

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais

Síntese, Caracterização, Reatividade e Ensaio Biológicos de Complexos de Ferro com
Ligantes Macrocíclicos Cyclam Mono-N-Funcionalizados com Grupos Fluoróforos

Uberaba

2023

Eduardo Matheus Ferreira Amaral

Síntese, Caracterização, Reatividade e Ensaio Biológicos de Complexos de Ferro com
Ligantes Macrocíclicos Cyclam Mono-N-Funcionalizados com Grupos Fluoróforos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, área de concentração Química Inorgânica Preparativa, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Gorzoni Doro

Uberaba

2023



Ministério da Educação
Universidade Federal do Triângulo Mineiro
Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais
Uberaba - MG

ATA DE DEFESA DE MESTRADO

Programa de Pós-Graduação:	PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS				
Evento:	DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO				
Data:	13/12/2023	Início em:	08h30min	Término em:	11h10min
Número de matrícula aluno:	2021.2004.9				
Nome do aluno:	Eduardo Matheus Ferreira Amaral				
Título do trabalho:	Síntese, Caracterização, Reatividade e Ensaios Biológicos de Complexos de Ferro com Ligantes Macrocíclicos Cyclam Mono-N-Funcionalizados com Grupos Fluoróforos				
Área de concentração:	Química				
Linha de Pesquisa:	Química Inorgânica Preparativa				

Reuniu-se de forma remota, utilizando-se a plataforma GoogleMeet < <https://meet.google.com/qis-hfsp-vzr> > em conformidade com as recomendações do Ofício Circular n.º 03F/2020/PROPPG/UFTM, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE MINAS GERAIS, assim composta dos Professores Doutores: **Kleber Queiroz Ferreira (Universidade Federal da Bahia)**; **José Carlos Toledo Junior (Universidade de São Paulo - FFCLRP)** e **Fábio Gorzoni Doro (Universidade Federal do Triângulo Mineiro)**, orientador do candidato. Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Dr. **Fábio Gorzoni Doro**, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa. A seguir o presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o candidato. Concluída a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca se reuniu e atribuiu o resultado final, considerando o candidato:

APROVADO.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFTM.

Nada mais havendo a tratar, a sessão foi encerrada, dela sendo lavrada a presente ata, que foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **FABIO GORZONI DORO, Professor do Magistério Superior**, em 13/12/2023, às 13:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



Documento assinado eletronicamente por **José Carlos Toledo Junior, Usuário Externo**, em 13/12/2023, às 13:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



Documento assinado eletronicamente por **Kleber Queiroz Ferreira, Usuário Externo**, em 13/12/2023, às 20:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1151804** e o código CRC **AE2531B1**.

*Dedico à Deus, aos Orixás, a Osògián,
por ter me dado força, sabedoria e por ter
iluminado meus caminhos para todas as
minhas conquistas. Aos meus pais Paulo e
Juslene, pelo esforço, dedicação e
compreensão, em todos os momentos
desta e de outras caminhadas.*

Ao Professor Dr. Fabio Gorzoni Doro primeiramente pela infundável paciência e compreensão, por todas as conversas, os puxões de orelhas e as correções, por todos os conselhos. Mostrou-se que ser orientador é mais que apenas indicar um caminho, é de certa forma, servir de modelo é também ser capaz de doar tempo, de estar disponível, é saber incentivar, é ensinar e aprender junto, de ser um amigo. Por tudo isso, Professor eu agradeço.

A todos os professores que muito colaboraram para a minha formação, pela atenção dada em todos os momentos, pela busca do crescimento acadêmico, em especial ao Prof. Dr. Roberto Barboza Castanho, meu caro amigo e, ao Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria.

A todos os colegas e amigos de trabalho, a esta Universidade que me acolhe como servidor, em especial a todos os colegas do DGLAB, daqueles que passaram Wilson, Betina, Maria José, Rubens e, a tantos outros que deixaram muitas marcas e ensinamentos.

Aos professores Dr. José Carlos Toledo Junior e a Dra. Sofia Nikolaou do Depto. de Química da FFCLRP-USP de Ribeirão Preto pela disponibilidade de sempre colaborar, no auxílio com muito dos experimentos.

Ao professor Dr. Oswaldo Baffa Filho do Laboratório do Departamento de Física da FFCLRP-USP de Ribeirão Preto pelo auxílio com as análises de RPE, com todas as discussões e ensinamentos.

A Dra. Bruna Possato Dezsa, ao Dr. Luiz Miguel Pereira e ao supervisor Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque do Departamento de Análises Químicas, Bromatológicas e Toxicológicas da FFCLRP-USP de Ribeirão Preto pelo auxílio em todos os ensaios biológicos realizados, pela disponibilidade e colaboração neste trabalho.

Aos professores da UFTM campus Iturama, ao Dr. Lucas Ferreira de Paula que por diversas vezes auxiliou em levar amostras para a UFU para análise, em muitas discussões e, ao Dr. Thiago dos Santos Almeida por todas as trocas, todos os auxílios e pelas contribuições que envolvem principalmente os estudos eletroquímicos.

Aos laboratórios da UFU, em especial ao Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM) e do Laboratório de Caracterização de Materiais do Instituto de Química, ao técnico Dr. Flaysner Magayver Portela pela parceria em diversos experimentos.

Ao colega Leandro Barbosa de Freitas, meu parceiro estudante, colega de laboratório e de muitas discussões.

A todos os servidores, funcionários e professores que me ajudaram e tornaram este caminho um pouco menos difícil.

A todos os meus amigos que apesar de escolhas na vida, da distância, a amizade sempre irá existir, os cuidados nunca deixarão de ser feitos, agradeço por serem mais uma família que possuo.

Ao meu amigo Dr. Lauro Antonio Pradela Filho, meu parceiro de graduação, que por muito incentivo sempre percorreu essa difícil jornada acadêmica do qual eu fugi muito, mesmo depois de tantos e tantos anos eu consegui seguir essa jornada, agradeço por ser essa fonte de inspiração, de Ituiutaba da UFU para o mundo.

Àquela que foi minha companheira e que participou de quase toda essa caminhada que foi este Mestrado, pelo companheirismo, a me mostrar sobre ter garra e de não esquecer do cuidado comigo, sobre família.

À minha família, ao meu irmão Rafael, pela paciência, pelos conselhos e por sempre estarem presente.

À minha família da alma, que a Umbanda e o Candomblé me traz, a espiritualidade e aos orixás, aos amigos que a espiritualidade coloca para lembramos que neste mundo nunca somos só, que esta vida é uma sequência e que a ancestralidade está aqui para nos ensinar que precisamos resgatar o que nos constitui para seguirmos em frente, e estarmos sempre em movimento com a vida.

“Um cientista no seu laboratório não é apenas um técnico: é, também, um menino colocado à frente de fenômenos naturais que impressionam como se de um conto de fadas se tratassem!”

Marie Skłodowska-Curie

RESUMO

O objetivo deste trabalho é contribuir com o desenvolvimento da química de complexos de Fe(III) com o ligante cyclam e derivados a partir da síntese, caracterização, estudos de reatividade e de atividade biológica de novos complexos com fórmula geral $[\text{Fe}(\text{L}_n)\text{Cl}_2]\text{Cl}$ com $n = 1$ (cyclam), $n = 2$ (1-naftalen-2-ilmetil)(cyclam), $n = 3$ (1-antracen-9-ilmetil)(cyclam) e $n = 4$ (1-piren-1-ilmetil)(cyclam). A metodologia de síntese empregada na obtenção dos ligantes apresentou bons rendimentos, com resultados de caracterização que são consistentes com a presença dos fluoróforos apensados e com as estruturas e fórmulas propostas. Os diclorido complexos de ferro(III) obtidos foram caracterizados por diferentes técnicas como: análise elementar (CHN), espectroscopia de absorção UV-Vis e de emissão de fluorescência, IV e RPE e, espectrometria de massa com ionização por spray de elétrons (ESI-MS). Também foram realizados estudos eletroquímicos com o objetivo tanto caracterizar os complexos quanto investigar a reatividade em relação à labilidade dos ligantes cloretos. Como as estruturas planares dos grupos fluoróforos podem apresentar interação com macromoléculas de interesse biológico ou atividade frente a patógenos, testes *in vitro* em células tumorais foram realizados. Os resultados de análise elementar mostraram boa concordância entre os valores teóricos calculados e os experimentais obtidos, assumindo que os complexos se encontram na forma monohidratada. Os espectros eletrônicos UV-Vis e de emissão de fluorescência são largamente dominados pelas bandas dos fluoróforos. Os espectros de IV apresentaram as principais bandas características tanto do ligante macrocíclico quanto dos fluoróforos. A partir dos dados da RPE, observou-se que valores de g são semelhantes (regiões de 7.0, 4.3 e 2.0) para os complexos de Fe(III), indicativo que os novos complexos apresentam a mesma geometria a qual é consistente com a forma isomérica *cis*. Estudos de reatividade com relação a labilidade dos ligantes cloreto foram conduzidos por voltametria cíclica e potenciometria direta para os complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]^+$ e *cis*- $[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]^+$. A partir destas técnicas foi possível inferir que cloretos são pouco lábeis. Ensaio de citotoxicidade *in vitro* foram realizados com os ligantes livres e com os complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]^+$ ($n = 1$ a 4) com a linhagem celular não tumorigênica MCF10 e com as linhagens tumorigênicas MCF7, MB231 e PC3. O ligante L_1 e o respectivo complexo não exibiram atividade ($\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{M}$) contra qualquer uma das linhagens testadas. Por outro lado, tanto o ligante L_4 quanto o complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ apresentaram alta atividade.

Palavras-chave: cyclam; complexos de ferro; fluoróforos; atividade antitumoral.

ABSTRACT

The main goal of this work is to contribute to the chemistry of Fe(III) metal complexes with the cyclam ligand and its derivatives. This was achieved through the synthesis, characterization, reactivity studies, and cytotoxicity essays of novel complexes using mono-N-functionalized cyclam appended with fluorophores. The novel general formulas of the novel complexes are as follows $[\text{Fe}(\text{L}_n)\text{Cl}_2]\text{Cl}$, with n values of 1 (cyclam), 2 (1-naphthalen-2-ylmethyl-cyclam), 3 (1-anthracen-9-ylmethyl-cyclam), and 4 (1-pyren-1-ylmethyl-cyclam). The synthetic approach for ligands resulted in good yields. In general, the results of ligand characterizations agree with the proposed composition and structure and confirm the presence of the attached fluorophores. The iron(III) complexes obtained were characterized by different techniques such as: elemental analysis (CHN), UV-Vis electronic absorption and fluorescence emission, IR vibrational, EPR spectroscopies and electron spray ionization mass spectrometry (ESI-MS). Electrochemical techniques, such as voltammetry and direct potentiometry, were also carried out with the aim of both characterizing the complexes and investigating their reactivity regarding the lability of the chloride ligands. Due to the planar structures of the N-appended fluorophores, which may interact with biologically relevant macromolecules or exhibit activity against pathogens, *in vitro* tests on tumor cells were carried out. Results of elemental analysis showed good agreement between the calculated and the experimental values, assuming that the complexes are in monohydrate form. The UV-Vis electronic absorption and fluorescence emission spectra are largely dominated by the fluorophore bands. The IR spectra exhibited the main characteristic bands of both the macrocyclic ligand and the fluorophores. From the EPR data, it was observed that g values are similar (regions of 7.0, 4.3 and 2.0) for the Fe(III) complexes. These results also indicate that the novel complexes have the same geometry, which is consistent with the *cis* isomeric form. In the cyclic voltammograms, a quasi-reversible pair of peaks was observed in the range of -0.5 to 0.5 V, which was attributed to the $\text{Fe}^{3+/2+}$ redox couple in the complexes. Studies of reactivity regarding chloride lability were conducted by cyclic voltammetry and direct potentiometry, and suggesting a low lability of the coordinated chlorides in these complexes. *In vitro* cytotoxicity assays were performed on free ligands and complexes using non-tumorigenic MCF10 cells, cancer lines MCF7, MB231 and PC3. The L_1 ligand and complex did not exhibit activity ($\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{M}$) against any of the tested strains. Conversely, both the L_4 ligand and the $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ complex demonstrated the highest activity against the strains under investigation.

Keywords: cyclam; iron complexes; fluorophores; antitumor activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estruturas dos ligantes macrocíclicos cyclam, cyclen e tacn.	26
Figura 2 – Ligante cyclam e exemplos de C e N-funcionalização.	27
Figura 3 – Estruturas moleculares de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).	29
Figura 4 – Alguns exemplos de intercaladores orgânicos e suas estruturas químicas.	30
Figura 5 – Diclorido complexos de Ferro-Cyclam em suas conformações cis e trans.	32
Figura 6 – Oito possíveis confórmeros de trans- e cis-[M(cyclam)] ⁿ⁺	33
Figura 7 – Espectro UV-Vis do ligante L ₂ (~ 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹) em solução de CF ₃ COOH 0,1 mol.L ⁻¹ . Ampliação da região entre 250 a 350 nm.	47
Figura 8 – Espectro UV-Vis do ligante L ₃ (~ 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹) em solução de CF ₃ COOH 0,1 mol.L ⁻¹	48
Figura 9 – Espectro UV-Vis do ligante L ₄ (~ 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹) em solução de CF ₃ COOH 0,1 mol.L ⁻¹	49
Figura 10 – Espectro de emissão de fluorescência do ligante L ₂ (~ 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹) em solução de CF ₃ COOH 0,1 mol.L ⁻¹ , λ _{ex} = 276 nm.	50
Figura 11 – Espectro de emissão de fluorescência do ligante L ₃ (~ 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹) em solução de CF ₃ COOH 0,1 mol.L ⁻¹ , λ _{ex} = 370 nm.	51
Figura 12 – Espectro de emissão de fluorescência do ligante L ₄ (~ 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹) em solução de CF ₃ COOH 0,1 mol.L ⁻¹ , λ _{ex} = 340 nm.	51
Figura 13 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante L ₂	53
Figura 14 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante L ₃	53
Figura 15 – Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante L ₄	54
Figura 16 – Espectro vibracional na região do infravermelho dos ligantes L ₂ a L ₄	54
Figura 17 – Espectro de RMN de ¹ H para L ₂ em D ₂ O. δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00ppm).	56
Figura 18 – Espectro de RMN de ¹ H para L ₂ em D ₂ O. Região dos hidrogênios aromáticos. δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00 ppm).	57
Figura 19 – Espectro de RMN de ¹ H para L ₂ em D ₂ O. Região dos hidrogênios alifáticos. δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00 ppm).	57
Figura 20 – Espectro de RMN de ¹ H para L ₃ em D ₂ O. δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00 ppm).	58
Figura 21 – Espectro de RMN de ¹ H para L ₃ em D ₂ O. Região dos hidrogênios aromáticos. δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00 ppm).	58

Figura 22 – Espectro de RMN de ^1H para L_3 em D_2O . Região dos hidrogênios alifáticos. δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00 ppm).	59
Figura 23 – Espectro de RMN de ^1H para L_4 desprotonado em CDCl_3 . δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00 ppm).	59
Figura 24 – Espectro de RMN de ^1H para L_4 desprotonado em CDCl_3 . Região dos hidrogênios aromáticos. δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00 ppm).	60
Figura 25 – Espectro de RMN de ^1H para L_4 desprotonado em CDCl_3 . Região dos hidrogênios alifáticos. δ em ppm relativo do sinal no TMS (0.00 ppm).	60
Figura 26 – Espectro ESI-MS do ligante L_2 , operando no modo positivo (ESI^+). Amostra diluída em metanol.	62
Figura 27 – Espectro ESI-MS do ligante L_2 , operando no modo positivo (ESI^+). Amostra diluída em metanol. Ampliação do pico em m/z 341.2698.	62
Figura 28 – Espectro ESI-MS do ligante L_3 , operando no modo positivo (ESI^+). Amostra diluída em metanol.	63
Figura 29 – Espectro ESI-MS do ligante L_3 , operando no modo positivo (ESI^+). Amostra diluída em metanol. Ampliação do pico em m/z 391.2851.	63
Figura 30 – Espectro ESI-MS do ligante L_4 , operando no modo positivo (ESI^+). Amostra diluída em metanol.	64
Figura 31 – Espectro ESI-MS do ligante L_4 , operando no modo positivo (ESI^+). Amostra diluída em metanol. Ampliação do pico em m/z 415.2853.	64
Figura 32 – Espectro UV-Vis do complexo $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]\text{Cl}$ ($\sim 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$	67
Figura 33 – Espectro UV-Vis do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]\text{Cl}$ ($\sim 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Ampliação é referente à região entre 250 a 350 nm.	68
Figura 34 – Espectro UV-Vis do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_3)]\text{Cl}$ ($\sim 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$	68
Figura 35 – Espectro UV-Vis do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ ($\sim 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em solução de HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$	69
Figura 36 – Espectro de emissão de fluorescência do L_2 (em CF_3COOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]\text{Cl}$ (em HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) à mesma concentração, $\lambda_{\text{ex}} = 276 \text{ nm}$	70
Figura 37 – Espectro de emissão de fluorescência do L_3 (em CF_3COOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e $[\text{FeCl}_2(\text{L}_3)]\text{Cl}$ (em HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) à mesma concentração, $\lambda_{\text{ex}} = 370 \text{ nm}$	71
Figura 38 – Espectro de emissão de fluorescência do L_4 (em CF_3COOH $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ (em HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) à mesma concentração, $\lambda_{\text{ex}} = 340 \text{ nm}$	71

Figura 39 – Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[FeCl ₂ (L ₁)]Cl.	74
Figura 40 – Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[FeCl ₂ (L ₁)]Cl na região de 950 a 750 cm ⁻¹	74
Figura 41 – Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo [FeCl ₂ (L ₂)]Cl. ..	75
Figura 42 – Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo [FeCl ₂ (L ₃)]Cl. ..	76
Figura 43 – Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo [FeCl ₂ (L ₄)]Cl. ..	76
Figura 44 – Espectro vibracional do infravermelho na região de 950-650 cm ⁻¹ dos complexos [FeCl ₂ (L _n)]Cl.	77
Figura 45 – Espectro ESI-MS do complexo <i>cis</i> -[FeCl ₂ (L ₁)] ⁺ , operando no modo positivo (ESI ⁺). Amostra diluída em metanol.	79
Figura 46 – Espectro ESI-MS do complexo [FeCl ₂ (L ₂)] ⁺ , operando no modo positivo (ESI ⁺). Amostra diluída em metanol.	80
Figura 47 – Espectro ESI-MS-MS do cluster de íons positivos de m/z 394 – derivado do complexo [FeCl ₂ (L ₂)] ⁺ , operando no modo positivo (ESI ⁺).	81
Figura 48 – Espectro ESI-MS do complexo [FeCl ₂ (L ₃)] ⁺ , operando no modo positivo (ESI ⁺). Amostra diluída em metanol.	82
Figura 49 – Espectro ESI-MS-MS do cluster de íons positivos de m/z 444 – derivado do complexo [FeCl ₂ (L ₃)] ⁺ , operando no modo positivo (ESI ⁺).	83
Figura 50 – Espectro ESI-MS do complexo [FeCl ₂ (L ₄)] ⁺ , operando no modo positivo (ESI ⁺). Amostra diluída em metanol.	84
Figura 51 – Espectro ESI-MS-MS do cluster de íons positivos de m/z 468 – derivado do complexo [FeCl ₂ (L ₄)] ⁺ , operando no modo positivo (ESI ⁺).	84
Figura 52 – Espectro de RPE do complexo [FeCl ₂ (L ₂)]Cl em banda-X dissolvidos em solução de metanol/água com adição de DMSO a 77 K.	86
Figura 53 – Espectro de RPE do complexo [FeCl ₂ (L ₃)]Cl em banda-X dissolvidos em solução de metanol/água com adição de DMSO a 77 K.	87
Figura 54 – Espectro de RPE do complexo [FeCl ₂ (L ₄)]Cl em banda-X dissolvidos em solução de metanol/água com adição de DMSO a 77 K.	87
Figura 55 – Voltamogramas cíclicos do <i>cis</i> -[FeCl ₂ (L ₁)]Cl em diferentes solventes (— HCl, — DMSO e — DMF) na velocidade de varredura de 100 mv.s ⁻¹ a 25 °C.	91
Figura 56 – Voltamogramas cíclicos do [FeCl ₂ (L ₂)]Cl em diferentes solventes (— HCl, — DMSO e — DMF) na velocidade de varredura de 100 mv.s ⁻¹ a 25 °C.	91

Figura 57 – Voltamogramas cíclicos do $[\text{FeCl}_2(\text{L}_3)]\text{Cl}$ em diferentes solventes (— HCl, — DMSO e — DMF) na velocidade de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a 25°C .	92
Figura 58 – Voltamogramas cíclicos do $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ em diferentes solventes (— HCl, — DMSO e — DMF) na velocidade de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a 25°C .	92
Figura 59 – Voltamogramas cíclicos dos complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]\text{Cl}$ de $n = 1$ a 4 , em DMSO na velocidade de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a 25°C .	93
Figura 60 – Espectro UV-Vis do complexo $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]^+$ em solução de pH 2,0 (CF_3COOH) a 25°C variando o tempo (min) até 24 horas. (a, b, c) indicam os espectros de deconvolução das bandas.	100
Figura 61 – Espectros UV-Vis do complexo $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]^+$ em solução de pH 2,0 (CF_3COOH) em diferentes temperaturas variando o tempo (min) até 24 horas.	101
Figura 62 – Voltamogramas cíclicos do $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]^+$ em $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CF}_3\text{COONa}$ (pH = 2 e $\mu = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), na velocidade de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a 25°C variando o tempo de medida (min) até o tempo de 24 h.	103
Figura 63 – Voltamogramas cíclicos do $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]^+$ em $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CF}_3\text{COONa}$ (pH = 2 e $\mu = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), na velocidade de $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a 25°C variando o tempo de medida (min) até o tempo de 24 h.	104
Figura 64 – Voltamogramas cíclicos do $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]^+$ em $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CF}_3\text{COONa}$ (pH = 2 e $\mu = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), na velocidade de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a $35\text{-}45^\circ\text{C}$ variando o tempo de medida (min) até o tempo de 24 h.	105
Figura 65 – Voltamogramas cíclicos do $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]^+$ em $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CF}_3\text{COONa}$ (pH = 2 e $\mu = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), na velocidade de $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a $35\text{-}45^\circ\text{C}$ variando o tempo de medida (min) até o tempo de 24 h.	105
Figura 66 – Estimativa da constante de aquação do cloreto ($k_{1\text{obs}}$) para os complexos $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]^+$ (esquerda) e $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]^+$ (direita) a 25°C .	106
Figura 67 – Voltamogramas cíclicos do sólido em $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CF}_3\text{COONa}$ (pH = 2 e $\mu = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), na velocidade de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a 25°C observando a variação de tempo até uma hora.	107
Figura 68 – Voltamogramas cíclicos do sólido em $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CF}_3\text{COONa}$ (pH = 2 e $\mu = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), na velocidade de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a 25°C com adições sucessivas de cloreto.	108
Figura 69 – Curva de calibração de resposta em mV vs $\log[\text{Cl}^-]$ para os complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]^+$ $n = 1$ (esquerda) e 2 (direita) a 35°C .	109
Figura 70 – Estimativas da constante de aquação do cloreto ($k_{1\text{obs}}$) para os complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]^+$ $n = 1$ (esquerda) e 2 (direita) a 35°C .	109

Figura 71 – Porcentagem de inibição sobre a linhagem MCF10 dos complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]\text{Cl}$ ($n = 1$ a 4), ligantes livres e cisplatina (50 a $0.39 \mu\text{M}$). O índice de citotoxicidade foi calculado em relação ao controle não tratado (controle negativo).	114
Figura 72 – Porcentagem de inibição sobre a linhagem MCF7 dos complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]\text{Cl}$ ($n = 1$ a 4), ligantes livres e cisplatina (50 a $0.39 \mu\text{M}$). O índice de citotoxicidade foi calculado em relação ao controle não tratado (controle negativo).	115
Figura 73 – Porcentagem de inibição sobre a linhagem MB231 dos complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]\text{Cl}$ ($n = 1$ a 4), ligantes livres e cisplatina (50 a $0.39 \mu\text{M}$). O índice de citotoxicidade foi calculado em relação ao controle não tratado (controle negativo).	116
Figura 74 – Porcentagem de inibição sobre a linhagem PC3 dos complexos $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]\text{Cl}$ ($n = 1$ a 4), ligantes livres e cisplatina (50 a $0.39 \mu\text{M}$). O índice de citotoxicidade foi calculado em relação ao controle não tratado (controle negativo).	117
Esquema 1 – Rota sintética esquemática do complexo $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ e posterior produto final o ligante cyclam.	27
Esquema 2 – Rota sintética esquemática dos complexos $[\text{FeCl}_2(\text{cyclam})]^+$	32
Esquema 3 – Efeito do pH na distribuição dos isômeros entre os vários complexos aquo e hidroxido $[\text{M}(\text{cyclam})]^{2+}$	35
Esquema 4 – Rota sintética esquemática dos ligantes protonados mono-N-funcionalizados derivados do cyclam.	39
Esquema 5 – Rota sintética esquemática dos complexos de ferro $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]\text{Cl}$	40
Esquema 6 – Mecanismo de fragmentação proposto para o complexo $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]^+$	79
Esquema 7 – Mecanismo de fragmentação proposto para o complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]^+$	81
Esquema 8 – Mecanismo de fragmentação proposto para o complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_3)]^+$	83
Esquema 9 – Mecanismo de fragmentação proposto para o complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]^+$	85
Figura A.1.1 – Espectro UV-Vis do complexo $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]\text{Cl}$ ($\sim 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em solução tampão PBS.	131
Figura A.1.2 – Espectro UV-Vis do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]\text{Cl}$ ($\sim 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em solução tampão PBS. Ampliação é referente à região entre 250 a 350 nm	131
Figura A.1.3 – Espectro UV-Vis do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_3)]\text{Cl}$ ($\sim 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em solução tampão PBS.	132
Figura A.1.4 – Espectro UV-Vis do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ ($\sim 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) em solução tampão PBS.	132

Figura A.2.1 – Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]\text{Cl}$ na região de 950 a 600 cm^{-1}	133
Figura A.2.2 – Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_3)]\text{Cl}$ na região de 950 a 600 cm^{-1}	133
Figura A.2.3 – Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ na região de 950 a 600 cm^{-1}	134
Figura A.3.1 – Voltamogramas de pulso diferencial do ligante L_2 e complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]\text{Cl}$ em DMF, na velocidade de varredura de $50\text{ mv}\cdot\text{s}^{-1}$ a $25\text{ }^\circ\text{C}$	134
Figura A.3.2 – Voltamogramas de pulso diferencial do ligante L_3 e complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_3)]\text{Cl}$ em DMF, na velocidade de varredura de $50\text{ mv}\cdot\text{s}^{-1}$ a $25\text{ }^\circ\text{C}$	135
Figura A.3.3 – Voltamogramas de pulso diferencial do ligante L_4 e complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ em DMF, na velocidade de varredura de $50\text{ mv}\cdot\text{s}^{-1}$ a $25\text{ }^\circ\text{C}$	135
Figura A.3.4 – Dependência linear das correntes de pico (i_{pc} e i_{pa}) presentes no voltamograma do complexo $\text{cis-}[\text{FeCl}_2(\text{L}_1)]\text{Cl}$ em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) em (a) DMSO, (b) DMF e (c) $\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$	136
Figura A.3.5 – Dependência linear das correntes de pico (i_{pc} e i_{pa}) presentes no voltamograma do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_2)]\text{Cl}$ em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) em (a) DMSO, (b) DMF e (c) $\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$	137
Figura A.3.6 – Dependência linear das correntes de pico (i_{pc} e i_{pa}) presentes no voltamograma do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_3)]\text{Cl}$ em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) em (a) DMSO, (b) DMF e (c) $\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$	138
Figura A.3.7 – Dependência linear das correntes de pico (i_{pc} e i_{pa}) presentes no voltamograma do complexo $[\text{FeCl}_2(\text{L}_4)]\text{Cl}$ em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) em (a) DMSO, (b) DMF e (c) $\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$	139

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Lista de reagentes com suas respectivas procedências e grau de pureza.....	38
Tabela 2 – Dados dos ligantes e respectivos rendimentos de síntese.....	44
Tabela 3 – Dados de espectroscopia eletrônica de absorção no UV-Vis e de emissão de fluorescência dos ligantes L ₂ a L ₄	52
Tabela 4 – Atribuições tentativas das principais bandas de infravermelho para os ligantes de L ₂ a L ₄	55
Tabela 5 – Dados dos complexos [FeCl ₂ (L _n)]Cl (n = 2 a 4), rendimentos de síntese e resultados de caracterização por microanálise.....	66
Tabela 6 – Máximos de absorvância e respectivos coeficientes de extinção molar e máximos de emissão de fluorescência dos ligantes L _n e diclorido complexos de ferro (III), [FeCl ₂ (L _n)]Cl.....	72
Tabela 7 – Frequências de absorção no infravermelho e tentativas de atribuição para os complexos [FeCl ₂ (L _n)]Cl com L _n = 1 a 4. Valores em cm ⁻¹	77
Tabela 8 – Valores experimentais de g obtidos nos espectros de RPE dos complexos [FeCl ₂ (L _n)]Cl de n = 2 a 4.....	88
Tabela 9 – Dados eletroquímicos para os ligantes mono-N-funcionalizados e diclorido complexos de ferro(III), [FeCl ₂ (L _n)] ⁺ de n = 1 a 4.....	93
Tabela 10 – Parâmetros ΔE _p , i _{pa} / i _{pc} e coeficiente de correlação de (i _{pa} , i _{pc})/ν ^{1/2} para os diclorido complexos de ferro(III), [FeCl ₂ (L _n)]Cl de n = 1 a 4 em diferentes solventes com a variação da velocidade de varredura.....	94
Tabela 11 – A correlação de ΔE _p com ν, a linearidade de i _p e ν e demais parâmetros para determinar o mecanismo de transferência de carga e a reversibilidade de reações eletródicas.....	96
Tabela 12 – Valores estimados da constante de aquação (k _{obs} s ⁻¹) dos cloretos para complexos de Fe(III) [FeCl ₂ (L _n)] ⁺ (n = 1 a 2).....	106
Tabela 13 – Constantes de aquação do primeiro cloreto (k _{1obs}) a 25°C para complexos [MCl ₂ (mac)] ⁺	110
Tabela 14 – Constante de pseudo-primeira ordem (k _{1obs}) e parâmetros termodinâmicos de ativação para aquação do primeiro ligante cloreto de complexos do tipo [FeCl ₂ (mac)] ⁺ a 25°C.....	111
Tabela 15 – Concentração inibitória a 50% (IC ₅₀) dos complexos [FeCl ₂ (L _n)]Cl (n = 1 a 4), ligantes livres e cisplatina sobre células MCF10, MCF7, MB231, PC3.....	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

P450 – citocromo P450

cyclam – (1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano)

cyclen – (1,4,7,10-tetraazaciclododecano)

tacn – (1,4,7-triaazaciclononano)

L₂ – (1-naftalen-2-ilmetil)-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano)

L₃ – (1-antracen-9-ilmetil)-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano)

L₄ – (1-piren-1-ilmetil)-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano)

K_f – constante de formação

ΔH_f – variação de entalpia de formação

ΔS_f – variação de entropia de formação

MeOH – metanol

HCl – ácido clorídrico

HF₄ – ácido fluobórico

KCl – cloreto de potássio

FeCl₂.4H₂O – cloreto de ferro(II) tetra hidratado

UV-vis – ultravioleta e visível

IV – infravermelho

RMN – ressonância magnética nuclear

D₂O – água deuterada

CDCl₃ – clorofórmio deuterado

TSM – tetrametilsilano

ESI-MS – espectrometria de massas com ionização por electrospray

ESI⁺ – ionização por electrospray no modo positivo

RPE – ressonância paramagnética eletrônica

DMSO – dimetilsulfóxido

DMF – dimetilformamida

TEAPF₆ – hexafluorofosfato de tetraetilamônio

CF₃COOH – ácido trifluoroacético

CF₃COONa – trifluoroacetato de sódio

π - π^* – transição pi-pi-antiligante

λ_{ex} – comprimento de onda de excitação

λ_{\max} – comprimento de onda de máxima absorção

ϵ – absorvidade molar

δ – deformação angular simétrica no plano

ν – estiramento simétrico

γ – deformação angular fora do plano

PBS – tampão fosfato salino

m/z – razão massa carga

Naf – naftaleno

Ant – antraceno

Pir – pireno

μ_{meff} – momento dipolo magnético efetivo

$E_{1/2}$ – potencial de meia onda

E_{pc} – potencial de pico catódico

E_{pa} – potencial de pico anódico

I_{pa} – corrente de pico anódico

I_{pc} – corrente de pico catódico

v – velocidade de varredura

SSCE – eletrodo de referência prata/cloreto de prata

ELISA – ensaio imunoenzimático

MTT – (3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazólio)

(tmc) – N,N,N-trimetilquitosana

(mac) – macrocíclico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	23
1.1 O ELEMENTO FERRO E ALGUMAS PROPRIEDADES IMPORTANTES	23
1.2 LIGANTES MACROCÍCLICOS	25
1.2.1 Ligantes macrocíclicos e a N-substituição com fluoróforos poliaromáticos	29
1.3 COMPLEXOS DE FERRO COM LIGANTES MACROCÍCLICOS E ALGUMAS APLICAÇÕES	31
2. OBJETIVOS	37
2.1 OBJETIVO GERAL	37
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
3. PARTE EXPERIMENTAL	38
3.1 REAGENTES	38
3.2 SÍNTESE DOS LIGANTES E COMPLEXOS	38
3.2.1 Síntese dos ligantes mono-N-funcionalizados derivados do cyclam	38
3.2.2 Síntese dos complexos de ferro $[FeCl_2(L_n)]Cl$	39
3.3 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO	40
3.3.1 Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do Ultravioleta e do Visível (UV-Vis)	40
3.3.2 Espectroscopia de Emissão de Fluorescência	40
3.3.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)	40
3.3.4 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	41
3.3.5 Espectrometria de Massa com Ionização por Spray de Elétrons (ESI-MS)	41
3.3.6 Análise Elementar (C, H e N)	41
3.3.7 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica	41
3.3.8 Estudos Eletroquímicos	42
3.3.8.1 <i>Voltametria</i>	42
3.3.8.2 <i>Potenciometria</i>	42
3.3.9 Estudos Biológicos Preliminares	43
3.3.9.1 <i>Citotoxicidade in vitro</i>	43
4. DISCUSSÃO E RESULTADOS	44
4.1 LIGANTES MONO-N-FUNCIONALIZADOS DERIVADOS DO CYCLAM	44
4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS LIGANTES	45
4.2.1 Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do Ultravioleta e do Visível (UV-Vis)	46
4.2.2 Espectroscopia de Emissão de Fluorescência	49
4.2.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)	52
4.2.4 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	55
4.2.5 Espectrometria de Massa com Ionização por Spray de Elétrons (ESI-MS)	61
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS DICLORIDO COMPLEXOS DE FERRO	65

4.3.1	Análise Elementar (C, H e N)	65
4.3.2	Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do Ultravioleta e do Visível (UV-Vis)	66
4.3.4	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)	73
4.3.5	Espectrometria de Massa com Ionização por Spray de Elétrons (ESI-MS)	78
4.3.6	Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica	85
4.3.7	Estudos Eletroquímicos	89
4.3.7.1	<i>Voltametria</i>	89
4.3.7.2	<i>Reatividade Química</i>	97
4.3.8	Ensaio Biológico Preliminares	112
4.3.8.1	<i>Citotoxicidade in vitro</i>	112
5.	CONCLUSÕES	119
	REFERÊNCIAS	121
	APÊNDICE A – RESULTADOS DOS COMPLEXOS	131

1. INTRODUÇÃO

1.1 O ELEMENTO FERRO E ALGUMAS PROPRIEDADES IMPORTANTES

O ferro é um elemento fundamental na química e é essencial para todos os organismos vivos. A configuração eletrônica atômica é $[\text{Ar}]4s^23d^6$ e os dois estados de oxidação mais comuns, +2 e +3, apresentam as configurações eletrônicas $[\text{Ar}]3d^6$ e $[\text{Ar}]3d^5$, respectivamente. O raio iônico varia entre 0,63-0,78 Å (Fe^{3+} - Fe^{2+}) conforme o número de coordenação. A presença de orbitais d parcialmente preenchidos, a variabilidade no estado de oxidação, a simetria e os ligantes nos complexos de ferro influenciam diretamente nos processos químicos destes compostos. A grande importância, aplicabilidade e variabilidade de propriedades tornam a química de coordenação do ferro umas das mais amplamente investigadas (DUARTE, 2020).

Embora a grande maioria dos complexos de coordenação do ferro contenha o metal nos estados de oxidação +2 e +3, os estados de oxidação mais baixos de +1 e 0 não são incomuns, especialmente em áreas limítrofes da química organometálica. O estado de oxidação +4 é relevante para sistemas bioinorgânicos de transferência de elétrons e espécies que desempenham papéis como intermediários na oxidação catalítica de substratos orgânicos por heme proteínas (naturais ou modelos sintéticos) e demais proteínas contendo ferro (SÁNCHEZ et al., 2017), como os citocromos P450. Estados de oxidação formal fracionados ou com valência mista podem ser observados em compostos de coordenação ou óxidos como o Fe_3O_4 , por exemplo. Compostos de ferro em baixos estados de oxidação são estabilizados por ligantes aceptores de elétrons, especialmente monóxido de carbono (CO), isocianeto ($\text{R} - \text{N} \equiv \text{C}$) e fosfinas (PR_3) (SÁNCHEZ et al., 2017). A geometria de coordenação mais comum encontrada em compostos de ferro é octaédrica, mas tetraédrica, bipirâmide trigonal e pirâmide quadrada também são conhecidas.

No íon ferro trivalente ($3d^5$), todos os orbitais 3d encontram-se parcialmente ocupados sendo que esta configuração confere ao íon de Fe^{3+} uma certa estabilidade. Para o íon livre Fe(III) , o termo fundamental 6S se transforma, em um campo octaédrico, em $^6A_{1g}$ ($S = 5/2$) em conformidade com medidas de susceptibilidade magnética. Em uma simetria octaédrica os seguintes estados fundamentais $t^3_{2g}e^2_g$ ($S = 5/2$, spin alto) e $t^5_{2g}e^0_g$ ($S = 1/2$, spin baixo) podem existir (LAKSHMI; ENDO; SIVA, 2012). O estado intermediário, $t^4_{2g}e^1_g$ ($S = 3/2$), é conhecido em poucos casos de complexos de ferro(III), sendo mais comum em porfirinas (SÁNCHEZ et al., 2017; TAIWO, 2003). Como não há nenhum outro estado de spin sextupletto, as transições

de campo ligante são proibidas e, portanto, de baixa intensidade (LAKSHMI; ENDO; SIVA, 2012).

No caso do ferro divalente ($3d^6$), o termo fundamental do íon livre é 5D e, em um campo octaédrico, se transforma no estado fundamental $^5T_{2g}$. Neste caso, duas possibilidades de configuração para o estado fundamental podem ocorrer: $t_{2g}^6e_g^0$ ($S = 0$, spin baixo) e $t_{2g}^4e_g^2$ ($S = 2$, spin alto) as quais dependem do desdobramento do campo ligante (SÁNCHEZ et al., 2017; TAIWO, 2003). Considerando as transições de campo ligante, a transição permitida por spin, $^5E_g \leftarrow ^5T_{2g}$, resulta em uma banda de maior intensidade que se divide em duas bandas devido ao efeito Jahn-Teller (LAKSHMI; ENDO; SIVA, 2012).

Em complexos de Fe^{2+} ou Fe^{3+} de spin alto o número de elétrons desemparelhados é máximo o que resulta em momentos magnéticos distintos correspondentes a 5 (5,85 μB) e 4 (5,05 μB) elétrons desemparelhados, respectivamente. Para spin baixo os complexos da espécie Fe^{3+} apresentam momentos magnéticos correspondentes a um elétron desemparelhado (1,8 a 2,1 μB), enquanto que para Fe^{2+} os complexos são diamagnéticos, sem elétrons desemparelhados (BURGESS; TWIGG, 2006).

Para compreender melhor a importância do ferro e da sua capacidade de modular vários processos químicos e biológicos, é importante conhecer alguns aspectos da sua reatividade em meio aquoso (DUARTE, 2020). Em água, em pH abaixo de 2,2 a espécie de Fe^{3+} é melhor vista como $[Fe(H_2O)_6]^{3+}$, o qual comporta-se como um ácido relativamente forte com pKas variando entre 2,2 a 9,6. Em pH mais alto, o Fe^{3+} hidrolisa para formar espécies como o $Fe(OH)^{2+}$, $Fe(OH)_2^+$, $Fe(OH)_3$ e $Fe(OH)_4^-$. O íon Fe^{2+} , por outro lado, é um ácido fraco com pKa em torno de 9,2 (SMITH et al., 2004).

O potencial padrão de redução do ferro Fe^{2+}/Fe^0 ($E^0 = -0,44$ V) encontra-se numa faixa intermediária de potencial tornando relativamente fácil a formação do estado de oxidação +2 o qual é biologicamente importante. Já o potencial Fe^{3+}/Fe^{2+} ($E^0 = +0,77$ V), facilita a redução do Fe^{3+} a Fe^{2+} , tornando o ferro útil para as reações de transferência de elétrons na natureza (DUARTE, 2020; FREY; REED, 2012). A sua posição intermediária na tabela de potenciais de redução indica que o equilíbrio eletroquímico pode ser facilmente deslocado em função das condições do meio, ou seja, em função do pH, da concentração e da presença de outros íons (DUARTE, 2020).

Os organismos vivos recorrem aos metais para funções que não podem ser alcançadas por compostos orgânicos e dentre os metais, o ferro é certamente o mais importante para os

processos biológicos (BURGESS; TWIGG, 2006) dentre os quais pode-se destacar a produção de energia, biossíntese, replicação e locomoção. A presença de ferro é necessária nos sítios ativos de muitas metaloproteínas envolvidas em processos biológicos cruciais, como proteínas de transferência de elétrons (citocromos e proteínas de ferro-enxofre), fatores de transcrição, proteínas transportadoras e/ou de armazenamento (SILVA, 2013).

Nos sistemas biológicos as reações catalisadas por complexos de ferro são afetadas decisivamente pela natureza do ligante. O ferro e, em menor grau, outros metais de transição estão envolvidos em muitos processos de degradação na natureza que incluem, ácidos graxos (peroxidação lipídica), DNA e proteínas (CHOBOT; HADACEK, 2010). Conseqüentemente, as células desenvolveram vários mecanismos de proteção que incluem metabólitos de baixo peso molecular altamente redutores, como o ácido ascórbico, bem como enzimas como a superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase (FOYER; NOCTOR, 2005). Suas ações combinadas visam manter a homeostase redox na célula. Os íons de ferro participam das transferências de elétrons, não apenas para reduzir H_2O_2 a $\cdot OH$ como na reação de Fenton, mas também no transporte de elétrons na cadeia respiratória e, nas plantas, na fotossíntese e na biossíntese da clorofila (JEONG; GUERINOT, 2009).

1.2 LIGANTES MACROCÍCLICOS

Os ligantes que contêm mais de um sítio de ligação para um mesmo íon metálico são chamados de ligantes quelantes (da palavra grega *χηλή*, *chēlē*, que significa "garra" ou "pinça") referindo-se à forma pela qual os íons metálicos são "aprisionados" no composto (MORGAN; DREW, 1920).

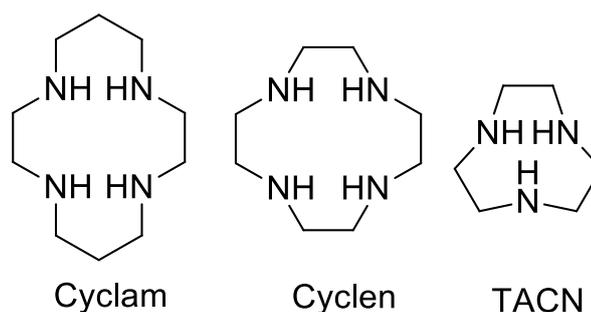
Ligantes quelantes têm, em geral, afinidade relativamente mais alta por íons metálicos quando comparados aos análogos com apenas um sítio de ligação (ligantes monodentados). A maior estabilidade observada para os complexos com ligantes quelantes pode ser explicada a partir dos parâmetros termodinâmicos (K_f , ΔH_f e ΔS_f) em conjunto com as relações $\Delta G_f = \Delta H_f - T\Delta S_f$ e $\Delta G_f = -RT \ln K_f$, mas com o cuidado de comparar ligantes análogos. Para analisar a influência do fator entrópico, há dois fatores principais a serem considerados: (i) a entropia da rotação livre do quelante, a qual é limitada pela coordenação ao metal resultando em uma redução neste fator e (ii) a entropia da mudança no número de moléculas que podem se mover livremente. Enquanto o primeiro fator apresenta uma influência reduzida, no segundo, quando um ligante quelante substitui vários ligantes monodentados, o resultado é um aumento no

número de moléculas livres no sistema, resultando em um aumento significativo na entropia, sendo este o principal fator que impulsiona o efeito quelato (MOSCHETTA; GANS; RIOUX, 2014).

O efeito macrocíclico segue o mesmo princípio do efeito quelato, o qual, entretanto, é reforçado pela conformação cíclica do ligante. Os ligantes macrocíclicos não são apenas multidentados, mas são covalentemente limitados à sua forma cíclica, permitindo menos liberdade conformacional. Uma outra característica desses ligantes consiste, na maioria dos casos, no fato de não completarem a esfera de coordenação dos íons metálicos (LELONG et al., 2021).

O desenvolvimento de compostos de metais de transição com ligantes macrocíclicos é interessante não só pelo estudo da química de coordenação envolvida, ou pelo fato destes compostos servirem como modelos para espécies biologicamente importantes, mas também pelas propriedades que tais ligantes conferem ao complexo. Cyclam (1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano), cyclen (1,4,7,10-tetraazaciclododecano) e tacn (1,4,7-triazaciclononano), representados na **Figura 1**, são provavelmente as plataformas poliazamacrocíclicas de maior utilização para a complexação de íons metálicos (LELONG et al., 2021).

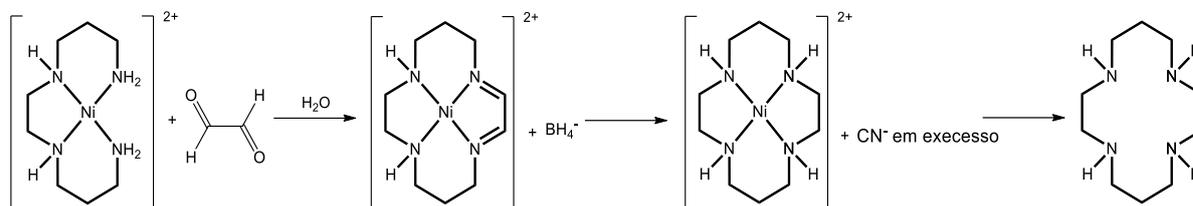
Figura 1 – Estruturas dos ligantes macrocíclicos cyclam, cyclen e tacn.



Fonte: Do Autor

Dentre os três ligantes mencionados anteriormente, o cyclam é, sem dúvida, o mais investigado na química de coordenação. Embora a síntese deste macrocíclico tenha sido inicialmente relatada por Van Alphen (VAN ALPHEN, 1936), somente após 40 anos, Barefield e colaboradores (BAREFIELD; WAGNER; HODGES, 1976), reportaram uma rota com um rendimento global mínimo aceitável de cerca de 20%. Esta rota sintética utiliza a estratégia do efeito template, com íons Ni^{2+} e está exemplificada no Esquema 1. Atualmente, diversos tetraazamacrocíclicos estão disponíveis comercialmente.

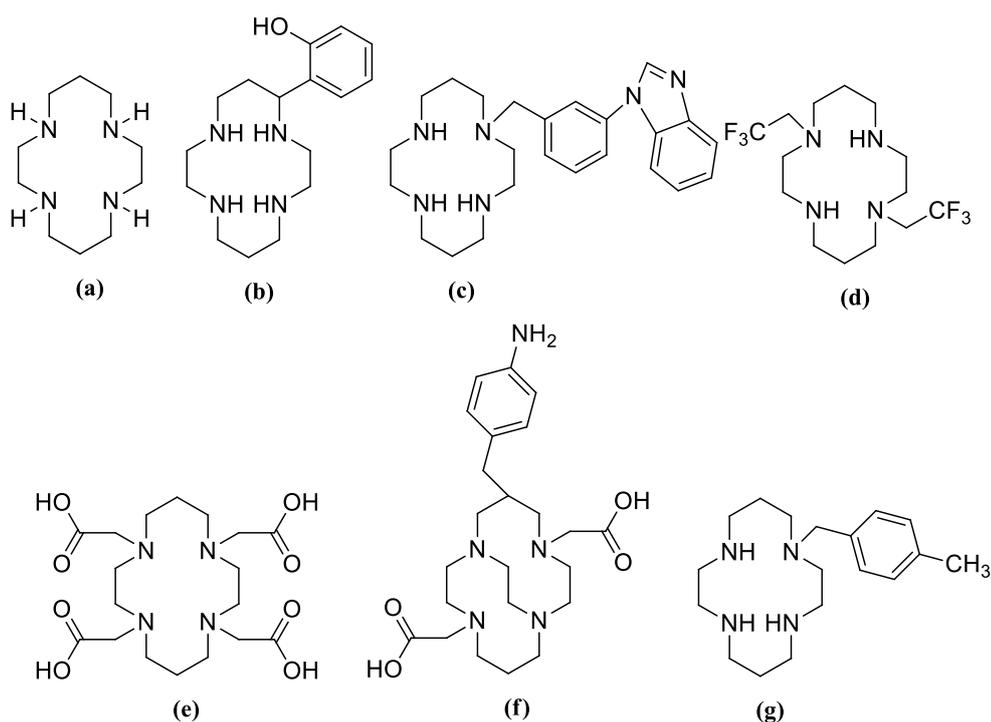
Esquema 1 – Rota sintética esquemática do complexo $[\text{Ni}(\text{cyclam})]^{2+}$ e posterior produto final o ligante cyclam.



Fonte: Do Autor

O cyclam e seus derivados, conforme mencionado, além de serem os mais adaptados para a complexação de metais de transição (HANCOCK; MARTELL, 1989) possuem diversas aplicações como, (a) síntese de catalisadores metálicos (MASOOD; GE, 2021; NAM; HO; VALENTINE, 1991), (b) na recuperação de metais que dependem da extração seletiva (KIMURA; KUROGI; TAKAHASHI, 1991), (c) como agentes de clivagem de ésteres de fosfato, incluindo RNA e DNA (LI et al., 2016), (d) como agentes de contraste de Ressonância Magnética (BLAHUT et al., 2016), (e) para diagnóstico (BOROS; PACKARD, 2018) e (f) na complexação de radioisótopos ou gadolínio para tratamento ou diagnóstico (SILVERSIDES; ALLAN; ARCHIBALD, 2007), e (g) como agentes anti-HIV (GERLACH et al., 2001). Essa gama de aplicações pode ser ampliada quando se emprega a estratégia da funcionalização (incorporação de grupos funcionais) no anel macrocíclico, como exemplificado na **Figura 2**.

Figura 2 – Ligante cyclam e exemplos de C e N-funcionalização.



Fonte: Do Autor

Na ausência de N-funcionalização, o cyclam é mais adequado para a complexação de pequenos íons de metais de transição do que os análogos com tamanhos de anel menores (HANCOCK; MARTELL, 1988). Além disso, a incorporação de braços pendentes com grupos doadores adicionais geralmente leva a complexos com estabilidade termodinâmica maior e até mesmo inércia em relação à sua dissociação. A alta afinidade de ligação do cyclam com íons de metais de transição também está associada às várias geometrias estáveis que os complexos podem adotar (LELONG et al., 2021). Os macrocíclicos com grupos de coordenação adicionais têm sido de particular interesse, pois suas propriedades podem ser bastante diferentes daquelas dos macrocíclicos originais não substituídos.

O estudo de macrocíclicos N-funcionalizados tem sido realizado em maior profundidade que aqueles de C-funcionalizados. A razão dessa diferença provavelmente está ligada à relativa simplicidade da síntese de macrocíclicos N-substituídos, uma vez que a química orgânica e as estratégias sintéticas para N-alkilação são bem conhecidas e as reações apresentam aplicações bem gerais. Estas características tornam os ligantes macrocíclicos passíveis de serem mono-N-substituídos com uma série de grupos funcionais diferentes como cromóforos, aminas, amidas, carboxilatos, derivados benzílicos, entre outros (BUTTAFAVA et al., 1986; DENAT; BRANDÈS; GUILARD, 2000). Entretanto, existem algumas desvantagens inerentes envolvidas na mono-N-funcionalização, como a conversão de uma amina secundária a uma amina terciária, um pobre doador por razões estéricas e a possibilidade de efeitos indutivos indesejados do grupo substituinte no átomo de nitrogênio que está relativamente próximo (DENAT; BRANDÈS; GUILARD, 2000).

Enquanto a tetra-N-substituição é mais amplamente estudada e de mais fácil execução, uma vez que esta comumente envolve a reação do macrocíclico com um excesso de reagente alquilante (BUTTAFAVA et al., 1986; KADEN, 1984), a mono-N-substituição pode envolver uma sequência de reações como proteção-alkilação-desproteção ou a reação com aceptores de Michael (FENSTERBANK et al., 1999), ou ainda, reações na presença de um grande excesso de macrocíclico o que resulta na obtenção quase que exclusiva do derivado mono-N-substituído com bons rendimentos (56 -78%), juntamente com macrocíclico em excesso, o qual pode ser recuperado (cerca de 90-95% do macrocíclico puro) e reutilizado (MEUNIER et al., 1995).

Se por um lado a N-substituição de ligantes tetraazamacrocíclicos pode afetar a configuração e as propriedades químicas dos seus metalocomplexos, por outro, amplia suas

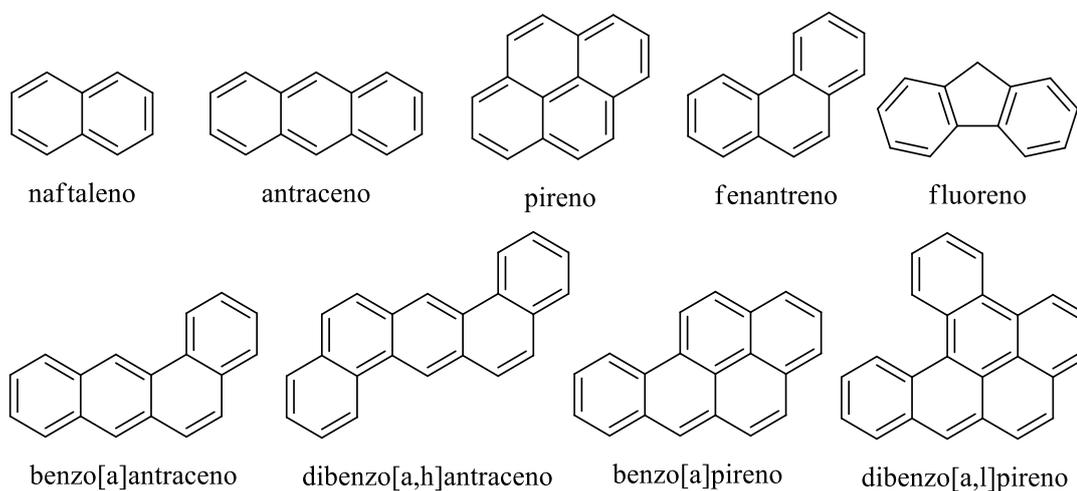
potenciais aplicações. Essa estratégia pode ser empregada para realizar a ligação dos complexos com esses ligantes a superfícies sólidas ou com biomoléculas. Essa abordagem pode contribuir para obtenção de compostos ou materiais com potenciais aplicações em química analítica, como, por exemplo, sensores ou ainda para a ligação de tais compostos a biomoléculas resultando em carregadores de drogas (DORO, 2008).

1.2.1 Ligantes macrocíclicos e a N-substituição com fluoróforos poliaromáticos

A diversidade de estratégias para a C- e N-funcionalização dos ligantes macrocíclicos permite que uma variedade de grupos funcionais possa ser selecionada e pensada a estes ligantes o que constitui uma estratégia para modelar as propriedades químicas dos complexos bem como suas potenciais aplicações em sistemas biológicos *in vitro* ou *in vivo* (DORO et al., 2008; KOUCKÝ et al., 2023; SILVA et al., 2007; SILVERSIDES; ALLAN; ARCHIBALD, 2007).

Dentre os diversos grupos funcionais para a N-substituição, pode-se destacar a utilização de substâncias poliaromáticas, ou hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Essas moléculas consistem em dois ou mais anéis aromáticos fundidos em arranjos planares, angulares ou aglomerados e, por definição, são compostos de hidrogênio e carbono (**Figura 3**) (BOEHM, 1964). Uma característica de particular interesse destes compostos é sua fluorescência, a qual é resultado dos elétrons deslocalizados nos anéis aromáticos que podem ser facilmente excitados e da estrutura rígida não permite um relaxamento vibracional eficiente (MATUSZEWSKA; CZAJA, 2021). Os espectros de fluorescência de cada HPAs são muito característicos e dependem do número e da posição dos anéis aromáticos.

Figura 3 – Estruturas moleculares de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).



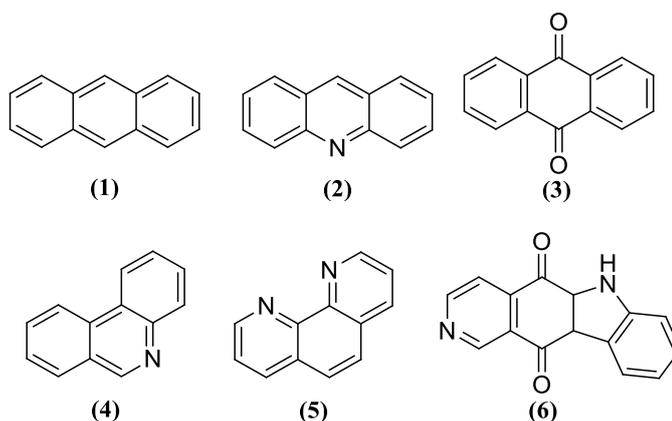
Fonte: Do Autor

No que tange a potenciais interações dentro de sistemas biológicos, os HPAs apresentam algumas características particulares como a lipofilicidade que permite que eles penetrem nas membranas celulares (EWA; DANUTA, 2017) e sua reconhecida interação com biomacromoléculas como o DNA.

Interações com DNA podem se dar basicamente por duas formas: i) a formação de adutos como resultado de uma ligação covalente entre substâncias eletrofílicas reativas e os sítios nucleofílicos do DNA e proteínas e, ii) a intercalação, a qual caracteriza-se como um processo não-covalente, em que uma molécula, por exemplo, um poliaromático, se insere entre dois pares consecutivos de bases presentes no DNA. As ligações de hidrogênio, forças hidrofóbicas e, primordialmente, as interações de empilhamento π entre os grupos aromáticos heterocíclicos dos pares de bases e as estruturas aromáticas do agente intercalador, são fatores que contribuem para a estabilização do complexo agente intercalador-DNA (WHEATE et al., 2007). A inserção de um agente intercalador no espaço entre os pares de bases pode promover alterações estruturais na biomolécula. Como consequência dessa intercalação, o esqueleto do DNA perde a estrutura helicoidal regular. Tem sido sugerido que as alterações promovidas pelo agente intercalador na estrutura secundária do DNA restringem a replicação do material genético e, por conseguinte, podem resultar em inibição do crescimento de tumores ou induzirem a apoptose celular (STREKOWSKI; WILSON, 2007).

Apesar de haver uma imensa variedade de ligantes com possibilidade de intercalação, em geral, todos eles possuem estruturas químicas baseadas em seis principais famílias de intercaladores: antracenos (1), acridinas (2), antraquinonas (3), fenantridinas (4), fenantrolinas (5) e elipticinas (6) que são apresentados na **Figura 4** (WHEATE et al., 2007).

Figura 4 – Alguns exemplos de intercaladores orgânicos e suas estruturas químicas.



Fonte: Adaptado de (WHEATE et al., 2007)

A utilização dos HPAs, em especial o grupo dos intercaladores, que podem ser combinados a compostos com outras funcionalidades biológicas desejadas, constituindo os chamados intercaladores sinérgicos. São exemplos deste tipo de composto, complexos análogos à cisplatina com ligantes intercaladores, onde os ligantes planares realizam a intercalação entre os pares de bases, enquanto os demais ligantes são labilizados permitindo ligações covalentes do centro metálico (Pt) com o DNA (PETITJEAN; BARTON, 2004). Estes intercaladores sinérgicos são desenvolvidos como tentativa de aumentar a afinidade com DNA, auxiliar o transporte de drogas, e/ou modificar a seletividade com determinadas sequências do DNA (WHEATE et al., 2007).

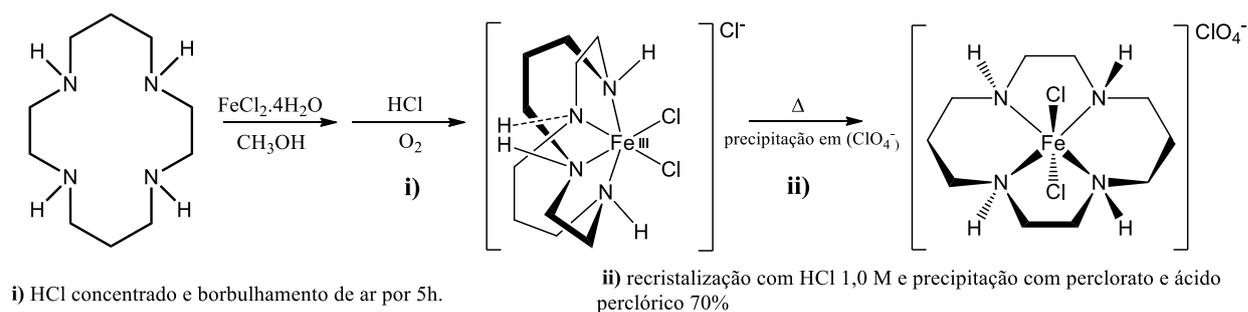
Além do potencial como intercaladores em DNA, a incorporação de HPAs à estrutura de ligantes como os tetraazamacrocíclicos pode resultar em compostos com características únicas. A propriedade de maior destaque é a influência da presença de centros metálicos nas propriedades fotofísicas destes poliaromáticos, o que permite, dentre outras aplicações, sua utilização como sensores para íons metálicos. De fato, diversos ligantes tetraazamacrocíclicos substituídos com grupos fluoróforos já foram utilizados como sensores para metais da primeira série de transição como Cobalto, Níquel, Ferro e Cobre. Mesmo quando não coordenado diretamente ao centro metálico, a fluorescência dos substituintes apensados em amins cíclicas é bastante sensível à natureza e ao estado de oxidação do íon metálico como amplamente demonstrado por Fabbrizzi e colaboradores (FABBRIZZI et al., 1996). As propriedades fotofísicas de complexos com ligantes macrocíclicos funcionalizados com fluoróforos também são suscetíveis à presença do ligante NO, conforme demonstrado para complexos de ferro com ligante cyclam funcionalizado com antraceno e quinolina, utilizados como sensores fluorescentes de NO (KATAYAMA; TAKAHASHI; MAEDA, 1998) e no nitrosilo complexo de rutênio com o ligante cyclam mono-N-funcionalizado com o grupo antraceno (DE SOUZA GÓIS et al., 2019).

1.3 COMPLEXOS DE FERRO COM LIGANTES MACROCÍCLICOS E ALGUMAS APLICAÇÕES

As primeiras rotas de síntese de metalocomplexos com o ligante cyclam (CHAN; POON, 1976) foram realizadas com diferentes íons metálicos permitindo a obtenção de complexos do tipo $[MX_2(\text{cyclam})]Y$, sendo M (os metais da série Mn(III), Fe(III), Ni(III)), X

(uma série de ligantes unidentados carregados negativamente como Cl^- , Br^- , NCS^- , entre outros), Y (contra-íons como Cl^- , Br^- e ClO_4^-). A principal rota sintética dos complexos de ferro utilizava como composto de partida o cloreto de Ferro(II) tetra hidratado ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) com o ligante cyclam para obtenção dos análogos. A rota de obtenção dos complexos *cis* e *trans* $[\text{FeCl}_2(\text{cyclam})]^+$ é apresentada no esquema 2.

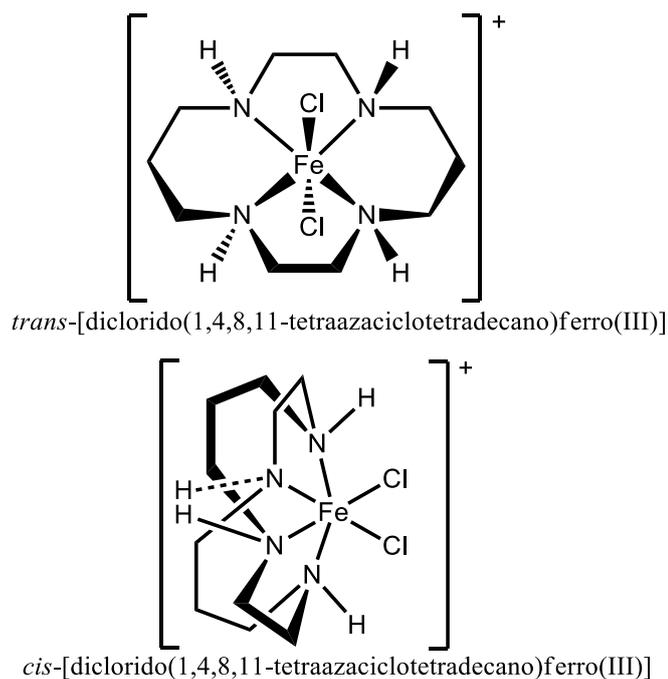
Esquema 2 – Rota sintética esquemática dos complexos $[\text{FeCl}_2(\text{cyclam})]^+$.



Fonte: Do Autor

Para a série complexos de ferro(III) com o cyclam e ligantes monodentados, os isômeros *cis* e *trans* foram obtidos e devidamente caracterizados (CHAN; POON, 1976), **Figura 5**. Esses complexos de ferro possuem um número de coordenação seis, podendo suas duas posições da esfera de coordenação serem ocupadas por ligantes como o cloreto.

Figura 5 – Diclorido complexos de Ferro-Cyclam em suas conformações *cis* e *trans*.

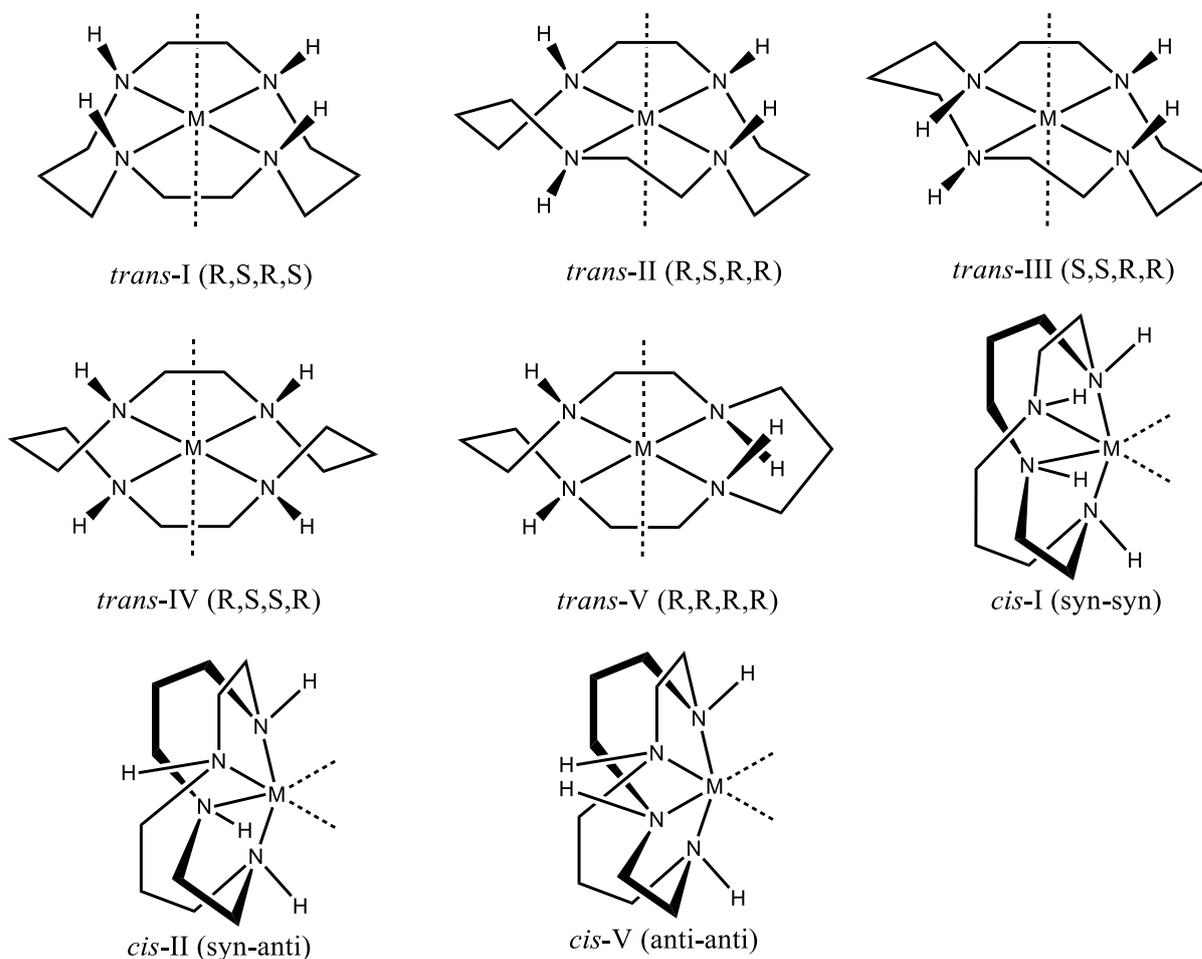


Fonte: Do Autor

Os complexos de ferro com o ligante cyclam conforme já citado podem apresentar isômeros *trans* e *cis*, cuja geometria específica depende da posição relativa dos ligantes adicionais que completam o ambiente de coordenação do metal (BOSNICH; POON; TOBE, 1965). Além disso, diferentes conformémeros *cis* e *trans* podem ser formados de acordo com a orientação dos hidrogênios nos grupos N-H (ou N-R; R = grupo ou função alquil): *trans*-I, -II, -III, -IV e -V e *cis*-I, -II e -III (LELONG et al., 2021), conforme mostrado na **Figura 6**. A orientação do grupo N-H depende da configuração absoluta do átomo de nitrogênio (N) quando seu par de elétrons está envolvido em uma coordenação com o centro metálico.

Os conformémeros menos restritos são *trans*-I, *trans*-III e *cis*-V. A conformação *trans*-III é mais estável para uma geometria octaédrica, enquanto a *trans*-I é mais adequada para uma pirâmide quadrada (LELONG et al., 2021). Ainda, a natureza do contra íon tem uma influência drástica nas populações relativas das diferentes configurações presentes na solução (LIANG et al., 2003).

Figura 6 – Oito possíveis conformémeros de *trans*- e *cis*-[M(cyclam)]ⁿ⁺.



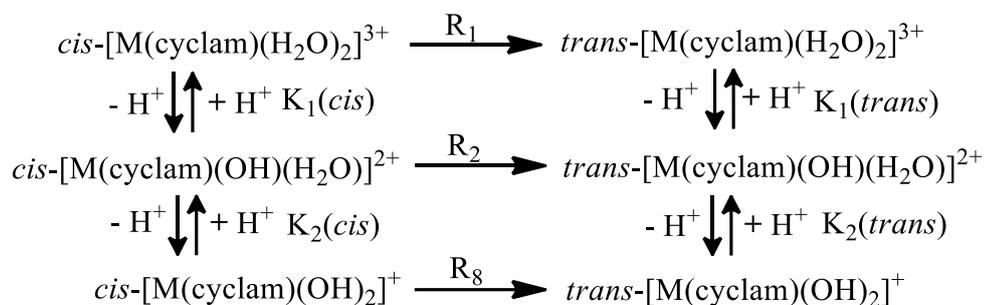
Complexos de configuração *cis*-[FeX₂(cyclam)]⁺ (X = Cl⁻, Br⁻, NCS⁻, entre outros) apresentam uma microsimetria C_{2v} (⁶A₁), enquanto complexos de configuração *trans*-[FeX₂(cyclam)]⁺ a microsimetria observada é C_{4v} (²E_g) (CHAN; POON, 1976; LAKSHMI; ENDO; SIVA, 2012). A diferenciação entre os isômeros *cis* e *trans* pode feita por diferentes técnicas tais como susceptibilidade magnética e espectroscopia vibracional no infravermelho. Por exemplo, o momento magnético do *trans*-[FeBr₂(cyclam)]ClO₄ (μ= 3,90 B.M.) (1 B.M. ~ 9.27 x 10⁻²⁴ A.m²) (CHAN; POON, 1976) indica um sistema de spin intermediário ⁴E_g, sendo muito acima do valor esperado para Fe(III) de spin baixo, como no complexo *trans*-[FeCl₂(cyclam)]ClO₄ com (μ= 2,71 B.M.), mas é muito menor do que para um sistema de spin alto, como a espécie *cis*-[FeCl₂(cyclam)]Cl com (μ= 6,03 B.M.). As propriedades magnéticas do estado de spin dos complexos mudam gradualmente de spin alto para spin baixo e, a mudança principal ocorre nos complexos de ferro(III) observando a variação dos ligantes. Essa variação das propriedades magnéticas está relacionada com o aumento efetivo de carga nuclear e, o aumento combinado do efeito de desdobramento de campo ligante de qualquer ligante axial conectado a esses íons metálicos.

No infravermelho a região de 790-910 cm⁻¹ é de particular importância pois o padrão de bandas é característico para cada configuração e independente do centro metálico (POON, 1970). Complexos de configuração *trans* apresentam dois grupos de bandas separadas por ≥ 70 cm⁻¹. O grupo de menor frequência, que decorre essencialmente da deformação CH₂, que consistia em uma banda aguda, enquanto o grupo em uma banda mais alta frequência, que se deve predominantemente à vibração de amina secundária, consistia principalmente em duas bandas, embora em alguns casos uma banda relativamente larga ou três bandas compactadas também foram observadas. Para os isômeros *cis* menos simétricos a deformação CH₂ invariavelmente mostrou duas bandas na região de 790-830 cm⁻¹, enquanto a vibração da amina mostrou pelo menos três bandas em uma faixa de frequência mais baixa (840-890 cm⁻¹) e, portanto, mais próximo das bandas CH₂ do que as dos isômeros *trans* (CHAN; POON, 1976; POON, 1970).

Complexos do tipo [MCl₂(cyclam)]Cl podem apresentar a possibilidade de isomerização *cis-trans* conforme reportado na literatura (POON; TOBE, 1968). Como o caminho mais provável para tal inversão é através da troca dos prótons da amina, é observado que a isomerização *cis* para *trans* deve envolver inversão da configuração de dois dos nitrogênios, por meio de troca de dois prótons. Também é razoável acreditar que a cinética de isomerização é estreitamente paralela com os de troca de prótons e, a cinética de troca dos

prótons do complexo *trans* segue o mesmo tipo dependência de pH como a isomerização do complexo *cis*. O processo de isomerização é descrito no esquema 3.

Esquema 3 – Efeito do pH na distribuição dos isômeros entre os vários complexos aquo e hidroxido $[M(\text{cyclam})]^{2+}$.



i) R representa a taxa de reação ao longo do caminho designado.

ii) as taxas individuais são da forma $R = k'[\text{complexo}]$, toda a dependência do pH surge da distribuição do substrato no pré-equilíbrio.

Fonte: Adaptado de (POON; TOBE, 1968)

A troca dos ligantes cloreto se constitui em uma estratégia adequada para a obtenção de análogos, o que aumenta o interesse e as possibilidades de aplicação destes complexos. Como exemplo de ligante que se coordena ao ferro em substituição do cloreto está o ligante nitrosilo. Ao menos um dos ligantes cloreto é lábil o suficiente para ser substituído por outros ligantes, como por exemplo o ligante nitrosilo (NO). Estudos de estabilidade térmica e fotoliberação utilizando o nitrosilo complexo de ferro $\text{trans-}[FeCl(NO)(\text{cyclam})]^+$ (CARVALHO, 2015) indicaram que o composto possui a capacidade de liberar NO termicamente ou sob irradiação de luz em 350 nm, em condições fisiológicas. O complexo exibiu interessante reatividade frente ao importante redutor biológico glutathione (GSH), via formação de aduto que provavelmente é acompanhada por uma redução de dois elétrons pela molécula de GSH resultando na liberação de HNO. Adicionalmente este complexo apresenta características de ser um agente antiangiogênico (CARVALHO et al., 2020).

A oxidação catalítica seletiva é crucial para o desenvolvimento da química verde e sustentável. A oxidação de álcoois, por exemplo, é uma transformação importante na síntese orgânica que pode ser alcançada por vários métodos, com destaque na utilização de complexos de ferro(III) contendo diversos cyclams com ponte cruzada (bis-cyclam) di-N-substituídos (ANNUNZIATA et al., 2018). Adicionalmente, os complexos metálicos de ferro(III) contendo ligantes à base de cyclam são utilizados como catalisadores ativos de oxidação de água, que

podem facilitar a formação da ligação oxigênio-oxigênio durante o processo de quebra da água (ANNUNZIATA et al., 2018; GORANTLA; MALLIK, 2020).

A química de complexos de metais de transição envolvendo ligantes relacionados ao catecol, tem sido de grande interesse no desenvolvimento de catalisadores de transferência de elétrons para redução de O₂, como no caso de *cis*-[Fe(cyclam)(qH)] (qH = 2-aminofenol) (VASCONCELLOS et al., 2001). A deslocalização de elétrons entre o metal e esses ligantes relacionados à *o*-benzoquinona, depende da extensão da mistura dos orbitais d do metal e dos orbitais moleculares do ligante, observando que as mudanças no estado de oxidação do ligante podem alterar a extensão da mistura desses orbitais.

Alguns autores relatam sensores a partir de complexos [Fe(cyclam)] mono-N-substituídos, como por exemplo, sensores de resposta fluorescente com complexos utilizando ligantes mono-N-substituídos com grupos fluoróforos, como a molécula de 7-metoxicoumarina (Mmc) (LIM; LIPPARD, 2007) e um ligante axial como a proxil-fluorescamina (FP) (SOH et al., 2002) coordenado ao ferro(III). Este sensor molecular foi utilizado para o monitoramento de NO baseado na estratégia de deslocamento de fluoróforo, que demonstra que o óxido nítrico labiliza e induz a dissociação do grupo fluoróforo presente no complexo de ferro mono-N-substituído. Outro exemplo é um sensor constituído pelo macrocíclico cyclam mono-N-substituído com o grupo fluoróforo quinolina, e coordenado ao íon metálico ferro(II) que atua mimetizando o local de ativação da enzima guanilato ciclase, que é o principal alvo do NO endógeno (KATAYAMA; TAKAHASHI; MAEDA, 1998).

Muitas das classes de antibióticos atualmente disponíveis foram desenvolvidas entre as décadas de 1940 e 1960. Desde então, o desafio à resistência aos antibióticos tem sido amplamente enfrentado pela identificação de novas moléculas semissintéticas baseadas na modificação química de antibióticos naturais existentes. No entanto, o surgimento dos patógenos que são resistentes à maioria dos antibióticos atualmente disponíveis impulsionou a busca de novos compostos. Cyclams, e em particular bis-cyclams (ALVES et al., 2017), mostraram exibir atividade antiviral. Complementarmente é relatado que complexos de ferro com o ligante cyclam di-N-substituído do tipo [H₂{H₂(⁴-CF₃PhCH₂)₂cyclam}] possuem propriedades antibacterianas, antifúngicas (ALMADA et al., 2022), anticancerígenas (PILON et al., 2019), bem como sua toxicidade para nematóides (ALVES et al., 2017). Complexos do tipo [(Fe(cyclam)₂(Qz)] (Qz = quinizarina) (NASCIMENTO et al., 2022) podem apresentar a característica de droga antineoplásica como um mimetizador da antraciclina.

Observa-se, a partir dos exemplos mencionados, características desejáveis como versatilidade química, aplicabilidade, estabilidade e a possibilidade de modelar a reatividade dos complexos de ferro com o ligante cyclam e seus derivados, quer seja pela escolha criteriosa dos coligantes e/ou dos grupos funcionais a serem apensados ao macrocíclico. Tais características fazem desta classe de compostos, plataformas potenciais a uma ampla gama de aplicações em diferentes áreas como medicina, catálise dentre outras e nos motivaram à realização dos presentes estudos.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como objetivo principal a preparação, caracterização, investigação de reatividade e ensaios biológicos de complexos do tipo $[\text{FeCl}_2(\text{cyclam-F})]\text{Cl}$ (cyclam = 1,4,8,11-tetraazacicotetradecano, F = fluoróforo (L_n)). Foram empregados os ligantes cyclam (L_1) e seus derivados mono-N-funcionalizados com fluoróforos (L_n), com $n = 2$ (1-naftalen-2-ilmetil)-1,4,8,11-tetraazacicotetradecano), $n = 3$ (1-antracen-9-ilmetil)-1,4,8,11-tetraazacicotetradecano) e $n = 4$ (1-piren-1-ilmetil)-1,4,8,11-tetraazacicotetradecano).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e caracterizar os ligantes tetraazamacrocíclicos contendo grupos fluoróforos;
- Sintetizar e caracterizar os complexos de ferro contendo os ligantes macrocíclicos mono-N-funcionalizados com grupos fluoróforos;
- Investigar as propriedades fotofísicas dos ligantes e dos complexos sintetizados;
- Estudar reatividade química e a labilidade dos ligantes cloretos dos complexos sintetizados;
- Realizar estudos *in vitro* para identificar potenciais aplicações biológicas.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES

Todos os reagentes utilizados foram de pureza analítica e não foram realizadas quaisquer purificações prévias. Os reagentes de maior especificidade para a síntese dos ligantes e complexos estão listados na Tabela 1 com sua respectiva procedência e grau de pureza.

Tabela 1 – Lista de reagentes com suas respectivas procedências e grau de pureza.

Reagente	Marca	Grau de Pureza
1,4,8,11-tetrazaciclotetradecano	Sigma Aldrich / Strem Chemicals	98%
2-(bromometil)naftaleno	Sigma Aldrich	96%
9-(clorometil)antraceno	Sigma Aldrich	98%
1-(bromometil)pireno	Sigma Aldrich	98%
cloreto de ferro(II) tetra hidratado	Sigma Aldrich	98%

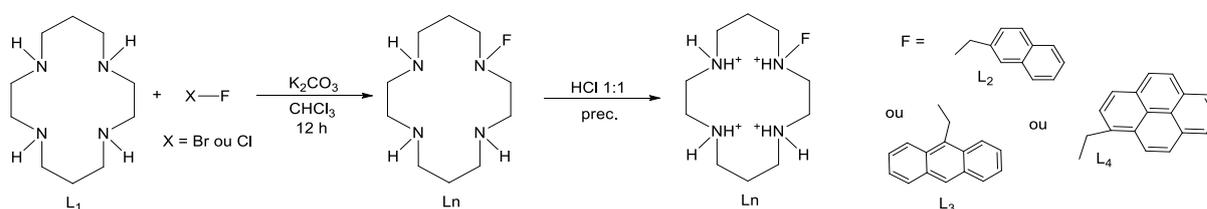
Fonte: Elaborado pelo Autor

3.2 SÍNTESE DOS LIGANTES E COMPLEXOS

3.2.1 Síntese dos ligantes mono-N-funcionalizados derivados do cyclam

A síntese dos ligantes mono-N-funcionalizados foi realizada conforme descrito na literatura (HELPS et al., 1989), com adaptações. Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados cerca de 500 mg (2,5 mmol) de cyclam e 20 mL de CHCl_3 . Posteriormente, foram adicionados entre 55-75 mg (0,25 mmol) do haleto de arila (2-(bromometil)-naftaleno, 9-(clorometil)-antraceno ou 1-(bromometil)-pireno) e 500 mg de K_2CO_3 . Esta mistura foi agitada à temperatura ambiente por 12 h e então filtrada. O solvente foi removido em um evaporador rotatório e o produto obtido foi extraído cinco vezes com acetona. O solvente foi eliminado sob pressão reduzida. O sólido pastoso obtido foi dissolvido em ~10 mL de acetona e foi adicionada uma solução de HCl (1:1 v/v), para precipitação do produto. O produto foi então filtrado, lavado com acetona e éter, e seco em dessecador. O esquema 4 mostra a rota sintética esquemática principal dos ligantes.

Esquema 4 – Rota sintética esquemática dos ligantes protonados mono-N-funcionalizados derivados do cyclam.



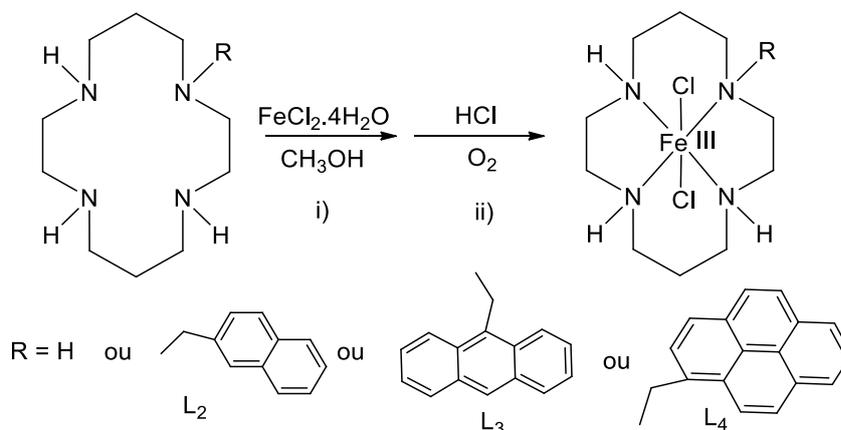
Fonte: Do Autor

3.2.2 Síntese dos complexos de ferro [FeCl₂(L_n)]Cl

Os complexos de ferro com os ligantes mono-N-funcionalizados protonados foram sintetizados utilizando prioritariamente uma metodologia desenvolvida neste trabalho. A um balão de três bocas de 50 mL, foram adicionados 100 mg do ligante macrocíclico protonado (entre 0,18 e 0,30 mmol) e 10 mL de MeOH. A esta solução foi adicionado 1 mL de solução metanólica de NaOH (em quantidade estequiométrica) para a desprotonação completa do ligante. A mistura resultante foi mantida sob agitação magnética, com borbulhamento de argônio. Em seguida foi adicionado o precursor metálico (FeCl₂.4H₂O) em excesso 65% dissolvidos em 5 mL de MeOH previamente desaerado mantendo-se a agitação magnética por 30 min sob atmosfera de argônio. Posteriormente, foram adicionados 2 mL de HCl concentrado e borbulhado ar por 1h. A mistura foi filtrada a vácuo, o sólido lavado com HCl 0,1 mol.L⁻¹ e metanol gelados, e seco sob vácuo. O esquema 5 mostra a rota sintética esquemática dos complexos de ferro.

Alternativamente foi realizada a rota de síntese utilizando o cyclam em sua forma não protonada conforme descrito na literatura (VASCONCELLOS et al., 2001), com algumas adaptações. A um balão de 3 bocas de 100 mL, foram adicionados cerca de 280 mg (1,4 mmol) de cyclam e 20 mL de MeOH, tendo essa mistura resultante mantida sob agitação magnética, com borbulhamento de argônio. Em seguida cerca de 280 mg (1,4 mmol) de FeCl₂.4H₂O dissolvidos em 20 mL de MeOH previamente desaerado foram adicionados a mistura inicial mantendo-se a agitação magnética por 3 horas sob atmosfera de argônio. Em seguida, mantendo-se a agitação magnética foram borbulhados ar por 2 horas. A mistura foi filtrada a vácuo, sob 1 mL de HBF₄ 48%, o sólido no filtro foi recolhido resultando em 5% de rendimento como [FeCl₂(L₁)]Cl e lavado com MeOH gelado. A mistura resultante com HBF₄ foi filtrada e em seguida, lavada com MeOH gelado, tendo o sólido recolhido como [FeCl₂(L₁)]BF₄.

Esquema 5 – Rota sintética esquemática dos complexos de ferro $[\text{FeCl}_2(\text{L}_n)]\text{Cl}$.



i) em atmosfera de argônio, 30 min. ii) HCl concentrado e borbulhamento de ar por 1h.

Fonte: Do Autor

3.3 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO

3.3.1 Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do Ultravioleta e do Visível (UV-Vis)

Os espectros de UV-Vis foram obtidos em um equipamento Shimadzu – 1800 utilizando cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico. Estudos de reatividade foram conduzidos em solução de pH 2,0 em ácido trifluoroacético (CF_3COOH), com variação de temperatura de 25 a 45°C com tomada de tempo de até 24 horas.

3.3.2 Espectroscopia de Emissão de Fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência foram registrados em um espectrofluorímetro Shimadzu modelo RF-5301PC no Depto. de Química da FFCLRP-USP de Ribeirão Preto utilizando-se cubeta de 1 cm de caminho óptico. Os compostos foram excitados nos respectivos máximos de absorção de cada fluoróforo.

3.3.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (IV)

Os espectros de IV dos ligantes e dos complexos de ferro foram obtidos no estado sólido, na região compreendida entre 4000 e 220 cm^{-1} em um espectrofotômetro FT-IR Frontier Single Range - MIR da Perkin Elmer, com a utilização do acessório de Reflectância Total Atenuada

(ATR) com cristal de diamante em colaboração com o Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT) do Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM) do Instituto de Química da UFU.

3.3.4 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de RMN foram obtidos em um equipamento BRUKER DRX500 de 500 MHz no Departamento de Química da FFCLRP-USP observando ^1H em 500 MHz. As amostras foram preparadas em D_2O (contendo 0,05% de TMS). Para o ligante L_4 em sua forma desprotonada os espectros foram obtidos em um equipamento BRUKER ASCEND de 400 MHz no Laboratório de Caracterização de Materiais do Instituto de Química da UFU observando ^1H em 400 MHz, com a amostra preparada em CDCl_3 .

3.3.5 Espectrometria de Massa com Ionização por Spray de Elétrons (ESI-MS)

Os espectros de ESI-MS foram obtidos na Central Analítica do Instituto de Química da USP (CAIQ-USP) em um equipamento MICROTOF – Bruker Daltonics, operando no modo positivo (ESI^+). As amostras foram diluídas em metanol (ou metanol/água 1:1), a temperatura do nebulizador foi 180°C e a energia do cone de 4500V.

3.3.6 Análise Elementar (C, H e N)

A caracterização por análise elementar de C, H, N foi obtida na Central de Analítica do Instituto de Química da USP (CAIQ-USP) em um equipamento Perkin Elmer - CHN 2400.

3.3.7 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica

Os espectros de RPE foram obtidos em equipamento VARIAN E-4, operando na banda X (aproximadamente 9,15 GHz) à temperatura de 77 K. As medidas foram realizadas no Laboratório do Departamento de Física e Matemática da Universidade de São Paulo (FFCLRP-USP) de Ribeirão Preto.

Os dados experimentais de EPR foram convertidos de gauss (G) para fator g anisotrópico utilizando a Equação 1 (YADAV, 2005);

$$\Delta E = h\nu = g\beta H_0 \quad (1)$$

Onde:

ΔE é energia da transição em substâncias contendo um elétron não emparelhado;

h é a constante de Planck ($6,63 \times 10^{-34}$ J.s);

ν é a frequência em ciclos por segundos;

g (fator-g) é uma constante de proporcionalidade, cujo valor é de propriedade do elétron em um determinado ambiente;

β é o magneton de Bohr ($9,27 \times 10^{-24}$ J.T⁻¹);

H_0 é valor do Campo magnético em tesla (T).

3.3.8 Estudos Eletroquímicos

3.3.8.1 Voltametria

Os estudos de voltametria dos complexos foram realizados em um micropotenciostato 910 PSTAT MINI no *campus* Iturama-UFTM utilizando um sistema convencional de três eletrodos, utilizando como eletrodo de trabalho carbono vítreo (CV) ou ouro e como contra eletrodo de fio de platina. Todos os potenciais reportados são referentes ao eletrodo padrão Ag/AgCl, 3 mol.L⁻¹ KCl (0.21 V vs NHE), exceto onde mencionado. Os estudos foram realizados em DMSO, DMF e solução de HCl ajustado a pH 2,0 e, como eletrólito suporte foi utilizado TEAPF₆ 0,1 mol.L⁻¹ ou KCl 0,1 mol.L⁻¹. Todas as medidas foram conduzidas sob atmosfera de argônio a 25°C.

Estudos de reatividade e labilidade dos ligantes cloretos dos complexos foram conduzidos em solução de CF₃COOH/CF₃COONa (pH 2,0, $\mu = 0,1$ mol.L⁻¹), utilizando um sistema convencional de três eletrodos, tendo como carbono vítreo (CV) como eletrodo de trabalho, contra eletrodo de fio de platina e referência Ag/AgCl, 3 mol.L⁻¹ KCl. Todas as medidas foram conduzidas sob atmosfera de argônio, variando a temperatura de 25°C a 45°C, com variação do tempo de medida até o limite de 24 horas.

3.3.8.2 Potenciometria

Os estudos sobre a labilização dos ligantes cloretos nos complexos foram realizados utilizando-se um eletrodo íon seletivo para cloreto (Shanghai INESA Scientific Instrument Co., Ltd modelo PCI-1-01) e um eletrodo de referência de Ag/AgCl separados por uma ponte salina

de NaNO_3 $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ e ágar-ágar 5% m/m, acoplados a um pHmetro digital (Lucadema modelo Luca-210) no *campus* Iturama-UFTM. Antes de cada medida o eletrodo foi calibrado com soluções de NaCl na faixa de concentração de $2,5 \times 10^{-4}$ a $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (no mínimo 6 concentrações) com força iônica $\mu = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de CF_3COONa e $\text{pH} = 2,0$ (CF_3COOH). As mesmas condições (força iônica e pH) foram utilizadas na análise dos complexos. Os estudos foram realizados na temperatura de 35°C .

3.3.9 Estudos Biológicos Preliminares

3.3.9.1 Citotoxicidade *in vitro*

A viabilidade celular das linhagens MCF10 (células epiteliais mamárias não-tumorigênicas), MCF7 (adenocarcinoma mamário humano), MB 231 (adenocarcinoma hormônio-dependente mamário humano) e PC3 (adenocarcinoma prostático humano) foi avaliada através do teste do MTT (MOSMANN, 1983). As células foram adicionadas a placas de 96 poços (104 células/poço) utilizando meio de cultura RPMI suplementado com 5% de Soro Fetal Bovino, juntamente com os ligantes L_1 a L_4 e complexos $[\text{FeCl}_2(L_n)]\text{Cl}$ com $n = 1$ a 4 , cisplatina (controle positivo) e DMSO (1% - 0,0039%, controle negativo) e diluídos serialmente de $50 \mu\text{M}$ a $0,39 \mu\text{M}$. As placas foram incubadas por 72 h. Após este período, o meio de cultura foi removido, e adicionou-se um novo meio, contendo $10 \mu\text{M}$ de MTT, diluído em tampão fosfato. Após 3 h, o precipitado roxo (formazan) foi dissolvido com $100 \mu\text{L}$ de DMSO, a viabilidade celular (somente as células vivas produzem o formazan) foi medida indiretamente pela absorbância em 570 nm no leitor de ELISA.