

3

Resultados e Discussão

Caracterização dos ligantes

Os ligantes descritos neste trabalho foram caracterizados por espectroscopia vibracional, ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ^1H), difração de raios X e análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN), sendo que os resultados para esta última análise já foram apresentados junto aos procedimentos experimentais referentes às sínteses de cada ligante.

3.1. Espectroscopia vibracional

Os espectros na região média do infravermelho para os ligantes **H₂L1** e **HL2**, são mostrados nas Figuras 23 e 24, respectivamente. As principais bandas de cada espectro são listadas após as respectivas figuras. Já os espectros de infravermelho afastado se encontram na seção “Anexos”, na página 150 e 151.

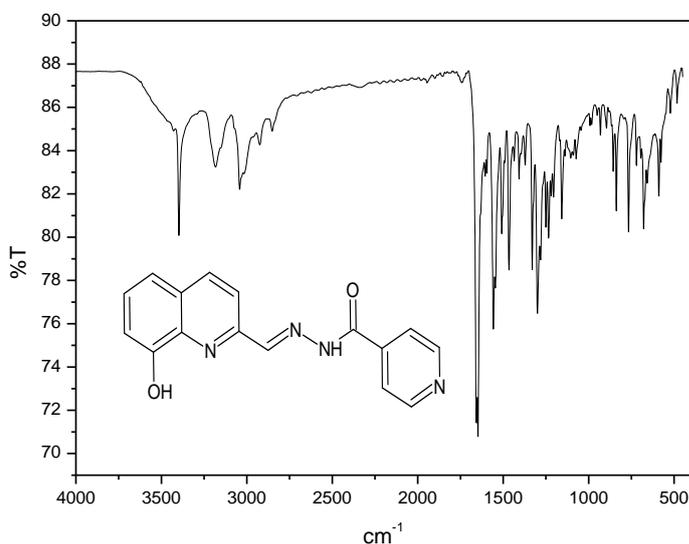


Figura 23: Espectro vibracional do ligante **H₂L1** (em pastilha de KBr).

Absorções: 3396 (m), 3183 (f), 3042 (f), 2923 (mf), 2850 (mf), 1656 (F), 1647 (MF), 1604 (f), 1556 (m), 1507 (m), 1465 (m), 1407 (f), 1371 (f), 1330 (m), 1299 (F), 1232 (m), 1210 (f), 1156 (m), 1105 (f), 1072 (f), 992 (mf), 931 (f), 895 (f), 837 (m), 766 (m), 720 (m), 677 (m), 587 (m), 482 (f).

MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca.

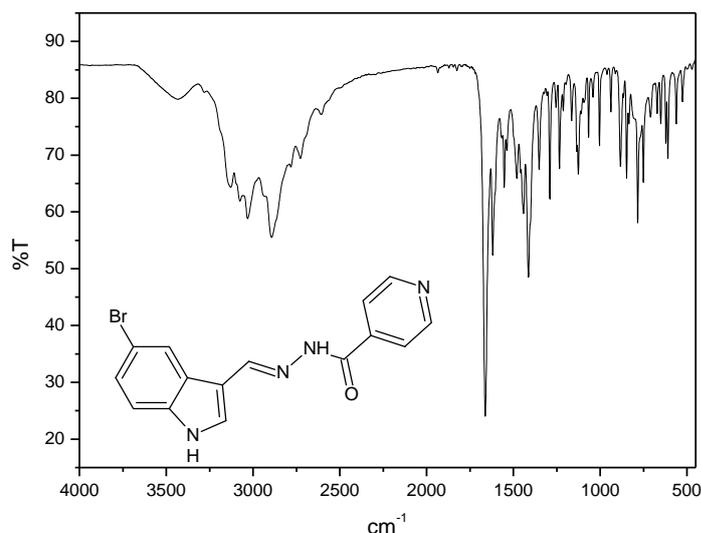


Figura 24: Espectro vibracional do ligante **HL2** (em pastilha de KBr).

Absorções: 3129 (m), 3076 (m), 3030 (m), 2893 (m), 1662 (MF), 1618 (m), 1552(f), 1507 (m), 1481 (m), 1442 (f), 1413 (m), 1290 (m), 1234 (f), 1232 (m), 1210 (f), 1126 (f), 1004 (f), 960 (mf), 931 (f), 883 (mf), 847 (f), 784 (f), 621 (mf), 525 (mf).

MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca.

Os grupos OH e NH são muito característicos e suas vibrações de estiramento são observadas, em muitos casos, por volta de $3500 - 3300 \text{ cm}^{-1}$.⁵³ Essas absorções, no entanto, são altamente influenciadas pelo ambiente químico, principalmente quando esses grupos estão envolvidos em ligação de H, possibilitando o abaixamento da frequência de absorção deles. Isto pode ocorrer dentro da mesma molécula (ligação de hidrogênio intramolecular) ou com moléculas vizinhas (ligação de hidrogênio intermolecular).⁵⁴ No espectro de infravermelho do ligante **H₂L1** foi observada uma banda fina de média intensidade em 3396 cm^{-1} , atribuída ao estiramento da ligação OH do grupo fenol. O ligante **HL2**, por sua vez, não possui hidroxilas fenólicas em sua estrutura. Já no caso da absorção $\nu(\text{NH})$, bandas alargadas foram observadas nos espectros de ambos os ligantes indicando a participação desse grupo em ligações de H intermoleculares, tanto para **H₂L1** quanto para **HL2**. A estes modos vibracionais foram atribuídos, respectivamente, os números de onda 3183 e 3129 cm^{-1} .

A vibração de estiramento referente ao grupo C-OH foi atribuída para o ligante **H₂L1** em 1232 cm⁻¹. Outra vibração importante relacionada ao grupo fenol é aquela devida a sua deformação angular, que aparece tipicamente na região 1440 - 1260 cm⁻¹.⁵³ Este modo foi atribuído a uma banda de fraca intensidade em 1371 cm⁻¹.

A absorção de estiramento do grupo carbonílico, $\nu(\text{C}=\text{O})$, geralmente é uma das mais representativas em um espectro de infravermelho e sua forte intensidade é bastante característica⁵⁵, uma vez que, geralmente, grupos funcionais que apresentam momento dipolo significativos possuem absorções intensas no IV.⁵⁶ Essa banda aparece em uma região relativamente livre de outras vibrações (1800-1600 cm⁻¹).⁵⁷ Para os ligantes estudados, como esperado, $\nu(\text{C}=\text{O})$ origina uma das bandas mais fortes do espectro de infravermelho, aparecendo em 1656 cm⁻¹ para **H₂L1** e em 1662 cm⁻¹ para **HL2**.

Os estiramentos C=N do grupo azometina mostram absorções próximas ao do estiramento do grupo carbonílico, de modo que uma atribuição exata pode ser difícil.⁵³ Por exemplo, as bandas de estiramento C=N de bases de Schiff alquiladas são encontradas geralmente na faixa de 1674 - 1649 cm⁻¹, dentro da região comum de absorção para $\nu(\text{C}=\text{O})$.^{58,59,60} As absorções para esse estiramento foram atribuídas para os ligantes, respectivamente, em 1647 e 1618 cm⁻¹.

3.2. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de ¹H)

A Tabela 1 apresenta os deslocamentos químicos e as atribuições efetuadas para ambos os ligantes e as Figuras 25 e 26 destacam os ligantes com seus átomos enumerados. Os espectros de RMN de ¹H se encontram na seção "Anexos", nas páginas 152 e 153.

Tabela 1: Deslocamentos químicos ^1H (200 MHz) para os ligantes **H₂L1** e **HL2**, obtidos em DMSO-d₆.

Atribuição	δ_{H} H₂L1	δ_{H} HL2
N-H(hidrazona)	9,91 (s, 1H)	11,82 (s, 1H)
O-H	12,45 (s, 1H)	-
NH(indol)	-	11,75 (s, 1H)
H-C=N	8,65 (s, 1H)	8,60 (s, 1H)
2,6 -CH	8,81 (d; 2H; 3J 6 Hz)	
18,20 -CH		8,77 (d; 2H; 3J 6 Hz)
3,5 -CH	7,86 (d; 2H; 3J 4 Hz)	
17,21 -CH		7,82 (d; 2H; 3J 6 Hz)
Aromático	7,14 (d; 1H; 3J 6 Hz); 7,44 (m; 2H); 7,36 (m; 3H); 8,37 (d; 1 H; 3J 8 Hz); 8,12 (d; 1 H; 3J 8 Hz); 8,45 (s; 1H)	

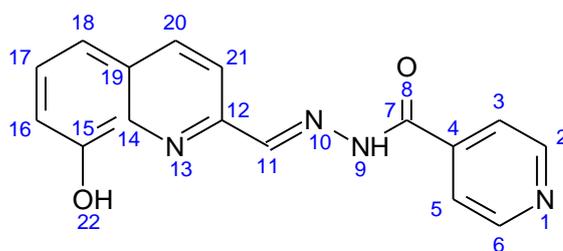


Figura 25: Estrutura de **H₂L1** com átomos enumerados.

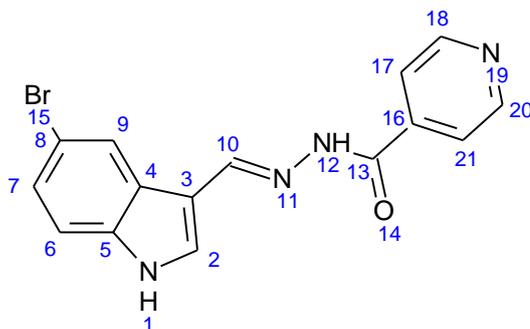


Figura 26: Estrutura de **HL2** com átomos enumerados.

Um sinal de grande relevância é aquele referente ao hidrogênio da azometina, que confirma a obtenção dos ligantes. Os deslocamentos químicos referentes a esse hidrogênio aparecem em 8,65 e 8,60 ppm para **H₂L1** e **HL2**, respectivamente.⁶¹ Deslocamentos nessa região indicam que, em DMSO, os ligantes adotam a conformação (*E*) como a mais estável. Caso a conformação fosse do tipo (*Z*), a absorção deveria ocorrer em torno de 8,32 ppm, devido ao aumento da densidade eletrônica na ligação HC=N.^{62,63} Outra absorção comum a ambos os ligantes é aquela referente ao hidrogênio hidrazônico, bem desblindado, atribuída para os ligantes **H₂L1** e **HL2**, em 9,91 ppm e 11,82 ppm, respectivamente. Para **H₂L1**, a absorção em 12,45 ppm é referente ao hidrogênio fenólico. Essa intensa desblindagem pode ser atribuída à formação de ligações de H intramoleculares, sendo observado o mesmo comportamento em outros ligantes estruturalmente similares.⁶²⁻⁶⁴ Além disso, os estudos potenciométricos realizados neste trabalho indicam que o próton fenólico é mais ácido quando comparado ao do grupo hidrazônico, ou seja, o fato de esses prótons serem mais ácidos implica que estejam mais desblindados. Para o ligante **HL2**, a absorção referente ao hidrogênio do grupo NH (indol) aparece em 11,75 ppm.²⁹ Absorções bem definidas referentes ao anel piridínico são observadas para **H₂L1** e **HL2**, aparecendo como um duplo duplete em 8,81 ppm e 7,86 ppm para o primeiro e em 8,77 ppm e 7,82 ppm para o segundo. Multipletos são observados em ambos os espectros. Para **H₂L1**, aparece entre 7,48 e 7,40 ppm, e para **HL2** aparece entre 7,47 e 7,26 ppm, estando associados à porção aromática das moléculas.

3.3. Análise Cristalográfica

Como mencionado na seção experimental da tese, foram obtidos monocristais adequados à difração de raios X para os dois ligantes sintetizados, sendo ambas as estruturas inéditas. Para **H₂L1**, os monocristais foram obtidos da própria solução-mãe e, para **HL2**, a partir de recristalização em solução de DMF/MeOH 1:1 ou ainda DMF/MeCN, na mesma proporção.

Alguns dados cristalográficos obtidos da coleta e refinamento das estruturas para **H₂L1** e **HL2** são mostrados na Tabela 2. As Tabelas 3 e 4 destacam ângulos e distâncias de ligação de interesse, que foram aqueles relacionados aos sítios de coordenação dos respectivos ligantes. Por outro lado, as Figuras 27 e 28 mostram, respectivamente, as estruturas dos ligantes de **H₂L1** e **HL2**.

Tabela 2: Dados cristalinos e de refinamento estrutural para **H₂L1** e **HL2**.

Ligante	H₂L1	HL2
Fórmula Empírica	C ₁₆ H ₁₂ N ₄ O ₂	C ₁₅ H ₁₁ BrN ₄ O
Massa Molar	292,30	343,19
Temperatura de Coleta	293(2)K	173(2)K
Sistema cristalino	Ortorrômbico	Monoclínico
Grupo espacial	<i>Pbca</i>	<i>P 2₁/c</i>
	<i>a</i> = 17,0761(4) Å	<i>a</i> = 3,8565(1) Å
Célula unitária	<i>b</i> = 8,25480(10) Å	<i>b</i> = 19,2317(6) Å
	<i>c</i> = 19,3549(4) Å	<i>c</i> = 18,4624(4) Å

Tabela 2: Dados cristalinos e de refinamento estrutural para **H₂L1** e **HL2**.(continuação).

Ligante	H₂L1	HL2
Volume da célula	2728,26(9) Å ³	1367,26(6) Å ³
Z	8	4
Densidade (calculada)	1,423 Mg m ⁻³	1,667 Mg m ⁻³
Tamanho do cristal utilizado	0,484 x 0,236 x 0,171 mm ³	0,28 x 0,20 x 0,06 mm ³
Reflexões coletadas	27142	13288
Únicas	3100 [R(int) = 0,1167]	5096 [R(int) = 0,0253]
Parâmetros refinados	208	198
“Goodness-of-fit on F ² ”	1,042	1,156
Índices R finais [$I > 2\sigma(I)$]	R1=0,0517, wR2= 0,1188	R1=0,0462, wR2= 0,0959
Índices R (todos os dados)	R1=0,0968, wR2= 0,1427	R1=0,0604, wR2= 0,1000

Tabela 3: Parâmetros geométricos selecionados para o ligante **H₂L1**.

Distâncias de ligação (Å) e ângulos de ligação (°)	
O2-C6	1,2268(18)
N2-C6	1,345(2)
N2-N3	1,3862(18)
N4-C8	1,319(2)
N4-C12	1,362(2)
N3-C7	1,270(2)
O1-C13	1,358(2)
C6-N2-N3	118,44(13)
C8-N4-C12	117,83(13)
C7-N3-N2	115,54(13)
N2-C6-C5	115,04(13)
O1-C13-C12	118,65(15)

Tabela 4: Parâmetros geométricos selecionados para o ligante **HL2**.

Distâncias de ligação (Å) e ângulos de ligação (°)	
C4-N3	1,287(2)
N2-N3	1,386(2)
N2-C1	1,338(2)
C1-N1	1,241(2)
C4-N3-N2	114,07(16)
C21-C4-N3	121,08(17)
N3-N2-C1	119(2)
N2-C1-O1	120,79(17)

Observa-se que **H₂L1** cristaliza em um sistema ortorrômbico, com grupo espacial *Pbca*, enquanto que **HL2** em um sistema monoclinico e grupo espacial *P2₁/c*. As distâncias e ângulos de ligação encontrados para **H₂L1** e **HL2** não são muito diferentes daquelas observadas em compostos estruturalmente similares encontrados na literatura.⁶⁵⁻⁶⁹ Em ambos os ligantes, observa-se que o ângulo da ligação C7-N3-N2, igual a 115,54(13)° para **H₂L1**, e C4-N3-N2, 114,07(16)° para **HL2**, se afasta de modo significativo do ângulo de 120° teoricamente esperado, considerando um arranjo trigonal plano das regiões de densidade eletrônica em

torno do átomo de nitrogênio central. Esse desvio pode ser atribuído, de acordo com a Teoria da Repulsão dos Pares Eletrônicos da Camada de Valência (VSEPR), ao par eletrônico isolado do átomo de nitrogênio, que apresenta maior efeito repulsivo, provocando uma diminuição do ângulo de ligação.⁷⁰ Além disso, as Figuras 27 e 28 mostram que tanto **H₂L1** como **HL2** adotam configuração (*E*) em relação à ligação hidrazônica C7=N3 e C4=N3, respectivamente.

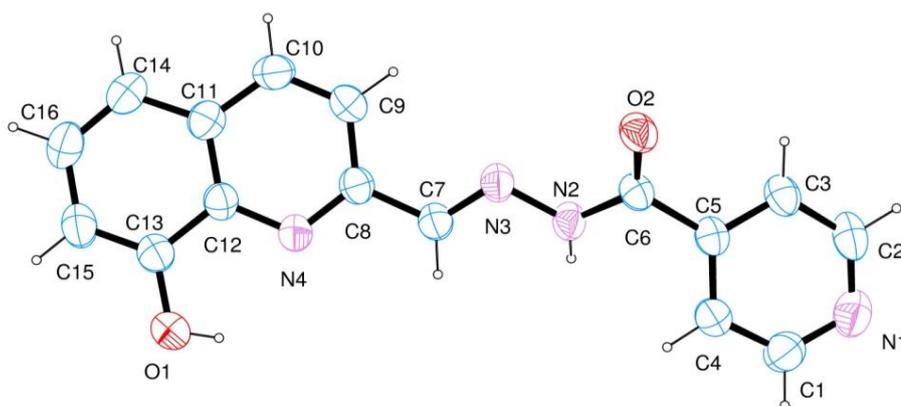


Figura 27: ORTEP para o ligante **H₂L1**.

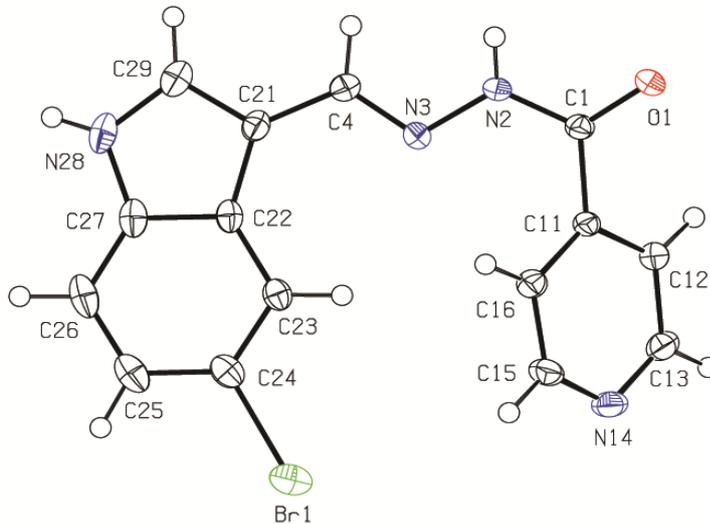


Figura 28: ORTEP para o ligante **HL2**.

Quanto às ligações de hidrogênio, **H₂L1** apresenta ligações intramoleculares envolvendo o grupo hidroxila do anel quinolínico e o nitrogênio aromático desse anel: o grupo doador O1-H interage com o grupo receptor N4 [O1...N4=2,222(1) Å] constituindo um anel de cinco membros. No que se refere ao empacotamento cristalino, ele é mantido por ligações de hidrogênio intermoleculares envolvendo o oxigênio carbonílico O2 (receptor) de uma molécula e o N2-H da molécula seguinte a uma distância de 2,087(2) Å (código de simetria (i) $-x+1/2, +y-1/2, +z$) ligando as moléculas em cadeias tipo zig-zag que correm paralelas ao eixo cristalográfico, conforme mostrado na Figura 29.

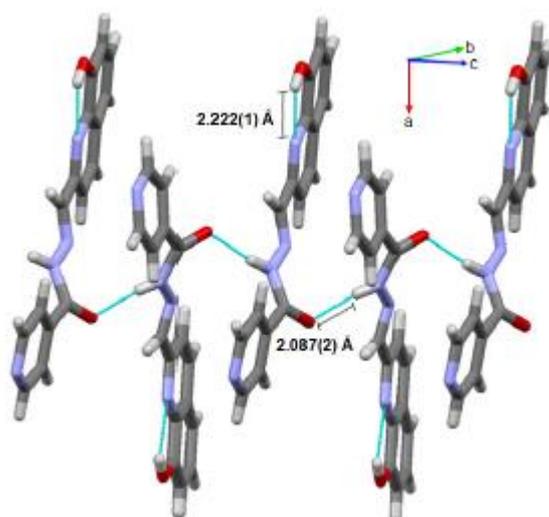


Figura 29: Rede de ligações de hidrogênio intermoleculares para **H₂L1**.

Em cada cadeia desse ligante, as moléculas são interconectadas através de interações do tipo π - π stacking, que envolvem a porção quinolínica, mostrada na Figura 30. A distância centroide-centroide calculada corresponde a 3,8303(9) Å. Já as cadeias adjacentes são interconectadas por interações do tipo O1-H12... π . Neste caso, a distância de H12 ao centróide do anel N4-C8-C9-C10-C11-C12 corresponde a 3,5339(17) Å, sendo o código de simetria $-1/2+x, y, 1/2-z$. Assim, como um resultado desta última interação, colunas do tipo zigzag correm paralelas ao eixo cristalográfico a, conforme mostrado na Figura 31.

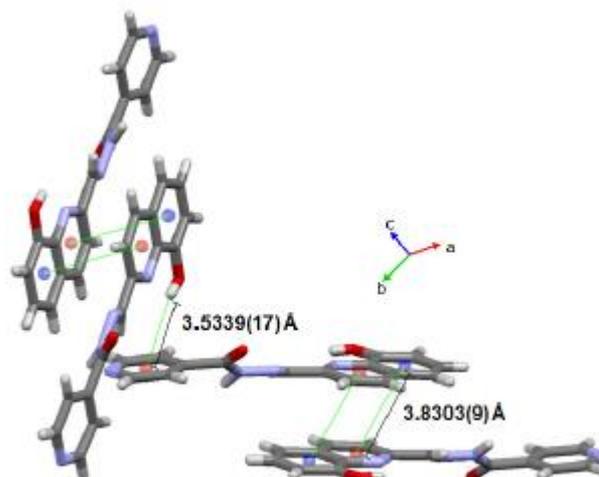


Figura 30: Interações π - π stacking e O1-H12... π stacking para **H₂L1**.

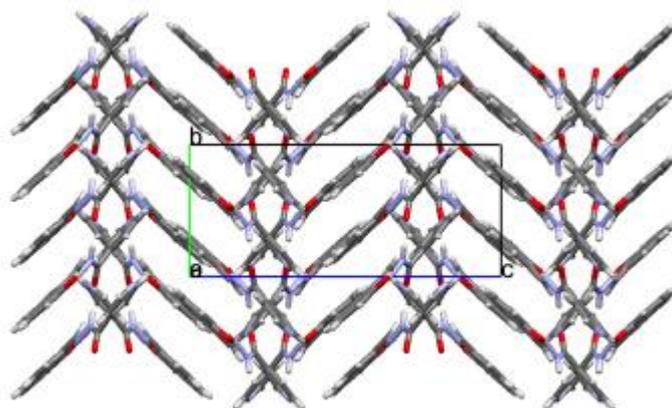


Figura 31: Empacotamento cristalino em 3D para **H₂L1** ao longo do eixo cristalográfico a.

Para **HL2**, são observadas ligações de hidrogênio intermoleculares bidimensionais envolvendo o hidrogênio hidrazônico e o oxigênio da carbonila: o grupo doador N2-H interage com o receptor O1 [O1...N2-H= 2,064 Å], constituindo uma anel de oito membros, com uma interação mais intensa quando comparada a **H₂L1**, como mostrado na Figura 32.

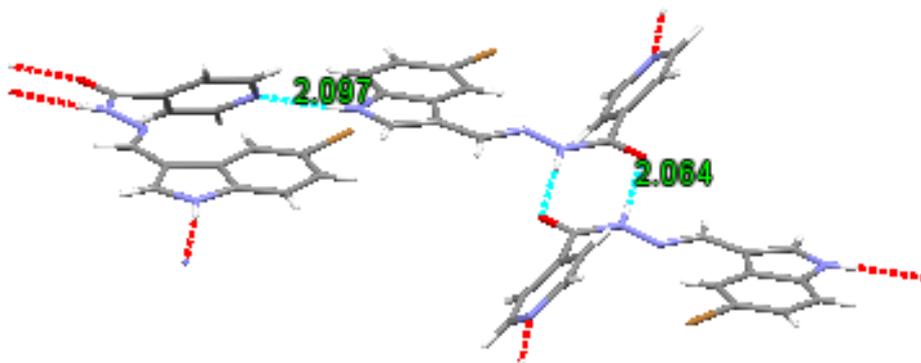


Figura 32: Rede de ligações de hidrogênio intermoleculares para **HL2**.

O empacotamento cristalino para esse ligante é mantido por ligações de hidrogênio intermoleculares envolvendo o nitrogênio piridínico N14 (acceptor) de uma molécula e o N28-H da molécula seguinte a uma distância de 2,097 Å (código de simetria (i) $-x+1, y-1/2, -z+1/2$). Observa-se que, de modo similar a **H₂L1**, as moléculas são interconectadas em cadeias tipo zig-zag que correm paralelas ao eixo cristalográfico.

Da mesma maneira que para **H₂L1**, as moléculas de **HL2** em cada cadeia são interconectadas através de interações do tipo π - π stacking, neste caso envolvendo a porção indólica e piridínica, de acordo com o apresentado na Figura 33. As distâncias centroide-centroide calculadas foram idênticas, correspondendo a 3,857 Å.

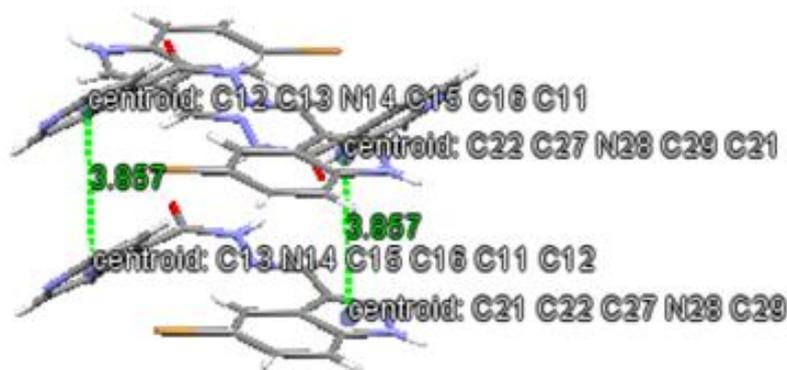


Figura 33: Interações π - π stacking para **HL2**.

Um fato interessante observado para **HL2** é a mudança conformacional em relação à ligação N2-C1, quando comparada à ligação correspondente N2-C6 do ligante **H₂L1**. A livre rotação em torno dessa ligação possibilitou uma maior acomodação à rede de ligações de hidrogênio intermoleculares, conforme observado na Figura 32. Isso contribuiu para que **HL2** mostrasse um empacotamento mais compacto que o de **H₂L1**, fato que pode ser visto pela comparação entre as densidades de cada um dos compostos: 1,423 Mg m⁻³ para **H₂L1** e 1,667 Mg m⁻³ para **HL2**.

4

Resultados e Discussão

Caracterização dos complexos

Apesar de serem os próprios ligantes os compostos potencialmente ativos para o tratamento da doença de Alzheimer, o estudo dos seus complexos de coordenação com certos biometais envolvidos nessa patologia é de fundamental importância. Isto ocorre porque a formação de complexos metálicos está no cerne da atividade dos MPACs. Sendo assim, complexos de cobre(II) e zinco(II) dos ligantes **H₂L1** e **HL2** foram preparados e caracterizados no estado sólido.

Os complexos sintetizados apresentaram baixa solubilidade em solventes como acetato de etila, acetona, acetonitrila, etanol e metanol, sendo parcialmente solúveis em DMF e DMSO. Esse fato dificultou a recristalização deles a fim de se obter monocristais adequados à difração de raios-X, uma vez que estes não foram obtidos a partir da solução-mãe. Em todas as tentativas, feitas usando-se misturas solventes DMF/acetato de etila, DMF/acetona, DMF/acetonitrila, DMF/etanol, DMF/metanol nas proporções 1:1 e 1:2 e, de modo similar, mas trocando DMF por DMSO, sempre eram obtidos compostos na forma de pó. A baixa solubilidade também impediu a realização de testes de condutividade, uma vez que não era possível a obtenção de uma solução de concentração adequada à análise. Assim, conclusões a respeito da estrutura dos compostos foram baseadas na interpretação dos espectros de infravermelho (médio e afastado) dos complexos em comparação aos respectivos ligantes e,

no caso dos complexos de cobre(II), dos seus espectros de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), no estado sólido e em solução de DMF.

4.1.

Caracterização do complexo **1** por espectroscopia vibracional

Os espectros de infravermelho médio e afastado são apresentados abaixo, nas Figuras 34 e 35. Neste último, é mostrada a comparação com o espectro afastado do ligante **H₂L1**.

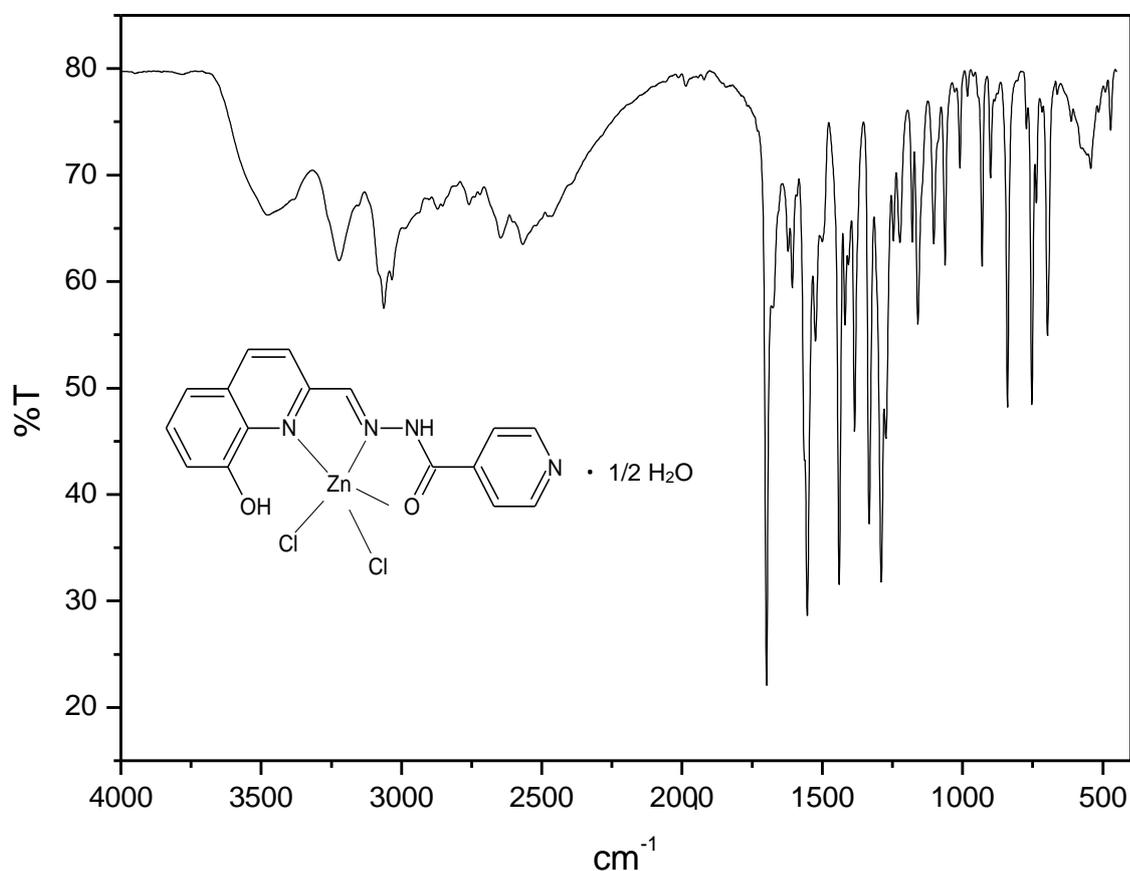


Figura 34: Espectro vibracional do complexo **1** (em pastilha de KBr).

Absorções: 3477 (m), 3222 (m), 3063 (m), 1699 (MF), 1622 (m), 1607 (m), 1554 (F), 1440 (F), 1332 (F), 1290 (F), 1247 (m), 1159 (m), 930 (m), 840 (m), 753 (m), 697 (m). MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca.

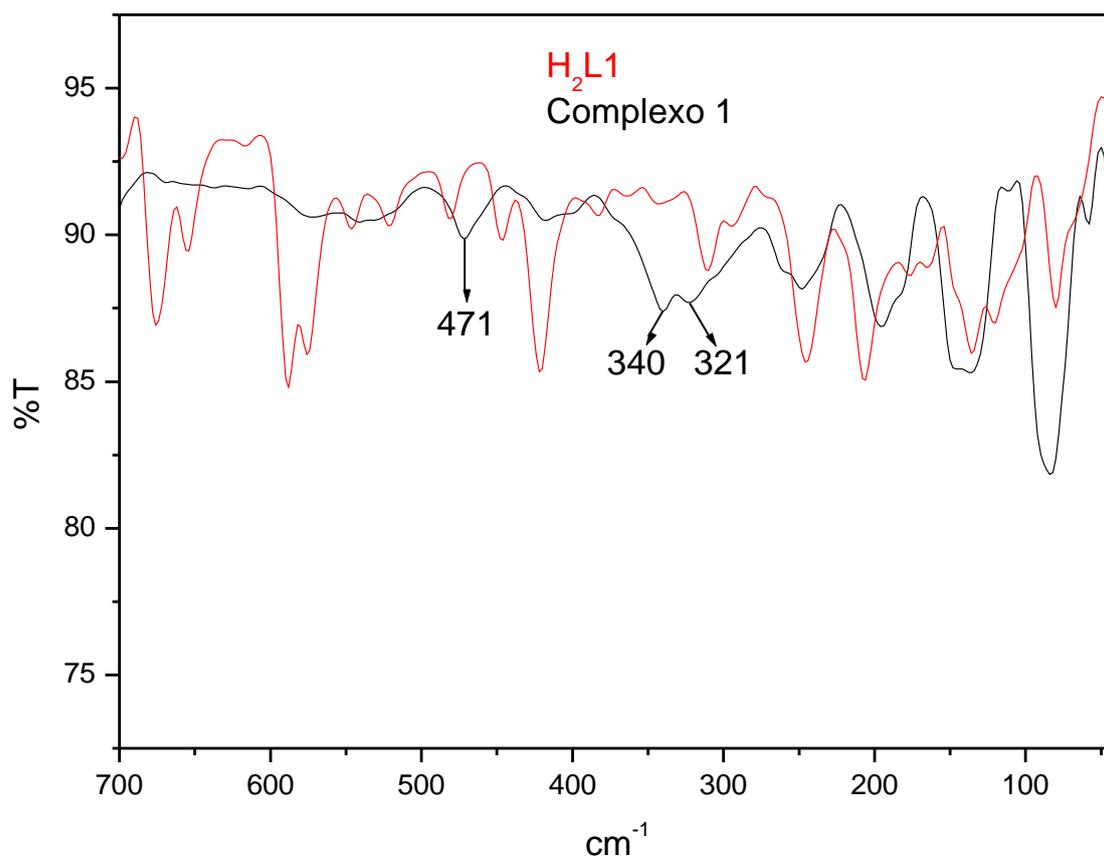


Figura 35: Espectro vibracional do complexo 1 (em pastilha de polietileno).

Absorções para o complexo: 615 (mf), 545 (mf), 471 (f), 417 (f), 340 (m), 321 (m), 248 (m), 195 (m), 136 (m), 83 (MF), 58 (f).

MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca.

Observam-se bandas bem definidas ao longo dos espectros, fato que possibilitou uma boa atribuição delas.

Uma mudança espectral bem evidente em relação ao espectro do ligante é o deslocamento significativo da banda referente ao estiramento C=O, que aparece em 1699 cm^{-1} neste complexo. Essa banda, como já mencionado na discussão da caracterização dos ligantes, aparece na região característica de estiramento do grupo carbonílico $\nu(\text{C}=\text{O})$. Para o ligante, ela é atribuída em 1656 cm^{-1} . Em geral, é comum que a participação do oxigênio carbonílico na coordenação faça essa frequência de estiramento ser deslocada para valores menores nos complexos^{71,72,73}, uma vez que a densidade eletrônica do átomo

doador (oxigênio) se desloca em direção ao íon, fato que, conseqüentemente, torna a ligação no grupo carbonílico menos rígida. No entanto, não é impossível que tal frequência possa ser aumentada, mesmo frente à coordenação do oxigênio carbonílico. G. L. Parrilha *et al*⁷⁴ apresentam um complexo do íon zinco(II) com o ligante salicilaldeído semicarbazona em que a coordenação deste íon ao grupo carbonila ocasiona o aumento da frequência de estiramento C=O. Os dados cristalográficos obtidos do complexo com a semicarbazona apontam a coordenação desse grupo.⁷⁴

O deslocamento da banda de estiramento C=N da azometina, presente no ligante em 1647 cm⁻¹, para 1622 cm⁻¹, sugere a participação do nitrogênio desse grupo na coordenação ao íon. Neste caso, o abaixamento da frequência corresponde ao comumente observado.^{75,76} O estiramento C=N referente ao anel quinolínico aparece no ligante como uma banda em 1556 cm⁻¹. Neste complexo, essa banda não aparenta ter se deslocado apreciavelmente, sendo observada em 1554 cm⁻¹. Apesar disso, com base na comparação feita com complexos de ligantes estruturalmente similares a **H₂L1**⁷⁷, foi sugerida a participação do nitrogênio quinolínico na coordenação.

Uma banda alargada, que deve estar relacionada a estiramentos simétrico e assimétrico da água e, possivelmente, encobre a banda de estiramento do grupo OH fenólico, aparece centrada em 3477 cm⁻¹. Como já mencionado, ligações de hidrogênio intermoleculares podem provocar bandas alargadas em um espectro de infravermelho. No ligante, a banda de estiramento do grupo OH fenólico é atribuída em 3396 cm⁻¹. No entanto, uma evidência espectral que indica que esse grupo deve estar protonado no complexo é a presença de uma banda já em 1385 cm⁻¹, que é atribuída à deformação angular no plano da ligação C-OH e aparece no ligante em 1371 cm⁻¹. Em 3222 cm⁻¹ aparece outra banda menos alargada de fraca intensidade atribuída ao estiramento NH e que novamente deve estar relacionada a ligações de hidrogênio intermoleculares no complexo, que no ligante aparece em 3182 cm⁻¹, o que significa que o ligante se coordena na forma protonada cetônica. De fato, é verificado que ligantes hidrazônicos mostram tautomerismo ceto-enol, de modo que a formação do complexo pode ocorrer na forma cetônica ou na forma enólica.⁷⁸

A comparação entre os espectros na região afastada do infravermelho do complexo e do ligante mostrou a aparecimento de bandas que foram atribuídas às ligações do metal ao ligante. A banda em 471 cm^{-1} foi atribuída ao estiramento Zn-O.^{79,80} Duas bandas, em 323 cm^{-1} e 340 cm^{-1} , são atribuídas, respectivamente, ao estiramento simétrico e assimétrico para a ligação Cl-Zn-Cl.⁷⁹ Isso sugere, portanto, a participação de dois íons cloreto na esfera de coordenação. Não foi possível a atribuição da banda de estiramento Zn-N, que deve estar encoberta por bandas referentes ao ligante.

Além dos espectros de infravermelho, o espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio para esse complexo foi obtido nas mesmas condições que para o ligante, mas mostrou sinais muito alargados, sendo as atribuições dificultadas. No entanto, um sinal observado em 12,18 ppm mostrou que o hidrogênio fenólico se manteve na estrutura, conforme a análise do espectro de infravermelho indicou, havendo um deslocamento de 0,27 ppm em relação ao sinal do ligante, que apareceu em 12,45 ppm.

Assim, com base na descrição obtida a partir do espectro de infravermelho e considerando que a fórmula sugerida a partir a análise elementar (CHN), propõe-se a seguinte estrutura para o complexo $[\text{ZnCl}_2(\text{H}_2\text{L}1)]$, desconsiderando-se a presença de água de hidratação, apresentada na Figura 36:

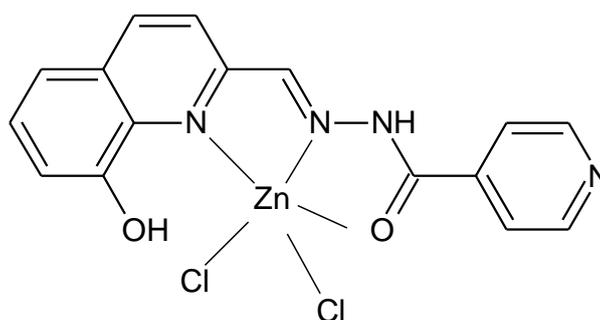


Figura 36: Proposta estrutural para o complexo $[\text{ZnCl}_2(\text{H}_2\text{L}1)]$, 1.

Nessa estrutura o ligante H_2L1 apresenta-se como tridentado, coordenado ao íon metálico pelos átomos de nitrogênio quinolínico e da azometina, e pelo oxigênio carbonílico, sendo a esfera de coordenação completada por dois ligantes cloreto. Dois anéis de cinco membros contribuem para a estabilidade adicional à estrutura devida ao efeito quelato.⁸¹ Desse modo, tem-se o íon zinco num ambiente bipiramidal trigonal, contendo dois íons cloreto e o nitrogênio da azometina no plano equatorial e o oxigênio carbonílico e o nitrogênio quinolínico no plano axial.

Novamente, G. L. Parrilha *et al*⁷⁴ registram uma estrutura relativamente similar a essa que fora proposta. Nela, observa-se um ambiente também bipiramidal trigonal para cada íon zinco no complexo binuclear sintetizado por eles, fazendo parte da esfera de coordenação o nitrogênio da azometina, o oxigênio carbonílico, os átomos de oxigênio do grupo fenolato, que se encontram em ponte, e o oxigênio do grupo acetato.

Apesar de o número de coordenação 5 não ser o mais comum para o íon zinco, levando-se em consideração que forças eletrostáticas e o caráter covalente das ligações em compostos de coordenação são fatores que contribuem para a estabilização das ligações, torna-se possível, portanto, a existência de compostos pentacoordenados estáveis. Além disso, se for levado em consideração o efeito repulsivo dos ligantes, pode-se observar que para um ambiente pentacoordenado, um arranjo bipiramidal trigonal é favorecido, particularmente se o íon apresentar configuração d^0 ou d^{10} , como é o caso do íon zinco (d^{10}).⁸¹ Essa observação está de acordo com a proposta de estrutura apresentada para ambos os complexos, o da literatura⁷⁴ e o aqui descrito, considerando-se que os íons cloreto estão num ângulo possivelmente próximo a 120° , que ocasionaria repulsões minimizadas entre suas nuvens eletrônicas.

A Figura 37 ilustra o ambiente bipiramidal trigonal para um complexo qualquer e o desdobramento dos orbitais d de acordo com a teoria do Campo Cristalino.

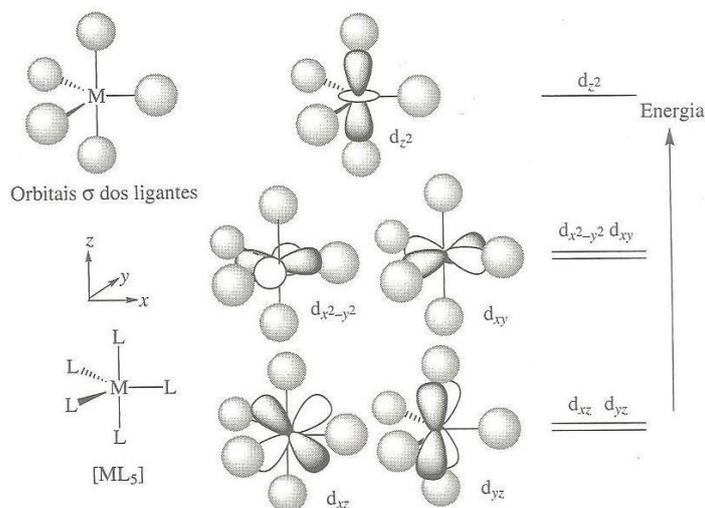


Figura 37: Desdobramento dos orbitais d em um ambiente bipiramidal trigonal. Nela, L refere-se ao ligante e ML₅ ao complexo pentacoordenado.⁸²

Nela, o plano equatorial contém os eixos x e y. Observa-se que os orbitais d_{xz} e d_{yz} , por se encontrarem entre os ligantes, terão energia mais baixa, estando degenerados. Por sua vez, $d_{x^2-y^2}$ e d_{xy} encontram-se no plano equatorial de três ligantes, tendo a energia maior. Já d_{z^2} aponta diretamente para os dois ligantes axiais e a sua parte toroidal está presente no plano equatorial, de modo que ele terá a maior energia dentre os cinco orbitais.⁸²

4.2. Caracterização do complexo 2

4.2.1. Espectroscopia Vibracional

Os espectros de infravermelho médio e afastado são indicados abaixo, nas Figuras 38 e 39. Para o último, é mostrada a comparação com o espectro afastado do ligante **H₂L1**.

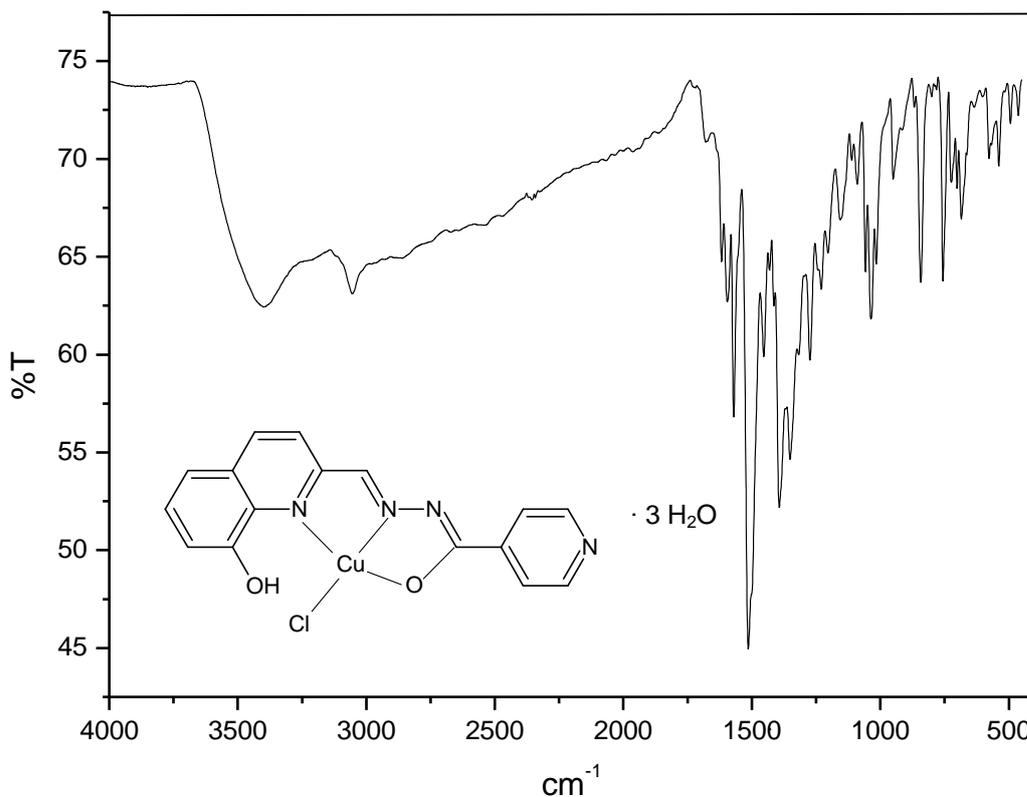


Figura 38: Espectro vibracional do complexo 2 (em pastilha de KBr).

Absorções: 3400 (m), 3054 (m), 1617 (m), 1595 (m), 1570 (F), 1550 (o), 1513 (MF), 1453 (m), 1392 (F), 1351 (F), 1318 (m), 1204 (f), 1111 (mf), 1036 (f), 843 (m), 756 (m).

MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca; o - ombro.

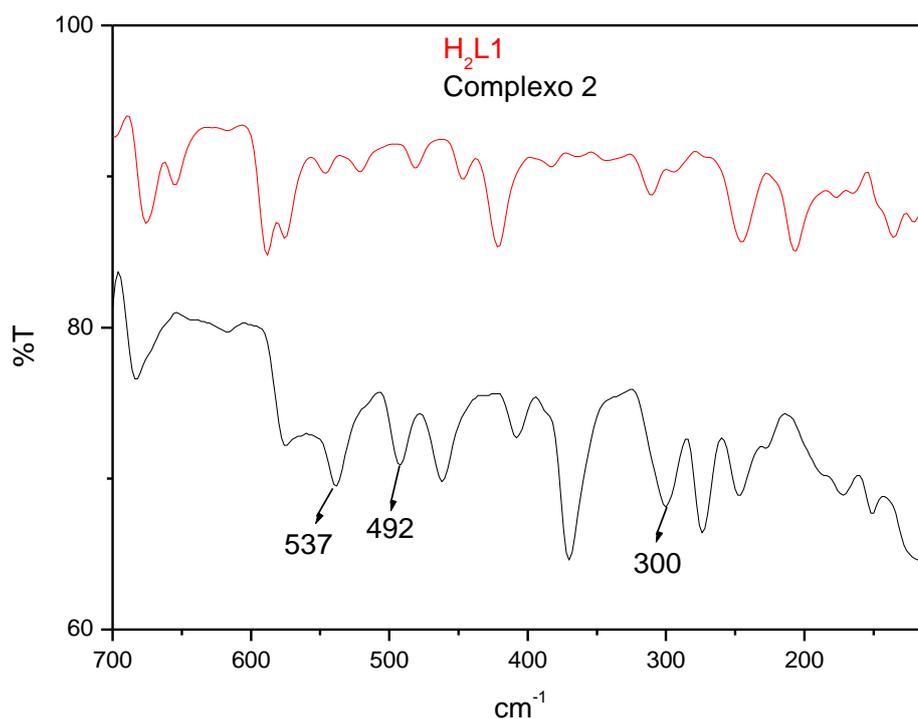


Figura 39 : Espectro vibracional do complexo **2** (em pastilha de polietileno).

Absorções para complexo: 683 (m), 575 (F), 537 (F), 492 (F), 462 (F), 408 (m), 370 (MF), 300 (F), 274 (F), 247 (m), 172 (m), 151 (m), 118 (MF), 76 (m), 56 (m).
MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca.

Na região de maior frequência do infravermelho médio, diferentemente do complexo de zinco, observam-se bandas bem mais alargadas, que também sugerem a presença de água na estrutura. A banda centrada em 3400 cm^{-1} deve estar associada ao estiramento OH no grupo fenólico. Por sua vez, uma evidência que mostra que este grupo está presente na estrutura do complexo é a banda em 1391 cm^{-1} , presente no ligante em 1371 cm^{-1} , referente à deformação angular no plano da ligação C-OH.

No espectro também se observa o deslocamento do estiramento C=O, que aparece como uma banda em 1351 cm^{-1} , que indica que esta ligação apresenta um menor caráter de ligação dupla.⁸³ Além disso, nota-se o desaparecimento do estiramento NH em relação ao espectro do ligante. Portanto, esses fatos sugerem a ocorrência da enolização do ligante frente à

coordenação ao íon. Outra evidência que sustenta a enolização é o aparecimento de uma banda intensa em 1513 cm^{-1} . Esta banda está associada ao estiramento N=C-O, sendo comum em complexos com ligantes enolizados.⁸⁴

O deslocamento da banda de estiramento C=N da azometina, também está presente. Neste caso, reduz-se de 1647 cm^{-1} para 1617 cm^{-1} , sugerindo a participação do nitrogênio desse grupo na coordenação ao íon cobre (II). Quanto ao estiramento C=N no anel quinolínico, mais uma vez ele ocorre como um deslocamento suave para uma menor frequência em relação ao observado no ligante, sendo atribuído como um ombro em 1550 cm^{-1} e, de modo similar ao complexo **1**, foi sugerida a participação do nitrogênio quinolínico na coordenação.

No que se refere à região afastada do infravermelho, a comparação entre os espectros do complexo e do ligante mostrou o aparecimento de bandas em 537 cm^{-1} , atribuída ao estiramento Cu-N⁸⁰, em 492 cm^{-1} relacionada ao estiramento Cu-O e uma banda em 300 cm^{-1} , atribuída ao estiramento Cu-Cl.⁷⁹

4.2.2.

Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

As Figuras 40 e 41 mostram os espectros de ressonância paramagnética eletrônica obtidos, respectivamente, em solução de DMF à temperatura ambiente e em nitrogênio líquido a 77 K. Para este último foi necessária a adição de duas componentes para ser efetuada a simulação do espectro experimental.

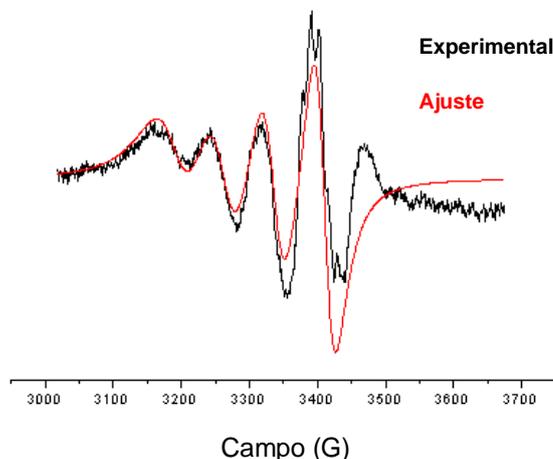


Figura 40: Espectro de RPE em DMF à temperatura ambiente.

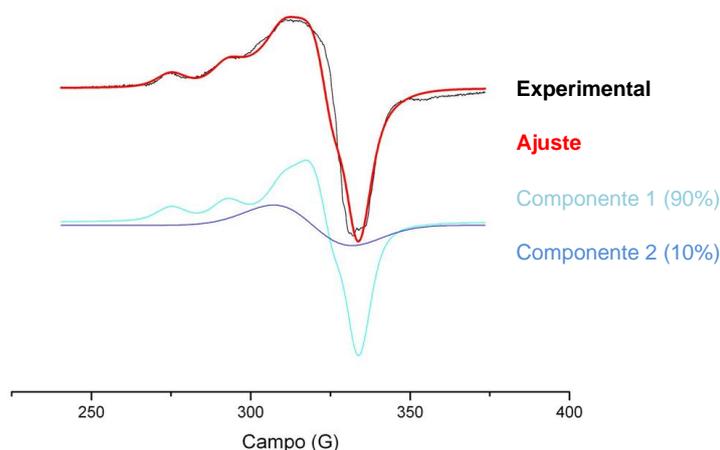


Figura 41: Espectro de RPE em N_2 líquido a 77K.

Os parâmetros Hamiltonianos $g_{||}$, g_{\perp} , $A_{||}$, A_{\perp} , g_0 e A_0 e o calculado $g_{av} [=1/3(g_{||} + 2 g_{\perp})]$, determinados a partir dos espectros, estão apresentados na Tabela 5. Os parâmetros relacionados ao espectro obtido em N_2 líquido foram provenientes da componente principal (90%), que é aquela com desdobramento hiperfino.

Tabela 5: Parâmetros experimentais e calculados obtidos do espectro de RPE para o composto 2.

Condições experimentais	$g_{ }$	g_{\perp}	g_{av}	g_0	A_0 ($\times 10^{-4}$ cm^{-1})	$A_{ }$ ($\times 10^{-4}$ cm^{-1})	A_{\perp} ($\times 10^{-4}$ cm^{-1})
Temperatura ambiente	-	-	-	2,16	78,3	100	56,7
Nitrogênio líquido	2,243	2,083	2,14	-	-	180	16,7

À temperatura ambiente ocorre o aparecimento de uma série de linhas estreitas devidas a uma interação super-hiperfina de nitrogênio, que é a

interação mais comum envolvendo o íon paramagnético e os ligantes.⁸⁵ No entanto, não foi possível a simulação delas. Apesar disso, essa observação mostra que a nuvem eletrônica do íon encontra-se parcialmente deslocada sobre os ligantes, já que há a interação do elétron desemparelhado com o núcleo vizinho, que seria o nitrogênio. Isso implica formação de ligação através desse átomo.

Observa-se a partir desses espectros um sistema anisotrópico com simetria axial, uma vez que os termos g_{\parallel} e g_{\perp} são diferentes entre si, de modo que o complexo apresenta simetria mais baixa que a cúbica.⁸⁶

A respeito do caráter covalente da ligação, sabe-se que g_{\parallel} é moderadamente sensível à natureza da ligação M-L.⁸⁷ Neiman e Kivelson descrevem que valores de g_{\parallel} menores que 2,3 sugerem caráter covalente às ligações metal-ligante.⁸⁸ Isso é observado para esse complexo nas três condições experimentais avaliadas. Outra evidência desse caráter covalente é mostrado no valor de g_{av} , que é maior que 2 para o complexo.⁸⁸

A tendência $g_{\parallel} > g_{\perp} > 2,0023$ observada indica que o elétron desemparelhado está predominantemente no orbital $d_{x^2-y^2}$, que é característico para complexos de cobre com geometria tetragonal ou quadrático planar.⁸⁸ Por sua vez, a razão $g_{\parallel} / A_{\parallel}$ permite avaliar se o ambiente do íon é quadrático plano ou tende à distorção tetraédrica. Sakaguchi, U. e Addison, A. W.⁸⁹ mostram que, para complexos de cobre(II) quadrático-planos, a razão fica entre 105 e 135 cm. Para o complexo em estudo no presente trabalho, o valor para essa razão correspondeu a 124,6 cm, fato que aponta que uma geometria quadrático plana é adotada por ele.

Como é comumente verificado, o íon cobre(II), de configuração d^9 , é suscetível ao efeito Jahn-Teller. Isso porque o íon se apresenta em um estado eletronicamente degenerado, de modo que seus complexos sofrerão distorção implicando abaixamento da simetria que ocasiona remoção da degenerescência do íon e abaixamento da energia global do sistema. Esse efeito está relacionado à distorção tetragonal da simetria octaédrica, acontecendo comumente para compostos de íon cobre a alongação das ligações axiais, que se tornam mais fracas que aquelas equatoriais.⁸¹ Para um caso limite dessa alongação, observa-se a formação de um complexo com simetria quadrático plana, comum para íons de configuração d^8 , mas encontrada também casos para o íon cobre(II).⁹⁰ A formação desses complexos é favorecida frente a ligantes pouco volumosos, que

amenizam os efeitos estéricos de nuvens eletrônicas relativamente próximas em um ângulo de 90° e que sejam de campo forte, de modo que façam ligações π relativamente fortes que compensem a perda de energia de ligação devida a não confecção de seis ligações, que ocorre em um complexo octaédrico.⁸¹ A Figura 42 apresenta o diagrama de desdobramento do campo cristalino para uma simetria octaédrica (à esquerda), para um campo com distorção tetragonal em que ocorre alongação do eixo z (ao centro) e para a situação limite, já em um campo quadrático-plano.

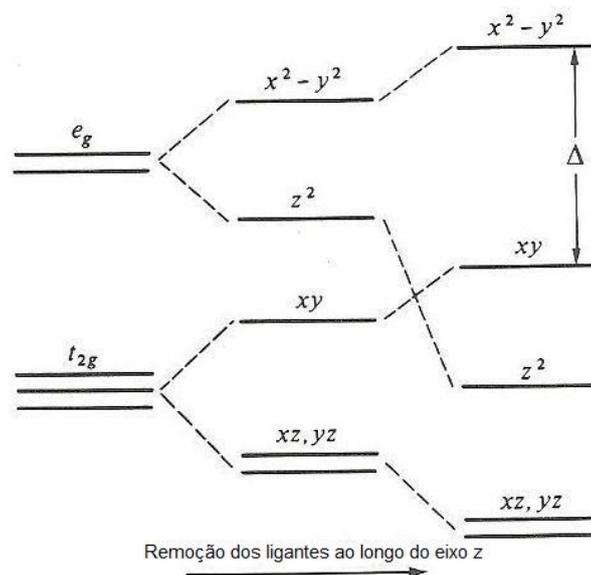


Figura 42: Diagrama de desdobramento dos orbitais d. Da esquerda para direita, em um campo octaédrico, em um campo com distorção tetragonal e em um campo quadrático-plano.⁸⁴

Logo, a partir dos dados obtidos dos espectros de infravermelho e de ressonância paramagnética eletrônica, e tendo em vista a fórmula obtida a partir da análise elementar, a seguinte estrutura, apresentada na Figura 43, é sugerida para o complexo $[\text{CuCl}(\text{HL}1)]$, não sendo incluídas as moléculas de água:

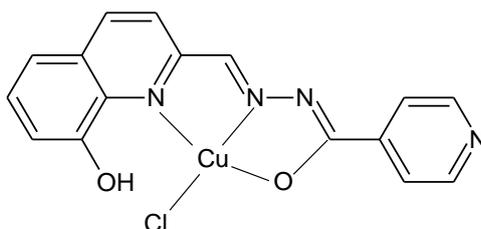


Figura 43: Proposta estrutural para $[\text{CuCl}(\text{HL}1)]$, 2.

Mais uma vez, o ligante **H₂L1** tem comportamento tridentado, coordenando-se pelos átomos de nitrogênio quinolínico e da azometina, e pelo oxigênio enólico, sendo a esfera de coordenação completada por um ligante cloreto. Dois anéis de cinco membros conferem maior estabilidade à estrutura devida ao efeito quelato. Assim, o íon cobre(II) estaria em um ambiente quadrático-plano.

4.3. Caracterização do complexo **3** por espectroscopia vibracional

Os espectros de infravermelho médio e afastado são apresentados abaixo, nas Figuras 44 e 45. Neste último, é mostrada a comparação com o espectro afastado do ligante **HL2**.

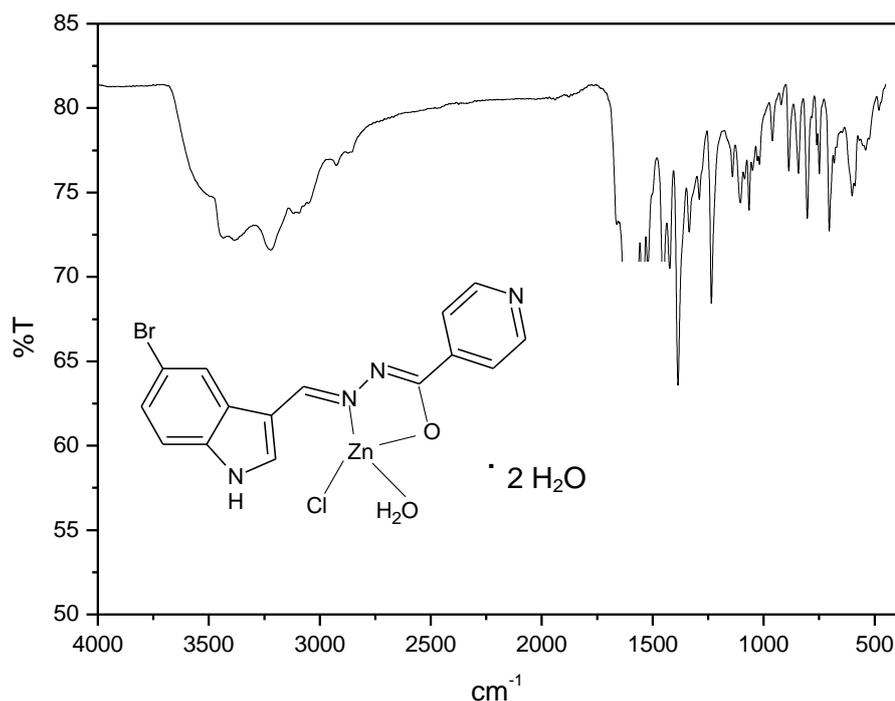


Figura 44: Espectro vibracional do complexo **3** (em pastilha de KBr).

Absorções: 3435 (m); 3399 (m); 3384 (m); 3221 (m); 3051 (m); 1602 (MF); 1572 (m); 1544 (m); 1453 (m); 1386 (m); 1236 (m); 1104 (mf); 960 (mf); 803 (f); 704 (f).

MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca.

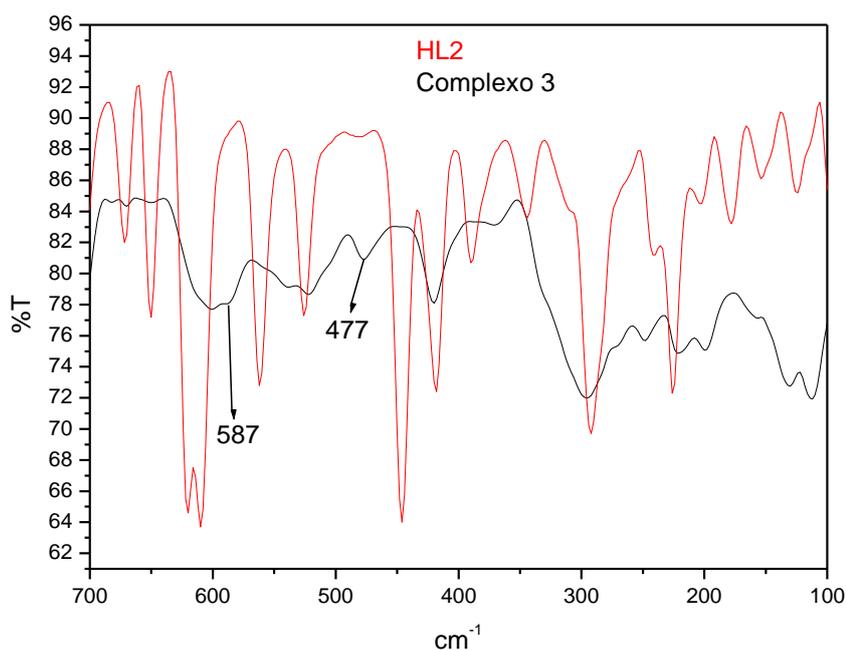


Figura 45: Espectro vibracional do complexo **3** (em pastilha de polietileno).

Absorções para o complexo: 600 (m); 587 (m); 538 (m); 522 (m); 477 (f); 420 (m); 296 (MF); 249 (F); 221 (F); 199 (F); 130 (MF); 113 (MF); 88 (mf); 71 (F); 60 (F), 37 (f).

MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca.

Uma banda larga na região de maior frequência do espectro da região média sugere a presença de moléculas de água na estrutura, sendo verificadas bandas de médias intensidades centradas em 3435 cm^{-1} , 3400 cm^{-1} e 3384 cm^{-1} que devem estar associadas aos estiramentos OH simétrico e assimétrico.⁷⁹ Em 3119 cm^{-1} aparece uma banda fraca, atribuída ao estiramento NH, presente no ligante em 3129 cm^{-1} . Essa banda deve estar associada ao grupo NH presente no anel indólico, isso porque há uma forte evidência espectral de tenha ocorrido a enolização neste complexo, já que a intensa banda de estiramento C=O, presente no ligante em 1662 cm^{-1} , encontra-se deslocada para uma região de menor frequência, no caso para 1386 cm^{-1} , acontecendo o mesmo comportamento que aquele para complexo **2**. Além disso, o aparecimento da

banda em 1544 cm^{-1} pode ser atribuído ao estiramento $\text{N}=\text{C}-\text{O}$ da forma enolizada.⁸⁴

Novamente, o deslocamento da banda de estiramento $\text{C}=\text{N}$ da azometina evidencia a participação do nitrogênio na coordenação, sendo a banda deslocada de 1618 cm^{-1} para 1602 cm^{-1} .

Uma banda bem definida e de fraca intensidade em 803 cm^{-1} pode estar associada ao modo vibracional *rocking* de uma molécula de água, que nesse caso estaria coordenada.⁷⁹

Na região afastada do infravermelho do complexo, o aparecimento das bandas em 587 cm^{-1} foi atribuído ao estiramento $\text{Zn}-\text{N}$ e em 477 cm^{-1} ao estiramento $\text{Zn}-\text{O}$. Nesse espectro aparece uma banda bem larga centrada em 296 cm^{-1} . Possivelmente essa banda deve ter encoberto aquela que se referia ao estiramento $\text{Zn}-\text{Cl}$, que não pode ser atribuído.

Desse modo, para o complexo discutido, propõe-se, com base nos dados de espectroscopia na região do infravermelho e análise elementar (CHN), a seguinte estrutura em que é desconsiderada a água de hidratação, mostrada na Figura 46:

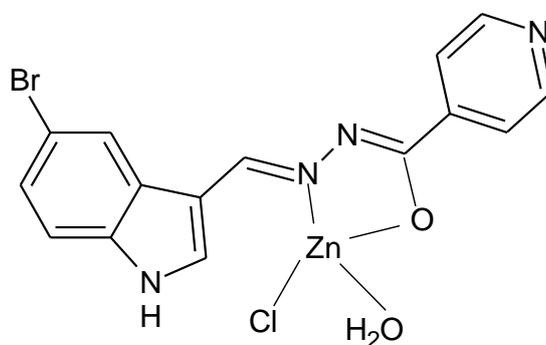


Figura 46: Proposta estrutural para $[\text{ZnCl}(\text{L}2)\text{H}_2\text{O}]$, 3.

Nela, o ligante **HL2** coordena-se na forma enólica, tendo um comportamento bidentado, ligando-se ao íon metálico pelos átomos de nitrogênio da azometina e pelo oxigênio enólico, sendo a esfera de coordenação completada por um cloreto e uma molécula de água. Um anel de cinco membros contribui para a estabilidade da estrutura. A geometria proposta para o complexo é a tetraédrica, muito comum para complexos de zinco, particularmente quando ligantes volumosos, como o cloreto, estão presentes na esfera de coordenação.⁹¹

4.4. Caracterização do complexo 4

4.4.1. Espectroscopia Vibracional

Os espectros de infravermelho médio e afastado são indicados abaixo, nas Figuras 47 e 48. Para o último, é mostrada a comparação com o espectro afastado do ligante **HL2**.

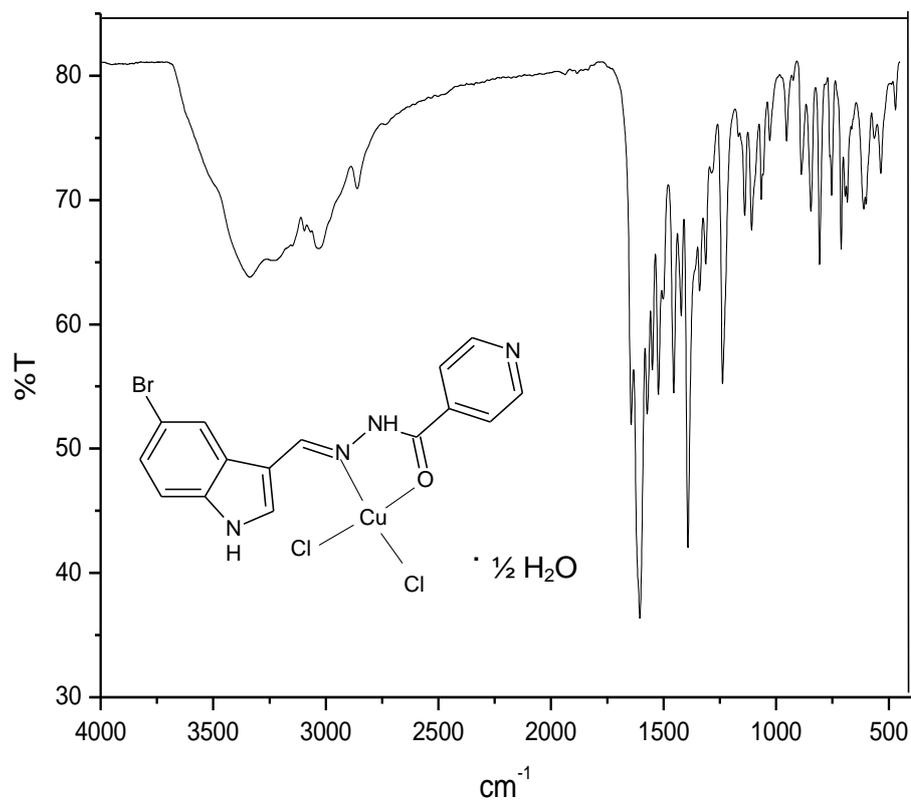


Figura 47 : Espectro vibracional do complexo 4 (em pastilha de KBr).

Absorções: 3338 (m); 3149 (o); 3032 (m); 2860 (f); 1644 (F); 1605 (MF); 1572 (F); 1522 (m); 1455 (m); 1392 (F); 1238 (m); 1028 (f); 887 (f); 846 (f); 807 (f); 711(f).

MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca.

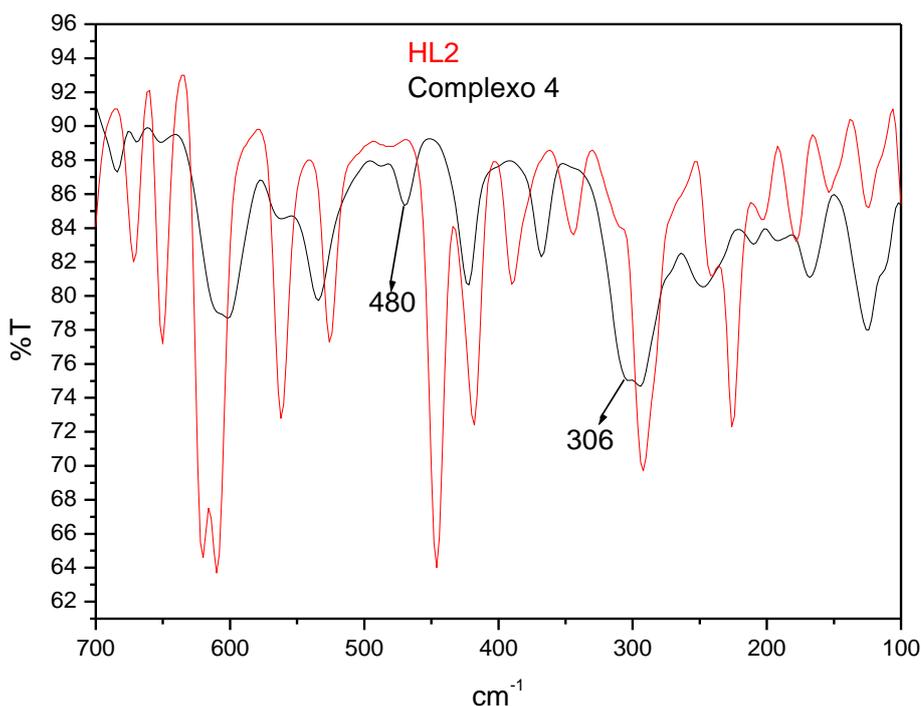


Figura 48 : Espectro vibracional do complexo 4 (em pastilha de polietileno).
Absorções para o complexo: 684 (f); 601 (F); 562 (m); 534 (F); 469 (f); 423 (F);
303 (MF); 294 (MF); 247 (F); 168 (F); 124 (F); 61 (f).

MF - muito forte; F - forte; m- média; f - fraca; mf - muito fraca; o - ombro.

Novamente, ocorre o aparecimento de bandas alargadas na região de maior frequência do espectro, com destaque para a banda em 3338 cm^{-1} , sugerindo a presença de moléculas de água na estrutura. Em 3149 cm^{-1} aparece um ombro, atribuído ao estiramento NH, presente no ligante em 3129 cm^{-1} . Diferentemente do complexo de zinco com este ligante, não há evidência de enolização para o ligante frente à coordenação ao íon cobre(II). Aqui, ocorre um deslocamento do estiramento C=O de 1662 cm^{-1} para 1643 cm^{-1} , bem como o deslocamento do estiramento C=N da azometina, que no ligante está presente em 1619 cm^{-1} e no complexo aparece em 1605 cm^{-1} .

Na região afastada do infravermelho do complexo, há o aparecimento de uma banda em 480 cm^{-1} atribuída ao estiramento Cu-O. Nesta região aparece também uma banda bem alargada, centrada em 300 cm^{-1} . Possivelmente, essa banda encobre uma das bandas referentes ao estiramento Cu-Cl, tendo sido possível a marcação de uma delas em 306 cm^{-1} . De acordo com a proposta

estrutural, duas bandas de estiramento Cl-Cu-Cl são esperadas, já que dois cloretos estão na forma cis, sendo uma banda de maior frequência, referente ao estiramento assimétrico e outra de menor, para o estiramento simétrico⁸² O ombro em 306 cm^{-1} deve ser referente ao último estiramento, estando o primeiro encoberto.

4.4.2. Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE)

Os espectros de ressonância paramagnética eletrônica obtidos, em solução de DMF à temperatura ambiente e em nitrogênio líquido a 77 K são apresentados nas Figuras 49 e 50. Novamente, os parâmetros relacionados ao espectro obtido em N_2 líquido foram provenientes da componente principal (83%), que é aquela com desdobramento hiperfino.

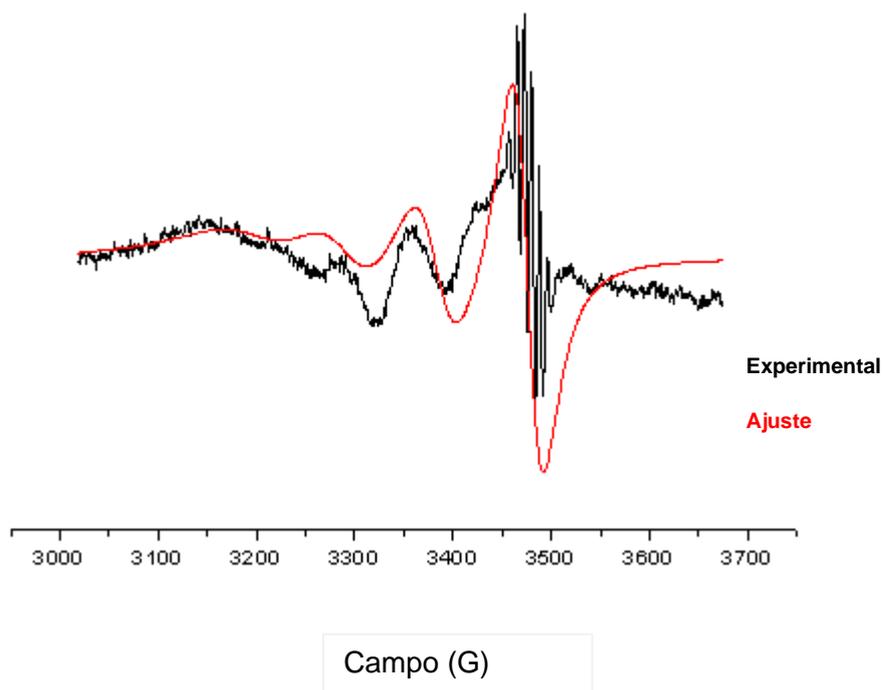


Figura 49: Espectro de RPE em DMF à temperatura ambiente.

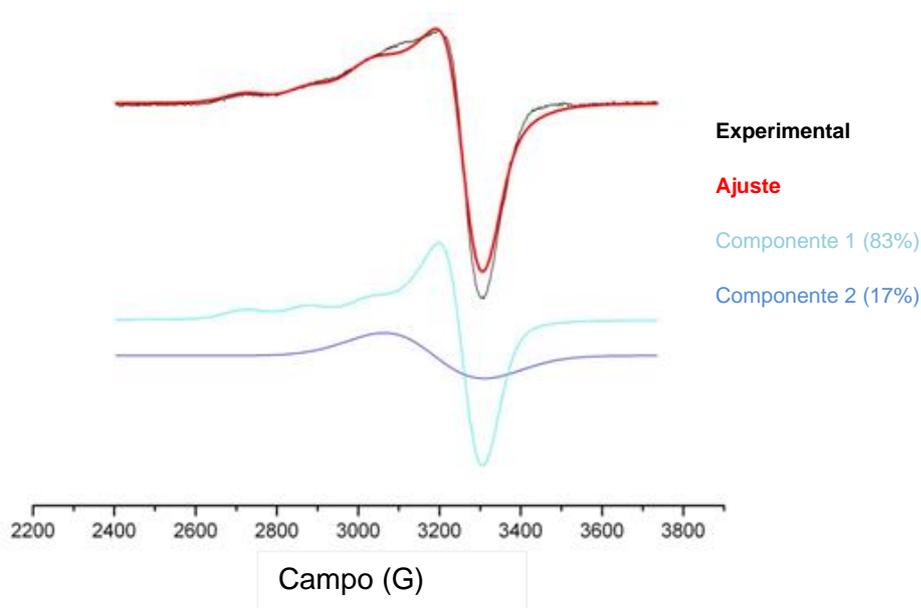


Figura 50: Espectro de RPE em N_2 líquido a 77K.

Os parâmetros Hamiltonianos $g_{||}$, g_{\perp} , $A_{||}$, A_{\perp} , g_0 e A_0 e o calculado $g_{av} [=1/3(g_{||} + 2 g_{\perp})]$, determinados a partir dos espectros, estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Parâmetros experimentais e calculados obtidos do espectro de RPE para o composto 4.

Condições experimentais	$g_{ }$	g_{\perp}	g_{av}	g_0	A_0 ($\times 10^{-4}$ cm^{-1})	$A_{ }$ ($\times 10^{-4}$ cm^{-1})	A_{\perp} ($\times 10^{-4}$ cm^{-1})
Temperatura ambiente	-	-	-	2,125	290	-	-
Nitrogênio líquido	2,291	2,083	2,152	-	-	160	0

A análise espectral para esse complexo conduziu a conclusões similares àquelas do complexo $[CuCl(HL1)] \cdot 3 H_2O$, tais como: o aparecimento de uma série de linhas estreitas, relacionada à interação super-hiperfina de nitrogênio, que não pode ser simulada; sistema anisotrópico com simetria axial; evidências de caráter covalente da ligação, uma vez que os valores de $g_{||}$ são inferiores 2,3 e os valores de g_{av} são maiores que 2; obediência à tendência $g_{||} > g_{\perp} > 2,0023$,

indicando que a presença do elétron desemparelhado no orbital $d_{x^2-y^2}$, fato característico para complexos de cobre com geometria octaédrica ou quadrático planar. No entanto, a razão $g_{\parallel} / A_{\parallel}$ apresentou valor de 143,2 cm, portanto fora do intervalo que sugere geometria perfeitamente quadrático-plana.⁸⁹ Assim, avaliando a tendência $g_{\parallel} > g_{\perp} > 2,0023$ e comparando-a com o a razão $g_{\parallel} / A_{\parallel}$, pode-se dizer que o complexo **2** tende à distorção tetraédrica.

Com isso, pode-se propor a seguinte estrutura para esse complexo, mostrada na Figura 51, sem levar em conta a presença de água de hidratação:

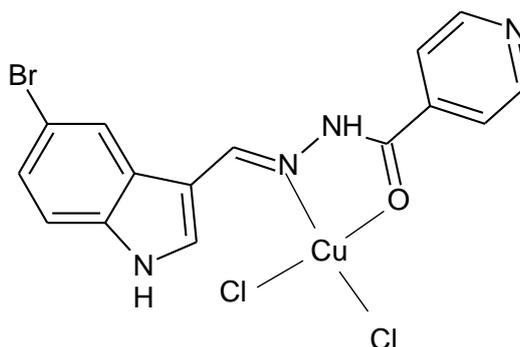


Figura 51: Proposta estrutural para $[CuCl_2HL_2]$, 4.

O comportamento do ligante é bidentado, como sugerido no complexo 3, ocorrendo a coordenação pelo nitrogênio da azometina, e pelo oxigênio carbonílico, estando dois íons cloreto a completar a esfera de coordenação.

Assim, curiosamente, temos comportamentos diferentes em relação à dependência do modo de coordenação da hidrazona com o metal utilizado. No caso de **H₂L1**, o íon cobre promove a desprotonação do ligante e a coordenação na forma enólica, enquanto no complexo de zinco **H₂L1** se coordena protonado. Já para **HL2** há uma inversão nesta tendência. Enquanto no complexo de zinco o ligante se coordena de forma desprotonada, no de cobre a coordenação acontece através da forma cetônica.

5

Resultados e Discussão

Estudos Potenciométricos

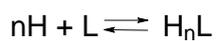
Como os MPACs atuam por remoção dos íons metálicos de interesse da placa amilóide, um estudo mais aprofundado da afinidade dos ligantes sintetizados pelos biometais cobre e zinco, em solução, foi realizado. As constantes de formação dos complexos são de grande importância no contexto dos MPACs, uma vez que precisam ser suficientemente elevadas para permitir o sequestro dos íons metálicos, mas não elevadas o suficiente a ponto de que esses íons sejam eliminados do organismo, ou seja, eles devem promover a redistribuição e normalização dos níveis dos íons metálicos fisiológicos.

5.1. Aspectos Gerais

A potenciometria é considerada o método mais apurado no que se refere à determinação de constantes de formação (ou constantes de estabilidade condicional - β) de complexos metálicos, sendo isso feito indiretamente, pelo fato de a coordenação ser monitorada a partir da desprotonação dos ligantes frente à ligação ao íon metálico. Em geral, a concentração das biomoléculas usadas nessa técnica varia de 10^{-4} a 10^{-3} mol L⁻¹, sendo considerada relativamente elevada frente a outras técnicas, como a espectroscopia por fluorescência (10^{-7} a 10^{-5} mol L⁻¹).⁹⁰

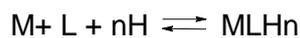
As equações químicas associadas às constantes de protonação dos ligantes e às constantes de formação dos complexos são apresentadas a seguir, sendo omitidas as cargas das espécies a fim de simplificar e generalizar a apresentação das equações:

(a) Ligantes

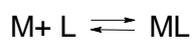
 β_{H_nL}

$$\beta_{H_nL} = \frac{[H_nL]}{[H]^n [L]}$$

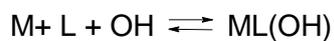
(b) Complexos

 β_{MLH}

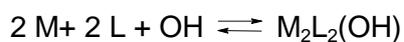
$$\beta_{MLH} = \frac{[MLH_n]}{[M] [L] [H]^n}$$

 β_{ML}

$$\beta_{ML} = \frac{[ML]}{[M] [L]}$$

 β_{MLOH}

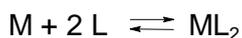
$$\beta_{ML(OH)_n} = \frac{[ML(OH)]}{[M] [L] [OH]}$$

 $\beta_{M_2L_2(OH)}$

$$\beta_{M_2L_2(OH)} = \frac{[M_2L_2(OH)]}{[M]^2 [L]^2 [OH]}$$

 $\beta_{ML_2H_n}$

$$\beta_{ML_2H_n} = \frac{[ML_2H_n]}{[M] [L]^2 [H]^n}$$


 β_{ML_2}

$$\beta_{ML_2} = \frac{[ML_2]}{[M] [L]^2}$$

Outro parâmetro importante para a determinação das constantes a partir dessa técnica é o conhecimento da constante de autoprotólise do solvente. Ao longo da titulação, equilíbrios ácido-base são estabelecidos e a compreensão de como varia a região de acidez e basicidade condicionada por determinado solvente torna-se de grande relevância, uma vez que quanto menor for a constante de autoprotólise maior é a faixa de ácidos e bases fortes que podem existir naquele solvente⁹¹, ou seja, a janela ácido-base é mais ampla, possibilitando a identificação de inúmeros processos que envolvam a transferência de prótons.⁷⁰

Como já mencionado na seção Experimental deste trabalho, as titulações não foram efetuadas em meio aquoso, uma vez que os ligantes mostraram-se pouco solúveis em água. Desse modo, utilizou uma mistura binária água/etanol, na razão 30/70% v/v, para a solubilização deles. Nessa condição, os seguintes equilíbrios químicos, que são mostrados a seguir, são estabelecidos. Nela, EtOH refere-se ao etanol, EtO⁻ ao etóxido e EtOH₂⁺ ao etoxônio:



Em uma mistura em que o percentual de água seja superior a 50%, observa-se que a concentração de íon etoxônio é pouco relevante.⁹² Já na composição 30/70% v/v água/etanol, a geração de etoxônio é maior, implicando também a formação de hidroxila, fato que acentua a basicidade do meio. De fato, o cologaritmo da constante de autoprotólise no solvente puramente aquoso é 13,69⁸⁹; já na composição utilizada neste trabalho o valor é de 14,71, mostrando o aumento da basicidade do meio frente à adição de etanol.⁴³

Um cuidado importante que foi tomado ao longo das titulações potenciométricas envolvendo os íons metálicos em estudo foi a acidificação do meio antes da inserção dos íons no sistema, de modo que o pH inicial de cada titulação atingisse valores próximos a 3. Esse procedimento foi executado com o intuito de se atenuar a formação de produtos hidrolíticos envolvendo os íons, bem como daqueles produtos pouco solúveis envolvendo os ligantes.

Para cada uma das figuras apresentadas a seguir que fizerem menção à curva de titulação ou à curva de distribuição de espécies de ambos os ligantes estudados, entenda-se “em meio ácido” para aquelas obtidas a partir da adição de solução de ácido clorídrico e “quando puro” para aquelas em que não houve a adição dessa solução, apesar de ambas as curvas se iniciarem em pH abaixo de 7.

5.2. 8-hidroxiquinolina-2-carboxaldeído isonicotinoil hidrazona (H_2L1)

As curvas de titulação para esse ligante quando puro e em meio ácido, bem como a curva de distribuição de espécies são apresentadas, respectivamente, nas Figuras 52, 53, 54 e 55 a seguir:

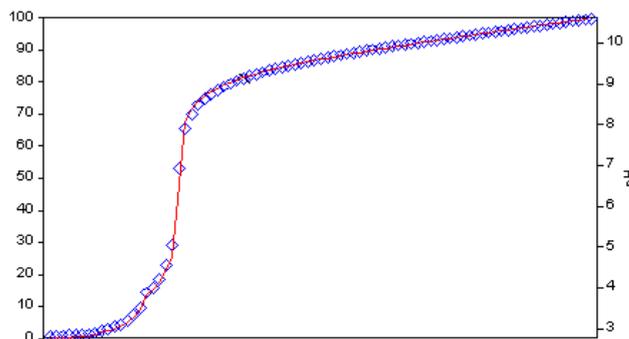


Figura 52: Curva de titulação experimental (em azul) e simulada (em vermelho) para o ligante H_2L1 em meio ácido.

Porcentagem das espécies

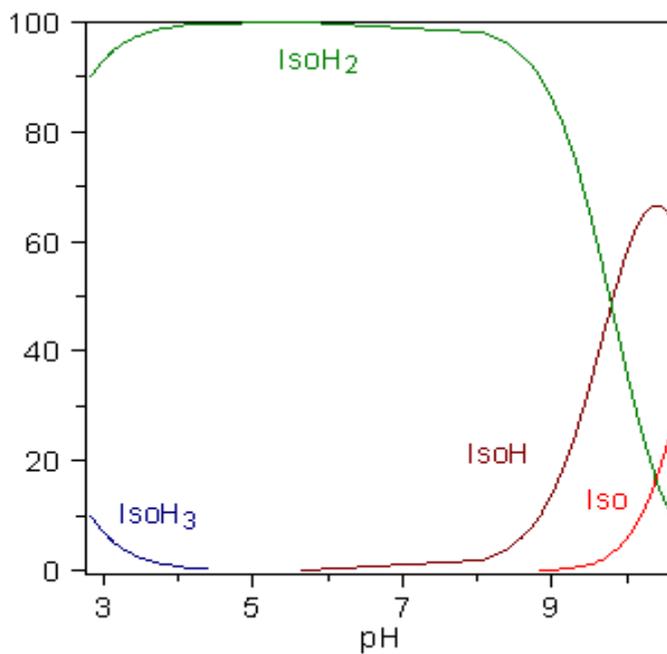


Figura 53: Curva de distribuição de espécies em função do pH para o ligante **H₂L1** em meio ácido. $[\text{H}_2\text{L1}] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$.

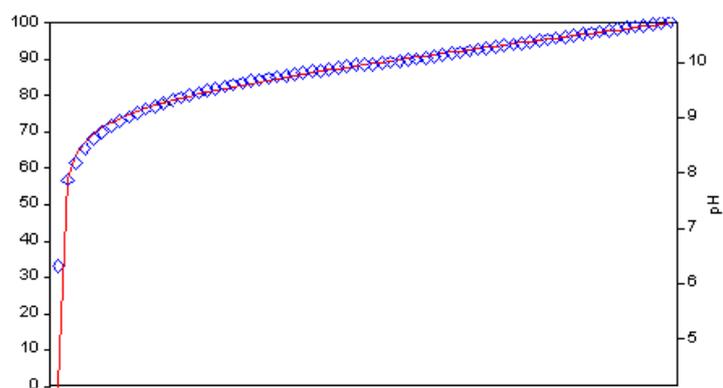


Figura 54: Curva de titulação experimental (em azul) e simulada (em vermelho) para o ligante **H₂L1** quando puro.

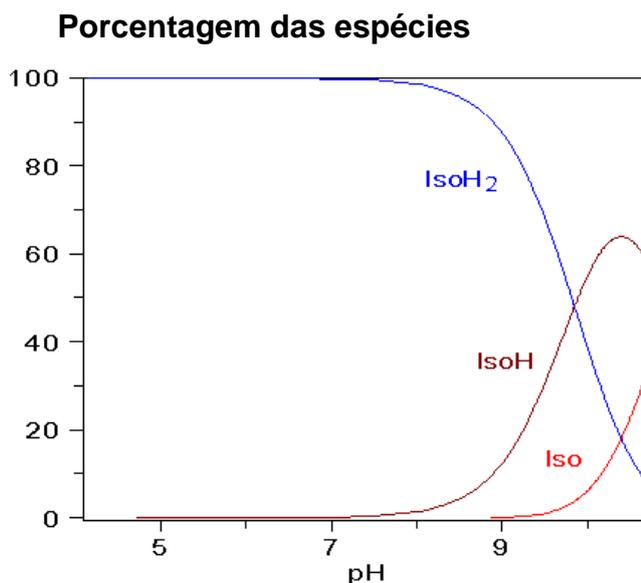


Figura 55: Curva de distribuição de espécies em função do pH para o ligante H_2L1 . $[H_2L1] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$.

A comparação entre as curvas de distribuição de espécies para o ligante, em ambas as condições, mostra que ele se manteve estável, mesmo em meio mais ácido. Isso porque a tendência quanto à predominância das mesmas espécies foi obedecida nos dois casos. Como é sabido, hidrazonas (que contêm o grupo imina em sua estrutura) são facilmente hidrolisadas em solução aquosa ácida ou básica.⁹³ Desse modo, esse ligante hidrazônico, presente na solução preparada e titulada em meio mais ácido e que continha 30% de água em sua constituição, poderia se hidrolisar. Contudo, este fato não ocorreu. A Figura 56 apresenta o mecanismo de hidrólise ácida de uma imina. No caso, os produtos de hidrólise são amônia e uma cetona.

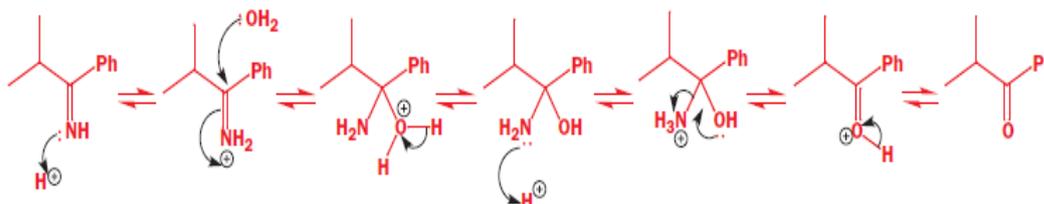


Figura 56: Mecanismo de hidrólise ácida de uma imina.⁹³

Observa-se uma boa concordância entre as curvas teórica e experimental para as titulações em ambas as condições. Na curva de distribuição de espécies, em ambas as condições estudadas, $IsoH_2$ representa o ligante H_2L1 em sua forma diprótica. Essa espécie predomina ao longo de uma ampla faixa de pH,

havendo predomínio da forma monoprótica IsoH a partir de pH próximo a 10 e a pH próximo a 11 a espécie totalmente ionizada, indicada por Iso, tem uma predominância de cerca de 30%. Desse modo, observa-se que em pH fisiológico, que é cerca de 7,4, a forma totalmente diprótica teria aproximadamente 100% de predominância, caso não houvesse interação com outras espécies presentes no meio fisiológico, como íons metálicos.

A Tabela 7 expõe os valores do logaritmo das constantes de protonação ($\log K_a$) obtidos para o ligante quando puro, em que $\log K_{a2} = \log \beta_1$ e $\log K_{a1} = \log \beta_2 - \log \beta_1$.

Tabela 7.: Constantes de protonação do ligante **H₂L1**.

Condição reacional	$\log K_{a1}$	$\log K_{a2}$
Ligante puro	9,847 ± 0,01	10,943 ± 0,01

A estrutura do ligante é mostrada na Figura 57 .

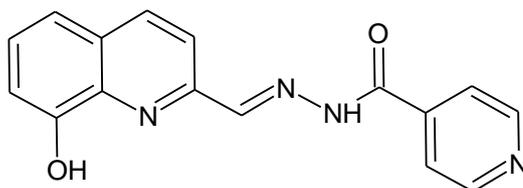


Figura 57: Estrutura do ligante **H₂L1**.

O ligante da Figura 57 apresenta dois prótons ácidos nos grupos fenólico e amídico que foram identificados nas titulações feitas

Estudos com derivados da 8-hidroxiquinolina mostraram que a constante de ionização do grupo fenólico nos compostos estudados mais similares ao do presente ligante variava entre 9,61 e 9,97, sendo, portanto, atribuída a primeira ionização ao hidrogênio fenólico.^{94,95} De fato, o espectro de RMN de H^1 para esse ligante mostrou que o hidrogênio mais desblindado é justamente o do grupo fenólico e, portanto, espera-se que seja o mais ácido. Já estudos com ligantes similares à hidrazida utilizada na síntese do ligante mostra concordância com o $\log K$ observado, que fica próximo a 11, indicando que esse sítio é o mais básico.^{87,96}

Quanto à curva de distribuição de espécies em meio ácido, observa-se a espécie IsoH₃, indicando que diante de um significativo abaixamento do pH do meio outros sítios menos básicos presentes no ligante podem ser protonados. O valor de log Ka calculado, neste caso, correspondeu a $1,869 \pm 0,01$. G. Eugenio *et al*⁹⁵ observaram para a 8-hidroxiquinolina o pK_{NH+} igual a 5,00. Assim, mediante o valor obtido neste trabalho, é provável que o sítio de protonação não seja no nitrogênio quiolínico, mas no nitrogênio piridínico conforme C. Ràfois *et al* indicam em seus estudos sobre acidez de compostos derivados da isoniazida.⁹⁷

5.3. **Zn(II) e 8-hidroxiquinolina-2-carboxaldeído isonicotinoil hidrazona (H₂L1)**

As titulações que envolveram a determinação das constantes de formação dos complexos de zinco foram realizadas nas proporções metal:ligante 1:1 e 1:2. Essas proporções foram escolhidas considerando-se que o ligante apresenta um comportamento tridentado nos complexos no estado sólido, como já discutido e, uma vez que número de coordenação 6 é um dos comumente observados para o íon zinco, que apresenta um raio relativamente pequeno, não se esperava que três ligantes pudessem se coordenar para cada íon. Outro fator que contribuiria para isso é o efeito estérico que três ligantes volumosos poderiam ocasionar, não propiciando a estabilidade à estrutura.

Na Tabela 8 são mostradas as espécies hidrolisadas utilizadas para o cálculo das constantes de formação condicionais dos complexos. Não foram encontradas na literatura as constantes de formação de espécies hidrolisadas do íon zinco em meio água/etanol, de modo que foram levadas em conta espécies formadas em meio aquoso, a 25 °C e em força iônica de 0,100 mol L⁻¹.

Tabela 8: Constantes de formação das espécies hidrolisadas de Zn(II) (as cargas foram omitidas).⁹⁹

Espécie	$-\log\beta$
ZnOH	9,15
Zn(OH) ₂	17,1
Zn(OH) ₃	28,4
Zn(OH) ₄	40,7
Zn ₂ OH	8,4
Zn ₂ (OH) ₆	57,6

As curvas de titulação experimental e simulada para a titulação da proporção 1:1 e 1:2, bem como as respectivas curvas de distribuição de espécies são apresentadas nas Figuras 58, 59, 60 e 61, mostradas a seguir.

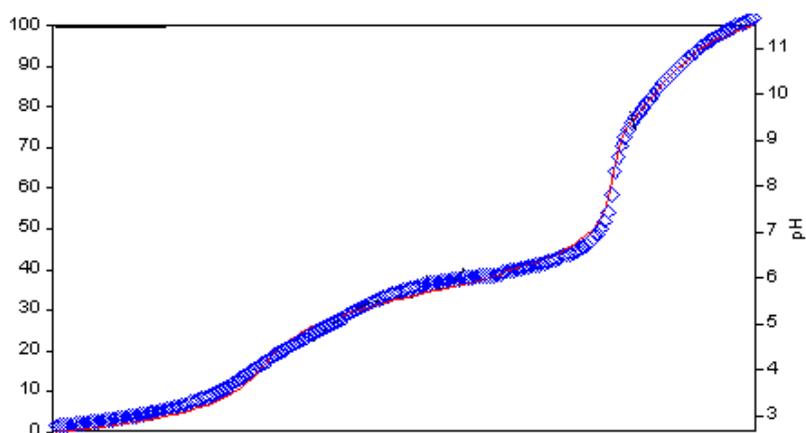


Figura 58: Curva de titulação experimental (em azul) e simulada (em vermelho) para o sistema Zn(II):H₂L1 na proporção 1:1.

Porcentagem das espécies

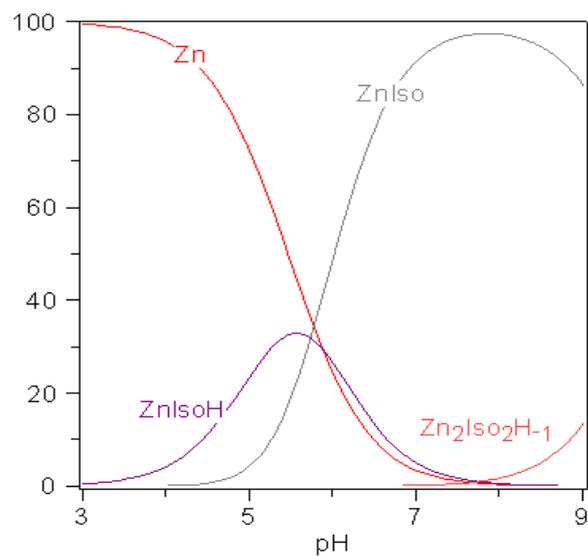


Figura 59: Curva de distribuição de espécies em função do pH para o sistema Zn(II): **H₂L1** na proporção 1:1. [**H₂L1**] = 2 mmol L⁻¹.

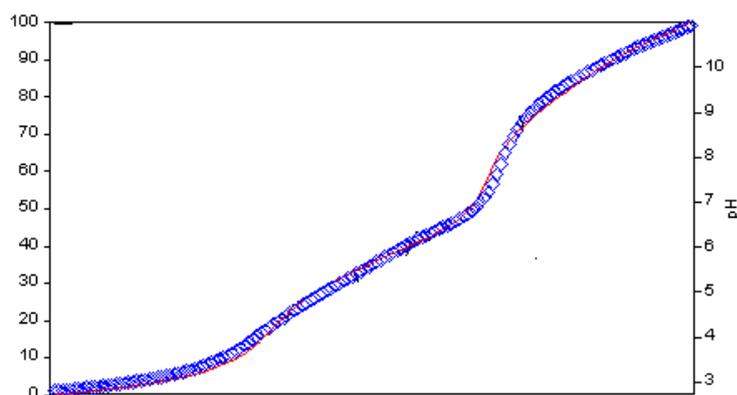


Figura 60: Curva de titulação experimental (em azul) e simulada (em vermelho) para o sistema Zn(II):**H₂L1** na proporção 1:2.

Porcentagem das espécies

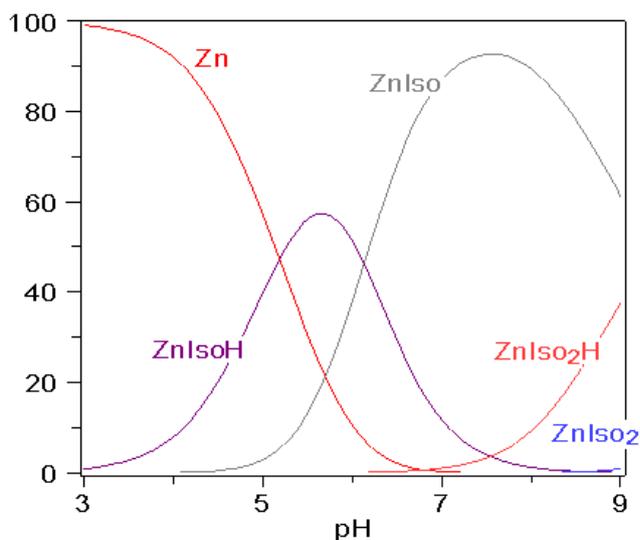


Figura 61: Curva de distribuição de espécies em função do pH para o sistema Zn(II):H₂L1 na proporção 1:2. [H₂L1] = 2 mmol L⁻¹.

Os cálculos envolvendo as curvas de titulação teórica e experimental conduziram à excelente concordância de modo que foram obtidas várias constantes de estabilidade dos complexos formados em cada sistema. Na Tabela 9, são mostradas as constantes de estabilidade condicionais obtidas, considerando a força iônica do meio de 0,100 mol L⁻¹ e temperatura de 25 °C.

Tabela 9: Constantes de estabilidade condicional obtidas para o sistema Zn(II):H₂L1 considerando a força iônica do meio de 0,100 mol L⁻¹ e temperatura de 25 °C.

Equilíbrio	log β (log K)
M + L + H ⇌ MLH	18,16 ± 0,04 (5,72 ± 0,04)
M + L ⇌ ML	12,44 ± 0,01
M + 2 L + H ⇌ ML ₂ H	27,20 ± 0,05 (10,60 ± 0,05)
M + 2 L ⇌ ML ₂	16,60 ± 0,06 (4,16 ± 0,06)
2 M + 2 L + OH ⇌ M ₂ L ₂ OH	17,44 ± 0,04

Na Tabela 9, MLH corresponde à espécie $ZnIsoH$, ML à $ZnIso$, ML_2H à $ZnIso_2H$, ML_2 à $ZnIso_2$ e M_2L_2OH à $ZnIso_2H_{-1}$. Observou-se que em ambas as proporções foram identificadas as espécies MLH e ML, mas levando em consideração que na proporção 1:1 é termodinamicamente mais favorável para a formação delas (de acordo com a estequiometria de cada uma, que também é 1:1), os valores das constantes reportados para as duas espécies foram, então, os obtidos na razão 1:1. No entanto, aqueles observados para o sistema 1:2 foram semelhantes aos do sistema 1:1, correspondendo, respectivamente, a $18,45 \pm 0,05$ e $12,32 \pm 0,05$.

As titulações para as duas proporções foram efetuadas até pH próximo a 11, no entanto a curva de distribuição de espécies foi construída até pH 9, que é o maior valor encontrado nas condições fisiológicas. Através da curva, nota-se que a espécie ML predomina no pH tipicamente fisiológico (7,4) em ambas as proporções.

De acordo com a curva de distribuição de espécies e partindo-se da proposta estrutural obtida a partir do complexo de $Zn(II)$ com o ligante H_2L1 , onde o íon estaria em um ambiente pentacoordenado, sendo os átomos doadores o nitrogênio do anel quinolínico, o nitrogênio da azometina, o oxigênio da carbonila e dois íons cloreto, conforme as outras técnicas analíticas mostraram, propôs-se as seguintes estruturas para as espécies predominantes em cada faixa de pH observada:

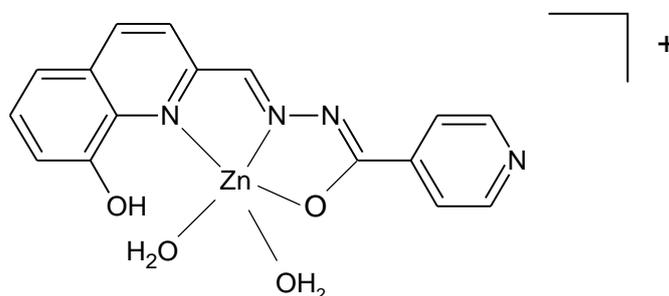


Figura 62: Proposta estrutural para a espécie MHL

Inicialmente, os sítios de coordenação que seriam ocupados pelos íons cloreto no estado sólido são ocupados por moléculas de água. Por sua vez, o

próton liberado refere-se ao do nitrogênio do grupo amida (porção hidrazônica) ao invés do próton fenólico. Isso porque, apesar de ter sido identificado no ligante puro que o próton fenólico é o mais ácido, ele não se encontra nas proximidades da esfera de coordenação do íon. Como se observa nessa estrutura proposta, tanto o nitrogênio da azometina como o oxigênio da carbonila estão diretamente coordenados ao íon zinco, sendo o nitrogênio do grupo amida, que estava protonado no ligante, é vizinho desses átomos doadores. Uma vez que a coordenação implica deslocamento de densidade eletrônica em direção ao íon metálico, isso contribuiria para o enfraquecimento da ligação NH e, por sua vez, maior acidez para esse grupo nesse contexto, implicando a formação da espécie enolizada e originando a espécie MLH, que predomina entre o pH 5 e 6. Sob outra perspectiva, forma-se um sistema M(HL 1).

Em seguida, observa-se a predominância da espécie ML entre pH 6 e 9. Essa espécie corresponde à M(L1), em que o ligante estaria completamente desprotonado. Ela apresentou $\log\beta$ igual a 12,43 e é mostrada na Figura 63.

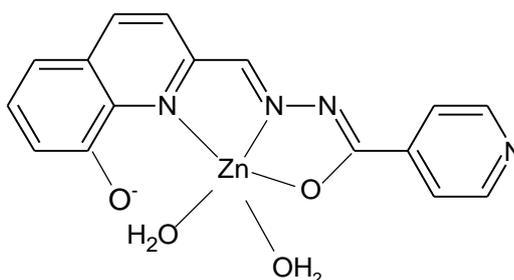


Figura 63: Proposta estrutural para a espécie ML.

Segundo essa proposta, ocorreria, nestas condições, a desprotonação na porção fenólica do ligante, apesar de não ser sugerida coordenação ao íon através do oxigênio do fenolato. Neste caso, um fator que contribuiria para que ocorresse essa desprotonação seria a formação de uma ligação de hidrogênio com a molécula de água coordenada ao íon, o que contribuiria para o enfraquecimento da ligação OH no grupo fenólico e, conseqüentemente, desprotonação nesse sítio. Nesta condição, tem-se o seguinte valor de $\log K_1$:

$$\log\beta_{MHL} - \log\beta_{ML} = 5,72$$

O valor calculado é comparável àqueles observados por Y. Shimazaki *et al* em seus estudos envolvendo complexos de zinco com grupos fenolatos.⁹⁸

Na proporção 1:1 foi proposta a espécie dimerizada M_2L_2OH a partir de pH 7, mas com maior predominância em pH 9. A constante de estabilidade condicional para ele é de 17,44. Essa espécie pode ser formada a partir da dimerização da espécie ML, que é eletricamente neutra, fato que contribui para a aproximação dessas moléculas e posterior dimerização. Assim, M_2L_2OH corresponderia à $M_2(L1)_2(OH)$. Nessa ocasião, uma vez que se está em pH mais elevado, é razoável a ocorrência da desprotonação da molécula de água,⁹⁸ sendo justificável, neste caso, a formação dessa espécie hidrolisada.

As espécies binárias ML_2H e ML_2 foram propostas na proporção 1:2, sendo que a primeira corresponde a $M(HL1)L$. Conforme mostrado na curva de distribuição de espécies referente a essa proporção, essas espécies começam a predominar em meio mais básico, próximo a pH 9. As estruturas propostas para tais espécies são apresentadas a seguir nas Figuras 64 e 65:

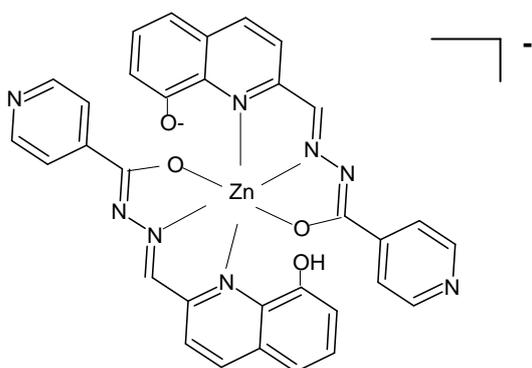


Figura 64: Proposta estrutural para a espécie ML_2H .

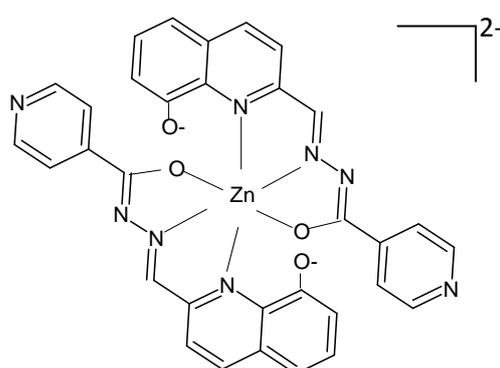


Figura 65: Proposta estrutural para a espécie ML_2 .

Cada proposta foi feita levando-se em consideração que nas condições mais básicas do meio há a desprotonação do grupo fenólico. No equilíbrio envolvido entre as espécies ML_2H e ML_2 , observa-se que o valor do pK é 10,60. Assim, observa-se que diferença entre as constantes, conforme descrito abaixo, é próxima ao valor do $\log K_{a1}$ 9,847 atribuído ao grupo fenólico no ligante puro. Isso é uma evidência experimental de que esse grupo, nessas condições reacionais, se desprotona.

Assim, tem-se:

$$\log K = \log \beta_{ML_2H} - \log \beta_{ML_2} = 10,60$$

5.4. **Cu(II) e 8-hidroxiquinolina-2-carboxaldeído isonicotinoil hidrazona (H₂L1)**

De modo similar à determinação das constantes de formação dos complexos de zinco, aquelas que envolveram o íon Cu(II) foram realizadas nas proporções metal:ligante 1:1 e 1:2, sendo escolhidas pelo mesmo critério anterior. No entanto, um fator que dificultou a titulação envolvendo a proporção 1:1 foi a intensa hidrólise no meio reacional, mesmo com a medida tomada previamente de se acidificá-lo. Nas primeiras tentativas de titulação, trabalhou-se com 1mmol de íon Cu(II) para cada 1 mmol do ligante, mas a intensa precipitação no meio dificultou a continuidade da titulação. Como uma alternativa, trabalhou-se com 0,5 mmol de cada reagente, de modo a manter a proporção 1:1, mas tentando-se adiar a precipitação no meio reacional, pois a concentração das espécies era menor, fato que dificultaria que o produto iônico se igualasse ao produto de solubilidade, ou seja, tentando fazer com $K_i < K_{ps}$ (em que K_i representa o produto iônico e K_{ps} o produto de solubilidade). Apesar dessa tentativa, a hidrólise ainda era significativa, porém foi efetuada uma melhor titulação nessa nova condição.

Uma consequência desse fato foi a impossibilidade de se efetuarem os cálculos das constantes de formação das espécies presentes em tal proporção, apesar de inúmeras tentativas, em que várias espécies coerentes com a proporção 1:1 eram utilizadas nos cálculos feitos, mas em nenhuma das vezes alcançava-se uma concordância minimamente razoável entre a curva de titulação simulada e a experimental. Felizmente para a proporção metal:ligante 1:2, apesar da evidência de hidrólise, foi possível a realização da titulação e dos cálculos das constantes de formação das espécies.

As espécies hidrolisadas utilizadas para o cálculo das constantes de formação constam na Tabela 10 a seguir. Novamente, não foram encontradas na literatura as constantes de formação de espécies hidrolisadas do íon Cu(II) em meio água/etanol, de modo que foram levadas em conta espécies formadas em meio aquoso, a 25 °C e em força iônica de 0,100 mol L⁻¹.

Tabela 10: Constantes de formação das espécies hidrolisadas de Cu(II) (as cargas foram omitidas).⁹⁹

Espécie	$-\log\beta$
CuOH	7,44
Cu ₃ (OH) ₄	21,62
Cu ₂ (OH)	6,22
Cu ₃ (OH) ₂	10,12
Cu ₂ (OH) ₂	11,35

Nas Figuras 66 e 67 são apresentadas as curvas de titulação experimental e teórica para a titulação da proporção 1:2, bem como a curva de distribuição de espécies.

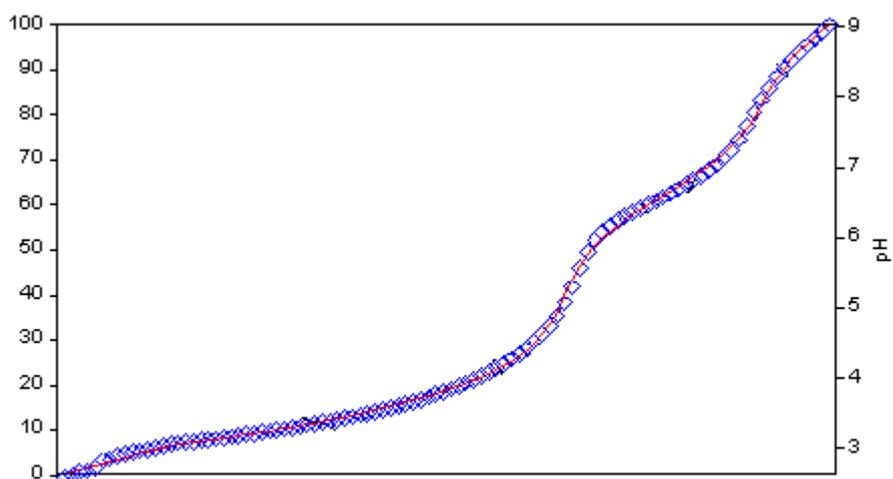


Figura 66: Curva de titulação experimental (em azul) e simulada (em vermelho) para o sistema Cu(II):H₂L1 na proporção 1:2. [H₂L1] = 2 mmol L⁻¹.

Porcentagem de espécies

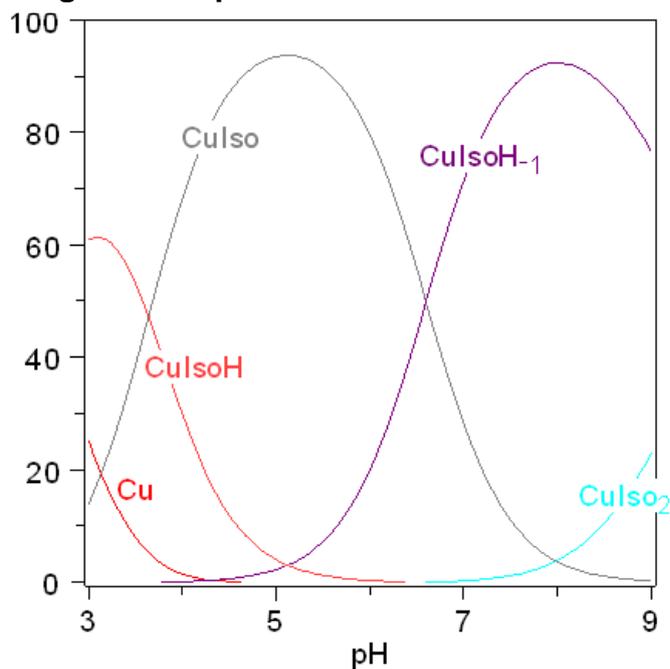


Figura 67: Curva de distribuição de espécies em função do pH para o sistema Cu(II): H₂L1 na proporção 1:2. [H₂L1] = 2 mmol L⁻¹.

Observa-se excelente concordância entre as curvas de titulação teórica e experimental, o que propiciou o cálculo das constantes de estabilidade dos complexos formados no sistema, como mostrado na Tabela 11.

Tabela 11: Constantes de estabilidade condicional obtidas para o sistema Cu(II):H₂L1 considerando a força iônica do meio de 0,100 mol L⁻¹ e temperatura de 25 ° C.

Equilíbrio	log β (log K)
$M + L + H \rightleftharpoons MLH$	21,08 ± 0,01 (3,64 ± 0,01)
$M + L \rightleftharpoons ML$	17,436 ± 0,006
$M + L + OH \rightleftharpoons MLOH$	10,836 ± 0,007
$M + 2 L \rightleftharpoons ML_2$	25,30 ± 0,02 (7,66 ± 0,02)

A espécie MLH equivale à CuSO_4H , ML à CuSO_4 , MLOH à $\text{CuSO}_4\text{H}_{-1}$ e CuSO_4 à ML_2 . As espécies MLH, ML e MLOH foram observadas e bem determinadas nesta proporção, apesar de a proporção 1:1 ser termodinamicamente mais favorável para a determinação de espécies nesta razão.

A partir da curva de distribuição de espécies, verificou-se que em pH 3 já há um grande percentual de íon Cu(II) coordenado, predominando a espécie MLH. Em seguida, a espécie ML torna-se bem presente, com máxima predominância a pH 5. Após, a espécie MLOH predomina de pH próximo a 7,4 até 9, que foi o pH final da titulação. Um pequeno, mas significativo percentual de ML_2 passa a se apresentar a partir de pH 7.

As propostas estruturais para as espécies no sistema com cobre (II) são mostradas nas Figuras 68, 69, 70 e 71. Na espécie MHL, que corresponde à M(HL)1 , considera-se que o ligante esteja se comportando como bidentado, coordenando-se através do fenolato e do nitrogênio quinolínico. Em pH mais elevado ocorreria a desprotonação no nitrogênio hidrazônico, que no ligante é mais básico, implicando enolização. Além disso, nesta espécie, o ligante passaria a ter comportamento tridentado, agora se coordenando, pelo nitrogênio da azometina, e oxigênio carbonílico, conforme mostrado na Figura 69.

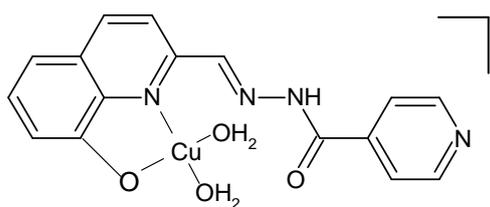


Figura 68: Proposta estrutural para a espécie MLH.

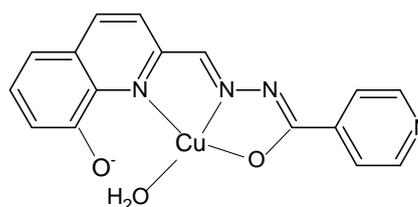


Figura 69: Proposta estrutural para a espécie ML.

Comparando-se as propostas das espécies MLH e ML é sugerida uma esfera de coordenação bem distinta. O valor da constante de estabilidade calculado para ML (17,436) está bem acima daquele observado por L. E. Maley e D.P. Mellor em seus estudos sobre constantes de estabilidades para complexos derivados da 8-hidroxiquinolina, que é um ligante bidentado onde a coordenação ocorre apenas envolvendo o nitrogênio quinolínico e o oxigênio do fenolato.¹⁰⁰ Caso a coordenação em nossa espécie ML ocorresse pelos mesmos

sítios observados pelos autores citados, seriam esperados valores similares, uma vez que a porção hidrazônica não influenciaria de modo significativo. No entanto, o valor elevado de nossa constante sugere que os átomos doadores não predominem mais na porção quinolínica e, sim, na hidrazônica, permitindo a formação de uma espécie tridentada, justificando a constante de formação relativamente elevada.

Para a espécie MLOH, propõe-se a seguinte estrutura da Figura 70:

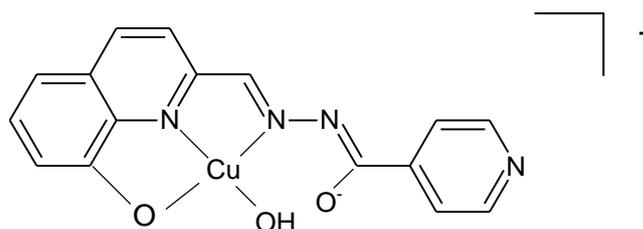


Figura 70: Proposta estrutural para a espécie MLOH.

Assim, em pH mais elevado, onde ocorre a predominância dessa espécie, deve ocorrer a hidrólise da água coordenada.

A espécie binária ML_2 apresentaria a seguinte estrutura:

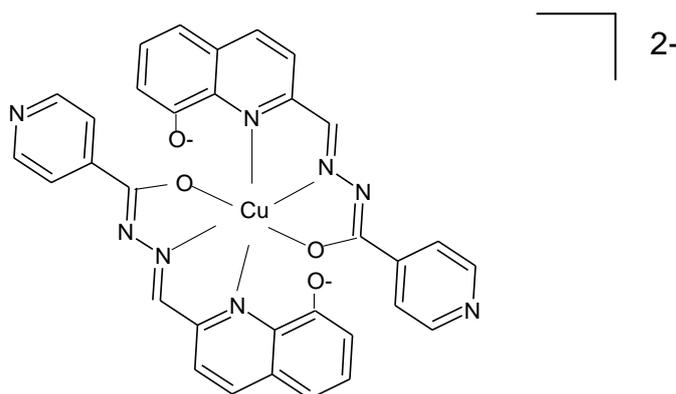


Figura 71: Proposta estrutural para a espécie ML_2 .

Nela, os dois grupos fenólicos apresentam-se desprotonados, compatível com o fato de que a pH mais elevado a desprotonação do grupo é mais favorecida.

Uma tendência importante pode ser observada a partir da comparação entre as constantes de estabilidade das espécies MLH, ML e ML₂, existentes nos sistemas com Cu(II) e Zn(II). A Tabela 12 mostra as constantes em destaque.

Tabela 12: Comparação entre as constantes de estabilidade condicional obtidas para o sistema Cu(II):H₂L1 e Zn(II):H₂L1.

Espécie Identificada	log β
CulsoH	21,08 ± 0,01
Culso	17,44± 0,006
Culso ₂	25,30 ± 0,02
ZnlsoH	18,16 ± 0,04
Znlso	12,43 ± 0,01
Znlso ₂	16,60 ± 0,06

Observa-se que as espécies com o íon cúprico mostram-se mais estáveis, conforme prevista pela série de Irving-Williams. Esse fato é esperado se for levado em conta a influência estabilizante devida ao efeito Jahn-Teller que esse íon apresenta, de modo que as quatro ligações equatoriais são mais fortalecidas, conforme já discutido.¹⁰¹

5.5. 5-bromoindol-3-carboxaldeído isonicotinoíl hidrazona (**HL2**)

As curvas de titulação para o ligante quando puro e em meio ácido, assim como a curva de distribuição de espécies são apresentadas nas Figuras 72, 73, 74 e 75, indicadas a seguir:

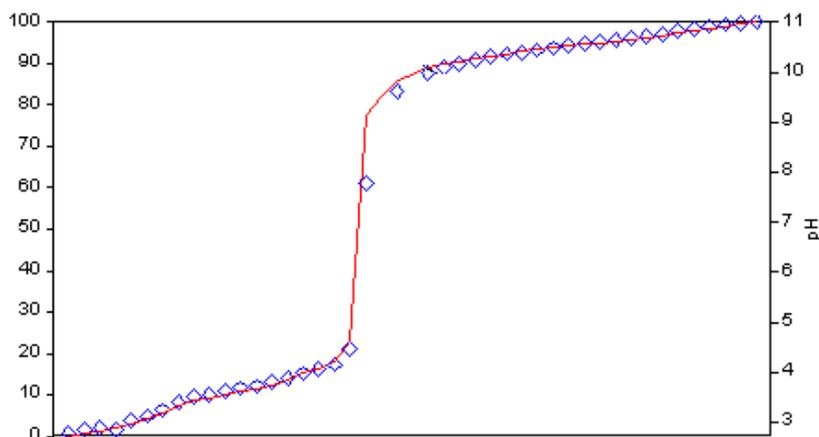


Figura 72: Curva de titulação experimental (em azul) e simulada (em vermelho) para o ligante **HL2** em meio ácido.

Porcentagem de espécies

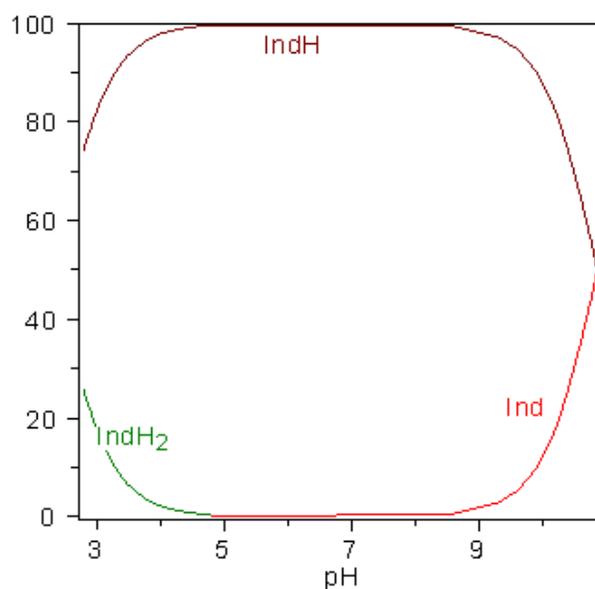


Figura 73: Curva de distribuição de espécies em função do pH para o ligante **HL2** em meio ácido. $[\text{HL2}] = 1 \text{ mol L}^{-1}$.

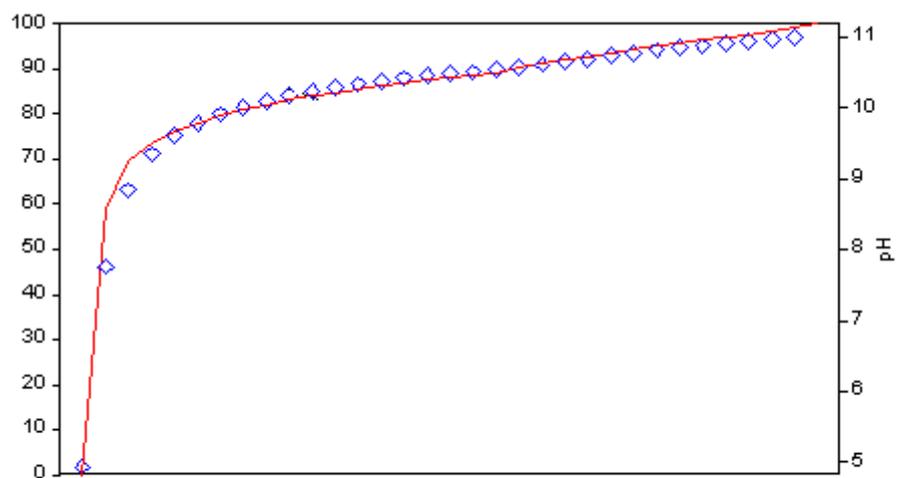


Figura 74: Curva de titulação experimental (em azul) e simulada (em vermelho) para o ligante **HL2** quando puro.

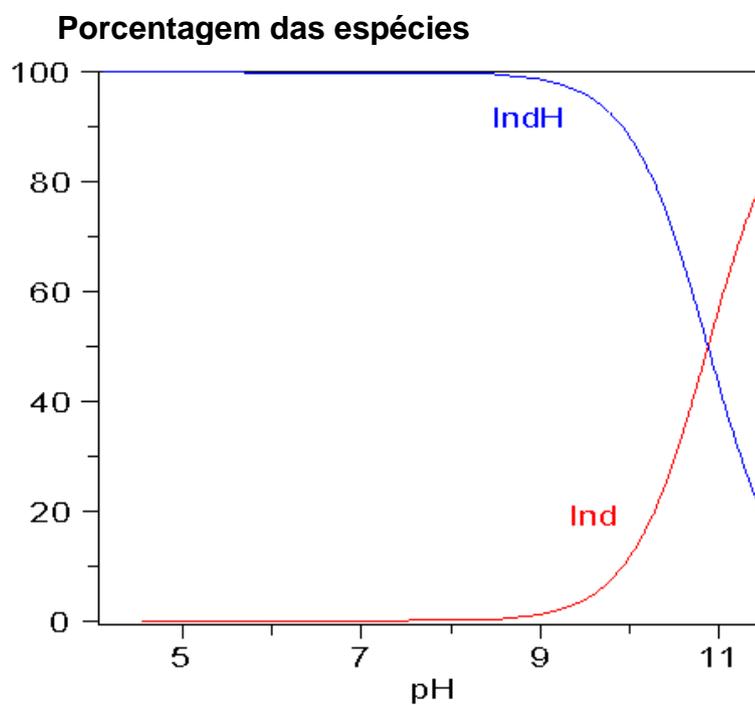


Figura 75: Curva de distribuição de espécies em função do pH para o ligante **HL2** quando puro. $[HL2] = 1 \text{ mol L}^{-1}$.

As curvas de titulação experimental e teórica estão em boa concordância e, como para **H₂L1**, pode-se afirmar que o ligante não foi hidrolisado. Na análise da curva de distribuição de espécies, IndH representa o ligante **HL2** em sua forma totalmente protonada, havendo predomínio da forma desprotonada Ind somente próximo a pH 11, ou seja, no meio biológico, a forma totalmente protonada teria cerca de 100% de predominância, se não houvesse interação com outras espécies presentes.

Na Tabela 13, mostrada a seguir, tem-se os valores do logaritmo das constantes de protonação do ligante puro.

Tabela 13: Constante de protonação do ligante **HL2**.

Condição reacional	log Ka
Ligante puro	10,880 ± 0,02

A estrutura do ligante é mostrada a seguir na Figura 76.

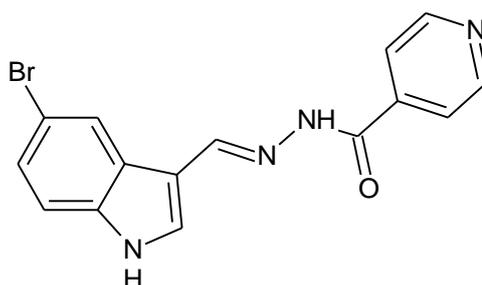


Figura 76: Estrutura do ligante **HL2**.

O ligante, apesar de protonado no nitrogênio indólico e amídico, mostrou apenas uma constante de protonação na titulação quando puro. Similarmente ao **H₂L1**, essa foi atribuída ao nitrogênio amídico, concordando, como já discutido, com o valor de log Ka observado para compostos análogos.^{90,101} Quanto à curva de distribuição de espécies em meio ácido, observa-se a espécie IndH₂. De modo similar ao caso de **H₂L1** um significativo abaixamento do pH do meio possibilitaria a protonação de outros sítios. O valor de log Ka calculado, neste caso, correspondeu a 2,3265 ± 0,05 e é atribuído ao . nitrogênio piridínico.⁹⁷

5.6. Tentativas de titulações potenciométricas de **HL2** com os íons **Cu(II)** e **Zn(II)**

Como mencionado na seção Experimental desse trabalho, as titulações potenciométricas envolvendo o ligante **HL2** foram feitas partindo-se de 0,05 mmol dele solubilizados em 50,00 mL de solvente devido à menor solubilidade quando comparado ao primeiro ligante. Essa menor concentração pode ter contribuído para que espécies importantes no equilíbrio não fossem formadas ou, se formadas, não pudessem ser identificadas, uma vez que estariam em concentrações muito baixas.

Além disso, ao longo das titulações envolvendo os íons metálicos, a hidrólise nos sistemas nas proporções metal:ligante avaliadas (que foram idênticas àquelas proporções para o primeiro ligante).foi bastante significativa. No caso da proporção **Cu(II):HL2** 1:1 a hidrólise foi a mais intensa. Com uma hidrólise de grande relevância, a disponibilidade dos íons metálicos e, por sua vez, a probabilidade de espécies de interesse se formarem em maior concentração fica muito reduzida.

Assim, houve uma grande dificuldade, dentro das inúmeras tentativas de titulação realizadas, de se obter um número de pontos confiáveis para o cálculo das espécies em equilíbrio, já que não se observou a reprodutibilidade dos resultados. Mesmo com os pontos obtidos considerados confiáveis, que foram cerca dos dez primeiros deles, levando como critério que a hidrólise teria menor influência, não foi possível o cálculo das constantes de maneira confiável e reprodutível.

Nas Figuras 77 e 78, mostradas abaixo, tem-se as curvas de titulação para as proporções 1:1 e 1:2 para ambos os íons comparadas com as curvas de titulação do ligante **HL2**. Nela, verifica-se significativa diferença entre as curvas do ligante em relação àquelas com a presença dos íons. No entanto, as curvas obtidas poderiam corresponder a apenas curvas de hidrólise do íon metálico, de modo que espécies essencialmente provenientes da interação do íon metálico com o ligante, não estariam presentes. Logo, não se pode afirmar que houve coordenação do ligante aos íons em estudo. Essa dificuldade foi evidenciada uma vez que tentou-se inúmeras vezes a realização de cálculos de refinamentos

sucessivos em que espécies compatíveis com os sistemas em estudo eram propostas, e mesmo assim não se obteve êxito em nenhuma das tentativas.

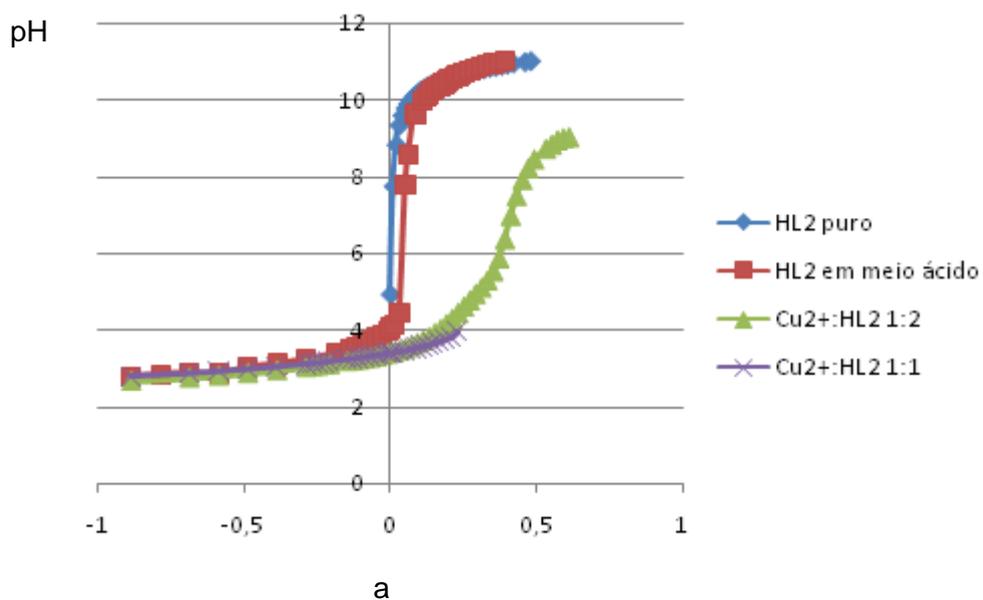


Figura 77: Curvas de titulação do ligante **HL2** comparadas às curvas envolvendo o íon Cu(II) nas proporções 1:1 e 1:2. O valor da abscissa 'a' foi calculado de tal maneira que a quantidade zero (0) correspondesse ao volume de solução básica (titulante) suficiente para neutralizar todo ácido que fora previamente adicionado ao sistema, conforme descrito na seção Experimental.

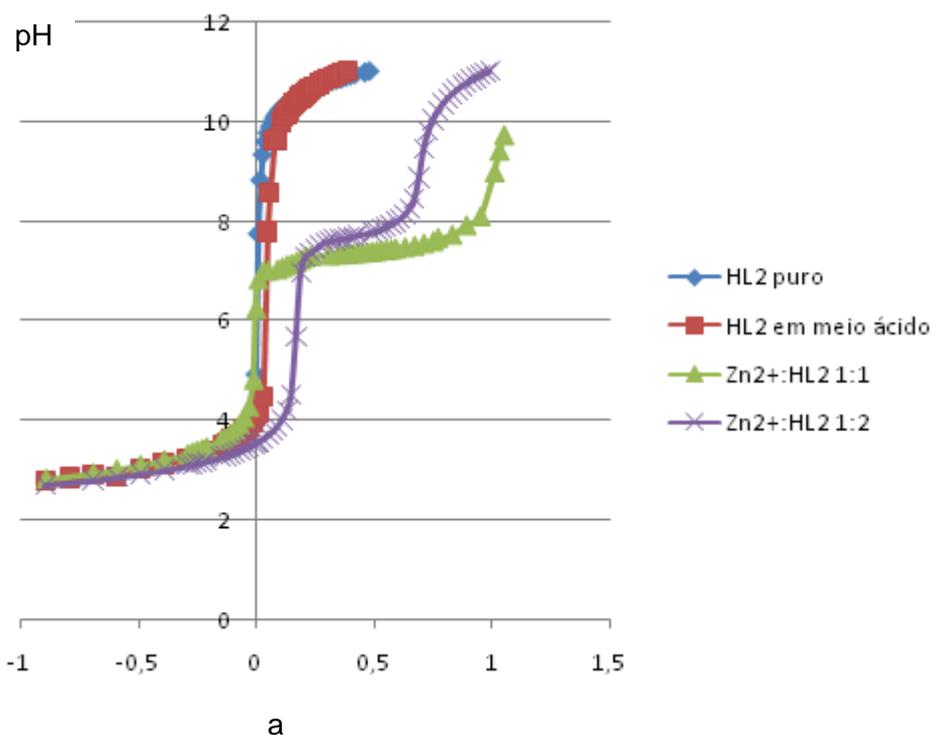


Figura 78 Curvas de titulação do ligante **HL2** comparadas às curvas envolvendo o íon Zn(II) nas proporções 1:1 e 1:2. O valor da abscissa 'a' foi calculado de tal maneira que a quantidade zero (0) correspondesse ao volume de solução básica (titulante) suficiente para neutralizar todo ácido que fora previamente adicionado ao sistema, conforme descrito na seção Experimental.

6 Resultados e Discussão

Investigação, *in vitro*, das interações com os sistemas Cu(II)-A β e Zn(II)-A β

Estes estudos foram realizados através de experimentos de RMN uni- (^1H) e bidimensionais (^1H - ^{15}N HSQC), no “Laboratorio de Biología Estructural y Molecular de Enfermedades Neurodegenerativas”, Rosario, Argentina. Devido à baixa solubilidade de **HL2**, os ensaios só foram realizados com **H₂L1**.

A Figura 80 apresenta os resultados de ^1H - ^{15}N HSQC.

Como descrito em publicações anteriores,¹⁰² as mudanças espectrais observadas no espectro do peptídeo A β após a adição Zn(II) ou Cu(II) são centradas nos resíduos His6, His13 e His14, indicando claramente o

envolvimento dos seus anéis imidazólicos na coordenação aos metais, como mostrado nas Figuras 79a-a e 79b-a.

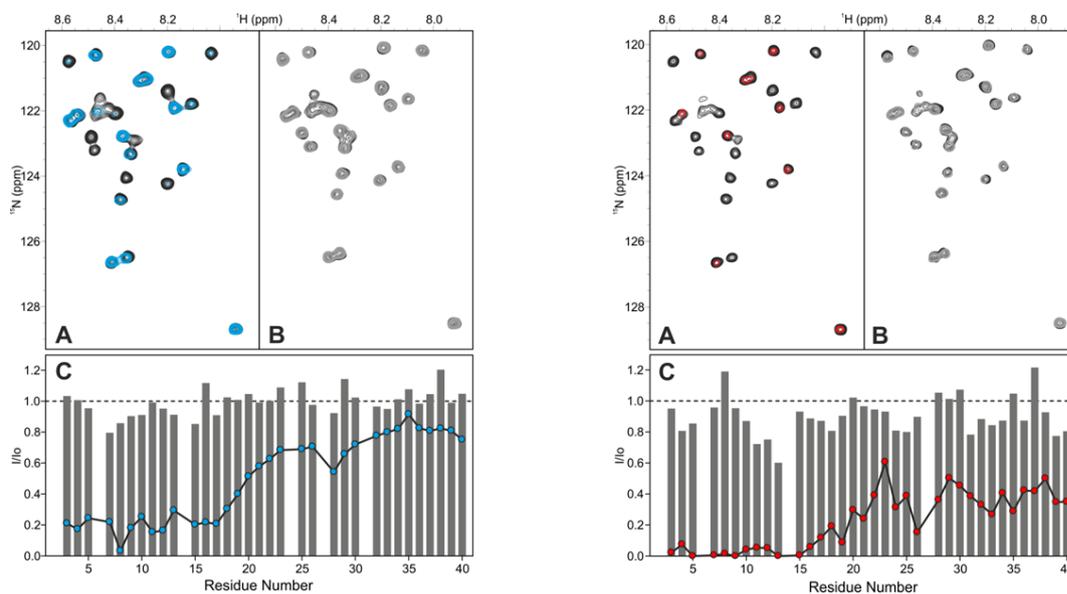


Figura 79a. Efeito do composto MPAC sobre o complexo $A\beta$ -Cu(II). **A.** Gráficos de contorno sobrepostos para os espectros de ^1H - ^{15}N HSQC da $A\beta$ ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência (preto) e na presença (azul) de um equivalente de Cu(II). **B.** Gráficos de contorno sobrepostos dos espectros de ^1H - ^{15}N HSQC da $A\beta$ livre ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) (preto) e aquele obtido na presença de 1 equivalente de Cu(II) seguido pela adição de 5 equivalentes do MPAC (cinza). Todos os experimentos foram realizados em tampão TRIS pH 7.4, a 5°C . **C.** Plotagem da intensidade I/I_0 para as ressonâncias de $A\beta$ na presença de 1 equivalente de ions Cu(II), antes (pontos azuis) e depois (barras cinzas) da adição de 5 equivalentes do MPAC.

Figura 79b. Efeito do composto MPAC sobre o complexo $A\beta$ -Zn(II). **A.** Gráficos de contorno sobrepostos para os espectros de ^1H - ^{15}N HSQC da $A\beta$ ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência (preto) e na presença (vermelho) of 1 equivalent of Zn(II). **B.** Gráficos de contorno sobrepostos dos espectros de ^1H - ^{15}N HSQC da $A\beta$ livre ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) (preto) e aquele obtido na presença de 1 equivalente de Zn(II) seguido pela adição de 5 equivalentes do MPAC (cinza). Todos os experimentos foram realizados em tampão TRIS pH 7.4, a 5°C . **C.** I Plotagem da intensidade I/I_0 para as ressonâncias de $A\beta$ na presença de 1 equivalente de ions Zn(II), antes (pontos vermelhos) e depois (barras cinzas) da adição de 5 equivalentes do MPAC.

De forma interessante, a adição de quantidades sucessivas de **H₂L1** compete eficientemente pela ligação aos íons Zn(II) e Cu(II), removendo completamente as perturbações no esqueleto de ligações peptídicas de A β induzidas pelos metais após a adição de 5 equivalentes do composto. Este experimento demonstra claramente que **H₂L1** é capaz de bloquear as interações dos íons Zn(II) e Cu(II) com o peptídeo β -amilóide. Além disso, como pode ser visto na Figura 80, este composto não interage diretamente com o peptídeo A β , o que sugere que, de fato, o mecanismo de recuperação dos sinais de RMN se dá através do sequestro dos íons metálicos por **H₂L1**.

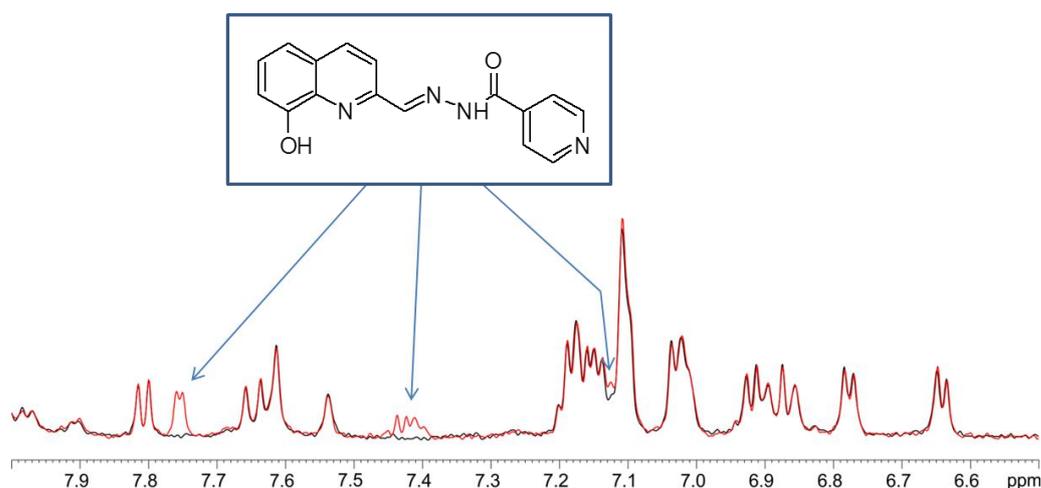


Figura 80: Espectro de RMN de ¹H do peptídeo A β em presença (vermelho) e ausência (preto) do ligante **H₂L1**.

De fato, é razoável acreditar que o sequestro dos íons metálicos por **H₂L1** é passível a acontecer. Isso porque, comparando-se os valores de log K_{ML} obtidos a partir do estudo potenciométrico para os sistemas Cu(II):**H₂L1** e Zn(II):**H₂L1** com dados obtidos da literatura para de log K_{ML} envolvendo sistemas Cu(II):A β e Zn(II): A β , observa-se que as constantes de estabilidade para a interação metal:**H₂L1** são bem maiores que aquelas para a interação metal:A β , conforme indicado na Tabela 14. Isso mostra que, de fato, **H₂L1** forma complexos bem mais estáveis com estes íons, o que justifica a remoção destes do peptídeo.

Tabela 14: Comparação entre os valores de $\log K_{ML}$ para a interação metal:**H₂L1** com aqueles para interação metal:A β .

Interação	$\log K_{ML}$	Técnica	Condições experimentais
Cu(II):A β_{1-16}	9,68 ¹⁰³	Potenciometria	$I = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (KNO ₃), 25 °C.
Zn(II):A β_{1-40}	4,23 ¹⁰⁴	Fluorescência	Tampão 10 mmol L ⁻¹ , 100 mmol L ⁻¹ NaCl / pH 7,4
Cu(II): H₂L1	17,44	Potenciometria	$I = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (KCl), 25 °C.
Zn(II): H₂L1	12,43	Potenciometria	$I = 0,10 \text{ mol L}^{-1}$ (KCl), 25 °C.

7

Resultados e Discussão

Análise farmacológica *in silico* para os ligantes **H₂L1** e **HL2**

A análise farmacológica *in silico* é um estudo de fundamental importância para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, tendo como objetivo a previsão das características farmacocinéticas e farmacodinâmicas de novas moléculas com possíveis ações farmacológicas.¹⁰⁵

A farmacocinética corresponde ao movimento temporal do fármaco no organismo, sendo dividida em processos como absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade, ou seja, todas as etapas que incluem aquilo que o organismo faz com o fármaco. Já a farmacodinâmica estuda as interações do fármaco com os diversos alvos biológicos e seus efeitos decorrentes das ações agonistas (quando um fármaco liga-se a um receptor na membrana celular, ativando-o) ou antagonistas (quando o fármaco liga-se a um receptor impedindo que outra substância biológica que o ativaria exerça essa função), ações que alteram as funções moleculares e celulares correspondentes desempenhando a ação terapêutica esperada. Em outras palavras, os processos que o exercidos pelo fármaco no organismo.¹⁰⁵

Nesse estudo, fez-se a análise farmacológica teórica de absorção e permeabilidade celular, toxicidade e metabolismo dos ligantes **H₂L1** e **HL2**.

7.1. Absorção e permeabilidade celular

A absorção de um fármaco e posterior permeabilidade celular (passagem pela membrana celular acontece por processos passivos ou por mecanismos facilitados por componentes da membrana, como os canais protéicos.¹⁰⁶ O processo de absorção foi dividido em 3 etapas: absorção por via oral, solubilidade e permeabilidade celular e/ou permeabilidade pela barreira hematoencefálica. Para a obtenção desses resultados foi utilizado o método 1D-QSAR (Relação Quantitativa Estrutura-Atividade) em associação com a regra de Lipinski.

A análise de QSAR corresponde a um estudo que relaciona a estrutura molecular com sua atividade farmacológica. Os parâmetros mais importantes obtidos são: Log P, Log S e pKa. O log P corresponde ao coeficiente de partição (ou equilíbrio hidrofílico-lipofílico), ou seja, a razão da concentração de uma substância na fase orgânica e na fase aquosa, com o objetivo e prever a afinidade do fármaco em ambos os meios a uma temperatura de 25 a 37°C. O log S refere-se à solubilidade do fármaco nos líquidos corporais, preferencialmente o estômago e intestino. Para ser absorvido, o fármaco deve ser solúvel nesses líquidos, no entanto, deve apresentar lipofilicidade adequada para ser permeável à membrana celular. O pKa nos processos farmacocinéticos refere-se ao pH onde 50% do fármaco está na forma ionizada e 50% na forma molecular. Quanto maior a proporção do fármaco na forma molecular, melhor sua absorção, uma vez que a forma ionizada é polar e hidrofílica, e, conseqüentemente, não atravessaria com facilidade as barreiras celulares.

Em relação à regra de Lipinski, ela foi desenvolvida por Lipinski e colaboradores fundamentada nas propriedades de aproximadamente 2500 fármacos, tendo como finalidade prever a biodisponibilidade do fármaco por via oral, sua permeabilidade celular e pela barreira hematoencefálica.¹⁰⁷⁻¹¹¹

Os dados calculados para os ligantes **H₂L1** e **HL2** foram comparados com aqueles de fármacos utilizados nos casos de sobrecarga de íon férrico no organismo⁶, que são a desferrioxamina (DFO) e a deferiprona, bem como os agentes quelantes clioquinol e PBT2 (um derivado do clioquinol que tem sido testado e tem mostrado resultados promissores para a terapia da doença de

Alzheimer⁶). As estruturas desses compostos, exceto de PBT2, foram apresentadas na seção “Introdução” deste trabalho (Figuras 1,16 e 17).

A Tabela 15 apresenta os resultados obtidos a partir da análise de Lipinski para os ligantes em estudo nesse trabalho comparadas aos compostos supracitados.

Tabela 15: Parâmetros físico-químicos calculados para predição na absorção e permeabilidade celular de acordo com as regras de Lipinski.

Ligantes/Parâmetros	HBD	HBA	MM	Log P	Log S	PSA
H₂L1	2	6	292	2.34	-3.36	66.077
HL2	2	5	342	2.99	-4.29	50.155
Comparando						
Clioquinol	1	2	305	3.54	-3.78	24.910
PBT2	1	3	244	2.90	-3.04	48.919
DFO	5	14	561	-1.66	-2.23	183.338
Deferiprona	2	3	111	0.14	-1.05	46.107
Valores Referenciais						
BHE	≤ 3	≤ 7	≤ 400	-1 a 5	≥ -4	≤ 90 Å
Permeabilidade celular	≤ 5	≤ 10	≤ 500	-1 a 5	≥ -4	≤ 140 Å

Nessa tabela, HBD indica os átomos que podem se ligar por ligação de hidrogênio por doação; HBA os átomos que podem se ligar por ligação de hidrogênio por acepção; MM é a massa molar; Log P é o coeficiente de partição, solubilidade hidrófilo-lipófilo; Log S é a solubilidade aquosa e PSA é a área de superfície polar.

Quanto ao parâmetro HBD e HBA seus valores são importantes uma vez que moléculas que apresentam um grande número de receptores ou doadores por ligação de hidrogênio são de grande relevância para interagir com alvos biológicos, de modo que o tempo de ação no organismo torna-se aumentado. Por exemplo, no caso de interação com as proteínas plasmáticas, uma vez que elas funcionam como meio de reserva, auxiliando na liberação gradual do fármaco e aumentando sua meia-vida de eliminação e distribuição.¹¹²

A massa molar está relacionada à facilidade com que um fármaco pode permear a membrana celular. Assim, quanto menor ela for, mais facilmente ele poderia atravessá-la e até mesmo passar pelos poros celulares ou espaço intracelular, chamado de desmossomos. Desse modo, é comum que uma massa molar considerada ideal esteja abaixo de 500 g mol⁻¹.¹¹³

O coeficiente de partição (log P) é considerado um dos parâmetros de maior importância no contexto da permeabilidade celular. Através dele é possível definir a capacidade de o fármaco ser solúvel em meio lipídico e aquoso, sendo importante que ele não apresente uma lipofilicidade altamente elevada, que

ocasionaria a retenção do fármaco no espaço intramembranar celular, que é altamente lipídico. No caso de ser muito hidrofílico, o fármaco não conseguiria entrar num tecido alvo, já que haveria uma dificuldade significativa para atravessar o meio lipídico das membranas.^{112,113}

O parâmetro log S, que avalia a solubilidade do fármaco em meio aquoso, faz-se importante já que para um fármaco ser absorvido, ele deve estar solubilizado nos líquidos corporais do sistema gastrointestinal, além do fato de que uma boa solubilidade no líquido do plasma sanguíneo contribuiria para que o fármaco percorresse toda a região corporal, alcançando todos os tecidos.^{112,113}

Á área de superfície polar (PSA) avalia o grau de polaridade de uma molécula, ou seja, quanto maior a concentração de cargas parciais em alguma região da molécula maior se torna o seu caráter hidrofílico, o que dificultaria a capacidade de penetração lipídica.¹¹³

Quanto à barreira hematoencefálica (BHE), ela é de significativa importância no contexto da doença de Alzheimer, uma vez que potenciais fármacos teriam de atravessá-la para alcançar o cérebro dos pacientes. Ela consiste em uma organização diferenciada das células endoteliais dos capilares cerebrais a fim de proteger o sistema nervoso central de substâncias xenobióticas, que são aquelas que não são naturalmente encontradas em um organismo ou em uma região dele. Nessa barreira, ocorre um agrupamento das células, que se posicionam umas sobre as outras, de modo a formar uma estrutura membranar semipermeável.¹¹⁴

Os valores referenciais da tabela 15 levam em consideração a capacidade de travessia da barreira hematoencefálica e a permeabilidade celular para os ligantes **H₂L1** e **HL2** e para os fármacos destacados. Quanto à travessia da barreira hematoencefálica, evidencia-se que ambos os ligantes são capazes de efetuar esse processo. **HL2** mostrou uma pequena variação do Log S, porém, foi considerada insignificante, não influenciando consideravelmente o transporte pela BHE. O mesmo resultado se aplica às moléculas comparativas, excluindo-se o DFO, que não apresenta possibilidade de transpassá-la. No que tange à permeabilidade, a pequena variação no Log S para o segundo ligante é muito pequena e pode ser desconsiderada, com isso, pode-se concluir que ambos os ligantes são adequados para uma absorção sistêmica e boa distribuição pelos tecidos. Assim como os ligantes em comparação, excluindo-se novamente o DFO.

Em relação ao pKa, os valores calculados são apresentados nas Figuras 81 e 82 mostradas abaixo. Nela são indicadas os pontos suscetíveis a interações e dissociações protônicas.

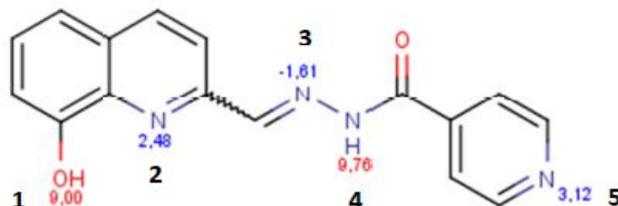


Figura 81: Sítios suscetíveis a interações e dissociações protônicas para **H₂L1**. Em vermelho são apresentados os valores de pKa para os sítios mais básicos identificados teoricamente; em azul, os valores para os sítios mais ácidos.

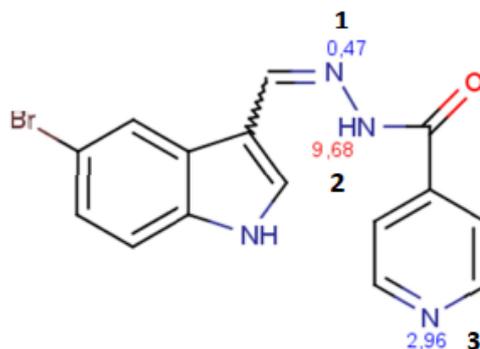


Figura 82.: Sítios suscetíveis a interações e dissociações protônicas para **HL2**. Em vermelho é apresentado o valor de pKa para o sítio mais básico identificado teoricamente; em azul, os valores para os sítios mais ácidos.

Os dados teóricos mostram que o ligante **H₂L1** apresenta cinco pontos passíveis a associações e dissociações protônicas, enquanto **HL2**, três. Experimentalmente, para o primeiro ligante, apenas os dois sítios mais básicos foram identificados: pKa teórico do grupo fenólico igual a 9,00 (experimental igual 9,847); pKa do grupo amídico 9,76 (experimental igual a 10,943). Para **HL2**, um único pKa, correspondente ao do grupo amídico, foi identificado experimentalmente, sendo o valor teórico 9,68 e o experimental 10,880. Conforme a curva de distribuição de espécies para ambos os ligantes, que já foi mostrada e discutida, e de acordo com os resultados teóricos, a forma neutra deles predominaria em uma ampla faixa de pH, incluindo a fisiológica, de modo que isso conservaria a lipofilicidade deles, contribuindo para a melhor absorção e permeabilidade celular.

Outros parâmetros importantes na análise de um potencial fármaco são os *drug-score* e *druglikeness*. O parâmetro *drug-score* é um valor geral resultante da combinação de todos os parâmetros analisados, com isso ele fornece a probabilidade da molécula vir a ser um fármaco comercial. Quanto maior o valor, maior a probabilidade de tornar-se um fármaco comercial. Por sua vez, o parâmetro *druglikeness* é determinado a partir da comparação de fragmentos do composto em análise com uma base de dados de compostos comercializados e com outra base de dados de compostos que não servem como fármacos. Essas análises são realizadas em comparação com 3.300 fármacos comerciais e 15.000 substâncias químicas.¹¹⁹ A Tabela 16, mostrada a seguir, apresenta esses resultados.

Tabela 16: Valores obtidos para os parâmetros *druglikeness* e *drug-score*.

Ligante	<i>druglikeness</i>	<i>drug-score</i>
H₂L1	4.54	0.68
HL2	1.95	0.69
Comparando		
Clioquinol	-0.48	0.19
PBT-2	1.91	0.81
DFO	-2.90	0.12
Deferiprona	3.46	0.97
Valores Referenciais		
Druglikeness	Valor positivo	
Drug-Score	0-1 (1= 100%)	

Em relação ao *druglikeness*, o valor positivo desse parâmetro mostra que ambos os ligantes apresentam similaridade estrutural com fármacos comerciais, o que é um fato favorável. O mesmo resultado se aplica aos ligantes comparativos PBT2 e deferiprona.

Para o *drug-score*, essa análise é crítica, e pode-se dizer que ela sintetiza todos os resultados anteriores em uma probabilidade decisiva em continuar ou não com futuras análises. Como podem ser observados na tabela, os dois

ligantes mostraram valores altos, aproximadamente 70%, valor muito bom e superior em relação a duas moléculas comparativas, como o clioquinol e o DFO, e pouco abaixo das duas outras, no caso o PBT2 e a deferiprona, sendo esta última um fármaco comercial.

Assim, análise teórica indica que ambos os ligantes são interessantes e promissores a se tornarem fármacos comerciais. Esse resultado possibilita concluir que o estudo em relação aos ligantes deve prosseguir para estudos mais complexos, assim como análises *in vivo*.

7.2. Análise de toxicidade

Essa análise foi realizada em comparação a 3.300 fármacos comerciais e 15.000 substâncias químicas. Os parâmetros toxicológicos analisados foram: efeitos mutagênicos, efeitos tumorigênicos, efeitos irritantes e efeitos no sistema reprodutor. Tais análises de predição toxicológica são realizadas de forma comparativa com fragmentos tóxicos de mais de 3000 fármacos comerciais.

As duas moléculas analisadas mostraram-se estruturalmente atóxicas ao organismo, no entanto, **H₂L1** apresentou um fragmento tóxico com potencial mediano de provocar mutagenicidade. Caso esse fragmento seja gerado durante o trajeto farmacocinético, o potencial tóxico deve ser considerado. Devido a isso, a análise de metabolismo foi investigada para prever tal possibilidade.

O fragmento obtido dessa molécula foi considerado mutagênico, ou seja, apresenta a capacidade de promover alteração genética nos cromossomos celulares, podendo iniciar um processo neoplásico. Ele é mostrado logo abaixo, na Figura 83:

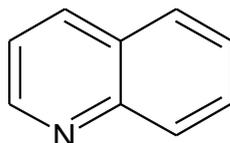


Figura 83: Estrutura da quinolina, fragmento considerado tóxico.

7.3. Análise do metabolismo para H₂L1

O objetivo dessa análise é verificar a possibilidade de formação do fragmento quinolina decorrente do metabolismo hepático pelo citocromo P450. Produtos decorrentes de processos de metabolismo não enzimático, como oxidações, reduções e hidrólises que ocorrem no organismo não estão sendo considerados, uma vez que quase 90% do metabolismo de xenobióticos ocorre por processo de oxidação enzimática pelo citocromo P450.¹¹⁵

Esse metabolismo visa tornar a molécula hidrossolúvel para que ela seja eliminada por via renal. Considerando que grande parte dos fármacos apresenta caráter lipofílico, esse metabolismo é crucial, acontecendo quase que exclusivamente no fígado. As reações são divididas em duas fases: fase I, ou biotransformação, que consiste em reações de oxidação, redução e hidrólise; fase II, ou conjugação, que envolve reações de conjugação com espécies hidrofílicas. Para a fase I, um dos processos metabólicos mais ativos é a oxidação promovida por reações enzimáticas envolvendo o citocromo P450 ou CYP450. A CYP450 é dividida em 5 isoformas mais importantes, que são a CYP 1A2 (2%), CYP 2E1 (2%), CYP 2C (10%), CYP 2D6 (30%), CYP 3A4 (55%) e outras isoformas que somam 1%. A análise do metabolismo foi realizada com base nas CYPs 3A4, 2D6 e 2C, que são as mais expressivas do citocromo P450 (que, como mencionado, contribui para o metabolismo de 90% de todos os fármacos). Assim, o objetivo foi prever os pontos moleculares susceptíveis ao processo oxidativo e, juntamente com a análise de toxicidade, verificar a formação de estruturas secundárias tóxicas ao organismo.¹¹⁵

Para esse tipo de análise, considerou-se somente os três primeiros resultados, que são aqueles que apresentaram os valores mais relevantes para os parâmetros analisados, conforme descrito nos critérios abaixo:

- Quanto menor a pontuação (score), maior a probabilidade de sofrer metabolismo naquela região;
- Quanto menor a energia de ativação (energy), maior a probabilidade de metabolismo naquela região, pois, segundo o programa, não sendo

necessário fornecer muita energia para ativar o sistema, mais espontâneo e favorável seria a ocorrência da reação;

- A acessibilidade é um parâmetro que avalia a possibilidade de um átomo participar de uma oxidação enzimática, ou seja, quanto mais externo ele estiver mais estericamente acessível ele estaria para o processo oxidativo.¹¹⁸

Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 84, 85 e 86, mostradas a seguir. Nelas, as regiões com os átomos circulados referem-se àquelas com maior probabilidade de sofrerem reações oxidativas envolvendo o citocromo P450:

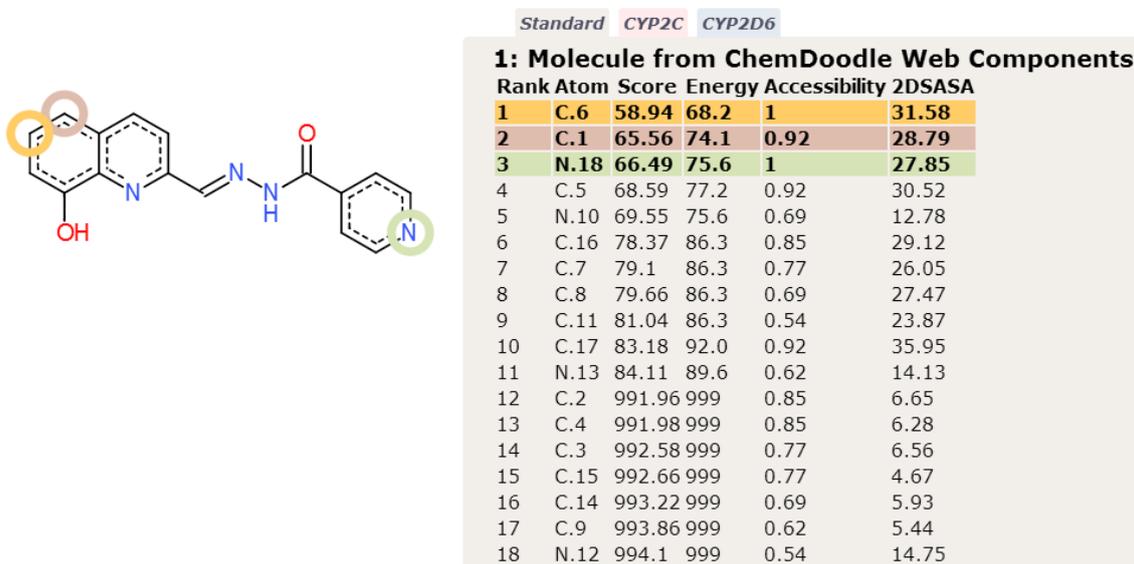


Figura 84: Resultados da análise de metabolismo com base na CYP3A4.

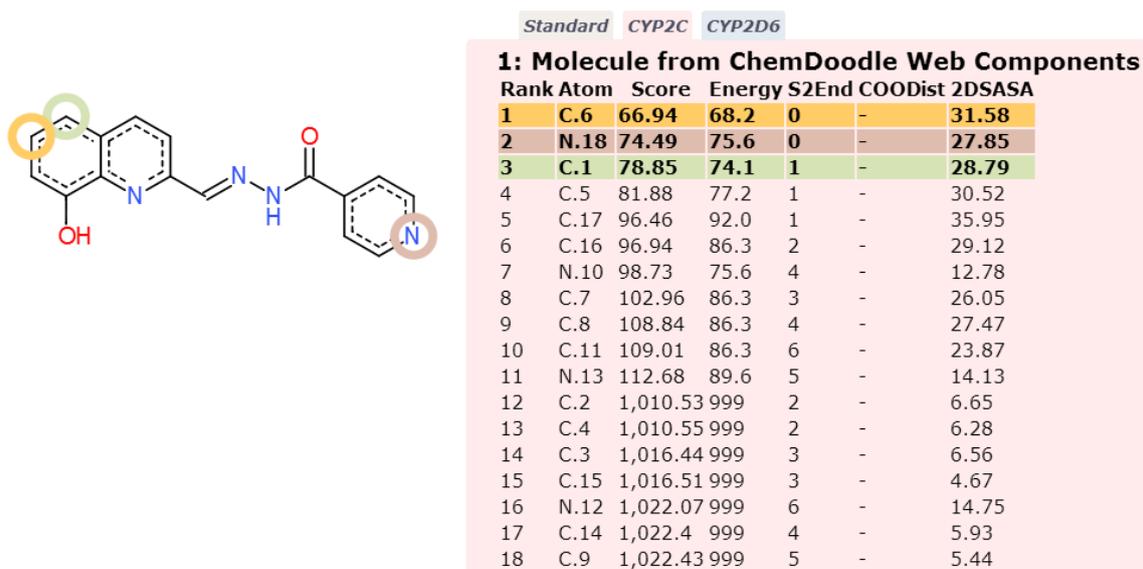


Figura 85: Resultados da análise de metabolismo com base na CYP2C.

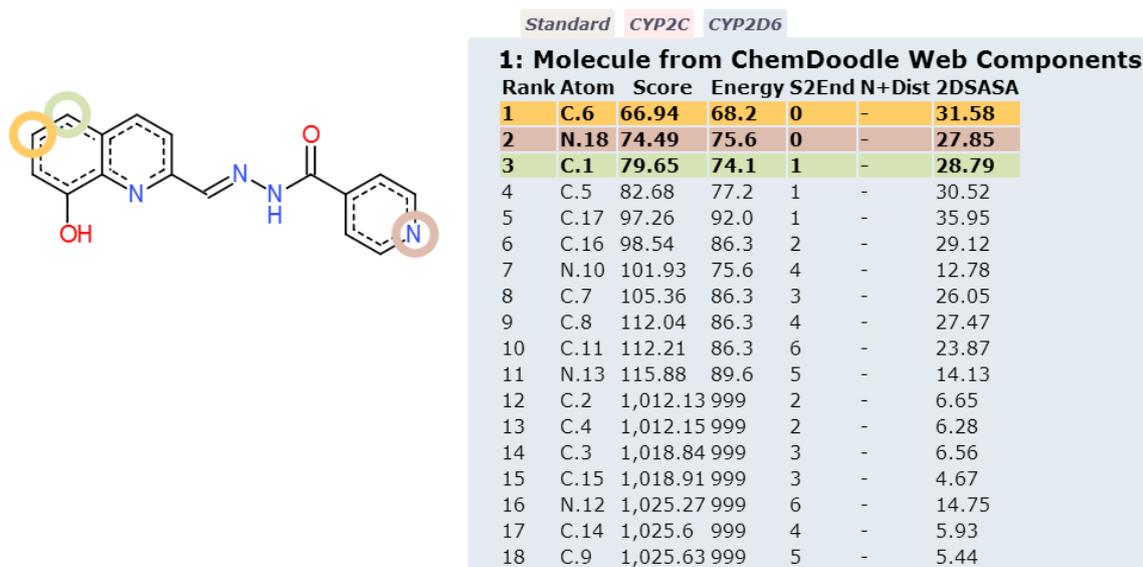


Figura 86: Resultados da análise de metabolismo com base na CYP2D6.

A Figura 87, mostrada abaixo, apresenta a molécula de **H₂L1** com seus átomos descritos em números para possibilitar a identificação do átomo em relação à pontuação da análise do metabolismo:

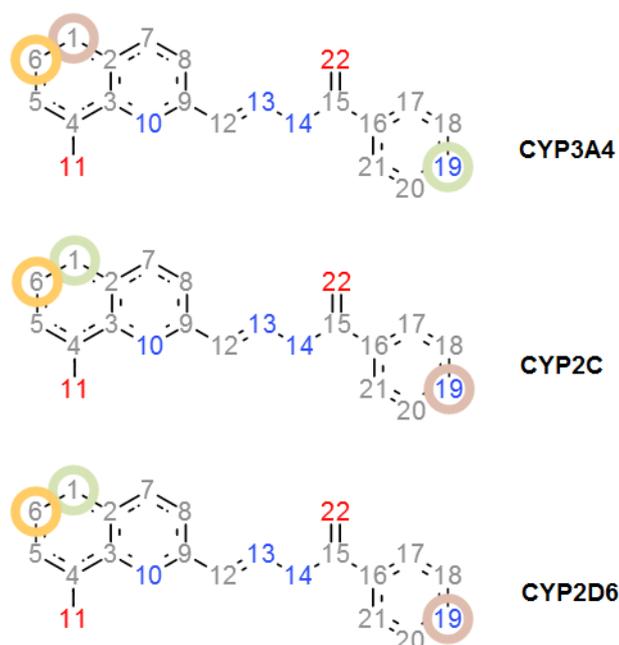


Figura 87: Descrição numérica dos átomos de **H₂L1** para relacionar ao metabolismo apresentado pela molécula.

Como relatado anteriormente, quanto menor o valor da pontuação, maior a probabilidade de sofrer metabolismo enzimático em uma determinada região e quanto menor a energia de ativação da reação, maior a probabilidade, pois cineticamente o processo fica mais favorecido.

Levando em consideração que os átomos C4, O11 e C9 pertencem à parte da molécula que, uma vez sofrendo reação poderia gerar o resíduo quinolínic, pode-se concluir o seguinte:

- 1) Aceitando os três primeiros valores calculados pelo programa, que são os pontos de maiores probabilidades de se ocorrer o processo de metabolismo oxidativo por hidroxilação, pode-se prever que não há possibilidade de o fragmento tóxico ser gerado;
- 2) Se essa análise for expandida considerando oxidações de valores próximos aos três primeiros, que no caso incluem valores até a oitava possibilidade para a CYP3A4, até a sétima para a CYP2C e até a sexta para a CYP 2D6, os átomos selecionados novamente não são aqueles que poderiam gerar o resíduo. Isso mostra, mais uma vez, a não possibilidade da formação do fragmento;

- 3) Dentre os átomos considerados mais suscetíveis à formação do resíduo, apenas C4 e C9 aparecem na relação de possibilidade de metabolismo, no entanto, com valores muito altos de pontuação, o que sugere uma improbabilidade de ocorrer.

Com isso pode-se dizer que o ligante **H₂L1** não apresenta, teoricamente, potencial tóxico ao organismo. Apesar disso, não deve ser descartada alguma reação de hidrólise não enzimática (metabolismo de fase I não enzimático, o que corresponde aos 10% restantes) nessa região, o que poderia sim, liberar o grupamento tóxico no organismo, porém, somente testes *in vivo* podem confirmar tal possibilidade.

8

Resultados e Discussão

Testes de toxicidade aguda, *in vivo*, envolvendo um modelo animal

Com relação à avaliação da toxicidade do composto em um modelo animal, verificou-se que nenhum animal injetado veio a óbito durante as 72 h de experimento, nem apresentou comportamento diferenciado do normal durante este período. Além disso, nenhuma anomalia macroscópica foi verificada durante a dissecação deles em nenhum órgão, incluindo o cérebro.

8.1.

Parâmetros bioquímicos de interesse no cérebro dos animais

Glutaciona reduzida (GSH)

A Figura 88 apresenta os resultados obtidos em relação às concentrações de GSH determinadas. A glutaciona exercer ação antioxidante devido à sua capacidade de reagir com radicais livres. Em especial, destaca-se o radical hidroxila, que apesar de não ter agentes enzimáticos capazes de combatê-los, são atacados pela glutaciona.¹¹⁶ Os resultados com relação aos níveis de GSH no cérebro dos animais injetados demonstram que **H₂L1** não

causa estresse oxidativo neste órgão, pois os níveis deste tripeptídeo não foram significativamente diferentes entre os três grupos de animais (o grupo controle, o grupo injetado com o veículo e o grupo injetado com o composto).

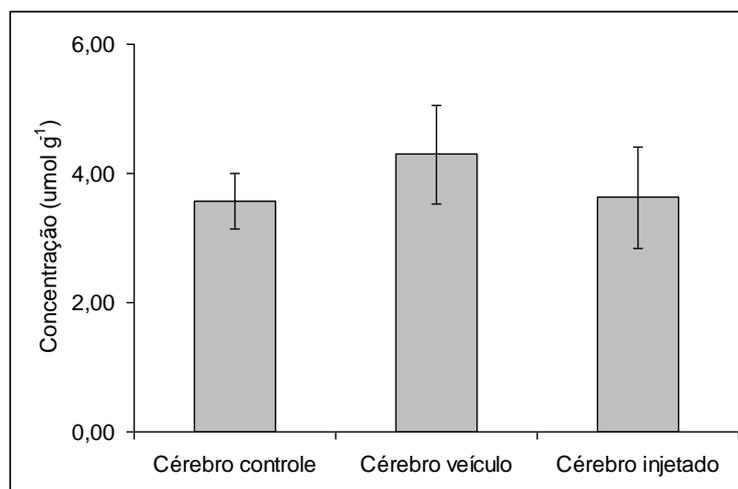


Figura 88: Níveis de GSH no cérebro dos animais injetados.

8.2. Parâmetros bioquímicos de interesse no cérebro dos animais Metais

A seguir, é apresentada a Figura 89, que mostra os resultados quanto às concentrações de níveis de ferro, cobre e zinco no cérebro dos animais testados. No cérebro, não houve diferença significativa para os níveis de Fe, Cu e Zn entre os três grupos de animais, novamente demonstrando que o **H₂L1** não influencia os níveis de metais fisiológicos neste órgão, efetivamente atuando como um MPAC e não como um agente quelante. Houve apenas uma ligeira redução nos níveis de Fe dos grupos injetados com o veículo e com o composto, em comparação ao grupo controle, de aproximadamente 13%, sendo não-significativa.

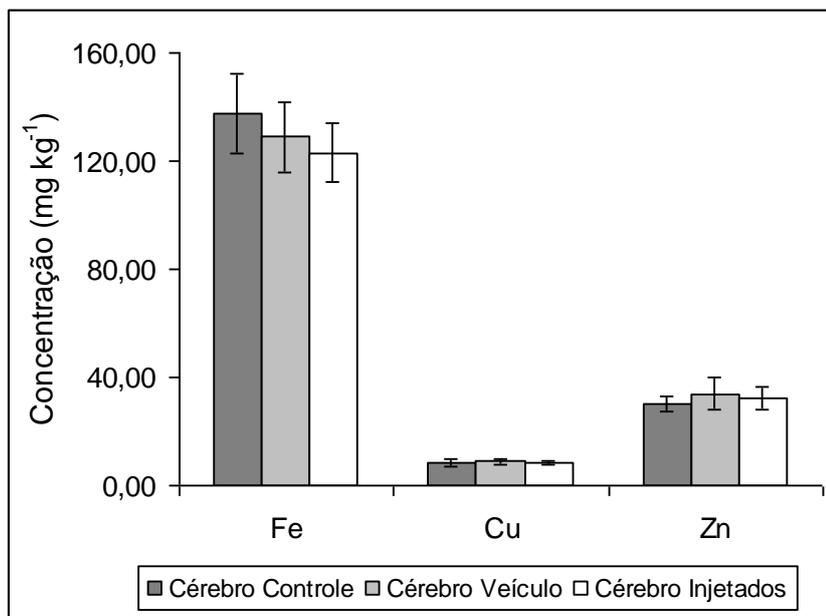


Figura 89: Níveis dos metais ferro, cobre e zinco no cérebro dos animais injetados.

8.3. Parâmetros bioquímicos de interesse no cérebro dos animais Metalotioneínas (MT)

A Figura 90 mostra os resultados obtidos em relação às concentrações de metalotioneínas (MT). Elas são responsáveis pelo transporte e estocagem de biometais, além de funções anti-estresse (principalmente o estresse oxidativo) e a regeneração celular.²¹ O grupo injetado com o veículo apresentou níveis significativamente mais altos de MT no cérebro em relação ao grupo controle. Apesar disto, os resultados demonstram que o composto **H₂L1** não causa diferenças nos níveis dos metais neste órgão, pois os níveis de MT no grupo injetado com o composto não foram significativamente diferentes do grupo controle, indicando que os aumentos de MT no grupo injetado com o veículo são devido ao próprio veículo novamente corroborando que o composto atua realmente como um MPAC e não como um agente quelante.

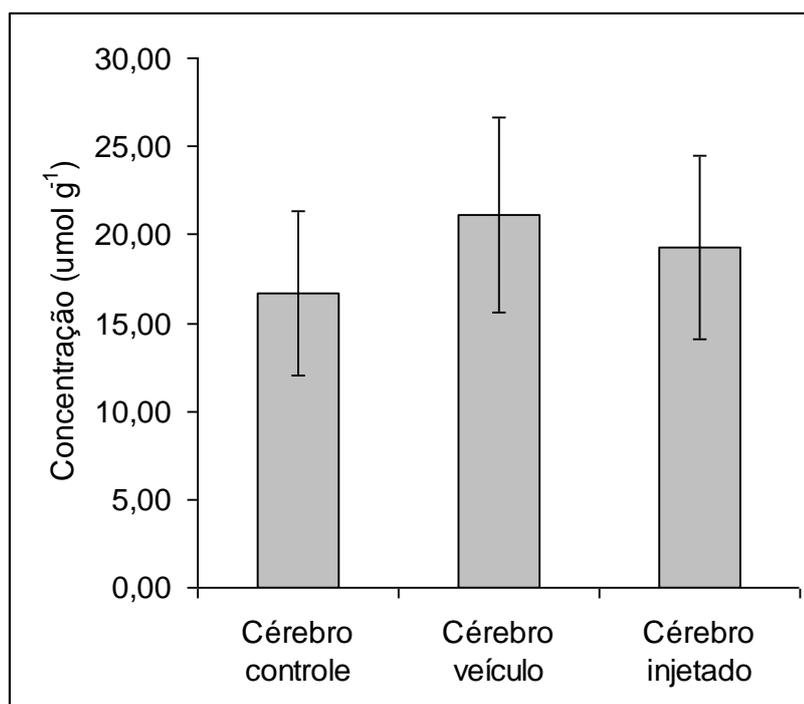


Figura 90: Níveis de MT no cérebro dos animais injetados.