

## 4

### Estudo de complexos de Mn(II) e Co(II) de nitro-tiossemicarbazonas: toxicidade frente a *Artemia sp.*

A reação de cloreto de manganês(II) e cloreto de cobalto(II) com as N(4)-metil tiossemicarbazonas derivadas de 4-nitrobenzaldeído (H4NO<sub>2</sub>Fo4M), 4-nitroacetofenona (H4NO<sub>2</sub>Ac4M) e 4-nitrobenzofenona (H4NO<sub>2</sub>Bz4M) levou à obtenção de seis complexos inéditos. Os produtos obtidos foram caracterizados por análise elementar, medidas de condutividade, susceptibilidade magnética, espectroscopias na região do infravermelho, espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) e análise termogravimétrica. Foram feitos ainda estudos eletroquímicos e de luminescência para os ligantes e os novos complexos. A toxicidade de ligantes e complexos frente a *Artemia sp* foi testada como um pré-screening para a atividade antitumoral. Abaixo são descritos os resultados.

#### 4.1. Dados de microanálises, condutividade e susceptibilidade magnética

A Tabela 8 apresenta cor, análise elementar, condutividade e susceptibilidade magnética dos complexos de Mn(II). Os dados sugerem a formação de complexos neutros do tipo [Mn(H4NO<sub>2</sub>Fo4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**1**), [Mn(H4NO<sub>2</sub>Ac4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**2**), [Mn(H4NO<sub>2</sub>Bz4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (**3**), nos quais H4NO<sub>2</sub>Fo4M, H4NO<sub>2</sub>Ac4M, H4NO<sub>2</sub>Bz4M, representam as tiossemicarbazonas neutras, protonadas em N3, e coordenadas ao manganês de modo bidentado através do sistema quelante N2-S (ver Figura 26).

Os valores de susceptibilidade magnética para os complexos (**1**)-(**3**) estão na faixa de 1,86-1,97 MB. Esses valores são próximos do calculado (1,73 MB) para complexos de Mn(II), octaédricos, baixo spin.

Tabela 8. Cor, análise elementar (valores calculados entre parênteses), condutividade ( $\Lambda$ ,  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) e susceptibilidade magnética ( $\mu_{\text{eff}}$ , MB) para os complexos **(1)**-**(3)**

Complexos	Cor	%C	%H	%N	$\Lambda_{\text{M}}^*$	$\mu_{\text{eff}}$
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Fo4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>(1)</b>	Laranja	35,7 (35,9)	3,3 (3,4)	18,5 (18,6)	1,70	1,89
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Ac4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>(2)</b>	Amarela	38,1 (38,1)	3,8 (3,8)	17,7 (17,8)	3,41	1,86
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Bz4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>(3)</b>	Laranja	46,7 (47,8)	3,5 (3,7)	14,6 (14,9)	2,76	1,97

\*Condutividade ( $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>) em acetona

A Tabela 9 apresenta cor, análise elementar, condutividade e susceptibilidade magnética dos complexos de Co(II). Novamente os dados sugerem a formação de complexos do tipo [Co(H4NO<sub>2</sub>Fo4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] **(4)**, [Co(H4NO<sub>2</sub>Ac4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] **(5)**, [Co(H4NO<sub>2</sub>Bz4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] **(6)**, nos quais dois ligantes neutros coordenam-se ao íon metálico de forma bidentada através do sistema quelante N2-S. Os valores mais elevados de condutividade em DMF, sugerem que um dos cloretos pode estar sendo substituído por uma molécula do solvente na esfera de coordenação do cobalto.

Os valores de susceptibilidade magnética para os complexos **(4)**-**(6)** estão na faixa de 1,79-1,87 MB. Esses valores são próximos do calculado (1,73 MB) para complexos de Co(II), octaédricos, baixo spin.

Tabela 9. Cor, análise elementar (valores calculados entre parênteses), condutividade ( $\Lambda$ ,  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) e susceptibilidade magnética ( $\mu_{\text{eff}}$ , MB) para os complexos **(4)**-**(6)**

Complexos	Cor	%C	%H	%N	$\Lambda_{\text{M}}^*$	$\mu_{\text{eff}}$
[Co(H4NO <sub>2</sub> Fo4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>(4)</b>	Verde	35,4 (35,7)	3,5 (3,3)	18,1(18,5)	40,5	1,79
[Co(H4NO <sub>2</sub> Ac4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>(5)</b>	Azul	37,9 (37,9)	4,5 (3,8)	17,9 (17,7)	40,6	1,87
[Co(H4NO <sub>2</sub> Bz4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] <b>(6)</b>	Marrom	47,7 (47,5)	3,5 (3,7)	14,6 (14,8)	24,9	1,80

\*Condutividade ( $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>) em DMF

A Figura 26 mostra a estrutura que foi sugerida para os complexos de Mn(II) e Co(II).

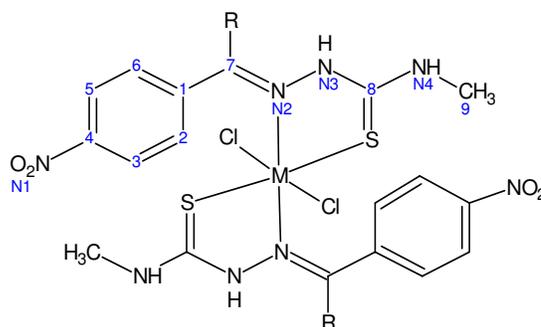


Figura 26. Estrutura proposta para os complexos de Mn(II) e Co(II) de N(4)-metil tiossemicarbazonas derivadas de 4-nitrobenzaldeído (R = H), 4-nitroacetofenona (R = CH<sub>3</sub>) e 4-nitrobenzofenona (R = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>).

## 4.2. Espectroscopia na região do infravermelho

As bandas dos espectros do infravermelho mais úteis na determinação do modo de coordenação das tiossemicarbazonas ao centro metálico são mostradas na Tabela 10 para os ligantes livres e para os complexos de Mn(II) e Co(II).

Tabela 10. Principais números de ondas (cm<sup>-1</sup>) e atribuições de bandas na região do infravermelho dos complexos de Mn(II) e Co(II) das N(4)-metil tiossemicarbazonas derivadas de 4-nitrobenzaldeído, 4-nitroacetofenona e 4-nitrobenzofenona (KBr)

	$\nu(\text{NH})$	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu_{\text{ass}}\text{NO}_2$	$\nu_{\text{s}}\text{NO}_2$	$\nu(\text{C}=\text{S})$
H4NO <sub>2</sub> Fo4M	3369 m 3147 m	1590 m	1515 F	1336 F	824 m
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Fo4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (1)	3368 m 3149 m	1515 m	1515 m	1335 m	834 m
[Co(H4NO <sub>2</sub> Fo4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (4)	3353 m 3175 m	1572 F	1509 m	1340 F	850 m
H4NO <sub>2</sub> Ac4M	3360 m 3203 m	1590 m	1509 F	1339 F	828 m
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Ac4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (2)	3358 m 3202 m	1547 m	1507 F	1339 m	847 m
[Co(H4NO <sub>2</sub> Ac4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (5)	3360 f 3252 m	1577 F	1513 F	1340 F	855 m
H4NO <sub>2</sub> Bz4M	3358 m 3198 m	1583 m	1511 F	1340 F	832 m
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Bz4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (3)	3360 m 3201 m	1545 m	1513 F	1338 F	825 f
[Co(H4NO <sub>2</sub> Bz4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (6)	3401 F 3401 F	1580 m	1514 m	1342 f	850 f

Legenda: F: forte; m: média; f: fraca.

Nos espectros de infravermelho de H4NO<sub>2</sub>Fo4M, H4NO<sub>2</sub>Ac4M e H4NO<sub>2</sub>Bz4M observam-se duas bandas, uma entre 3358 e 3369 cm<sup>-1</sup> e outra entre 3203-3147 cm<sup>-1</sup>. A primeira banda fina e intensa é atribuída ao estiramento  $\nu(\text{N4-H})$ , a segunda banda intensa e mal definida é atribuída ao estiramento  $\nu(\text{N3-H})$ . A banda de intensidade média ou fraca entre 1583-1590 cm<sup>-1</sup> é atribuída ao estiramento  $\nu(\text{C=N})$  do grupo azometínico nas tiossemicarbazonas. Em todos os compostos observa-se, uma banda entre 1509-1515 cm<sup>-1</sup>, correspondente ao estiramento assimétrico  $\nu\text{NO}_2$  e outra banda entre 1336-1340 cm<sup>-1</sup> atribuída ao estiramento simétrico  $\nu\text{NO}_2$ , enquanto que o estiramento  $\nu(\text{C=S})$  ocorre entre 824-832 cm<sup>-1</sup>[76, 77, 78].

Nos espectros dos complexos, a banda atribuída ao estiramento  $\nu(\text{C=N})$  desloca-se para regiões de menores energias devido à coordenação ao nitrogênio azometínico, encontrando-se entre 1515-1547 cm<sup>-1</sup> nos complexos de Mn(II) e entre 1572-1580 cm<sup>-1</sup> nos complexos de Co(II).

No espectro dos complexos de Mn(II) a banda característica da vibração  $\nu(\text{C=S})$  é observada entre 825 - 847 cm<sup>-1</sup> [77, 78], enquanto que nos complexos de Co(II) essa banda é observada entre 850 - 855 cm<sup>-1</sup>. Os deslocamentos observados em relação às tiossemicarbazonas livres, de 7 a 19 cm<sup>-1</sup> no caso dos complexos de Mn(II) e de 18 a 27 cm<sup>-1</sup> para os complexos de Co(II), são característicos de enxofre de tiona<sup>79</sup>, confirmando assim que as tiossemicarbazonas coordenam-se protonadas em N3 nesses casos.

As demais bandas  $\nu(\text{NH})$ ,  $\nu_{\text{ass}}\text{NO}_2$  e  $\nu_{\text{s}}\text{NO}_2$  não sofrem deslocamentos significativos pela complexação.

Novas bandas surgem pela coordenação na região entre 376 - 389 e 436 - 514 cm<sup>-1</sup> atribuídas às vibrações Mn-S e Mn-N, respectivamente<sup>79, 80</sup>. Na região entre 395 - 380 e 459 - 481 cm<sup>-1</sup> as bandas são atribuídas às vibrações Co-S e Co-N, respectivamente<sup>79, 81</sup>.

Podemos então propor que, em ambos os casos, as tiossemicarbazonas estão coordenadas de forma bidentada através do nitrogênio azometínico e do enxofre de tiona.

As Figura 27, Figura 28 e Figura 29 mostram, como exemplo, os espectros de absorção na região do infravermelho para o ligante H4NO<sub>2</sub>Fo4M e seus complexos de Mn(II) e Co(II).

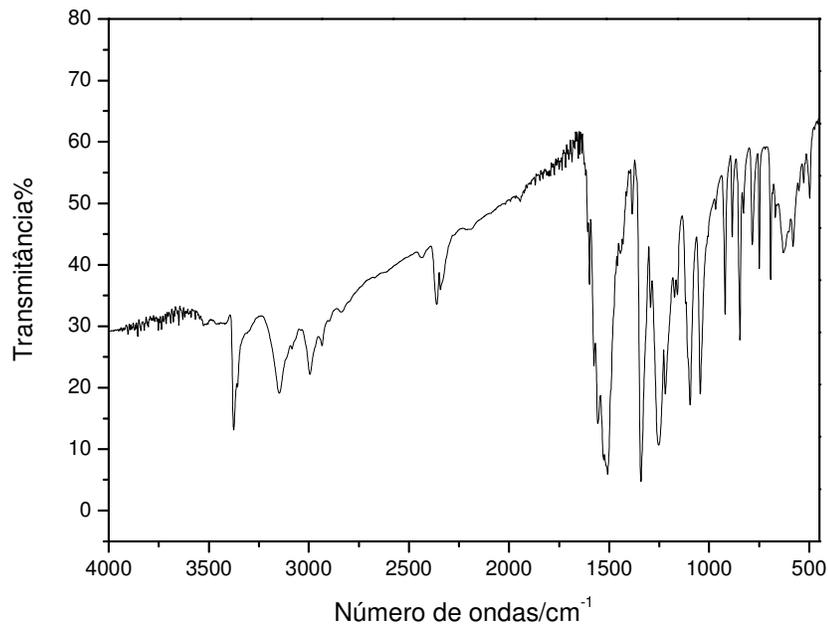


Figura 27. Espectro de absorção na região do infravermelho de H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>Fo<sub>4</sub>M (KBr).

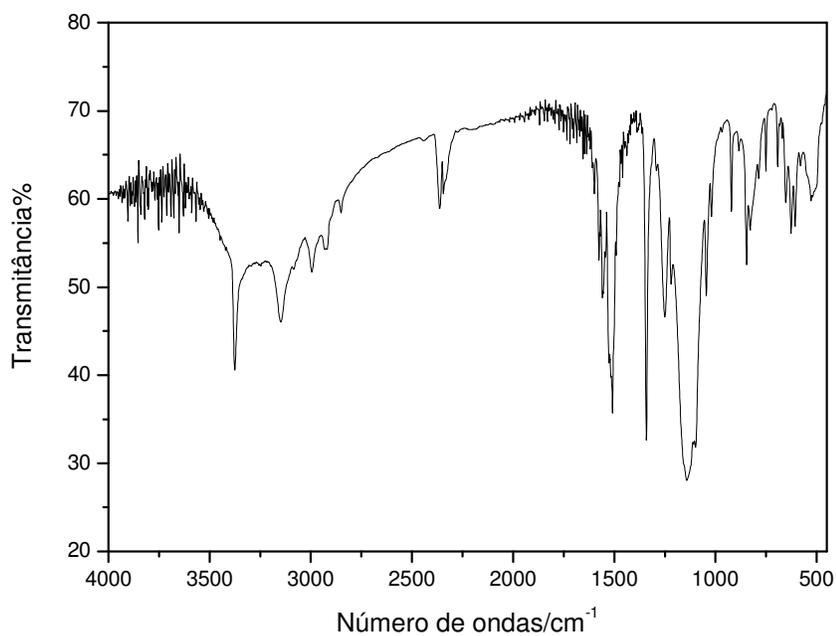


Figura 28. Espectro de absorção na região do infravermelho de [Mn(H<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>Fo<sub>4</sub>M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (KBr).

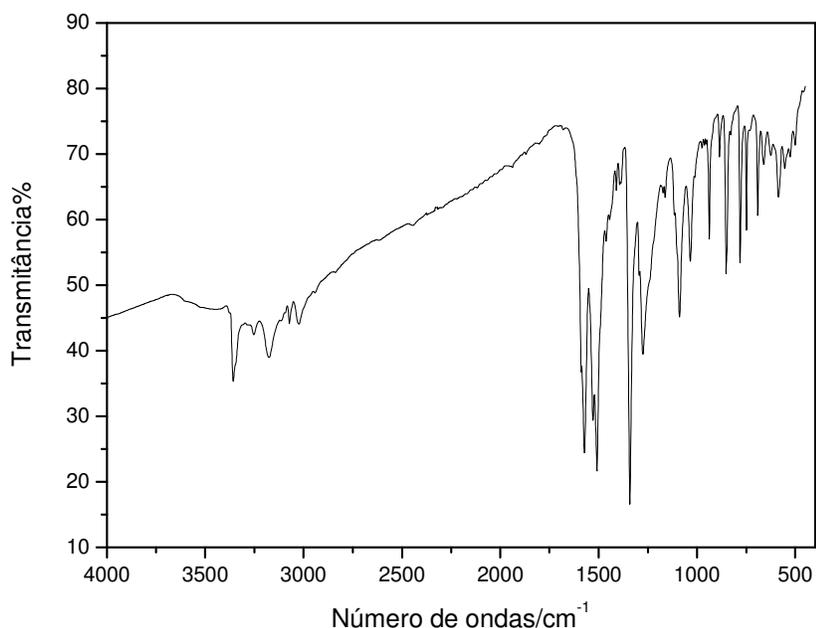


Figura 29. Espectro de absorção na região do infravermelho de  $[\text{Co}(\text{H}_4\text{NO}_2\text{Fo}_4\text{M})_2\text{Cl}_2]$  (KBr).

### 4.3. Ressonância Paramagnética Eletrônica para os complexos de Mn(II)

Foram obtidos espectros de RPE para os complexos **(1)**-**(3)** no estado sólido, à temperatura ambiente, e em solução de etanol congelada (77 K). Para os complexos de Co(II) não pudemos obter espectros satisfatórios à temperatura ambiente e utilizando nitrogênio líquido. As análises serão repetidas, futuramente, em hélio líquido.

O Mn(II) apresenta uma estrutura eletrônica  $3d^5$ . Dependendo da simetria do campo ligante, os níveis de energia são desdobrados de modo que o spin eletrônico resultante seja  $S = 5/2$  (alto spin) ou  $S = 1/2$  (baixo spin). No caso de alto spin, o spin efetivo ainda é  $1/2$ . Isso porque o campo cristalino desloca os níveis de energia com  $m_s = \pm 3/2$  e  $\pm 5/2$  para valores muito altos e, como  $\Delta m_s = \pm 1$ , apenas as transições entre os estados  $m_s = \pm 1/2$ , desdobrados pelo campo magnético, são induzidas pela radiação (micro-ondas). No entanto, o forte acoplamento spin-órbita faz com que os valores de  $g$  sejam altamente anisotrópicos e distintos do valor de  $g$  do elétron livre ( $g = 2,0023$ ). No caso de baixo spin, os valores de  $g$  são mais próximos de  $2^{82}$ .

Em átomos com spin nuclear diferente de zero, o momento magnético nuclear interage com o momento magnético eletrônico, desdobrando os níveis de energia (desdobramento hiperfino). As transições de spin eletrônico permitidas ( $\Delta m_s = \pm 1$ ) ocorrem entre os níveis com mesmo  $m_l$  ( $\Delta m_l = 0$ ). Assim, o spin nuclear desdobra cada linha de RPE em  $(2I + 1)$  linhas. O núcleo do átomo de  $^{55}\text{Mn}$  apresenta spin nuclear  $I = 5/2$ , podendo os números quânticos  $m_l$  tomar 6 valores ( $\pm 1/2, \pm 3/2, \pm 5/2$ ). Assim, cada linha de EPR do manganês é desdobrada em 6 linhas hiperfinas de igual intensidade<sup>82</sup>.

No caso dos complexos **(1)**-**(3)** no estado sólido, os espectros RPE apresentaram-se isotrópicos e muito alargados (Figura 30 a). A interação hiperfina com o núcleo de  $^{55}\text{Mn}$  não aparece resolvida. O valor de  $g = 2,009$ , muito perto do valor de  $g$  do elétron livre, é característico de Mn(II) baixo spin. As linhas muito largas sugerem forte interação dipolar magnética devido à alta concentração da espécie paramagnética. O complexo **(3)**, no entanto, apresentou uma linha muito mais alargada (50 mT) do que a dos outros dois (20 mT), o que não seria esperado, já que o ligante  $\text{H}_4\text{NO}_2\text{Bz}_4\text{M}$  é bem mais volumoso do que  $\text{H}_4\text{NO}_2\text{Fo}_4\text{M}$  e  $\text{H}_4\text{NO}_2\text{Ac}_4\text{M}$ .

Em geral, a diluição leva ao estreitamento das linhas de RPE permitindo visualizar um espectro mais resolvido, com componentes hiperfinas, e obter os valores principais de  $g$ <sup>83</sup>. Nesses complexos, no entanto, mesmo após diluição em etanol (soluções 1,0 e 0,1 mM), não ocorreu estreitamento da linha, nem à temperatura ambiente nem a 77 K (Figura 30 b), sugerindo que nesses complexos a interação dipolar magnética entre os vários íons Mn(II) não é a causa do alargamento das linhas. Conclui-se que a própria associação do Mn(II) aos ligantes provocou o alargamento das linhas, indicando campo ligante com baixa simetria.

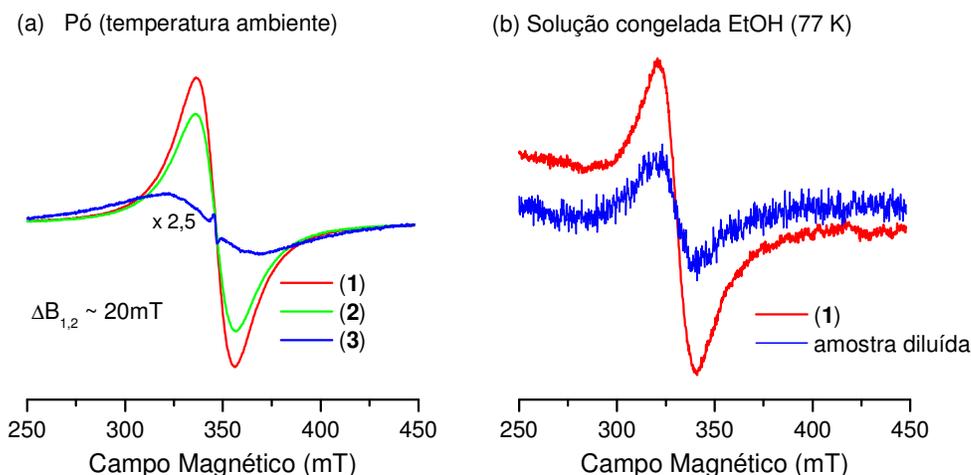


Figura 30. (a) Espectros de RPE de  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Fo4M})_2\text{Cl}_2]$  (1),  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Ac4M})_2\text{Cl}_2]$  (2) e  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Bz4M})_2\text{Cl}_2]$  (3) no estado sólido à temperatura ambiente. (b) Espectros de RPE de  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Fo4M})_2\text{Cl}_2]$  (1) em solução congelada de etanol (1 mM e 0,1 mM), a 77 K.

#### 4.4. Estudos Eletroquímicos

Os processos de oxidação e redução das tiossemicarbazonas livres e de seus complexos de Mn(II) foram estudados por voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. Não pudemos obter voltamogramas satisfatórios para os complexos de Co(II) devido à baixa solubilidade dessas espécies.

Os voltamogramas das tiossemicarbazonas livres mostram um processo quasi-reversível, em torno de -1,00 V, atribuído à formação do radical  $\text{Ar-NO}_2^{\bullet-}$ . Um segundo processo foi atribuído à formação da espécie  $\text{Ar-NHOH}$  e a oxidação irreversível em torno de 0,10 V deve-se à formação de  $\text{Ar-NO}$  (Tabela 11)<sup>82, 83, 84, 85, 86</sup>. As equações que descrevem a formação dessas espécies são mostradas abaixo:



Tabela 11. Potenciais redox (V) para as N(4)-metil tiossemicarbazonas derivadas de 4-nitrobenzaldeído, 4-nitroacetofenona e 4-nitrobenzofenona

Compostos	Ar-NO <sub>2</sub> <sup>•-</sup>		Ar-NHOH		Ar-NO
	E <sub>pc</sub>	E <sub>pa</sub>	E <sub>pc</sub>	E <sub>pa</sub>	E <sub>pa</sub>
H4NO <sub>2</sub> Fo4M	-0,93	-	-1,11	-	0,21
H4NO <sub>2</sub> Ac4M	-1,02	-0,98	-1,34	-1,09	0,17
H4NO <sub>2</sub> Bz4M	-0,90	-0,94	-1,21	-1,19	0,20

É interessante notar que a redução do grupo nitro leva a um deslocamento de densidade eletrônica com a conseqüente desprotonação da tiossemicarbazona em N3. O radical Ar-NO<sub>2</sub><sup>•-</sup> seqüestra o próton liberado formando o intermediário Ar-NHOH, que gera Ar-NO. Os valores de potenciais redox indicam uma tendência à maior estabilidade da molécula ao longo da série: H4NO<sub>2</sub>Bz4M , H4NO<sub>2</sub>Fo4M e H4NO<sub>2</sub>Ac4M.

A Figura 31 mostra, como exemplo, o voltamograma cíclico e o voltamograma de pulso diferencial de N(4)-metil 4-nitroacetofenona tiossemicarbazona (H4NO<sub>2</sub>Ac4M).

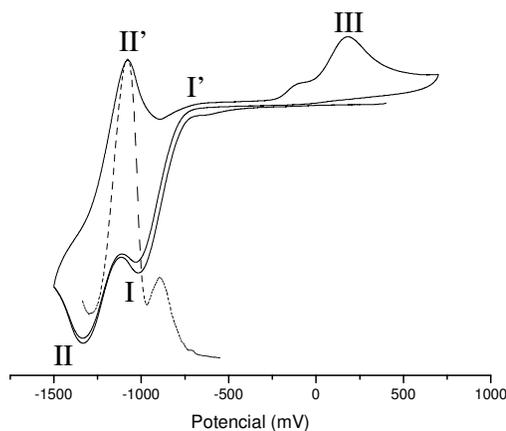


Figura 31. Voltamograma cíclico (—) e de pulso diferencial (- - -) para o ligante N(4)-metil 4-nitroacetofenona tiossemicarbazona (H4NO<sub>2</sub>Ac4M).

Nos voltamogramas cíclicos dos complexos de Mn(II) são observados todos os processos associados às tiossemicarbazonas. Para os complexos (1) e (2) observa-se um processo irreversível em torno de -0,90 V, atribuído à formação do radical Ar-NO<sub>2</sub><sup>•-</sup>. No caso do complexo (3) esse processo é quasi-reversível e a redução com a formação do radical Ar-NO<sub>2</sub><sup>•-</sup> ocorre em -0,99 V, seguida de sua sucessiva oxidação em -0,92 V. Um segundo processo quasi-reversível, atribuído à formação da espécie Ar-NHOH, ocorre entre -1,35 e -1,11 V nos voltamogramas

dos complexos, enquanto que a oxidação irreversível devido à formação da espécie Ar-NO ocorre entre 0,05 e 0,08 V (Tabela 12). Observa-se ainda, nos voltamogramas dos complexos, uma redução em -0,90, -0,89 e -0,99 V, para (1), (2) e (3), respectivamente, que pode ser atribuída à redução irreversível  $\text{Mn}^{\text{II}}/\text{Mn}^{\text{I}}$ <sup>87</sup>. As Figura 32 e Figura 33 mostram, respectivamente, os voltamogramas cíclicos e os voltamogramas de pulso diferencial para os complexos (1)-(3).

Tabela 12. Potenciais redox (V) para os complexos (1)-(3)

Compostos	Ar-NO <sub>2</sub> <sup>•-</sup>		Ar-NHOH		Ar-NO	Mn <sup>II</sup> /Mn <sup>I</sup>
	E <sub>pc</sub>	E <sub>pa</sub>	E <sub>pc</sub>	E <sub>pa</sub>	E <sub>pa</sub>	
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Fo4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (1)	-1,08	-	-1,25	-1,15	0,08	-0,90
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Ac4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (2)	-1,02	-	-1,23	-1,11	0,05	-0,89
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Bz4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (3)	-1,07	-0,92	-1,35	-1,13	0,05	-0,99

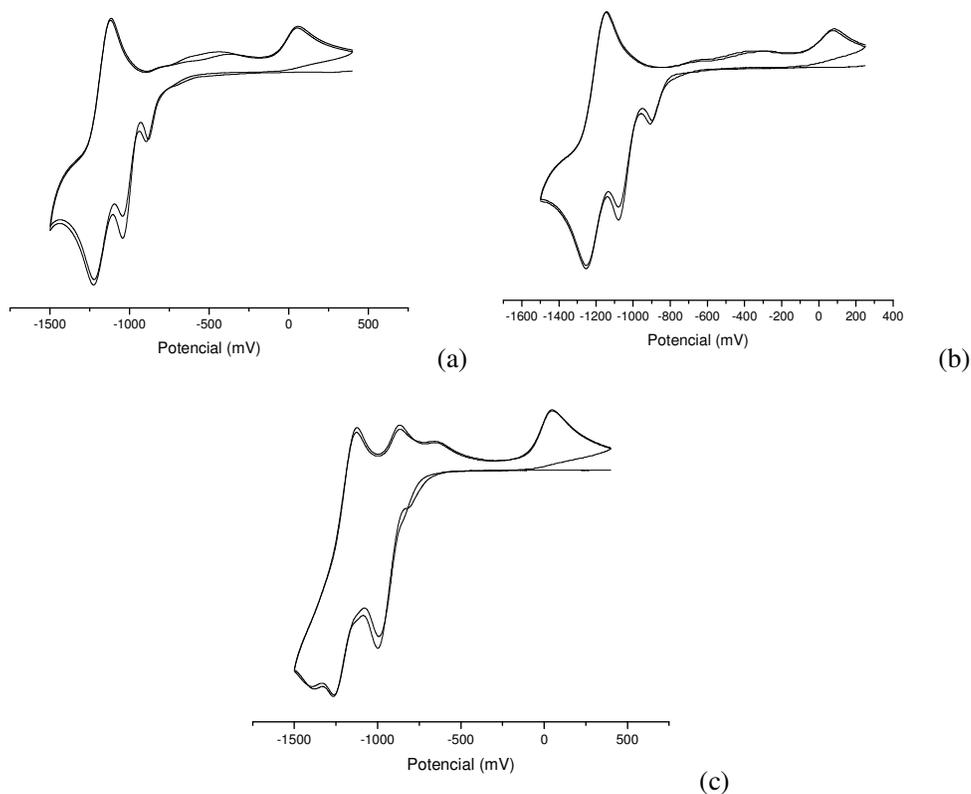


Figura 32. Voltamogramas cíclicos de: (a) [Mn(H4NO<sub>2</sub>Fo4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (1), (b) [Mn(H4NO<sub>2</sub>Ac4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (2) e (c) [Mn(H4NO<sub>2</sub>Bz4M)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (3) (0,100 V s<sup>-1</sup>, acetona, 1,0 x 10<sup>-1</sup> mol L<sup>-1</sup> PTBA).

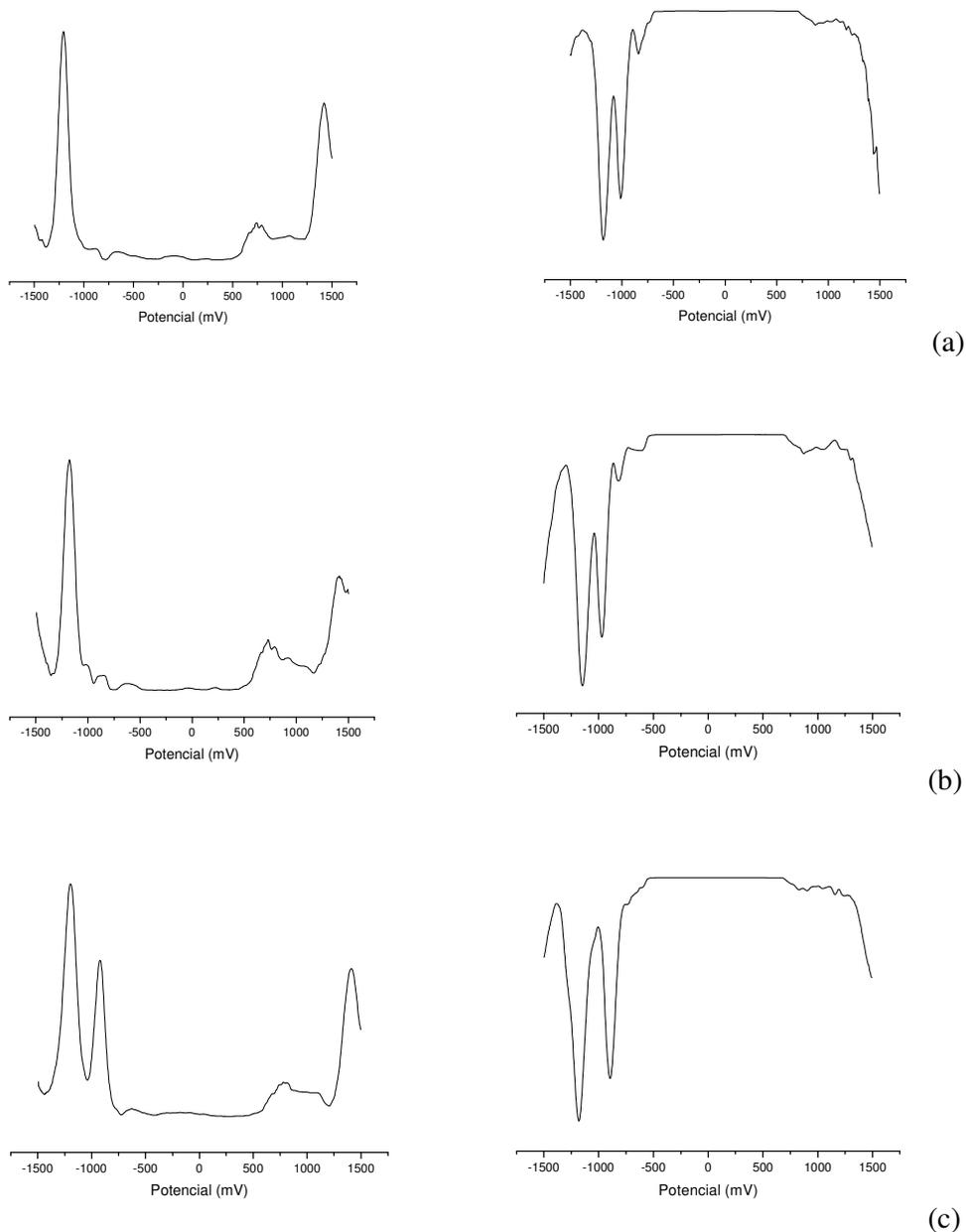


Figura 33. Voltamogramas de pulso diferencial de: (a)  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Fo4M})_2\text{Cl}_2]$  (1), (b)  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Ac4M})_2\text{Cl}_2]$  (2) e (c)  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Bz4M})_2\text{Cl}_2]$  (3).

Observa-se que a coordenação ao íon  $\text{Mn}(\text{II})$  não afetou consideravelmente o potencial de redução do grupo nitro e a formação das espécies  $\text{Ar-NHOH}$ . O radical  $\text{Ar-NO}_2^{\bullet-}$ , um dos intermediários no mecanismo de ação de drogas anti-tripanosoma, forma-se em torno de  $-1,0 \text{ V}$  nas tiossemicarbazonas livres e nos complexos de  $\text{Mn}(\text{II})$ , sugerindo potencial atividade anti-tripanosoma.

#### 4.5. Estudos de Luminescência

Foram realizados estudos de fluorescência no estado sólido e em solução e estudos de fosforescência em substrato de celulose previamente tratado com metais pesados para as N(4)-metil nitrotiossemicarbazonas e seus complexos de Mn(II) e Co(II).

No estado sólido, as N(4)-metil nitrotiossemicarbazonas (H4NO<sub>2</sub>Fo4M, H4NO<sub>2</sub>Ac4M e H4NO<sub>2</sub>Bz4M) têm espectros de fluorescência bastante semelhantes. As bandas de excitação são observadas entre 211 e 213 nm e as respectivas bandas de emissão em 372 e/ou 373 nm. A fluorescência desses compostos é proveniente do sistema aromático, no entanto, a baixa intensidade de sinal pode ser explicada pela presença do grupo nitro desativador e pela longa cadeia lateral.

Os complexos de Mn(II) e Co(II) apresentam as bandas características das tiossemicarbazonas livres. A coordenação ao metal não levou a mudanças espectrais relevantes. No caso dos complexos (1) e (4) observou-se um pequeno aumento na intensidade do sinal fluorescente pela complexação, enquanto que para os complexos (3) e (6) foi observada uma diminuição do sinal fluorescente pela complexação. Já os espectros dos complexos (2) e (5) são idênticos àquele do respectivo ligante livre.

Na Tabela 13 são resumidos os dados espectrais para as tiossemicarbazonas e seus complexos de Mn(II) e Co(II) e nas Figura 34, Figura 35 e Figura 36 são mostradas os espectros obtidos no estado sólido.

Tabela 13. Comprimentos de onda de excitação e emissão e intensidade (sinal líquido) das bandas de fluorescência para as tiossemicarbazonas e os complexos (1)-(6), no estado sólido

Composto	$\lambda_{\text{excitação}}$ (nm)	$\lambda_{\text{emissão}}$ (nm)	Intensidade
H4NO <sub>2</sub> Fo4M	211	373	102
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Fo4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (1)	211	374	147
[Co(H4NO <sub>2</sub> Fo4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (4)	212	373	124
H4NO <sub>2</sub> Ac4M	213	373	115
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Ac4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (2)	213	374	111
[Co(H4NO <sub>2</sub> Ac4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (5)	212	374	113
H4NO <sub>2</sub> Bz4M	212	372	188
[Mn(H4NO <sub>2</sub> Bz4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (3)	212	373	109
[Co(H4NO <sub>2</sub> Bz4M) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ] (6)	212	374	143

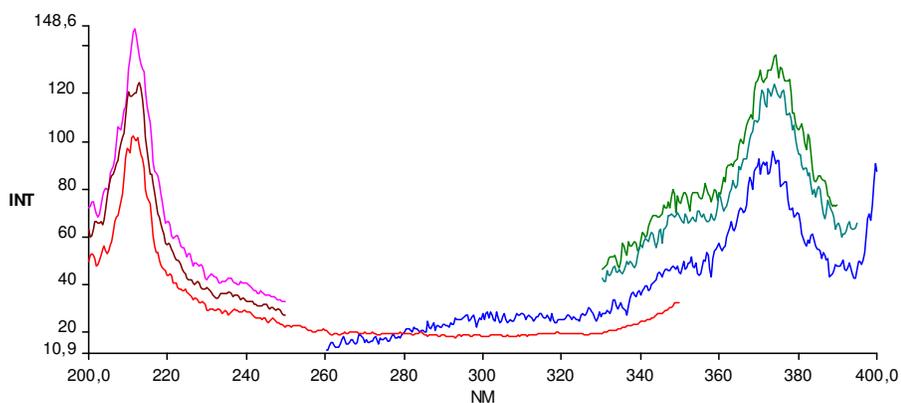


Figura 34. Espectros de emissão (em) e excitação (ex) obtidos no estado sólido para  $\text{H4NO}_2\text{Fo4M}$  (■ ex, ■ em),  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Fo4M})_2\text{Cl}_2]$  (1) (■ ex, ■ em) e  $[\text{Co}(\text{H4NO}_2\text{Fo4M})_2\text{Cl}_2]$  (4) (■ ex, ■ em).

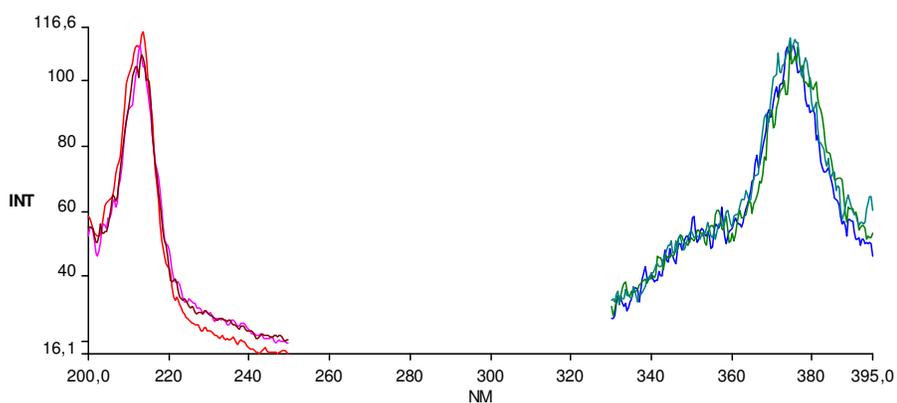


Figura 35. Espectros de emissão (em) e excitação (ex) obtidos no estado sólido para  $\text{H4NO}_2\text{Ac4M}$  (■ ex, ■ em),  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Ac4M})_2\text{Cl}_2]$  (2) (■ ex, ■ em) e  $[\text{Co}(\text{H4NO}_2\text{Ac4M})_2\text{Cl}_2]$  (5) (■ ex, ■ em).

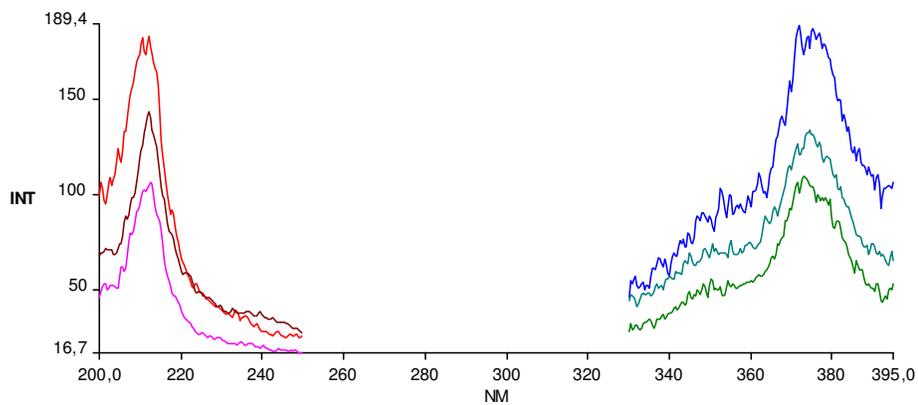


Figura 36. Espectros de emissão (em) e excitação (ex) obtidos no estado sólido para  $\text{H4NO}_2\text{Bz4M}$  (■ ex, ■ em),  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Bz4M})_2\text{Cl}_2]$  (3) (■ ex, ■ em) e  $[\text{Co}(\text{H4NO}_2\text{Bz4M})_2\text{Cl}_2]$  (6) (■ ex, ■ em).

Em solução de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  os espectros de fluorescência de  $\text{H}_4\text{NO}_2\text{Fo}_4\text{M}$ ,  $\text{H}_4\text{NO}_2\text{Ac}_4\text{M}$  e  $\text{H}_4\text{NO}_2\text{Bz}_4\text{M}$  são bastante semelhantes entre si. As bandas de excitação foram observadas entre 214-216 nm, semelhantes àquelas obtidas no estado sólido. No entanto, no caso das bandas de emissão, os valores de  $\lambda_{\text{emissão}}$  (entre 293–295 nm) foram bem abaixo do observado em estado sólido. Como as propriedades luminescentes de uma substância são muito dependentes do meio onde ela se encontra, a diferença na energia relativa do estado excitado em relação ao estado fundamental pode ser explicada por algum efeito de solvatação das espécies em solução com o solvente apolar ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Esse efeito de solvatação parece ser importante para as nitro-tiosemicarbazonas, pois como se verá mais adiante, o uso de solventes polares implicou na completa atenuação da fluorescência dos ligantes e também de seus complexos. O grupo nitro (retirador de elétrons) tem grande influência na luminescência das espécies químicas, atuando como desativador. Provavelmente, diferentes tipos de interação do grupo nitro com os solventes (polar ou apolar) estariam por trás do aparecimento/desaparecimento da banda de emissão em torno de 294 nm. A Figura 37 mostra, como exemplo, o espectro de fluorescência de  $\text{H}_4\text{NO}_2\text{Fo}_4\text{M}$  em solução de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

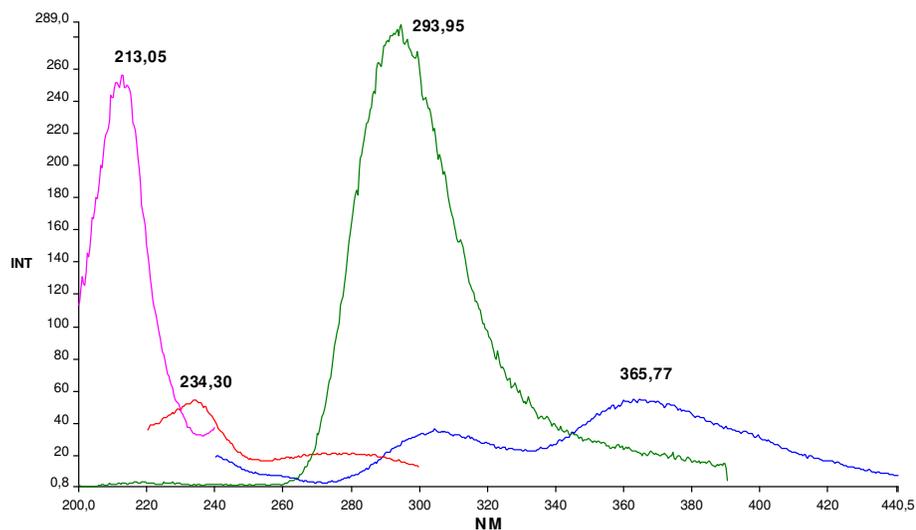


Figura 37. Espectros de excitação (■) e emissão (■) obtidos em solução de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  para  $\text{H}_4\text{NO}_2\text{Fo}_4\text{M}$ .

Os complexos (1)-(6) são insolúveis em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , portanto, não foi possível obter seus espectros de fluorescência nesse solvente. Procurou-se então obter

espectros de fluorescência de ligantes e de complexos em solução de DMF, uma vez que esse foi o único solvente encontrado capaz de dissolver ligantes e complexos. No entanto, nenhum sinal foi observado, indicando que o DMF suprimiu a fluorescência dos compostos. Esse fato pode ser explicado pela atenuação dinâmica causada pelo solvente, ou pelo aumento da polaridade do solvente ter causado uma diminuição relevante de energia do estado excitado singlete, com isso aumentando a possibilidade da desativação do estado excitado por processos não-radiativos.

A fluorescência natural das N(4)-metil nitrotiossemicarbazonas e de seus complexos de Mn(II) e Co(II) pode vir a servir para identificar e monitorar a presença dessas espécies no meio biológico.

A fosforescência das tiossemicarbazonas e dos complexos (1)-(6) foi medida em substrato de celulose na presença de Tl(I), Hg(II), Pb(II), Cd(II) e Ag(I). No entanto, nenhum sinal foi observado.

#### **4.6. Toxicidade dos complexos de Mn(II) de N(4) – metil – nitrotiossemicarbazonas frente *Artemia sp.***

O ensaio de toxicidade frente à *Artemia sp.* tem boa correlação com a atividade citotóxica em alguns tipos de tumores humanos<sup>88</sup>. Desse modo, avaliamos o potencial citotóxico dos complexos de Mn(II) de nitrotiossemicarbazonas utilizando esse ensaio.

Os ensaios envolvendo as tiossemicarbazonas livres e os complexos de Co(II) não deram resultados conclusivos devido à baixa solubilidade dessas espécies na mistura DMSO/H<sub>2</sub>O.

Os testes foram feitos em triplicata para cada concentração de cada composto. Além disso, cada droga foi testada, no mínimo, três vezes, totalizando um mínimo de nove ensaios por concentração de composto.

Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico utilizando o PROBIT<sup>89</sup>, que forneceu os valores de CL<sub>50;48h</sub> (concentração letal para 50% da população exposta à droga durante 48 horas). Quanto menor o valor de CL<sub>50;48h</sub> mais tóxico é o composto frente a um organismo-teste, e maior é sua atividade citotóxica, sugerindo maior potencial como antitumoral.

A Tabela 14 mostra, para os complexos de Mn(II) de N(4)-metil nitro-tiossemicarbazonas, a média dos valores de  $CL_{50;48h}$ , o desvio padrão e a covariância (%).

Tabela 14. Média das triplicatas para cada ensaio ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), média dos valores de  $CL_{50;48h} \pm$  desvio padrão e covariância para os complexos  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Fo4M})_2\text{Cl}_2]$  (1),  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Ac4M})_2\text{Cl}_2]$  (2) e  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Bz4M})_2\text{Cl}_2]$  (3)

		(1)	(2)	(3)
<b><math>CL_{50;48h}</math></b> <b>(<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	Ensaio 1	73,18	44,98	24,71
	Ensaio 2	80,14	29,60	19,72
	Ensaio 3	82,15	30,42	24,75
	Ensaio 4	-	40,53	-
<b>Média <math>CL_{50;48h} \pm</math> DP</b> <b>(<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>		78,49 $\pm$ 4,69	36,38 $\pm$ 7,45	23,06 $\pm$ 3,89
<b>CV (%)</b>		8,03	22,12	4,78

Observa-se que, em geral, não houve grandes variações nos valores de  $CL_{50;48h}$  entre as replicatas de um mesmo composto. Os coeficientes de variação das replicatas foram 8,03; 22,12 e 4,78 para os complexos (1), (2) e (3), respectivamente. Sabe-se pela literatura que os resultados dos testes de toxicidade variam consideravelmente. Em trabalho desenvolvido com *Lytechinus variegatus*<sup>90</sup> foi encontrado um coeficiente de variação de 40,3% entre testes de toxicidade realizados com embriões. Outros autores relatam índices de variação em torno de 30%. Portanto, os índices de variação obtidos nesse trabalho são considerados aceitáveis, indicando que a metodologia utilizada forneceu dados que podem ser considerados reprodutíveis.

Os complexos (1) - (3) apresentaram toxicidade aguda significativa, em baixas concentrações, frente a *Artemia salina*, quando comparados ao Lapachol que é a droga de referência ( $CL_{50;48h} = 281 \mu\text{mol L}^{-1}$ )<sup>88, 91</sup>.  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Bz4M})_2\text{Cl}_2]$  (3) possui o menor valor de  $CL_{50;48h}$ , sugerindo que esse composto é mais tóxico frente aos organismos-teste na concentração testada, o que sugere maior atividade citotóxica e maior potencial como antitumoral. Embora o complexo  $[\text{Mn}(\text{H4NO}_2\text{Fo4M})_2\text{Cl}_2]$  (1) tenha apresentado um valor um pouco mais alto de  $CL_{50;48h}$  (78,49  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) ele ainda apresenta toxicidade significativa se comparado à droga de referência.

Como mencionado anteriormente, o ensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* tem boa correlação com a atividade citotóxica em alguns tipos de tumores

humanos<sup>88</sup>. Logo, os baixos valores de  $CL_{50;48h}$  obtidos para os complexos estudados nesse ensaio sugerem que eles poderiam apresentar propriedades antineoplásicas.

Desse modo, concluímos que as N(4)-metil tiossemicarbazonas derivadas de 4-nitrobenzaldeído (H4NO<sub>2</sub>Fo4M), 4-nitroacetofenona (H4NO<sub>2</sub>Ac4M) e 4-nitrobenzofenona (H4NO<sub>2</sub>Bz4M) reagem com os íons Mn(II) e Co(II) formando complexos octaédricos do tipo  $[MCl_2(L)_2]$  (M = Mn(II) ou Co(II) e L = H4NO<sub>2</sub>Fo4M, H4NO<sub>2</sub>Ac4M ou H4NO<sub>2</sub>Bz4M). Em todos os casos, as tiossemicarbazonas coordenam-se de forma neutra através do sistema quelante bidentado N2-S. Espectros de RPE obtidos para os complexos de Mn(II) apresentaram-se isotrópicos e muito alargados. O valor de  $g = 2,009$ , muito perto do valor de  $g$  do elétron livre, é característico de Mn(II) baixo spin. A fluorescência natural observada para H4NO<sub>2</sub>Fo4M, H4NO<sub>2</sub>Ac4M e H4NO<sub>2</sub>Bz4M e seus complexos de Mn(II) e Co(II) pode vir a servir para identificar e monitorar a presença dessas espécies no meio biológico. Os baixos valores de  $CL_{50;48h}$  (23,06-78,49  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) obtidos para os complexos de Mn(II) sugerem que eles poderiam apresentar propriedades antineoplásicas.

Estudos eletroquímicos mostram que a coordenação ao íon Mn(II) não afetou consideravelmente o potencial de redução do grupo nitro e a formação das espécies Ar-NHOH. O radical  $\text{Ar-NO}_2^{\bullet-}$  forma-se em torno de -1,0 V nas tiossemicarbazonas livres e nos complexos de Mn(II), sugerindo potencial atividade anti-tripanosossoma.

Testes de atividade anti-tripanosossoma das tiossemicarbazonas livres e dos complexos de Mn(II) e Co(II) estão sendo realizados na FIOCRUZ, em colaboração com a **Dra. Maria de Nazaré Soeiro**.

Parte dos resultados desse trabalho foi submetida para apresentação na 32<sup>a</sup> *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, que acontecerá em Fortaleza em Maio de 2009 (ver resumo em ANEXO).