principal para compostos que tem o DNA como alvo, a intercalação de pequenas moléculas pode ser aplicada em abordagens terapêuticas nas quais a

supressão na replicação e reparo do DNA são utilizadas para destruir células tumorais.<sup>104</sup> Em geral técnicas simples como desnaturação térmica do DNA na ausência e na presença do composto em estudo, mudanças nos espectros eletrônicos na região do UV-Visível, propriedades de fluorescência e mudanças nos espectros de dicroísmo circular são extensivamente empregadas para a determinação de interações com o DNA.<sup>29</sup>

Neste contexto espectros de fluorescência foram realizados com o intuito de investigar as propriedades de interação do complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  com o DNA. Os espectros de emissão do CT-DNA, cuja concentração é de  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ , na ausência e na presença de uma solução do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  em acetonitrila com concentrações crescentes e inferiores à concentração de CT-DNA são mostrados na Figura 4.47, onde o pico de emissão em 345 nm é atribuído ao CT-DNA quando este é excitado a 260 nm. O complexo não é fluorescente nas condições experimentais testadas e o DNA foi preparado em soluções de  $\text{NaClO}_4$  para ajuste da força iônica e por não interferir nas medidas de fluorescência e de dicroísmo circular.

A supressão (quenching) de fluorescência tem sido amplamente estudada tanto como um fenômeno fundamental quanto como fonte de informações sobre sistemas bioquímicos. Dois modos de supressão são considerados: o estático e o dinâmico, sendo que em ambos ocorre contato molecular entre o fluoróforo e o supressor (quencher).<sup>105</sup> No modo dinâmico há uma interação entre o supressor e o fluoróforo no estado excitado, e após a transferência de energia o fluoróforo retorna ao estado fundamental sem a emissão de um fóton. Já no modo estático é formado um complexo que não fluoresce entre o supressor e o fluoróforo no estado fundamental.<sup>29</sup> A Figura 4.48 ilustra estes 2 modos de supressão de fluorescência.



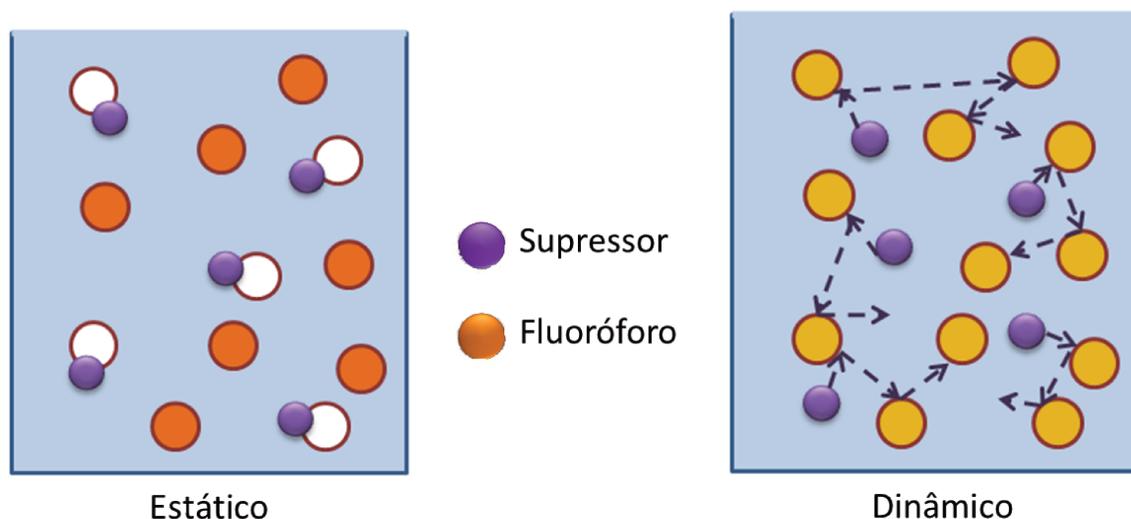
**Figura 4.47:** Espectros de fluorescência de soluções de CT-DNA na ausência e presença do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  em concentrações crescentes. A seta indica a evolução da banda de emissão com a adição do complexo.

Os espectros de fluorescência (Figura 4.47) mostraram uma supressão da banda de emissão do CT-DNA com concentrações crescentes do complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ . De acordo com os estudos espectroscópicos e os obtidos com DFT o complexo apresenta um ambiente de coordenação quadrado o que permite que o complexo intercale entre pares de base vizinhos do DNA. Além disso, a carga positiva do complexo favorece interações eletrostáticas com o esqueleto fosfato (negativamente carregado) da dupla hélice do DNA.<sup>16</sup>

Tanto o modo estático quanto o dinâmico podem ser descritos pela equação de Stern-Volmer:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[Q] \quad (4.2)$$

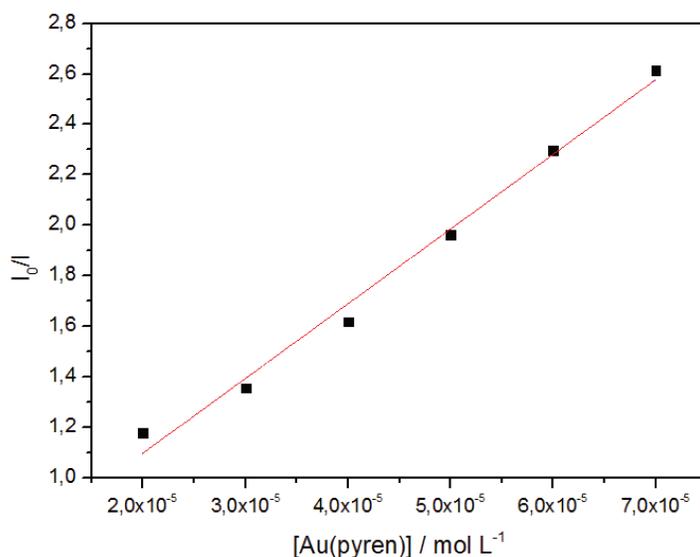
Na Equação 4.2  $I_0$  e  $I$  são as intensidades de fluorescência na ausência e na presença do supressor, respectivamente,  $K_{SV}$  é a constante de supressão de Stern-Volmer e  $[Q]$  é a concentração do supressor. Um gráfico de  $\frac{I_0}{I}$  versus  $[Q]$  produz



**Figura 4.48:** Representação dos modos de supressão estático e dinâmico.

uma reta cujo coeficiente angular corresponde a  $K_{SV}$ . A Figura 4.49 mostra o gráfico obtido para o sistema  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ -DNA a partir dos espectros de fluorescência da Figura 4.47. O valor encontrado da constante  $K_{SV}$  foi  $(2,96 \pm 0,15) \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$  com um valor de  $R = 0,994$ , indicando uma boa concordância dos dados com a equação de Stern-Volmer. O valor encontrado para a constante é menor em comparação com o composto conhecido como “nile blue”, um corante catiônico heterocíclico ( $K_{SV} = 3,2 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1}$ ),<sup>106</sup> e com compostos de Pt(II) contendo ligantes derivados da 2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina ( $K_{SV} \approx 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ ),<sup>107</sup> cujas estruturas estão representadas na Figura 4.50.

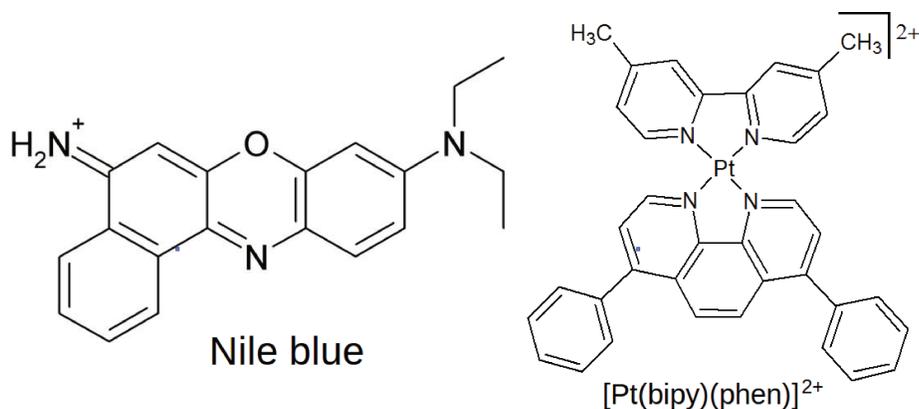
A capacidade de interação do complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  com o CT-DNA também foi investigada por ensaios de competição com brometo de etídio, um composto intercalador bem conhecido. A Figura 4.51 mostra a estrutura do brometo de etídio e sua intercalação entre 2 pares de base do DNA. Mudanças observadas nos espectros de emissão do sistema EtBr-DNA são utilizadas para estudos de interação entre o DNA e outros compostos, como por exemplo complexos de metais de transição.<sup>103</sup>



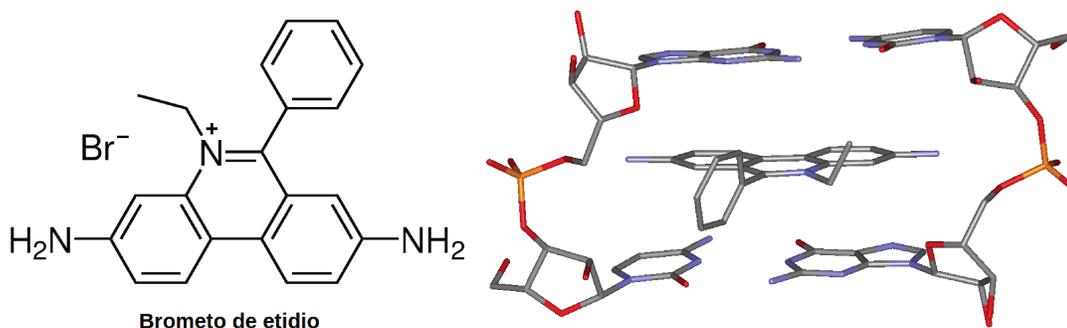
**Figura 4.49:** Gráfico da intensidade de fluorescência relativa com  $\lambda_{em} = 345$  nm em função da concentração do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  em acetoneitrila.

Nos experimentos de competição o sistema EtBr-DNA apresenta uma forte emissão característica em 600 nm quando excitado em 525 nm, sendo um indício de que as moléculas do cátion etídio intercaladas estão suficientemente protegidas da supressão por moléculas do solvente.<sup>29</sup> Com isso o brometo de etídio pode ser usado para avaliar a capacidade de intercalação entre um composto de interesse e o DNA.

Neste caso soluções de CT-DNA contendo o ligante ( $r_i = 0,2$ ) ou o complexo ( $r_i =$



**Figura 4.50:** Estruturas do corante Nile blue<sup>106</sup> e do complexo de Pt(II)<sup>107</sup>.

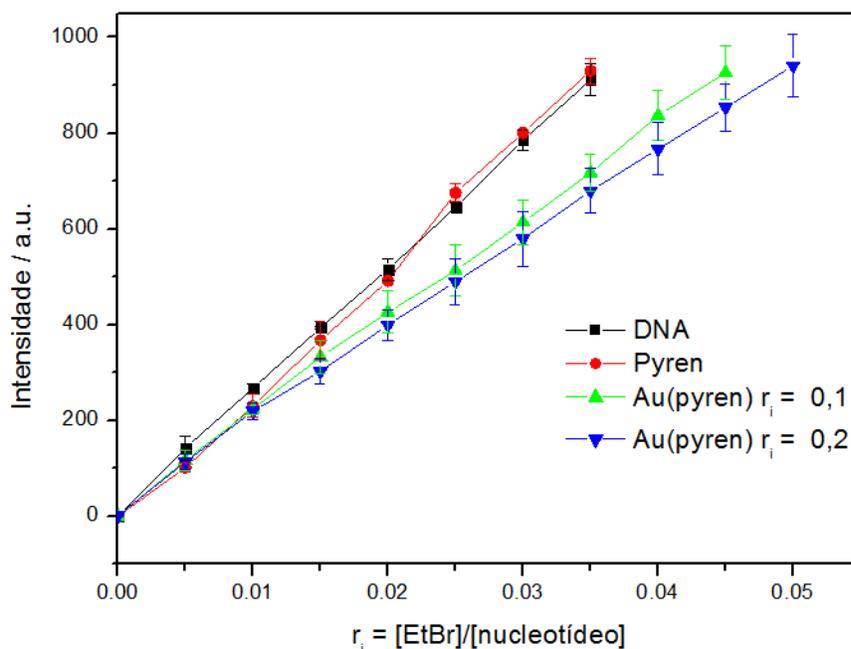


**Figura 4.51:** Estrutura do brometo de etídio e o modo de intercalação entre 2 pares de base.

0,1/0,2) dissolvidos em DMSO, sendo  $r_i$  = razão molar composto/nucleotídeo, foram preparadas e incubadas a 37°C por 24 h. No experimento quantidades crescentes de brometo de etídio foram adicionadas às soluções de CT-DNA e CT-DNA tratado com o ligante ou o complexo. O gráfico da intensidade de fluorescência em função da razão molar EtBr/nucleotídeo se encontra na Figura 4.52. Com o aumento da concentração do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  foi observada uma diminuição na intensidade de fluorescência do sistema EtBr-DNA, enquanto o pyren não provocou mudanças significativas. Estes resultados indicam um modo de interação competitivo do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  com o brometo de etídio, confirmando que o DNA é um dos alvos biológicos do complexo com um modo de interação não-covalente por intercalação.

O modo de supressão estático é frequentemente observado se o fluoróforo e o supressor possuem interações do tipo *stacking*. Estas interações geralmente ocorrem entre nucleotídeos e diversos fluoróforos.<sup>105</sup> Com isso, propõe-se que o modo de supressão de fluorescência envolvido no sistema  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$ -DNA seja do tipo estático, ou seja, ocorre a formação de um complexo não-fluorescente entre o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  e o DNA sendo que neste caso a constante  $K_{SV}$  é a constante de formação do complexo.

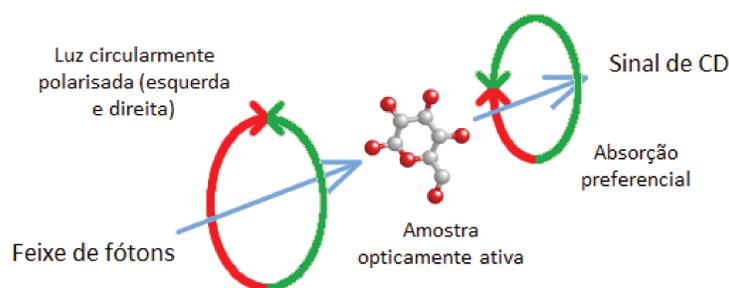
Mudanças conformacionais no CT-DNA após a adição do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  foram



**Figura 4.52:** Emissão do sistema brometo de etídio/DNA com  $\lambda_{em} = 600$  nm após a incubação com o pyren e o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  por 24h.

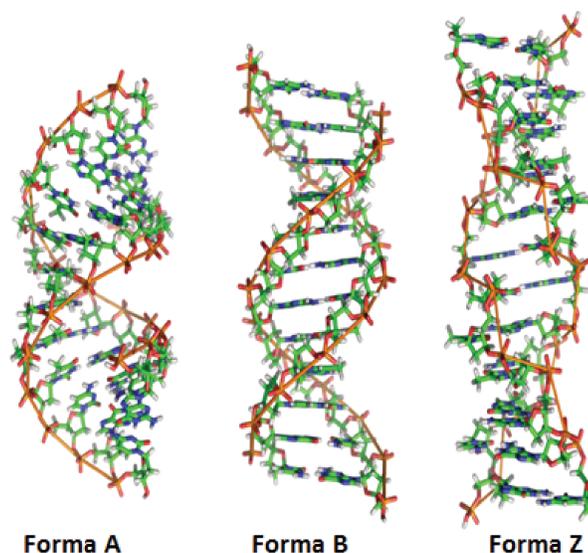
analisadas por espectroscopia de dicroísmo circular (CD). O dicroísmo circular é um fenômeno originado a partir da interação de moléculas quirais com raios eletromagnéticos circularmente polarizados, e a Figura 4.53 ilustra o princípio da técnica. Para estudos com o CT-DNA foi empregada luz ultravioleta na faixa 180-300 nm, região na qual os pares de base do DNA absorvem. A absorção da luz circularmente polarizada para a esquerda e direita por moléculas quirais é diferente e esta diferença é chamada CD. A quantidade usada para descrever este fenômeno é conhecida como elipticidade ( $\theta$ ) e é expressa em graus.<sup>108</sup>

O dicroísmo circular é capaz de fornecer informações a respeito de estruturas secundárias e terciárias de macromoléculas, como por exemplo proteínas e o DNA. No caso do DNA, este apresenta polimorfismo conformacional e através do dicroísmo circular é possível distinguir entre as 3 formas existentes: A, B e Z,<sup>109</sup> conforme ob-



**Figura 4.53:** Princípio da espectroscopia de dicroísmo circular.

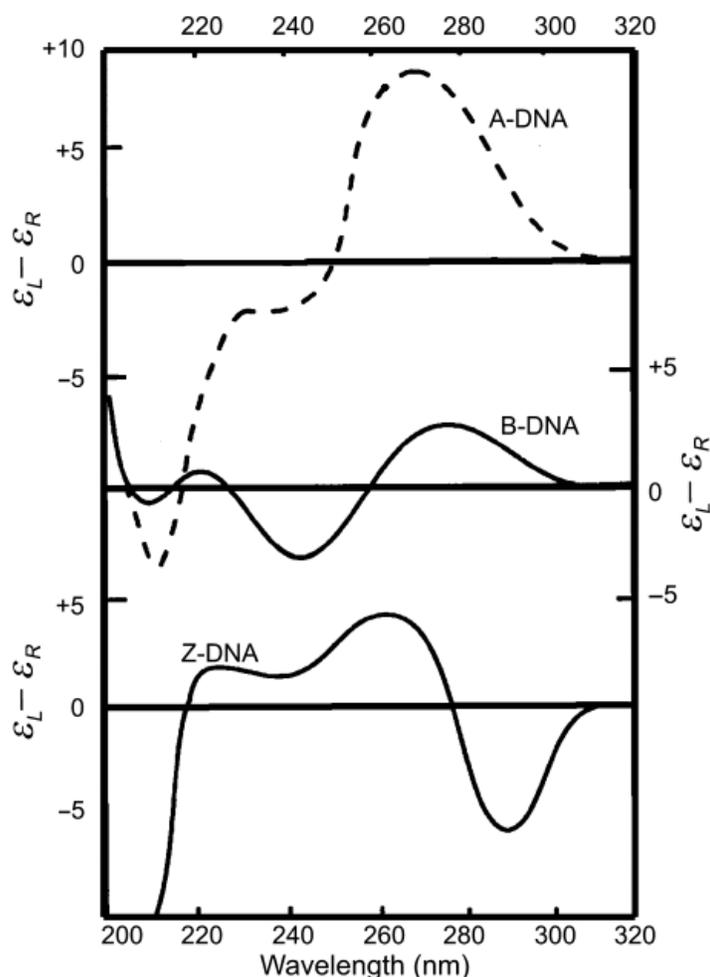
servado na Figura 4.54. A estrutura mais comum da dupla hélice é conhecida como B-DNA, que apresenta uma conformação de hélice de mão direita. A forma A-DNA é bem similar à forma B-DNA, porém possui uma estrutura mais curta e compacta, ocorrendo em amostras com pouca quantidade de água. Já a forma Z-DNA possui uma conformação de hélice de mão esquerda com o esqueleto fosfato em zig-zague, sendo comum apenas na presença de cátions polivalentes e poliaminas.<sup>110</sup>



**Figura 4.54:** Polimorfismo conformacional do DNA: Formas A, B e Z.

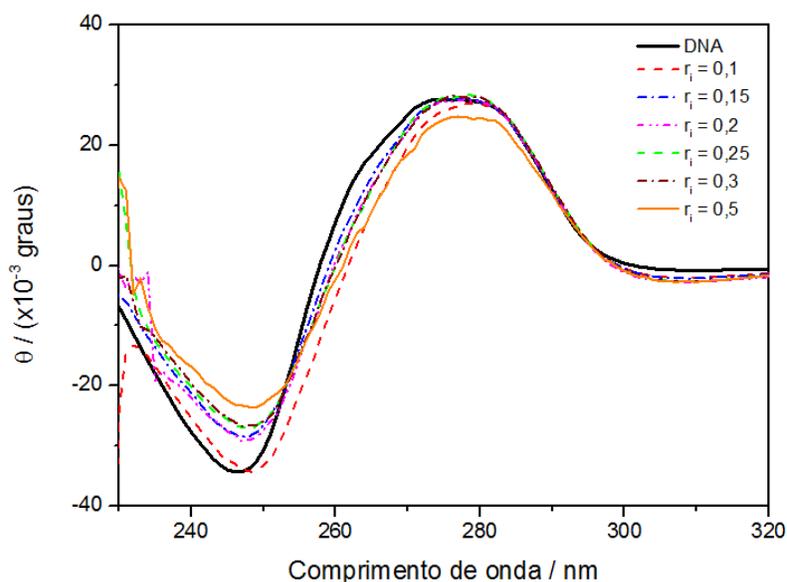
Em relação às características do espectro de dicroísmo circular, a forma B-DNA é caracterizada por uma banda larga e positiva na região 270-280 nm e uma banda negativa ao redor de 240 nm. A forma A-DNA é caracterizada por uma banda positiva

em 270 nm e uma banda negativa em 210 nm. Por fim a forma Z-DNA contém uma banda negativa em 290 nm e duas bandas positivas em 260 nm e na região 220-230 nm. A Figura 4.55 ilustra os perfis destes espectros de dicroísmo circular, conforme relatado por Ranjbar e Gill.<sup>109</sup>



**Figura 4.55:** Perfis dos espectros de dicroísmo circular para as 3 formas do DNA<sup>109</sup>.

As interações do complexo  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  com o CT-DNA, investigadas por dicroísmo circular, são mostradas na Figura 4.56. O CT-DNA apresenta o perfil típico do DNA em sua forma B, sendo observada uma leve alteração dependente da concentração do  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  onde a estrutura do CT-DNA se mantém ordenada, porém



**Figura 4.56:** Espectros de dicroísmo circular do CT-DNA e do CT-DNA incubado com o  $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$  a diferentes valores de  $r_i$ .

diferente do DNA livre. Esta pequena alteração é condizente com a interação por intercalação já que este fenômeno não causa mudanças significativas na estrutura do DNA, levando a um alongamento da dupla hélice e torção dos pares de base.<sup>32</sup> O complexo provocou um aumento do sinal negativo (em 250 nm) com o aumento da concentração bem como o surgimento de um ponto isodicroico em  $\sim 255$  nm, sugerindo a existência de conformações em equilíbrio.<sup>111,112</sup> Mudanças similares no espectro de CD do DNA já foram observadas com a adição de cisplatina<sup>113</sup> e o complexo  $[\text{Au}(\text{esal})\text{Cl}_2]$ .<sup>114</sup>

## Capítulo 5

### Conclusões e Perspectivas

Um complexo de Au(III) com o ligante pyren foi sintetizado e caracterizado por meio de diferentes técnicas. Nos ensaios biológicos o complexo se mostrou mais ativo contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas em comparação com o ligante livre e o precursor  $[\text{Bu}_4\text{N}][\text{AuCl}_4]$ , embora a atividade tenha sido inferior aos antibióticos padrão vancomicina e cloranfenicol. Já nos ensaios citotóxicos o complexo apresentou atividade significativa, mas não seletiva, contra 3 linhagens celulares tumorais e 1 não-tumoral com valores de  $\text{IC}_{50}$  na faixa de  $35 \mu\text{mol L}^{-1}$ . No caso da linhagem de adenocarcinoma de pulmão (A549) o valor de  $\text{IC}_{50}$  para o complexo foi inferior aos valores de complexos de Au(III) com ligantes nitrogenados e à cisplatina.

Estes resultados indicaram a importância da estrutura rígida e catiônica presente no complexo, mas não no ligante livre. Com isso um mecanismo de ação foi investigado, a intercalação com o DNA, por meio de ensaios de fluorescência, competição com brometo de etídio e espectroscopia de dicroísmo circular. Com os resultados observou-se que o DNA é um alvo biológico do complexo com um modo de intera-

ção por intercalação, provocando pequenas alterações estruturais no DNA que levam à morte celular.

Além disso os cálculos teóricos por TD-DFT se mostraram uma poderosa ferramenta no estudo das propriedades eletrônicas dos 4 compostos sintetizados no trabalho, já que na literatura a atribuição das bandas é feita por analogia a compostos similares sem um estudo detalhado sobre as propriedades eletrônicas. Porém, no caso do complexo vale ressaltar que o TD-DFT não é o tipo de cálculo mais confiável para a determinação da estrutura eletrônica de compostos contendo metais. Uma das perspectivas envolve a utilização de cálculos CASSCF já que este método vem sendo descrito como apropriado para a descrição de funções de onda de compostos contendo metais de transição.

Os resultados apresentados neste trabalho são um estímulo para o desenvolvimento de complexos de Au(III) com os outros 2 ligantes sintetizados, o mono- e o bis-pyrophén. No caso do bis-pyrophén a presença de um grupo aromático como espaçador pode alterar as propriedades biológicas pois confere maior rigidez e deslocalização eletrônica na estrutura do complexo. Já para o mono-pyrophén, além da possibilidade de atuar como um ligante tridentado, a presença de um grupo  $-NH_2$  livre é interessante para uma posterior funcionalização através da reação com diferentes aldeídos, formando ligantes assimétricos.

Outra perspectiva envolve a reação entre ligantes bis(pirrolil-imina) com íons metálicos divalentes, que podem produzir complexos mono- ou dinucleares. Diversos espaçadores presentes no ligante e seus complexos foram relatados nos últimos anos, mostrando que a preparação dos ligantes e complexos apresentam bons rendimentos e os compostos obtidos possuem boa solubilidade em diversos solventes. Es-

tas propriedades tornam estes compostos interessantes para aplicações em sistemas supramoleculares já que o grupo NH do pirrol atua como doador de hidrogênio enquanto o grupo imino atua como aceitador, mostrando o potencial destes compostos na participação de eventos de reconhecimento molecular.



## Referências Bibliográficas

- [1] Instituto Nacional de Câncer, Ministério da Saúde. *ABC do Câncer: Abordagens básicas para o controle do câncer*. 2<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro (2012).
- [2] Instituto Nacional de Câncer. *Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço*. 3<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Coordenação de Ensino e Divulgação Científica (CEDC) (2008).
- [3] R. Siegel, D. Naishadham, A. Jemal. *CA Cancer J. Clin.* 63 (2013) 11–30.
- [4] Instituto Nacional de Câncer. *Estimativa 2014 - Incidência de Câncer no Brasil*. Relatório técnico, Ministério da Saúde (2013).
- [5] P. Bruijninx, P. J. Sadler. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12 (2008) 197–206.
- [6] R. Norrby, M. Powell, B. Aronsson, D. L. Monnet, I. Lutsar, I. S. Bocsan, O. Cars, H. Giamarellou, I. C. Gyssens. *The bacterial challenge: time to react*. Relatório técnico, European Centre for Disease Prevention and Control (2009).
- [7] G. D. Wright, A. D. Sutherland. *Trends Mol. Med.* 13 (2007) 260–267.
- [8] L. Ronconi, P. J. Sadler. *Coord. Chem. Rev.* 252 (2008) 2239–2277.
- [9] S. Ahmad, A. A. Isab, S. Ali, A. R. Al-Arfaj. *Polyhedron* 25 (2006) 1633–1645.
- [10] C. Orvig, M. J. Abrams. *Chem. Rev.* 99 (1999) 2201–2204.
- [11] M. Cavicchioli, A. C. Massabni, T. A. Heinrich, C. M. Costa-Neto, E. P. Abrão, B. A. L. Fonseca, E. E. Castellano, P. P. Corbi, W. R. Lustri, C. Q. F. Leite. *J. Inorg. Biochem.* 104 (2010) 533–540.
- [12] C. F. Shaw. *Chem. Rev.* 99 (1999) 2589–2600.

- [13] R. W. Y. Sun, C. M. Che. *Coord. Chem. Rev.* 253 (2009) 1682–1691.
- [14] T. G. Benedek. *J. Hist. Med. Allied Sci.* 59 (2004) 50–89.
- [15] A. Laguna. *Modern Supramolecular Gold Chemistry: Gold-Metal Interactions and Applications*. Wiley VCH (2008).
- [16] O. Q. Munro, K. J. Akerman, P. Akerman. Patente depositada no World Intellectual Property Organization (WIPO). *Synthesis of bis(pyrrolide-imine) and bis(imidazolato-imine) gold(III) Schiff base complexes for the treatment of cancer*. (2011).
- [17] P. Zatta. *Coord. Chem. Rev.* 253 (2009) 1597–1598.
- [18] L. Ronconi, L. Giovagnini, C. Marzano, F. Bettio, R. Graziani, G. Pilloni, D. Fregona. *Inorg. Chem.* 44 (2005) 1867–1881.
- [19] S. J. Berners-Price, A. Filipovska. *Metallomics* 3 (2011) 863–873.
- [20] O. Rackham, S. J. Nichols, P. J. Leedman, S. J. Berners-Price, A. Filipovska. *Biochem. Pharmacol.* 74 (2007) 992–1002.
- [21] E. R. T. Tiekink. *Crit. Rev. Oncol. Hematology* 42 (2002) 225–248.
- [22] L. Messori, G. Marcon, M. A. Cinellu, M. Coronello, E. Mini, C. Gabbiani, P. Orioli. *Bioorg. Med. Chem.* 12 (2004) 6039–6043.
- [23] F. Mohr. *Gold Chemistry: Applications and Future Directions in the Life Sciences*. Weinheim: Wiley VCH Verlag (2009).
- [24] G. Marcon, L. Messori, P. Orioli, M. A. Cinellu, G. Minghetti. *Eur. J. Biochem.* 270 (2003) 4655–4661.
- [25] M. P. Rigobello, L. Messori, G. Marcon, M. A. Cinellu, M. Bragadin, A. Folda, G. Scutari, A. Bindoli. *J. Inorg. Biochem.* 98 (2004) 1634–1641.
- [26] Y. Wang, Q. Y. He, R. W.-Y. Sun, C. M. Che, J. F. Chiu. *Cancer Res.* 65 (2005) 11553–11564.
- [27] I. Ott. *Coord. Chem. Rev.* 253 (2009) 1670–1681.
- [28] S. Nobili, E. Mini, I. Landini, C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori. *Med. Res. Rev.* (2009) 550–580.

- [29] Z. F. Chen, Y. C. Liu, Y. Peng, X. Hong, H. H. Wang, M. M. Zhang, H. Liang. *J. Biol. Inorg. Chem.* 17 (2012) 247–261.
- [30] L. S. Lerman. *J. Mol. Biol.* 3 (1961) 18–30.
- [31] I. Eryazici, C. N. Moorefield, G. R. Newkome. *Chem. Rev.* 108 (2008) 1834–1895.
- [32] G. M. Blackburn, M. J. Gait, D. Loakes, D. M. Williams. *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*. 3<sup>a</sup> ed. RSC Publishing (2006).
- [33] P. J. Barnard, S. J. Berners-Price. *Coord. Chem. Rev.* 251 1889–1902.
- [34] A. Bindoli, M. P. Rigobello, G. Scutari, C. Gabbiani, A. Casini, L. Messori. *Coord. Chem. Rev.* 253 (2009) 1692–1707.
- [35] V. Milacic, Q. P. Dou. *Coord. Chem. Rev.* 253 (2009) 1649–1660.
- [36] R. W. Y. Sun, C. K. L. Li, D. L. Ma, J. J. Yan, C. N. Lok, C. H. Leung, N. Zhu, C. M. Che. *Chem. Eur. J.* 16 (2010) 3097–3113.
- [37] P. J. Barnard, M. V. Baker, S. J. Berners-Price, D. A. Day. *J. Inorg. Biochem.* 98 (2004) 1642–1647.
- [38] M. J. McKeage, S. J. Berners-Price, P. Galettis, R. J. Bowen, W. Brouwer, L. Ding, L. Zhuang, B. C. Baguley. *Cancer Chem. Pharmacol.* 46 (2000) 343–350.
- [39] A. A. Khandar, C. Cardin, S. A. Hosseini-Yazdi, J. McGrady, M. Abedi, S. A. Zarei, Y. Gan. *Inorg. Chim. Acta* 363 (2010) 4080–4087.
- [40] P. Pfeiffer, T. Hesse, H. Pfitzner, W. Scholl, H. Thielert. *J. für Praktische Chemie* 149 (1937) 217–296.
- [41] O. Q. Munro, G. L. Camp. *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.* C59 (2003) o672–o675.
- [42] F. Franceschi, G. Guillemot, E. Solari, C. Floriani, N. Re, H. Birkedal, P. Patison. *Chem. Eur. J.* 7 (2001) 1468–1478.
- [43] L. Y. Yang, Q. Q. Chen, Y. Li, S. X. Xiong, G. P. Li, J. S. Ma. *Eur. J. Inorg. Chem.* (2004) 1478–1487.

- [44] G. Zhang, G. Yang, Q. Chen, J. S. Ma. *Crystal Growth & Design* 5 (2005) 661–666.
- [45] C. Stern, F. Franceschi, E. Solari, C. Floriani, N. Re, R. Scopelliti. *J. Organomet. Chem.* 593 (2000) 86–95.
- [46] A. Bacchi, M. Carcelli, L. Gabba, S. Ianelli, P. Pelagatti, G. Pelizzi, D. Rogolino. *Inorg. Chim. Acta* 342 (2003).
- [47] C. J. Jones, J. A. McCleverty. *J. Chem. Soc. A* (1971) 1052–1060.
- [48] X. F. Shan, L. Z. Wu, X. Y. Liu, L. P. Zhang, C. H. Tung. *Eur. J. Inorg. Chem.* (2007) 3315–3319.
- [49] J. M. Chen, W. J. Ruan, L. Meng, F. Gao, Z. A. Zhu. *Spectrochim. Acta, Part A* 71 (2008) 191–198.
- [50] J. P. Holland, P. J. Barnard, S. R. Bayly, J. R. Dilworth, J. C. Green. *Inorg. Chim. Acta* 362 (2009) 402–406.
- [51] Y. Wang, W. N. Wu, Q. Wang, Z. Y. Yang. *J. Coord. Chem.* 63 (2010) 147–155.
- [52] W. Li, Y. Wang, L. Yang, A. Szeghalmi, Y. Ye, J. Ma, M. Luo, J. Hu, W. Kiefer. *J. Raman Spectrosc.* 38 (2007) 483–495.
- [53] Z. K. Wu, Q. Q. Chen, S. X. Xiong, B. Xin, Z. W. Zhao, L. J. Jiang, J. S. Ma. *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 (2003) 3271–3274.
- [54] L. Y. Yang, Q. Q. Chen, G. Q. Yang, J. S. Ma. *Tetrahedron* 59 (2003) 10037–10041.
- [55] L. C. Liang, P. Y. Lee, W. L. Lan, C. H. Hung. *J. Organomet. Chem.* 689 (2004) 947–952.
- [56] Q. H. Yuan, L. J. Wan. *Chem. Eur. J.* 12 (2006) 2808–2814.
- [57] Y. Wang, Z. Y. Yang, Z. N. Chen. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18 (2008) 298–303.
- [58] Y. Wang, Z. Wu, Z. Cao, L. Kang, H. Fu, J. S. Ma, J. Yao, B. H. Loo. *Colloids Surf., A* 329 (2008) 44–50.

- [59] H. F. Xiang, S. C. Chan, K. K. Y. Wu, C. M. Che, P. T. Lai. *Chem. Comm.* (2005) 1408–1410.
- [60] X. F. Shan, D. H. Wang, C. H. Tung, L. Z. Wu. *Tetrahedron* 64 (2008) 5577–5582.
- [61] X.-Q. Zhang, M.-S. Lin, B. Hu, W.-Q. Chen, L.-N. Zheng, J. Wu, Y.-M. Chen, F.-Y. Zhou, Y.-H. Li, W. Li. *Polyhedron* 33 (2012) 273–279.
- [62] A. K. Patra, K. S. Dube, B. C. Sanders, G. C. Papaefthymiou, J. Conradie, A. Ghosh, T. C. Harrop. *Chem. Sci.* 3 (2012) 364–369.
- [63] B. C. Sanders, A. K. Patra, T. C. Harrop. *J. Inorg. Biochem.* 118 (2013) 115–127.
- [64] M. P. Akerman, O. Q. Munro, M. Mongane, J. A. van Staden, W. I. D. Rae, C. J. Bester, B. M. Painter, Z. Szucs, J. R. Zeevaart. *J. Labelled Compd. Radiopharm.* 56 (2013) 530–535.
- [65] R. D. Wells, J. E. Larson, R. C. Grant, B. E. Shortle, C. R. Cantor. *Thermochim. Acta* 54 (1970) 465–497.
- [66] M. W. Schmidt, K. K. Baldrige, J. A. Boatz, S. T. Elbert, M. S. Gordon, J. H. Jensen, S. K. N. Matsunaga, K. Nguyen, S. Su, T. L. Windus, M. Dupuis, J. A. J. Montgomery. *J. Comput. Chem.* 14 (1993) 1347–1363.
- [67] L. E. Roy, P. J. Hay, R. L. Martin. *J. Chem. Theory Comput.* 4 (2008) 1029–1031.
- [68] R. Ditchfie, W. J. Hehre, J. A. Pople. *J. Chem. Phys.* 54 (1971) 724–728.
- [69] W. J. Hehre, R. Ditchfie, J. A. Pople. *J. Chem. Phys.* 56 (1972) 2257–2261.
- [70] P. C. Harihara, J. A. Pople. *Theor. Chim Acta* 28 (1973) 213–222.
- [71] M. M. Francl, W. J. Pietro, W. J. Hehre, J. S. Binkley, M. S. Gordon, D. J. DeFrees, J. A. Pople. *J. Chem. Phys.* 77 (1982) 3654–3665.
- [72] C. Adamo, V. Barone. *J. Chem. Phys.* 110 (1999) 6158–6170.
- [73] J. P. Merrick, D. Moran, L. Radom. *J. Phys. Chem. A* 111 (2007) 11683–11700.

- [74] G. Schaftenaar, J. H. Noordik. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* 14 (2000) 123–134.
- [75] O. Q. Munro, S. D. Joubert, C. D. Grimmer. *Chem. Eur. J.* 12 (2006) 7987–7999.
- [76] V. K. Rao, S. S. Reddy, B. S. Krishna, K. R. M. Naidu, C. N. Raju, S. K. Ghosh. *Green Chem. Lett. Rev.* 3 (2010) 217–223.
- [77] Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth Informational Supplement.* Wayne, USA (2007).
- [78] T. Mosmann. *J. Immunol. Methods* 65 (1983) 55–63.
- [79] J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers. *Organic Chemistry.* 1<sup>a</sup> ed. Oxford University Press (2001).
- [80] T. J. Batterham. *NMR spectra of simple heterocycles.* United States: Wiley Interscience Publication (1973).
- [81] R. M. Silverstein, F. X. Webster, D. J. Kiemle. *Spectrometric identification of organic compounds.* 7<sup>a</sup> ed. Wiley Interscience Publication (2005).
- [82] M. G. Bhowon, H. L. Kam, W. A. Dosieah, M. Ridana, O. Ramalingum, D. Lacour. *Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem.* 34 (2004) 1–16.
- [83] T. W. G. Solomons, C. B. Fryhle. *Química Orgânica, volume 2.* 10<sup>a</sup> ed. LTC Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda (2012).
- [84] J. H. Weber. *Inorg. Chem.* 6 (1967) 258–262.
- [85] J. Mohan. *Organic Spectroscopy: Principles and Applications.* 2<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Alpha Science International Ltd (2004).
- [86] O. Q. Munro, S. D. Strydom, C. D. Grimmer. *New J. Chem.* 28 (2004) 34–42.
- [87] S. L. Barnholtz, J. D. Lydon, G. Huang, M. Venkatesh, C. L. Barnes, A. R. Ketring, S. S. Jurisson. *Inorg. Chem.* 40 (2001) 972–976.
- [88] X. G. Teng, F. Q. Li, P. H. Ma, Q. D. Ren, S. Li. *Thermochim. Acta* 436 (2005) 30–34.

- [89] K. Nakamoto. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part A*. 6<sup>a</sup> ed. New York: Wiley Publication (2009).
- [90] F. Neese. *Coord. Chem. Rev.* 253 (2009) 526–563.
- [91] J. M. Andrews. *J. Antimicrob. Chemother.* 48 (2001) 5–16.
- [92] G. Violante, N. Zerrouk, I. Richard, G. Provot, J. C. Chaumeil, P. Arnaud. *Biol. Pharm. Bull.* 25 (2002) 1600–1603.
- [93] C. H. Goss, W. Henderson, A. L. Wilkins, C. Evans. *J. Organomet. Chem.* 679 (2003) 194–201.
- [94] M. S. Refat. *Spectrochim. Acta Part A* 68 (2007) 1393–1405.
- [95] V. R. Fantin, M. J. Berardi, L. Scorrano, S. J. Korsmeyer, P. Leder. *Cancer Cell* 2 (2002) 29–42.
- [96] Y. F. To, R. W.-Y. Sun, Y. Chen, V. S.-F. Chan, W.-Y. Yu, P. K.-H. Tam, C.-M. Che, C.-L. S. Lin. *Int. J. Cancer* 124 (2009) 1971–1979.
- [97] M. Arsenijevic, M. Milovanovic, V. Volarevic, A. Djekovic, T. Kanjevac, N. Arsenijevic, S. Dukic, Z. D. Bugarcic. *Med. Chem.* 8 (2012) 2–8.
- [98] M. M. U. Mehboob, M. Altaf, M. Fettouhi, A. A. Isab, M. I. Wazeer, M. N. Shaikh, S. Altuwaijri. *Polyhedron* 61 (2013) 225–234.
- [99] S. S. A. Jaroudi, M. Fettouhi, M. I. M. Wazeer, A. A. Isab, S. Altuwaijri. *Polyhedron* 50 (2013) 434–442.
- [100] P. Zhang, W. Y. Gao<sup>1</sup>, S. Turner, B. S. Ducatman. *Mol. Cancer* 2 (2003) 1–9.
- [101] S. Dhara, F. X. Gub, R. Langerb, O. C. Farokhzad, S. J. Lippard. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 105 (2008) 17356–17361.
- [102] H. N. Nguyen, B. U. Sevin, H. Averette, J. Perras, R. Hightower, R. Ramos, D. Donato, M. Penalver. *Cancer Chem. Pharmacol.* 30 (1992) 37–42.
- [103] G. Zhao, H. Lin, S. Zhu, H. Sun, Y. Chen. *J. Inorg. Biochem.* 70 (1998) 219–226.
- [104] H. Ihmels, K. Faulhaber, D. Vedaldi, F. Dall’Acqua, G. Viola. *Photochem. Photobiol.* 81 (2005) 1107–1115.

- [105] J. R. Lakowicz. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3<sup>a</sup> ed. Springer (2006).
- [106] Q. Y. Chen, D. H. Li, Y. Zhaob, H. H. Yang, Q. Z. Zhua, J. G. Xu. *Analyst* 124 (1999) 901–906.
- [107] N. Shahabadi, S. Mohammadi, R. Alizadeh. *Bioinorg. Chem. Appl.* 124 (2011) 1–8.
- [108] J. Kypr, I. Kejnovska, D. Renciuik, M. Vorlickova. *Nucleic Acids Res.* 37 (2009) 1713–1725.
- [109] B. Ranjbar, P. Gill. *Chem. Biol. Drug Des.* 74 (2009) 101–120.
- [110] Y. M. Chang, C. K. M. Chen, M. H. Hou. *Int. J. Mol. Sci.* 13 (2012) 3394–3413.
- [111] D. W. Gruenwedel, M. K. Cruikshank, G. M. Smith. *J. Inorg. Biochem.* 52 (1993) 251–261.
- [112] M. E. Holtzer, A. Holtzer. *Biopolymers* 32 (1992) 1675–1677.
- [113] M. Gay, A. M. Montana, V. Moreno, M. J. Prieto, R. Llorens, L. Ferrer. *J. Inorg. Biochem.* 99 (2005) 2387–2394.
- [114] P. Calamai, A. Guerri, L. Messori, P. Orioli, G. P. Speroni. *Inorg. Chim. Acta* 285 (1999) 309–312.

# Apêndice A

## Apêndice A - Tabelas

### A.1 Contribuição (em porcentagem) dos pirróis e da imina nos principais orbitais para o pyren

Orbital	Ocupação (n° elétrons)	Pirrol (%)	Imina (%)	Orbital	Ocupação (n° elétrons)	Pirrol (%)	Imina (%)
49	2	26,7	25,9	59	0	39,9	48,9
50	2	17,5	60	60	0	91,2	6,5
51	2	20,7	51,2	61	0	89	5,9
52	2	9,1	65,6	62	0	40,1	4,7
53	2	9,5	66,6	63	0	40,3	2,1
54	2	99,7	0,2	64	0	15,1	20
55	2	99,5	0,3	65	0	49,7	24,6
56	2	76,5	18,4	66	0	8,3	28,8
57 (HOMO)	2	72,1	20,4	67	0	20,4	30,3
58 (LUMO)	0	38,2	55				

## A.2 Transições eletrônicas calculadas para o pyren

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
1	4,48	277	0,28	57	58	98	pirrol-imina
2	4,66	266	0,03	56	58	57	pirrol-imina
				57	59	40	pirrol-imina
3	4,86	255	0,03	52	58	27	imina-imina
				53	58	40	imina-imina
				52	59	19	imina-imina
4	4,90	253	0,04	52	58	26	imina-imina
				53	58	23	imina-imina
				53	59	29	imina-imina
5	4,95	251	0,18	56	59	79	pirrol-imina
6	5,02	247	0,48	56	58	33	pirrol-imina
				57	59	54	pirrol-imina
7	5,53	224	0,07	54	58	65	pirrol-imina
				54	59	14	pirrol-imina
8	5,57	222	0,07	55	58	55	pirrol-imina
				55	59	23	pirrol-imina
9	5,76	215	0,003	52	58	34	imina-imina
				53	59	56	imina-imina
10	5,78	214	0,001	53	58	35	imina-imina
				52	59	59	imina-imina
11	5,95	208	0,01	55	58	57	pirrol-imina
				55	59	67	pirrol-imina
12	5,99	207	0,004	54	58	15	pirrol-imina
				54	59	80	pirrol-imina
13	6,98	178	0,02	51	58	66	imina-imina
				57	60	20	pirrol-pirrol
14	7,09	175	0,05	51	59	19	imina-imina
				56	60	17	pirrol-pirrol
				57	61	50	pirrol-pirrol
15	7,22	172	0,09	51	58	24	imina-imina
				57	60	55	pirrol-pirrol

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
16	7,32	169	0,03	50	58	15	imina-imina
				51	59	47	imina-imina
				57	61	20	pirrol-pirrol
17	7,40	168	0,01	50	58	12	imina-imina
				56	60	44	pirrol-pirrol
				57	61	14	pirrol-pirrol
18	7,43	167	0,02	56	61	52	pirrol-pirrol
19	7,44	167	0,003	56	62	25	pirrol-pirrol
				57	62	41	pirrol-pirrol
				57	63	14	pirrol-pirrol
20	7,50	165	0,001	56	62	13	pirrol-pirrol
				56	63	24	pirrol-pirrol
				57	63	37	pirrol-pirrol
21	7,63	162	0,14	50	58	47	imina-imina
				51	59	15	imina-imina
				56	60	13	pirrol-pirrol
22	7,77	160	0,11	50	59	73	imina-imina
23	7,98	155	0,11	55	60	17	pirrol-pirrol
				54	61	13	pirrol-pirrol
				57	64	14	pirrol-pirrol/imina
24	7,99	155	0,09	54	60	22	pirrol-pirrol
				57	64	13	pirrol-pirrol/imina
				57	65	13	pirrol-pirrol
25	8,08	154	0,005	56	64	14	pirrol-pirrol/imina
				57	64	31	pirrol-pirrol/imina
26	8,11	153	0,02	49	58	44	pirrol/imina-imina
				49	59	27	pirrol/imina-imina
27	8,13	152	0,002	56	64	15	pirrol-pirrol/imina
				57	66	37	pirrol-imina
28	8,19	151	0,002	53	60	53	imina-pirrol
				52	61	37	imina-pirrol
29	8,20	151	0,001	52	60	43	imina-pirrol
				53	61	50	imina-pirrol
30	8,24	151	0,02	56	63	31	pirrol-pirrol
				57	63	24	pirrol-pirrol
				57	66	11	pirrol-imina

### A.3 Contribuição (em porcentagem) dos pirróis e do grupo fenil nos principais orbitais para o bis-pyrophene

Orbital	Ocupação (n° elétrons)	Pirrol (%)	Fenil (%)	Orbital	Ocupação (n° elétrons)	Pirrol (%)	Fenil (%)
60	2	68,9	7	69 (HOMO)	2	50,3	49,7
61	2	90,3	9,6	70 (LUMO)	0	68,6	31,3
62	2	81,2	9,2	71	0	77,1	22,8
63	2	46,8	52	72	0	64,6	35,3
64	2	45	54,6	73	0	72,3	27,6
65	2	24,3	75,5	74	0	4,9	9,9
66	2	18,7	81,2	75	0	18,4	81,4
67	2	82,3	8,4	76	0	12,2	87,6
68	2	39,1	60,9				

### A.4 Transições eletrônicas calculadas para o bis-pyrophene

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
1	3,36	369	0,60	69	70	100	fenil/pirrol-fenil
2	3,56	348	0,04	68	70	29	pirrol-fenil
				69	71	68	fenil/pirrol-fenil
3	3,92	316	0,001	67	70	93	fenil-fenil
				68	70	68	pirrol-fenil
4	4,17	297	1,02	69	71	30	fenil/pirrol-fenil
				62	70	27	fenil-fenil
5	4,22	294	0,02	67	71	65	fenil-fenil
				68	71	97	pirrol-fenil
6	4,26	290	0,05	64	70	24	fenil/pirrol-fenil
				65	70	34	pirrol-fenil
7	4,83	257	0,003	66	70	21	pirrol-fenil
				62	70	36	fenil-fenil
8	4,88	254	0,01	66	70	24	pirrol-fenil
				67	71	25	fenil-fenil

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
9	4,91	252	0,04	63	70	18	fenil/pirrol-fenil
				65	70	20	pirrol-fenil
				66	70	35	pirrol-fenil
10	4,94	251	0,01	64	70	53	fenil/pirrol-fenil
				65	70	26	pirrol-fenil
11	5,15	241	0	62	70	22	fenil-fenil
				63	70	55	fenil/pirrol-fenil
12	5,18	239	0,001	62	71	55	fenil-fenil
				63	71	25	fenil/pirrol-fenil
13	5,36	231	0,02	64	71	24	fenil/pirrol-fenil
				65	71	27	pirrol-fenil
				66	71	35	pirrol-fenil
14	5,39	230	0,02	62	71	16	fenil-fenil
				65	71	37	pirrol-fenil
				66	71	32	pirrol-fenil
15	5,43	228	0,03	64	71	63	fenil/pirrol-fenil
				66	71	15	pirrol-fenil
16	5,45	227	0,01	62	71	17	fenil-fenil
				63	71	50	fenil/pirrol-fenil
				69	72	15	fenil/pirrol-fenil
17	5,68	218	0,02	63	71	12	fenil/pirrol-fenil
				69	72	56	fenil/pirrol-fenil
18	5,94	209	0,02	69	73	79	fenil/pirrol-fenil
19	6,05	205	0	69	74	99	fenil/pirrol-pirrol
20	6,19	200	0,05	68	72	90	pirrol-fenil
21	6,39	194	0,001	67	72	91	fenil-fenil
22	6,53	190	0,02	68	73	78	pirrol-fenil
23	6,65	187	0	68	74	96	pirrol-pirrol
24	6,65	186	0,02	69	75	79	fenil/pirrol-pirrol
25	6,68	186	0,01	67	73	80	fenil-fenil
26	6,71	185	0,01	69	76	80	fenil/pirrol-pirrol
27	7,03	176	0,03	60	70	33	fenil-fenil
				61	70	56	fenil-fenil
28	7,05	176	0,001	62	72	17	fenil-fenil
				63	72	27	fenil/pirrol-fenil
29	7,06	176	0,01	60	70	56	fenil-fenil
				61	70	28	fenil-fenil
30	7,17	173	0,01	62	72	36	fenil-fenil
				68	75	19	pirrol-pirrol

## A.5 Contribuição (em porcentagem) do pirrol e do grupo fenil nos principais orbitais para o mono-pyropheen

Orbital	Ocupação (n° elétrons)	Pirrol (%)	Fenil (%)	Orbital	Ocupação (n° elétrons)	Pirrol (%)	Fenil (%)
41	2	76	2,2	51	0	89,4	6,3
42	2	77,6	4,5	52	0	80,4	17
43	2	76,6	9,2	53	0	15,4	83,6
44	2	99	0,3	54	0	20,2	28,4
45	2	78,8	12,1	55	0	39,6	14,1
46	2	1,3	98,5	56	0	44,2	11,8
47	2	70,3	26,7	57	0	41,2	16,2
48	2	64,4	35	58	0	38,3	11,1
49 (HOMO)	2	81	17,5	59	0	13,9	36,4
50 (LUMO)	0	68,6	30,2				

## A.6 Transições eletrônicas calculadas para o mono-pyropheen

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
1	3,42	363	0,34	49	50	94	fenil-fenil
2	4,27	290	0,30	48	50	83	fenil-fenil
3	4,64	267	0,20	47	50	63	fenil-fenil
4	5,10	243	0,02	49	51	66	fenil-fenil
5	5,21	238	0,05	46	50	90	pirrol-fenil
6	5,47	227	0,01	45	50	55	fenil-fenil
				47	50	21	fenil-fenil
7	5,71	217	0,13	49	52	78	fenil-fenil
8	6,09	204	0,07	48	51	84	fenil-fenil
9	6,36	195	0,02	44	50	33	fenil-fenil
				47	51	20	fenil-fenil
				48	52	30	fenil-fenil
10	6,51	190	0,02	49	53	89	fenil-pirrol
11	6,62	187	0,03	49	54	81	fenil-fenil/pirrol
12	6,66	186	0,06	44	50	28	fenil-fenil
				47	52	16	fenil-fenil
				48	52	37	fenil-fenil

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
13	6,82	182	0,10	45	51	21	fenil-fenil
				47	51	50	fenil-fenil
14	7,03	176	0,23	47	52	55	fenil-fenil
15	7,09	175	0,04	43	50	74	fenil-fenil
16	7,16	173	0,06	48	54	16	fenil-fenil/pirrol
				49	55	44	fenil-fenil
				49	56	26	fenil-fenil
17	7,19	172	0,001	46	51	46	pirrol-fenil
				48	53	25	fenil-pirrol
18	7,30	170	0,01	48	54	17	fenil-fenil/pirrol
				49	55	33	fenil-fenil
				49	56	18	fenil-fenil
				49	57	18	fenil-fenil
19	7,34	169	0,01	42	50	11	fenil-fenil
				46	51	40	pirrol-fenil
				48	53	39	fenil-pirrol
20	7,42	167	0,07	42	50	25	fenil-fenil
				45	51	51	fenil-fenil
21	7,49	165	0,03	46	52	20	pirrol-fenil
				49	56	15	fenil-fenil
				49	57	19	fenil-fenil
22	7,58	163	0,01	48	54	37	fenil-fenil/pirrol
				49	56	19	fenil-fenil
23	7,66	162	0,10	42	50	16	fenil-fenil
				46	52	16	pirrol-fenil
				48	53	18	fenil-pirrol
24	7,74	160	0,06	46	52	35	pirrol-fenil
				49	57	31	fenil-fenil
25	7,83	158	0,05	45	52	52	fenil-fenil
26	7,97	155	0,01	47	53	19	fenil-pirrol
				49	58	41	fenil-fenil
27	8,01	155	0,01	41	50	19	fenil-fenil
				47	53	54	fenil-pirrol
28	8,05	154	0,07	41	50	47	fenil-fenil
				47	54	15	fenil-fenil/pirrol
29	8,11	153	0,01	48	55	45	fenil-fenil
				49	59	19	fenil-pirrol
30	8,12	153	0,004	47	54	11	fenil-fenil/pirrol
				48	55	20	fenil-fenil
				49	58	29	fenil-fenil

## A.7 Contribuição (em porcentagem) dos pirróis, da imina e do ouro nos principais orbitais para o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$

Orbital	Ocupação (n° elétrons)	Ouro ( <i>d</i> )	Pirrol (%)	Imina (%)
55	2	53,3	39,4	2,0
56	2	23,8	56,5	4,1
57	2	33,3	5,3	2,1
58	2	7,4	49,7	29,4
59	2	10,5	14,3	44,7
60	2	31,7	24,3	36
61	2	8,6	37,1	39,5
62	2	2,2	89,1	5,2
63	2	8,4	90,9	0,6
64 (HOMO)	2	6	64,5	25,7
65 (HOMO)	2	1,2	65,2	28,5
66 (LUMO)	0	24,1	33,9	36,4
67	0	5,7	33,6	41,7
68	0	2,5	32,5	56,4
69	0	0,2	7,9	8,3
70	0	14,6	1,8	4,5
71	0	8,8	10,6	2,8

## A.8 Transições eletrônicas calculadas para o $[\text{Au}(\text{pyren})]^+$

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
1	2,68	463	0,003	64	66	50	pirrol-pirrol/imina
				65	66	43	
2	2,69	461	0,004	64	66	50	pirrol-pirrol/imina
				65	66	43	
3	3,37	368	0,004	63	66	89	pirrol-pirrol/imina
4	3,39	366	0,07	64	67	83	pirrol-imina

Estado	Excitação		Força do oscilador	Transição		Contribuição (%)	Atribuição
	eV	nm		Inicial	Final		
5	3,46	358	0,04	65	67	86	pirrol-imina
6	3,76	330	0	62	63	94	pirrol-pirrol
7	3,89	319	0,04	63	67	53	pirrol-imina
				64	68	41	pirrol-imina
8	4,06	305	0,08	62	67	18	pirrol-imina
				65	68	75	pirrol-imina
9	4,19	296	0,19	63	67	39	pirrol-imina
				64	68	55	pirrol-imina
10	4,51	275	0,18	62	67	51	pirrol-imina
				63	68	22	pirrol-imina
				65	68	17	pirrol-imina
11	4,64	267	0,01	62	67	23	pirrol-imina
				65	68	74	pirrol-imina
12	4,96	250	0,04	62	68	96	pirrol-imina
13	5,57	223	0,01	60	66	78	ouro( <i>d</i> )/imina-pirrol/imina
14	5,60	221	0,01	57	66	68	ouro( <i>d<sub>z2</sub></i> )-pirrol/imina
				59	66	20	imina-pirrol/imina
15	5,74	216	0,03	57	66	15	ouro( <i>d<sub>z2</sub></i> )-pirrol/imina
				59	66	61	imina-pirrol/imina
16	5,83	213	0,18	61	66	62	pirrol/imina-pirrol/imina
17	6,09	203	0,02	61	67	87	pirrol/imina-imina
18	6,15	202	0	58	66	16	pirrol-pirrol/imina
				64	69	78	pirrol-pirrol/imina
19	6,21	200	0,01	65	69	87	pirrol-pirrol/imina
20	6,37	195	0,03	58	67	29	pirrol-imina
				60	67	48	ouro( <i>d</i> )/imina-imina
21	6,48	192	0	65	70	26	pirrol-ouro( <i>d</i> )
				65	71	61	pirrol-ouro( <i>d</i> )/pirrol
22	6,50	191	0	64	70	27	pirrol-ouro( <i>d</i> )
				64	71	67	pirrol-ouro( <i>d</i> )/pirrol
23	6,56	189	0,03	58	66	25	pirrol-pirrol/imina
				58	67	22	pirrol-imina
				60	67	32	ouro( <i>d</i> )/imina-imina
24	6,58	188	0,02	57	67	19	ouro( <i>d<sub>z2</sub></i> )-imina
				59	67	59	imina-imina
25	6,61	188	0,004	61	68	93	pirrol/imina-imina
26	6,65	186	0,09	58	67	11	pirrol-imina
				65	70	51	pirrol-ouro( <i>d</i> )
				65	71	27	pirrol-ouro( <i>d</i> )/pirrol

Estado	Excitação	Força do oscilador	Transição	Contribuição (%)	Atribuição
27	6,69 185	0,002	55 66	11	ouro( $d_{x^2-y^2}$ )-pirrol/imina
			57 67	35	ouro( $d_{z^2}$ )-imina
			59 67	22	imina-imina
28	6,70 185	0,01	64 70	57	pirrol-ouro( $d$ )
			64 71	28	pirrol-ouro( $d$ )/pirrol
29	6,73 184	0,02	55 66	39	ouro( $d_{x^2-y^2}$ )-pirrol/imina
			56 66	15	pirrol-pirrol/imina
			57 67	17	ouro( $d_{z^2}$ )-imina
30	6,74 184	0,35	58 66	23	pirrol-pirrol/imina
			58 67	26	pirrol-imina