



**Felipe de Souza Dias dos Santos Vilhena**

**COMPLEXOS METÁLICOS DE 2-PIRIDINOFORMAMIDA  
TIOSEMICARBAZONAS: ESTUDOS EM SOLUÇÃO,  
NO ESTADO SÓLIDO E ATIVIDADE CITOTÓXICA**

**Dissertação de Mestrado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da PUC-Rio como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Letícia R. S. Teixeira

Rio de Janeiro  
Fevereiro de 2008



**Felipe de Souza Dias dos Santos Vilhena**

**COMPLEXOS METÁLICOS DE 2-PIRIDINOFORMAMIDA  
TIOSEMICARBAZONAS: ESTUDOS EM SOLUÇÃO,  
NO ESTADO SÓLIDO E ATIVIDADE CITOTÓXICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da PUC-Rio como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

**Letícia Regina de Souza Teixeira**

Orientadora

Departamento de Química – PUC-Rio

**Judith Felcmam**

Departamento de Química – PUC-Rio

**Roberta L. Ziolli**

Departamento de Química – PUC-Rio

**Jussara Lopes de Miranda**

Instituto de Química - UFRJ

**José Eugenio Leal**

Coordenador Setorial de Pós-Graduação  
do Centro Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 21 de fevereiro de 2008.

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e da orientadora.

## **Felipe de Souza Dias dos Santos Vilhena**

Graduou-se em Química na UFF (Universidade Federal Fluminense) em 2005. Trabalhou em estação de tratamento e fez iniciação científica em modelagem molecular. Iniciou o mestrado em 2006 e publicou trabalho em revista indexada.

### Ficha Catalográfica

Vilhena, Felipe de Souza Dias dos Santos

Complexos metálicos de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas: estudos em solução, no estado sólido e atividade citotóxica / Felipe de Souza Dias dos Santos Vilhena; orientadora: Letícia Regina de Souza Teixeira. – 2008.

82 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Química) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas. 3. Complexos de ferro. 4. Complexos de cobre. 5. Constantes de estabilidade. 6. Citotoxicidade. 7. Artemia salina. I. Teixeira, Letícia Regina de Souza. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título.

CDD: 540

Dedico ao meu falecido pai João.

## **Agradecimentos**

Especialmente à Profa. Letícia Regina de Souza Teixeira por seu profissionalismo e competência em todas as etapas de realização do presente trabalho.

À Profa. Judith Felcman por ceder sua experiência e seu laboratório para realização de parte significativa deste trabalho.

Ao CNPq e à PUC-Rio, pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

À minha mãe Berta e ao meu irmão Fernando.

## Resumo

Vilhena, Felipe de Souza Dias dos Santos; Teixeira, Letícia R. **Complexos metálicos de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas: estudos em solução, no estado sólido e atividade citotóxica.** Rio de Janeiro, 2008, 82p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Tiossemicarbazonas e seus complexos metálicos apresentam um amplo espectro de atividades biológicas. As tiossemicarbazonas  $\alpha(N)$ -heterocíclicas tem sido muito estudadas em razão de sua comprovada ação antitumoral. O mecanismo de ação antitumoral dessas drogas se dá pela inibição da enzima ribonucleotídeo difosfato redutase (RDR), que catalisa o ciclo de reações redox envolvido na conversão de ribonucleotídeos a desoxirribonucleotídeos durante a síntese do ADN. A forma ativa dessas drogas é o complexo de ferro. Desse modo, a obtenção de novos complexos de Fe de tiossemicarbazonas  $\alpha(N)$ -heterocíclicas constitui uma importante estratégia para a obtenção de candidatos a antitumorais. Nesse trabalho investimos no estudo, em solução aquosa, da interação entre 2-piridinoformamida tiossemicarbazona (H2Am4DH) e seus derivados N(4)-metil (H2Am4M), N(4)-etil (H2Am4E) e N(4)-fenil (H2Am4Ph) e os íons Cu(II) e Fe(III). Esse estudo foi monitorado por espectroscopia de absorção na região do UV-vis. Para o cálculo das constantes de formação dos complexos foram levados em consideração os valores das constantes cumulativas calculadas inicialmente para as tiossemicarbazonas livres ( $\beta_{HL}$  e  $\beta_{H_2L^+}$ ). Quatro novos complexos de Fe(III) foram isolados e caracterizados:  $[\text{Fe}(\text{2Am4DH})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Fe}(\text{2Am4Me})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Fe}(\text{2Am4Et})_2]\text{Cl}$  e  $[\text{Fe}(\text{2Am4Ph})\text{Cl}_3]$ . Os valores de susceptibilidade magnética para os complexos estão na faixa de 1,36-1,66 MB. Esses valores são próximos do calculado (1,73 MB) para complexos de Fe(III), octaédricos, spin baixo. Os dados de infravermelho indicam que as tiossemicarbazonas estão coordenadas ao ferro através do sistema quelante  $\text{N}_{\text{py}}\text{-N-S}$ . O comportamento eletroquímico dos complexos é bastante similar, sugerindo que suas estruturas em solução são igualmente similares. A toxicidade das tiossemicarbazonas e de seus complexos de ferro frente à *Artemia salina* foi estudada como um pré-screening para sua ação antitumoral. Os valores de  $\text{LD}_{50}$  obtidos indicam que esses compostos têm

atividade citotóxica, sugerindo que poderiam igualmente apresentar ação antitumoral. Além disso, os potenciais de redução  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$  observados para os complexos estão dentro da faixa ideal dos redutores celulares. Assim, se confirmada a atividade antitumoral o mecanismo de ação poderia envolver a redução  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$  por tiois celulares, como sugerido para outros complexos de ferro de tiossemicarbazonas.

### **Palavras-chave**

2-piridinoformamida tiossemicarbazonas, complexos de ferro, complexos de cobre, constantes de estabilidade, citotoxicidade, *Artemia salina*.

## Abstract

Vilhena, Felipe de Souza Dias dos Santos; Teixeira, Letícia R. **Metal complexes of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones: solution studies, solid state studies and cytotoxic activity.** Rio de Janeiro, 2008, 82p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Thiosemicarbazones and their metal complexes present a wide range of bioactivities. It has been shown that the antitumoral action of  $\alpha(N)$ -heterocyclic thiosemicarbazones occurs through the inhibition of ribonucleotide diphosphate reductase (RDR), a key enzyme involved in the conversion of ribonucleotides into deoxyribonucleotides during DNA syntheses. The active form of the drugs are their iron complexes. Hence the preparation of new iron complexes with  $\alpha(N)$ -heterocyclic thiosemicarbazones constitutes an interesting strategy in designing antitumoral drug candidates. In the present work the interactions of 2-pyridineformamide thiosemicarbazone (H2Am4DH) and its N(4)-methyl (H2Am4Me), N(4)-ethyl (H2Am4Et) and N(4)-phenyl (H2Am4Ph) derivatives with Cu(II) as well as Fe(III) ions in aqueous solution were studied, monitored in the visible region by the variations of the absorption spectrum. The cumulative protonation constants  $\beta_{HL}$  and  $\beta_{H_2L^+}$  were determined for the ligands by a potentiometric method and were used in the calculation of the complex formation constants. The iron(III) complexes  $[\text{Fe}(\text{2Am4DH})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Fe}(\text{2Am4Me})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Fe}(\text{2Am4Et})_2]\text{Cl}$  and  $[\text{Fe}(\text{2Am4Ph})_2]\text{Cl}_3$  were obtained and characterized. The values of magnetic moments in the 1.59–1.66 BM range are close to the calculated value of 1.73 BM, characteristic of the presence of one unpaired electron as in low spin iron(III) complexes. The infrared data for the complexes indicate coordination of the thiosemicarbazones through the  $\text{N}_{\text{py}}\text{--N--S}$  chelating system. The resemblance of electrochemical behaviors suggests that the structures of the complexes in solution are also very similar. The toxicity of the thiosemicarbazones and their metal complexes against *Artemia salina* was assayed as a prescreening of antitumoral action. The low values of  $\text{LD}_{50}$  obtained for the studied compounds in this assay indicate that they could present antineoplastic properties. Moreover, the determined values of  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$  redox potentials for the



complexes fall in the range of cellular reductants. Therefore, if the complexes present antitumoral activity, their biochemical pathway could involve  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$  reduction by cellular thiols, as suggested previously for iron complexes of other thiosemicarbazones.

**Keywords:**

2-Pyridineformamide thiosemicarbazones; iron complexes; copper complexes; stability constants, cytotoxic activity; *Artemia salina*

## Sumário

1. Introdução	14
2. Parte experimental	22
2.1 Materiais e Métodos	22
2.2 Sínteses	24
2.3 Estudos Potenciométricos	26
2.4 Testes de toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	27
3. Interação entre 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas e os íons Cu(II) e Fe(III) em solução aquosa	29
3.1 Determinação das constantes de protonação de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas	29
3.2 Cálculo das constantes de formação de complexos de Cu(II) de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas	34
3.3 Cálculo das constantes de formação de complexos de Fe(III) de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas	39
4. Novos complexos de Fe(III) de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas	45
4.1 Microanálises, condutividade e susceptibilidade magnética	45
4.2 Espectroscopia na região do infravermelho	46
4.3 Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)	47
4.4 Eletroquímica	51
4.5 Espectroscopia Mossbauer	55
5. Avaliação do potencial citotóxico de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas e de seus complexos de Fe(III) utilizando <i>Artemia salina</i>	59
6. Conclusão	65
7. Referências bibliográficas	68
Anexos	72

## Índice de Figuras

Figura 1.1	Equação genérica de obtenção das tiossemicarbazonas ( $R, R_1, R_2, R_3 = H$ , grupos arila ou grupos alquila).....	14
Figura 1.2	Estrutura genérica das tiossemicarbazonas $\alpha(N)$ -heterocíclicas ( $R, R_1, R_2 = H$ , grupos arila ou grupos alquila) .....	15
Figura 1.3	Estrutura de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas ( $H_2Am_4R, R = H, Me, Et, Ph$ ).....	15
Figura 1.4	Estrutura da 3-aminopiridina-2-carboxaldeído thiossemicarbazona (Triapina®). ....	16
Figura 1.5	(a) Estrutura da enzima Ribonucleotídeo Difosfato Redutase (RDR); (b) Ciclo de reações redox envolvidas na conversão de ribonucleotídeos em desoxi-ribonucleotídeos, catalisada pela RDR.....	17
Figura 1.6	Estrutura do complexo de Fe(III) de 2-formilpiridina tiossemicarbazona.....	18
Figura 1.7	Equilíbrio tautomérico das tiossemicarbazonas. ....	19
Figura 1.8	Complexo de Co(III) de mostarda alifática (pró-fármaco) .....	20
Figura 1.9	Biorredução de complexos de Co(III) .....	20
Figura 2.1	Equação de obtenção de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas .....	24
Figura 2.2	Equação de obtenção de complexos de Fe(III) de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas ( $R = H, Me$ ou $Et$ ) .....	25
Figura 3.1	Equilíbrio tautomérico das 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas ( $R = H, Me, Et$ ou $Ph$ ) .....	29
Figura 3.2	Equilíbrios envolvidos na formação das espécies $HL$ e $H_2L^+$ ( $R = H, Me, Et$ ou $Ph$ ).....	30
Figura 3.3	Equilíbrios envolvidos na desprotonação das 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas ( $R = H, Me, Et$ ou $Ph$ ) .....	30
Figura 3.4	Curvas de titulação potenciométrica teórica e experimental para (a) $H_2Am_4DH$ , (b) $H_2Am_4Me$ , (c) $H_2Am_4Et$ e (d) $H_2Am_4Ph$ .....	31
Figura 3.5	Diagramas de distribuição de espécies em função do pH: (a) $H_2Am_4DH$ , (b) $H_2Am_4Me$ , (c) $H_2Am_4Et$ e (d) $H_2Am_4Ph$ .....	33
Figura 3.6	Curvas de titulação potenciométrica teórica e experimental para os sistemas Cu:tiossemicarbazonas na proporção 1:1: (a) Cu: $H_2Am_4DH$ , (b) Cu: $H_2Am_4Me$ , (c) Cu: $H_2Am_4Et$ e (d) Cu: $H_2Am_4Ph$ .....	35
Figura 3.7	Diagramas de distribuição de espécies em função do pH: (a) Cu: $H_2Am_4DH$ , (b) Cu: $H_2Am_4Me$ , (c) Cu: $H_2Am_4Et$ e (d) Cu: $H_2Am_4Ph$ .....	37
Figura 3.8	Espectros de absorção na região do visível para os complexos: (a) $Cu_2Am_4DH^+$ , (b) $Cu_2Am_4Me^+$ , (c) $Cu_2Am_4Et^+$ ( $[Cu^{2+}] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , $[H_2Am_4R] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 1% DMSO, $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , $25^\circ\text{C}$ ).....	38
Figura 3.9	Curvas de titulação potenciométrica teórica e experimental para os sistemas Fe:tiossemicarbazonas na proporção metal ligante 1:2: (a) Fe: $H_2Am_4DH$ , (b) Fe: $H_2Am_4Me$ , (c) Fe: $H_2Am_4Et$ e (d) Fe: $H_2Am_4Ph$ .....	40
Figura 3.10	Diagramas de distribuição de espécies em função do pH para: (a) Fe: $H_2Am_4DH$ , (b) Fe: $H_2Am_4Me$ , (c) Fe: $H_2Am_4Et$ e (d) Fe: $H_2Am_4Ph$ .....	42

Figura 3.11	Espectro de absorção na região do visível para os complexos: (a) $\text{Fe}(\text{2Am4DH})_2^+$ , (b) $\text{Fe}(\text{2Am4Me})_2^+$ , (c) $\text{Fe}(\text{2Am4Et})_2^+$ . ( $[\text{Fe}^{2+}] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , $[\text{H2Am4R}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ 1% DMSO, $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , $25^\circ\text{C}$ ).....	43
Figura 4.1	Estruturas propostas para os complexos de Fe(III) de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas; (a) Complexos <b>(1)-(3)</b> (R = H, Me ou Et); (b) Complexo <b>(4)</b> .....	45
Figura 4.2	Espectro de RPE dos complexos <b>(1)-(3)</b> em solução congelada de metanol a 77 K .....	48
Figura 4.3	Espectro de RPE dos complexos <b>(1)-(3)</b> no estado sólido a 77 K .....	49
Figura 4.4	Voltamogramas cíclicos dos complexos: (a) $[\text{Fe}(\text{2Am4DH})_2]\text{Cl}$ <b>(1)</b> , (b) $[\text{Fe}(\text{2Am4Me})_2]\text{Cl}$ <b>(2)</b> , (c) $[\text{Fe}(\text{2Am4Et})_2]\text{Cl}$ <b>(3)</b> e (d) $[\text{Fe}(\text{HAm4Ph})\text{Cl}_3]$ <b>(4)</b> ( $0,100 \text{ V s}^{-1}$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ ) .....	52
Figura 4.5	Voltamogramas de pulso diferencial para: (a) $[\text{Fe}(\text{2Am4DH})_2]\text{Cl}$ <b>(1)</b> , (b) $[\text{Fe}(\text{2Am4Me})_2]\text{Cl}$ <b>(2)</b> , (c) $[\text{Fe}(\text{2Am4Et})_2]\text{Cl}$ <b>(3)</b> e (d) $[\text{Fe}(\text{HAm4Ph})\text{Cl}_3]$ <b>(4)</b> .....	53
Figura 4.6	Voltamograma cíclico e de pulso diferencial de N(4)-fenil 2-piridinoformamida tiossemicarbazona ( $\text{H2Am4Ph}$ ) ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , $0,1\text{M}$ PTBA).....	54
Figura 4.7	Representação esquemática do mecanismo de redução dos ligantes .....	54
Figura 4.8	Espectros Mossbauer para os complexos <b>(1)-(4)</b> .....	57

## Índice de Tabelas

Tabela 2.1	Cor e temperaturas de fusão (°C) de H2Am4DH, H2Am4Me, H2Am4Et e H2Am4Ph .....	25
Tabela 2.2	Cor e temperaturas de fusão (°C) para os complexos de Fe(III) de 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas.....	26
Tabela 3.1	Logaritmo das constantes de protonação das espécies HL e H <sub>2</sub> L <sup>+</sup> presentes no equilíbrio envolvendo H2Am4DH, H2Am4Me, H2Am4Et e H2Am4Ph, a 25 °C .....	31
Tabela 3.2	Valores de pKa calculados para H2Am4DH, H2Am4Me, H2Am4Et e H2Am4Ph, a 25 °C .....	32
Tabela 3.3	Logaritmo das constantes de formação das espécies CuL <sup>+</sup> e CuL(OH) presentes no equilíbrio envolvendo o íon Cu(II) e as 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas .....	35
Tabela 3.4	Logaritmos das constantes de formação das espécies presentes no equilíbrio envolvendo o íon Fe(III) e as 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas .....	41
Tabela 4.1	Resultados de análise elementar, condutividade ( $\Lambda$ , $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) e susceptibilidade magnética ( $\mu_{\text{eff}}$ ) para os complexos (1)-(4) .....	46
Tabela 4.2	Principais bandas do espectro de infravermelho para os complexos (1)-(4) e seus respectivos ligantes .....	46
Tabela 4.3	Parâmetros do espectro de RPE para os complexos (1)-(3) (77K), obtidos através do software EasySpin ( $\Delta B_{1/2}$ : largura a meia altura) .....	50
Tabela 4.4	Dados de voltametria cíclica (V) para os complexos (1)-(4).....	52
Tabela 4.5	Potenciais redox (V) para as 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas .....	54
Tabela 4.6	Dados dos espectros Mossbauer para os complexos (1)-(4).....	57
Tabela 5.1	Resultados de toxicidade para a 2-piridinoformamida tiossemicarbazona (H2Am4DH) .....	59
Tabela 5.2	Resultados de toxicidade para a 2-piridinoformamida tiossemicarbazona (H2Am4Me).....	60
Tabela 5.3	Resultados de toxicidade para a 2-piridinoformamida tiossemicarbazona (H2Am4Et) .....	60
Tabela 5.4	Resultados de toxicidade para [Fe(2Am4DH) <sub>2</sub> ]Cl (1).....	61
Tabela 5.5	Resultados de toxicidade para [Fe(2Am4Me) <sub>2</sub> ]Cl (2).....	61
Tabela 5.6	Resultados de toxicidade para [Fe(2Am4Et) <sub>2</sub> ]Cl (3) .....	61
Tabela 5.7	Valores de DL <sub>50</sub> ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ); limites de confiança e covariância para as 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas e seus complexos de Fe(III).....	63
Tabela 5.8	DL <sub>50</sub> (valor médio) para as 2-piridinoformamida tiossemicarbazonas e seus complexos de Fe(III) .....	64