

Universidade Federal do Triângulo Mineiro
Instituto de Ciências Exatas, Naturais e Educação

Ana Cristina Resende Gonçalves

Complexos de rênio e tecnécio com derivados do Megazol: Potenciais agentes multifuncionais para o tratamento e diagnóstico da doença de Chagas

Uberaba

2021

Ana Cristina Resende Gonçalves

Complexos de rênio e tecnécio com derivados do Megazol: Potenciais agentes multifuncionais para o tratamento e diagnóstico da doença de Chagas

Tese apresentada à disciplina Tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia

Uberaba

2021

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

G624c Gonçalves, Ana Cristina Resende
Complexos de rênio e tecnécio com derivados do Megazol: potenciais
agentes multifuncionais para o tratamento e diagnóstico da doença de Chagas
/ Ana Cristina Resende Gonçalves. -- 2023.
184 f. : il., graf., tab.

Tese (Doutorado Multicêntrico em Química de Minas Gerais) --
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2023
Orientador: Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia

1. Compostos de coordenação. 2. *Trypanosoma cruzi*. 3. Simulação de
acoplamento molecular. 4. NADPH Desidrogenase. 5. Compostos
radiofarmacêuticos. I. Maia, Pedro Ivo da Silva. II. Universidade Federal do
Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 616.937

ANA CRISTINA RESENDE GONÇALVES

Complexos de rênio e tecnécio com derivados do megazol: Potenciais agentes multifuncionais para o tratamento e diagnóstico da doença de Chagas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Química.

Uberaba, 28 de maio de 2021

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Antônio Otavio de Toledo Patrocínio
Universidade Federal de Uberlândia

Professor Dr. Victor Marcelo Deflon
Universidade de São Paulo – São Carlos

Professor Dr. Sérgio de Albuquerque
Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto

Professora Dra. Heveline Silva
Universidade Federal de Minas Gerais



Dedico essa tese ao dom da vida! Em meio a tantos momentos difíceis que vivemos, valorizo o que vivi e o que tenho a viver. A pandemia me mostrou que preciso agradecer à vida e à saúde dos meus pais e das minhas avós, pois ela, a vida, é frágil e efêmera. Ao mesmo tempo, essa doença me ensinou que o ato de viver e morrer pode mudar rapidamente. Dedico em especial ao senhor, Vô, que viveu intensamente e nos deixou saudades. Viva a Vida!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, que na minha devoção e fé a ele, me permitiu chegar ao final dessa jornada e me guiou nos momentos de dificuldade e insegurança durante os anos de doutoramento. Agradeço à minha família pelo apoio incondicional aos meus estudos. Agradeço aos meus pais e meu irmão por estarem sempre ao meu lado e me dando todo amor, carinho, dedicação e compreensão. Tia Bia, obrigada pela acolhida!

Ao final desta tese, agradeço ao suporte financeiro concedido através da bolsa de estudos da FAPEMIG e da bolsa de doutorado sanduíche CAPES PDSE 2017/2018. Agradeço também o auxílio das agências de fomento CNPq e FAPEMIG para aquisição de materiais para realização dos experimentos e o apoio institucional da Universidade Federal do Triângulo Mineiro e da Universidade de Zurique.

Agradeço a orientação do Prof Dr. Pedro Ivo da Silva Maia nestes anos do mestrado e o Doutorado. Os conselhos, as conversas sérias e triviais e as broncas, foram de uma importância ímpar na minha formação como pessoa e como profissional. Muito obrigada pelo companheirismo, compreensão, amizade e por não desistir de mim nos 7 anos de convivência. Valeu, Pedro!

Agradeço ao Prof. Dr Roger Alberto pela supervisão e por permitir minha participação no grupo Alberto na Universidade de Zurique.

Agradeço aos Professores e Doutores que contribuíram com a realização deste trabalho:

- ✓ Aos professores Dra. Carla Duque Lopes e o Dr Sérgio de Albuquerque, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP-Ribeirão Preto pelos ensaios *in vitro*;
- ✓ Ao professor Dr. Júlio Cesar Borges e à Dra. Silvia H. Libardi, do IQSC-USP, pelos testes enzimáticos;
- ✓ Ao professor Dr. Ronaldo Júnio de Oliveira, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo estudo de Docking Molecular;
- ✓ Ao Professor Dr. Antônio da Hora Machado, do Instituto de Química da Universidade de Uberlândia, pelos estudos teóricos por DFT;

Às secretarias Mayla e Luciana, aos técnicos de Laboratório Diogenes, Arthur, Fred, Rejane e Ana Cristina, à Paula da Central de laboratórios e todo pessoal da secretaria do ICENE pela eficiência e atenção em todos os momentos necessários;

Aos amigos e colegas do laboratório, que me acompanharam nesses longos anos, sendo na sala de aula, na mesa do bar ou no laboratório: Jackeline, Viviane, Gáveni, Jean, Alice, Tristão, Carol, Arthur, Amanda, Marcus, Leticia, Iara, Marcela, Monique, Cidney e Tristão. E aos companheiros do laboratório da Universidade de Zurique: Carla, Kaisar, Robin, Daniel, Rafael, Henrik, Ramona, Nico, Nina, Emanuel, Peter, Nora Mattias, Leonel e Janvier.

RESUMO

A doença de Chagas (DC) é uma doença negligenciada que acomete principalmente a população da América Latina. O tratamento e o diagnóstico da doença são ineficientes, especialmente durante a fase crônica, devido à falta de sintomas e baixa parasitemia. Portanto, são necessários não só novos agentes tripanocidas, mas também técnicas mais eficientes para o diagnóstico. Para tentar contornar estes problemas, podem ser empregados os complexos de rênio (Re) (isótopo natural) na quimioterapia desta doença, enquanto complexos de tecnécio metaestável (^{99m}Tc) análogos podem ser usados no acompanhamento/diagnóstico da doença, sendo que a combinação dos dois tipos pode levar ao desenvolvimento de um dispositivo teranóstico (terapia + diagnóstico). Diante do exposto, o presente trabalho teve como principal objetivo a síntese, caracterização e avaliação da atividade tripanocida de complexos contendo o fragmento *fac*- $\{^{185/187}\text{Re}(\text{CO})_3\}^+$ com derivados do agente tripanocida conhecido como megazol. A estrutura periférica do megazol ($\text{L}^{\text{H,H}}$) foi modificada para obtenção dos compostos $\text{L}^{\text{R,R}}$ (R = H, Me ou R = Me, Me), os quais foram usados na preparação de complexos de composição $[\text{Re}^{\text{I}}\text{Br}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{R1,R2}}]$. As seguintes técnicas foram empregadas para a elucidação estrutural e estudo das propriedades dos compostos: análise elementar (CHN), espectroscopias de absorção na região do IV e UV-Vis, RMN (^1H e ^{13}C), HR-ESI-MS, HPLC/UPLC, DRX em monocristal e métodos DFT. A atividade tripanocida dos compostos foi avaliada *in vitro* contra a forma intracelular do *T. cruzi*. Os resultados mostraram que a complexação dos ligantes ao fragmento $\{\text{Re}(\text{CO})_3\}^+$ não altera significativamente a atividade tripanocida e que, com exceção do complexo $[\text{Re}^{\text{I}}\text{Br}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$, todos os compostos apresentaram IS melhor do que o fármaco padrão, o benznidazol (Bz). Adicionalmente, a interação do megazol e do seu complexo de rênio foi avaliada, experimentalmente e por métodos computacionais, na proteína *T. cruzi* Old Yellow Enzyme (TcOYE). Os dados mostraram que tanto o megazol quanto o complexo metálico apresentaram maior afinidade pela TcOYE quando comparados com o Bz. Finalmente, foi possível afirmar que a marcação do megazol com $^{99m}\text{Tc}^{\text{I}}$ foi realizada com sucesso, embora os resultados tenham indicado que o padrão de Re^{I} não é homólogo ao de $^{99m}\text{Tc}^{\text{I}}$, provavelmente, por uma diferença de carga do complexo formado. Contudo, a combinação dos compostos de Re^{I} e $^{99m}\text{Tc}^{\text{I}}$ aqui estudados representa um passo para o desenvolvimento de um dispositivo teranóstico para a DC.

Palavras-chave: compostos de coordenação, *Trypanosoma cruzi*, docking molecular, Old Yellow Enzyme, radiofármacos

ABSTRACT

Chagas disease (CD) is a neglected disease that affects mainly Latin American People. The treatment and diagnosis, particularly during the chronic phase, are ineffective due to the lack of symptoms and low parasitemia. For this reason, CD requires not only new trypanocidal agents but also more efficient diagnostic techniques. For improving such problems, new rhenium complexes (natural isotope) can be employed in Chagas chemotherapy, while analogous ^{99m}Tc complexes can be used to diagnose/monitor the disease while the combination of them can lead to the development of a theranostic device (therapy + diagnosis). Therefore, the main objective of the present work was the synthesis, characterization and evaluation of the trypanocidal activity of complexes containing the *fac*- $\{^{185/187}\text{Re}(\text{CO})_3\}$ fragment with derivatives from the trypanocidal drug known as Megazol. The peripheral structure of Megazol ($\text{L}^{\text{H,H}}$) was modified to obtain the compounds $\text{L}^{\text{R,R}}$ ($\text{R} = \text{H, Me}$ and $\text{R} = \text{Me, Me}$), which were used in the syntheses of complexes of composition $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{R}_1,\text{R}_2}]$. The techniques employed in the structural determination and study the chemical properties of compounds were: elemental analysis, absorption spectroscopies in the IR and UV-vis region, NMR (^1H and ^{13}C), HR-ESI-MS, HPLC/UPLC, single-crystal XRD and DFT methods. The trypanocidal activity of the compounds was evaluated *in vitro* against the intracellular form of *T. cruzi*. The results showed that the ligand complexation to the $\{\text{Re}(\text{CO})_3\}^+$ core does not significantly change the trypanocidal activity and, with exception of the $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ complex, all compounds exhibited SI better than the standard drug, benznidazol (Bz). In addition, the interaction of megazol and its Re complex was evaluated, by both experimental and computational methods, with *T. cruzi* Old Yellow Enzyme (TcOYE) protein. The data showed that megazol as well as the metallic complex presented higher affinity for TcOYE than Bz. Finally, it was possible to affirm that the labelling of megazol with ^{99m}Tc was carried out successfully, although the results have indicated the Re complexes, used as standard, were not homologous with the ^{99m}Tc complexes, probably, due to a charge difference between them. Nevertheless, the combination of the Re and ^{99m}Tc compounds studied here represents an important step towards the development of a theranostic device for CD.

Key-words: coordination compounds, *Trypanosoma cruzi*, molecular docking, *Old Yellow Enzyme*, radiopharmaceuticals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Regiões onde a Doença de Chagas é encontrada.....	23
Figura 2 - Exemplos de nitroaromáticos: nitrobenzeno (A), 2-nitrofurano (B) e 5-nitroimidazol (C).....	26
Figura 3 – Estrutura química do nifurtimox e benznidazol.....	26
Figura 4 - Mecanismo de ação do fármaco NFX.....	27
Figura 5 - Mecanismo de ação do fármaco Bz.....	28
Figura 6 – Compostos ativos contra algumas espécies de <i>Leishmaniose</i> e da espécie <i>Tripanossoma brucei</i> : (a) e (b) inibidores de topoisomerasas de <i>Leishmanias</i> do tipo I e II; (c) apresentaram atividade <i>in vivo</i> nas espécies <i>Leishmania amazonenses</i> e <i>Leishmania infantum</i> e inibição da enzima tripanotiona redutase (d) ativo contra as espécies <i>Leishmania tarentolae</i> e <i>Leishmania donovani</i> e inibidor da proteína tubilina (e) <i>Tripanosoma brucei</i> e inibidor da enzima tripanotiona redutase.....	29
Figura 7 – Estrutura Química do fexinidazol.....	30
Figura 8. Estrutura molecular do megazol.....	31
Figura 9 – Etapas de preparação do kit instantâneo para radiofármacos de ^{99m}Tc	34
Figura 10 – Esquema do decaimento de ^{99}Mo aos núclídeos filhos ^{99m}Tc e ^{99}Tc	35
Figura 11 - Estrutura química do Cardiolite e Myoview usados em para exames de imagem do coração.....	37
Figura 12 Segunda geração de radiofármacos de ^{99m}Tc	38
Figura 13 Alguns modelos de complexos com fragmento $[\text{M}(\text{CO})_3]^+$ (M = Re ou Tc).....	38
Figura 14. Combinações teranósticas baseadas em: a) receptor direcionado à complexos homólogos de ^{99m}Tc (raidoimagem) $^{186/188}\text{Re}$ (radioterapia e opcionalmente imagem), b) complexo de ^{99m}Tc para imagem e quantidades macroscópicas de complexo homólogo de rênio frio para terapia.....	39
Figura 15. Sistema teranóstico de $^{99m}\text{Tc}/^{185,187}\text{Re}$ para tratamento e diagnóstico do tecido cardíaco comprometido pela doença de Chagas almejado no presente trabalho.....	40
Figura 16. Possíveis modos de coordenação do megazol.....	40
Figura 17 – Perfil do gradiente de eluição da fase móvel ACN - UPLC-ESI-MS.....	44
Figura 18 - Curva do gradiente de eluição da fase móvel ACN - UPLC Analítico.....	44

Figura 19 – Perfil da curva do gradiente de eluição da fase móvel ACN - HPLC preparativo.....	45
Figura 20 – Perfil da curva do Método Gradiente da fase móvel MeOH - radio-HPLC.....	45
Figura 21 – Estrutura química do DMP e seu produto secundário da oxidação de álcoois primários.....	61
Figura 22 – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,Me}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).....	64
Figura 23 – Espectro de ^1H RMN (400 MHz) do composto $\text{tsc}^{\text{H,H}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).....	66
Figura 24 – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).....	67
Figura 25 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em ATR.....	69
Figura 26 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $\text{tsc}^{\text{Me,Me}}$	70
Figura 27 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$	71
Figura 28 – Representação ORTEP das moléculas N12CA , $\text{tsc}^{\text{H,Me}}$ e $\text{L}^{\text{H,H}}$ com elipsoides termais com 50 % de probabilidade.....	73
Figura 29 – Ligações de Hidrogênio intermoleculares envolvidas na estrutura cristalina do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$. O grupo doador de hidrogênio N(6)–H(6) e os átomos receptores de hidrogênio N(3) e N(5) que formam as ligações de hidrogênio estão circulos de vermelho. A molécula em preto, presente na unidade assimétrica, demonstra como o composto forma ligações de hidrogênio com outras três moléculas em verde, azul e vermelho geradas por simetria. [N(6)⋯N(3) = 3.026(4) Å, N(6)–H(6)⋯N(3) = 156(4) °] ^a ; [N(6)⋯N(5) = 2.924(4) Å, N(6)–H(6)⋯N(5) = 172(3) °] ^b . Operação de simetria: (a) 1-x, -1/2+y, 3/2-z e (b) 1-x, -1-y, 1-z.....	73
Figura 30 - Distribuição eletrônica de acordo com a Teoria dos Orbitais Moleculares de anéis heterocíclicos. Os elétrons π participantes da ressonância dos anéis aromáticos piridina, pirrol e tiofeno encontram-se nos orbitais 2p (1 elétron), orbital 2p (2 elétrons) e orbital 3p (2 elétrons), respectivamente.....	74
Figura 31 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$	76
Figura 32 – Espectros de ^1H RMN (500 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ em acetona- d_6 (δ em ppm).....	78
Figura 33 – Troca do coligante Br^- do complexo 4 por uma molécula de água em solução.....	79
Figura 34 – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ em acetona- d_6 (δ em ppm).....	80

Figura 35 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto [ReBr(CO) ₃ L ^{H,H}] (4) em ATR.....	82
Figura 36 – Figura ORTEP do complexo 4 com elipsoides termais com 50% de probabilidade. O complexo apresenta uma molécula de acetona em sua unidade assimétrica.....	84
Figura 37 – Figura ORTEP do complexo 6 com elipsoides termais com 50% de probabilidade com desordem nos átomos Br, C13, O13 (Parte A com ocupação de 83,6% e parte B 16,4 %).....	85
Figura 38 – radio-Cromatogramas das solução de reações em pH Básico com (A) L ^{H,H} e (B) L ^{Me,Me} . Foram observados mais de um produto oriundas das reações do [^{99m} Tc(OH ₂) ₃ (CO) ₃] ⁺ com os ligantes livres. Detector usado: γ.....	88
Figura 39 – radio-cromatogramas das soluções reacionais em pH ácido com (A) L ^{H,H} ; (B) L ^{H,Me} e (C) L ^{Me,Me} . Foram observados apenas um produto nas reações. Detector usado γ.....	90
Figura 40 – Referência para análise de complexos de ^{99m} Tc.....	91
Figura 41 – radio-cromatogramas da co-injeção da solução com o composto quente ([^{99m} Tc(OH ₂)(CO) ₃ L ^{H,H}]) e os compostos frios (L ^{H,H} e [ReBr(CO) ₃ L ^{H,H}]).....	92
Figura 42 -. Estrutura de entrada para os cálculos DFT (forma A, à esquerda) e estrutura otimizada do megazol (Forma B, à direita).....	94
Figura 43 . Estruturas otimizadas do complexo [ReBr(CO) ₃ (N-mega)] e da espécie [ReBr(CO) ₃ (S-mega)].....	95
Figura 44 . Estruturas otimizadas das espécies [ReH ₂ O(CO) ₃ (N-mega)] ⁺ e [TcH ₂ O(CO) ₃ (N-mega)] ⁺	96
Figura 45 . Espectro eletrônico experimental (a) e teórico (b) para [ReBr(CO) ₃ (N-mega)] e [Re(H ₂ O)(CO) ₃ (N-mega)] ⁺ (c) em DMSO.....	99
Figura 46 - Orbitais HOMO e LUMO para [ReBr(CO) ₃ (N-mega)].....	100
Figura 47 - HOMO-3 para a) [ReBr(CO) ₃ (N-mega)] e b) [ReH ₂ O(CO) ₃ (N-mega)] ⁺	101
Figura 48 - Espectro eletrônico teórico para [Tc(H ₂ O)(CO) ₃ (N-mega)] ⁺ em DMSO.....	101
Figura 49 - Orbitais HOMO e LUMO para [TcH ₂ O(CO) ₃ (N-mega)] ⁺	102
Figura 50 – Resumo da definição dos termos IC ₅₀ , CC ₅₀ e IS e a interpretação dos resultados dos testes <i>in vitro</i>	103
Figura 51 – Porcentagem de atividade tripanocida em diferentes concentrações para os compostos benzinidazol (Bz), L ^{H,H} (1), L ^{H,Me} (2), L ^{Me,Me} (3), [ReBr(CO) ₃ L ^{H,H}] (4), [ReBr(CO) ₃ L ^{Me,H}] (5) e [ReBr(CO) ₃ L ^{Me,Me}] (6) frente à cepa Tulahuen de <i>T. cruzi</i> . Gráfico	

da esquerda representa experimento com concentração inicial dos compostos 250 μM . Gráfico da direita representa experimento com concentração inicial dos compostos 25 μM104

Figura 52 – Porcentagem de citotoxicidade em diferentes concentrações para os compostos benznidazol (Bz), $\text{L}^{\text{H,H}}$ (1), $\text{L}^{\text{H,Me}}$ (2), $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ (3), $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ (4), $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,H}}]$ (5) e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ (6) frente à cepa Tulahuen de *T. cruzi*. Gráfico da esquerda representa experimento com concentração inicial dos compostos 250 μM . Gráfico da direita representa experimento com concentração inicial dos compostos 25 μM105

Figura 53 – Estruturas Químicas do Mononucleotídeo de flavina e dos nucleotídeos NAD e NADP.....107

Figura 54 – (a) Estruturas das FMN oxidado e reduzido. As FMN podem participar em reações em transferência de dois elétrons e dois prótons dando origem a forma totalmente reduzida FMNH_2 . A forma radical livre ocorre quando aceita apenas um hidrogênio e um elétron é chamada de semiquinona FMN^\bullet . (b) A TcOYE catalisa síntese da $\text{F}_{2\alpha}$: ocorre a redução da PGH_2 a $\text{PGF}_{2\alpha}$ pela TcOYE. A FMN reduz a FMNH_2 via NADPH e o produto $\text{PGF}_{2\alpha}$ é posteriormente gerado pela FMNH_2108

Figura 55 - (A) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{\text{ex}} = 295 \text{ nm}$) da proteína TcOYE na concentração de 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de concentrações crescente do ligante benznidazol. (B) Variação das intensidades do máximo de fluorescência ($\lambda_{\text{máx}} = 336 \text{ nm}$) e ajuste não linear à equação de Hill (Equação 1). (C) Relação logarítmica para obtenção do número de sítios ligantes segundo à Equação 2. Relação de Stern-Volmer às temperaturas de 25 e 37 $^\circ\text{C}$. Os espectros foram obtidos em tampão Tris-HCl, pH 8,0; 100 mmol L^{-1} de NaCl e 2,5 % de DMSO.110

Figura 56. (A) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{\text{ex}} = 295 \text{ nm}$) da proteína TcOYE na concentração de 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de concentrações crescente do ligante Megazol. (B) Variação das intensidades do máximo de fluorescência ($\lambda_{\text{máx}} = 336 \text{ nm}$) e ajuste não linear à equação de Hill (Equação 1). (C) Relação logarítmica para obtenção do número de sítios ligantes segundo à Equação 2. (D) Relação de Stern-Volmer às temperaturas de 25 $^\circ\text{C}$ e 37 $^\circ\text{C}$. Os espectros foram obtidos em tampão Tris-HCl, pH 8,0; 100 mmol L^{-1} de NaCl e 2,5 % de DMSO.111

Figura 57 - (A) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{\text{ex}} = 295 \text{ nm}$) da proteína TcOYE na concentração de 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de concentrações crescente do composto Re-Megazol ($[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{H,H}})]$). (B) Variação das intensidades do máximo de fluorescência ($\lambda_{\text{máx}} = 336 \text{ nm}$) e ajuste não linear à equação de Hill (Equação 1). (C) Relação logarítmica para obtenção do número de sítios ligantes segundo à Equação 2. (D) Relação de Stern-Volmer às temperaturas de 25 $^\circ\text{C}$ e 40 $^\circ\text{C}$. Os espectros foram obtidos em Tris-HCl pH 8,0, 100 mmol L^{-1} de NaCl e 2,5 % de DMSO.112

Figura 58. Resultados de docking molecular do complexo ternário TcOYE/FMN/Composto. A) Representação tridimensional das poses estruturais de primeira classificação de cada composto (verde) ligado na cavidade TcOYE (desenho cinza e superfície) contendo o grupo prostético FMN (ciano). Projeção bidimensional da interação dos compostos com TcOYE / FMN obtida pelo B) software LigPlot (STIERAND; RAREY, 2010) e C) servidor web

PoseView (LASKOWSKI; SWINDELLS, 2011). As ligações de hidrogênio são mostradas em linhas tracejadas, as interações hidrofóbicas em contornos verdes e vermelhos e as interações π - π em linhas tracejadas em verde). PoseView não calculou uma projeção bidimensional para as interações $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ com a enzima.....113

Figura 1A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto N12CA em clorofórmio- d_1 (δ em ppm).....I

Figura 2A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto N12CA em clorofórmio- d_1 (δ em ppm).....I

Figura 3A – Espectro de ^1H RMN (400 MHz) do composto $\text{tsc}^{\text{H,Me}}$ em DMSO- d_6 (δ em ppm).....II

Figura 4A – Espectro de ^1H RMN (400 MHz) do composto $\text{tsc}^{\text{Me,Me}}$ em DMSO- d_6 (δ em ppm).....III

Figura 5A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em DMSO- d_6 (δ em ppm).....III

Figura 6A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).....IV

Figura 7A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).....IV

Figura 8A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,Me}}$ em DMSO- d_6 (δ em ppm).....V

Figura 10A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ em DMSO- d_6 (δ em ppm).....V

Figura 11A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ em DMSO- d_6 (δ em ppm).....VI

Figura 13A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).....VII

Figura 14A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,Me}}]$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).....VIII

Figura 15A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,Me}}]$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).....VIII

Figura 16A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).....IX

Figura B1 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $\text{L}^{\text{H,Me}}$ em ATR.....X

Figura B2 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $L^{Me,Me}$ em ATR.....	X
Figura B3 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $[ReBr(CO)_3L^{H,Me}]$ (5) em ATR.....	XI
Figura B4 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $[ReBr(CO)_3L^{Me,Me}]$ (6) em ATR.....	XI
Figura C1 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $tsc^{H,H}$	XII
Figura C2 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $tsc^{Me,H}$	XII
Figura C3 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $L^{H,Me}$	XIII
Figura C4 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $L^{Me,Me}$	XIII
Figura C5 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $[ReBr(CO)_3L^{H,Me}]$	XIV
Figura C6 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $[ReBr(CO)_3L^{Me,Me}]$	XV
Figura D1 - Espectro de IV calculado para megazol. Forma mais estável com enxofre do mesmo lado do nitrogênio.....	XVI
Figura D2 - Espectro de IV calculado para $[ReBr(CO)_3(Nmega)]^+$	XVI
Figura D3 - Espectro de IV calculado para $[ReBr(CO)_3(Smega)]^+$	XVII
Figura D4 - Espectro de IV calculado para $[Re(H_2O)(CO)_3(Nmega)]^+$	XVII
Figura D5 - Espectro de IV calculado para $[Re(H_2O)(CO)_3(Smega)]^+$	XVIII
Figura D6 - Espectro de IV calculado para $[Tc(H_2O)(CO)_3(Nmega)]^+$	XVIII
Figura D7 - Espectro de IV calculado para $[Tc(H_2O)(CO)_3(Smega)]^+$	XIX
Figura E1 – Estrutura Molecular do composto $tsc^{Me,Me}$	XXXV
Figura E2 – Representação ORTEP da estrutura cristalina do composto $L^{H,Me}$	XXXV
Figura E3 – Ligações de hidrogênio intermoleculares envolvidas na estrutura cristalina do composto $L^{H,Me}$. $[N(6) \cdots N(5) = 2,938(3) \text{ \AA}$, $N(6)-H(6) \cdots N(5) = 164,0]$. Operação de simetria: 3-X,1-Y,1-Z.....	XXXVI
Figura 1F – Cromatograma do complexo $[^{99m}TcO_4]^+$ no radio-HPLC. Detector: γ	LVII
Figura 2F – Cromatograma do complexo $[^{99m}Tc(OH)_2_3(CO)_3]^+$ no radio-HPLC. Detector usado: γ	LVII
Figura 3F – Cromatograma do agente complexante $L^{H,H}$ no radio-HPLC. Detector usado: UV.....	LVIII

Figura 4F – Cromatograma do agente complexante $L^{H,Me}$ no radio-HPLC. Detector usado:
UV.....LVIII

Figura 5F – Cromatograma do agente complexante $L^{Me,Me}$ no radio-HPLC. Detector usado:
UV.....LIX



LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Deslocamento Químico ($\delta = \text{ppm}$), multiplicidade (M) e integral (I) dos sinais dos espectros de ^1H RMN dos compostos orgânicos.....	65
Tabela 2 - Deslocamento Químico teórico e experimental dos sinais e resultados dos experimentos de DEPT dos espectros de ^{13}C RMN dos compostos orgânicos.....	67
Tabela 3 – Bandas de absorção na região do infravermelho selecionadas para os ligantes livres $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ (cm^{-1}).....	69
Tabela 4 – Porcentagem da composição química experimental e determinada de C, N e H dos ligantes livres $\text{L}^{\text{R1,R2}}$	70
Tabela 5 – Comprimentos de ligação (Å) e ângulos ($^\circ$) selecionados para os compostos orgânicos.....	72
Tabela 6 – Porcentagem de composição química teórica e determinada de C, H e N dos complexos 4 , 5 e 6	76
Tabela 7 – Deslocamentos Químico (δ), multiplicidades (M) e integrais (I) dos sinais dos espectros de ^1H RMN dos complexos 4 , 5 e 6	77
Tabela 8 - Deslocamento químico teórico e experimental dos espectros de ^{13}C RMN e resultados dos experimentos de DEPT dos compostos em acetona- <i>d</i> ₆	80
Tabela 9 – Bandas de absorção na região do infravermelho selecionadas para os ligantes livres $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ e os complexos $[\text{ReBrL}^{\text{H,H}}(\text{CO})_3]\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ (4 , experimental e teórico), $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,H}}]$ (5) e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ (6).....	84
Tabela 10 – Comprimentos de ligação (Å) e ângulos ($^\circ$) selecionados para os complexos 4 e 6	85
Tabela 11. Comparação dos comprimentos e ângulos de ligação selecionados para $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{H,H}})]$, $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]$. Os dados teóricos foram calculados usando o nível teórico M062X/LANL2DZ.....	96
Tabela 12. Valores de correção da entalpia termal (H) e da correção da energia livre termal (G) para as espécies envolvidas na reação de hidrólise do $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$	97
Tabela 13 - valores dos parâmetros termodinâmicos para $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ e $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$	98
Tabela 14 - valores dos parâmetros termodinâmicos para $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ e $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$	98

Tabela 15 – Valores de IC₅₀, CC₅₀ e IS obtidos para os compostos, L^{H,H} (**1**), L^{H,Me} (**2**), L^{Me,Me} (**3**), [ReBr(CO)₃L^{H,H}] (**4**), [ReBr(CO)₃L^{Me,H}] (**5**) e [ReBr(CO)₃L^{Me,Me}] (**6**). O Bz é utilizado como fármaco referência.....105

Tabela 16 – Constante de dissociação (K_d), número de locais ligantes (n), constante de associação (K_b), constante Stern-Volmer (K_{sv}), para a interação de enzimas TcOYE com benznidazol, megazol (L^{H,H}) e o complexo. Experimentos foram realizados em tampão Tris-HCl pH 8,0, NaCl 100 mmol/L.....108

Tabela D1. Comparação dos comprimentos e ângulos de ligação selecionados para [ReH₂O(CO)₃(N-mega)]⁺, [ReH₂O(CO)₃(S-mega)]⁺, [TcH₂O(CO)₃(N-mega)]⁺ e [ReH₂O(CO)₃(S-mega)]⁺.....XX

Tabela D2 - Dados vibracionais (cm⁻¹) para [M(H₂O)(CO)₃(Nmega)]⁺ (M = Re ou Tc).....XXI

Tabela D3 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie [ReBr(CO)₃(N-mega)]⁺ em DMSO.....XXII

Tabela D4 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie [ReH₂O(CO)₃(N-mega)]⁺ em DMSO.....XXVI

Tabela D5.1 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie [TcH₂O(CO)₃(N-mega)]⁺ em DMSO.....XXIX

Tabela E1 – Dados da coleta e parâmetros de refinamento das moléculas **N12CA**, **tsc^{H,Me}** e **tsc^{Me,Me}**.....XXXVII

Tabela E2 – Dados da coleta e parâmetros de refinamento dos compostos **L^{H,H}** e **L^{H,Me}**.....XXXVII

Tabela E3 - Dados da coleta e parâmetros de refinamento dos compostos [**ReBr(CO)₃L^{H,H}**] e [**ReBr(CO)₃L^{Me,Me}**].....XXXIX

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – reações com os isotópos de Tc e ^{99m}Tc usando o mesmo agente redutor.....	36
Esquema 2 – Metodologias de síntese do Megazol descritas na literatura.....	60
Esquema 3 – Reação de oxidação com o agente oxidante DMP.....	61
Esquema 4 – Reação de condensação entre o aldeído e as TSCs selecionadas.....	62
Esquema 5 – Tautomerismo do anel 1,3,4 – tiadiazol.....	62
Esquema 6 – Reação de ciclização das tsc $^{\text{R1,R2}}$	63
Esquema 7 – Reações de complexação dos ligantes $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ com o fragmento $\{\text{Re}^{\text{I}}\text{CO}_3\}^+$	75
Esquema 8 – síntese do precursor $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$	87
Esquema 9 – reação de marcação dos ligantes megazol e derivados.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS e SÍMBOLOS

N12CA	1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-carbaldeído
Bz	Benznidazol
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças (do inglês <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>)
λ	Comprimento de onda
IC ₅₀	Concentração do composto citotóxica para morte de 50% de células de <i>T.cruzi</i>
CC ₅₀	Concentração do composto que reduz em 50% a viabilidade celular de células LLC-MK2
UPLC	Cromatogra Líquida de Alta Performance do inglês (do inglês <i>Ultra-Performance Liquid Chromatography</i>)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance (do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
δ	Deslocamento químico
DNA	Desoxirribonuclei acid (ácido desoxirribonucleico)
D	Deutério
DRX	Difração de raios X
NADH	Dinucleotido de Nicotinamida e Adenina (do inglês <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>)
DC	Doença de Chagas
DTNs	Doenças Tropicais Negligenciadas
OYE	Enzima Old Yellow
TcOYe	Enzima Old Yellow de <i>Trypanosoma cruzi</i>
HR-ESI-MS	Espectrometria de Massas de Alta Resolução com Ionização por <i>electrospray</i>
NAD(P)H	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida adenina (do inglês <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>)
IS	Índice de Seletividade
IV	Infravermelho
DNDi	Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas (do inglês <i>Drugs for Neglected Diseases Initiative</i>)

MGZ	Megazol
m.o.	micro-ondas
FMN	Mononucleotídeo de Flavina
NFX	nifurtimox
<i>I</i>	Número quântico de Spin Nuclear
OMS/WHO	Organização Mundial da Saúde/World Health Organization
DMP	Periodinano de Dess-Martin (inglês <i>Dess-Martin Peridionaide</i>)
PG	Prostaglandina
MAOS	Reações Orgânicas Assistidas por Micro-ondas (do inglês <i>Microwave Assisted Organic Reactions</i>)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
t.a	Temperatura ambiente
<i>T. brucei</i>	<i>Trypanossoma brucei</i>
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanossoma cruzi</i>
UV-vis	Ultravioleta-vísivel

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	23
1.1 DOENÇA DE CHAGAS	23
1.1.1 Panorama da Doença de Chagas.....	23
1.1.2 Tratamento da Doença de Chagas e os Compostos nitroaromáticos.....	25
1.1.3 O Megazol (MGZ).....	30
1.2 QUÍMICA INORGÂNICA MEDICINAL.....	32
1.2.1 Rênio e Tecnécio na Medicina Nuclear.....	33
1.2.2 Fragmento <i>fac</i> -{M(CO) ³ } (M = ^{99m} Tc e Re).....	36
1.2.3 Agentes Multifuncionais e Justificativa.....	38
2 OBJETIVOS	41
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	41
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	41
3 PARTE EXPERIMENTAL	42
3.1 MATERIAIS.....	42
3.2 INSTRUMENTOS E MÉTODOS.....	42
3.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	42
3.2.2 Infravermelho (IV).....	43
3.2.3 Reações Micro-ondas.....	43
3.2.4 HPLC (High Performance Liquid Chromatography) e UPLC (Ultra-Performance Liquid Chromatography).....	43
3.2.5 Espectrometria de Massas de Alta Resolução com Ionização por <i>eletrospray</i> (HR-ESI-MS).....	46
3.2.6 Espectroscopia Ultravioleta-Visível (UV-Vis).....	46
3.2.7 Análise Elementar.....	46
3.2.8 Cristalografia de Raios X em monocristal.....	46
3.3 SÍNTESE.....	47
3.3.1 – 1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-carbaldeído (NI2CA).....	47
3.3.2 - (E)-2-((1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-il)metileno)hidrazina-1-carbotioamida derivados – tsc ^{R,R}	48
3.3.3 – Derivados 5-(1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-il)-1,3,4-tiadiazol-2-amina (L ^{R,R}).....	49

3.3.4 – Complexos de $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{R,R}})]$	50
3.3.5 - $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$	52
3.3.6 - $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)(\text{CO})_3\text{L}^{\text{R1,R2}}]^+$	52
3.4 ESTUDO TEORICO POR DFT.....	53
3.5 ESTUDOS BIOLÓGICOS.....	54
3.5.1 - Avaliação da Citotoxicidade em Células LLC-MK2.....	54
3.5.2 - Avaliação da Atividade Tripanocida, <i>in vitro</i> , Sobre as Formas Amastigotas.....	54
3.6 ENSAIOS ENZIMÁTICOS.....	55
3.6.1 - Expressão e Purificação da TcOYE.....	55
3.6.2 - Supressão da Fluorescência Intrínseca do Triptofano.....	55
3.7 ESTUDO TEORICO DE DOCKING MOLECULAR NA TcOYE.....	57
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	59
4.1 LIGANTES.....	59
4.2 COMPLEXOS DE ReI TRICARBORNIL.....	75
4.3 MARCAÇÃO DO MEGAZOL COM $^{99\text{m}}\text{Tc}$	86
4.4 CÁLCULOS POR DFT.....	93
4.4.1 Parâmetros termodinâmicos.....	96
4.4.2 Análises das Transições Eletrônicas e Orbitais Moleculares Mais Representativos.....	98
4.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	102
4.6 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO COM A TcOYE.....	105
4.7 ESTUDOS DE DOCKING MOLECULAR.....	111
CONCLUSÕES.....	113
REFERÊNCIAS.....	114
APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN.....	I
APÊNDICE B – ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO IV.....	XXI
APÊNDICE C – ESPECTROMETRIA DE MASSAS - HR-ESI-MS.....	XXIII
APÊNDICE D – ESTUDOS TEÓRICOS POR DFT.....	XXVII
APÊNDICE E – DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	XLVI
APÊNDICE F – CROMATOGRAMAS de radio-HPLC de $^{99\text{m}}\text{Tc}$.....	LXVIII

1. INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇA DE CHAGAS

1.1.1 Panorama da Doença de Chagas

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) acometem as populações mais pobres que vivem em áreas rurais remotas, favelas urbanas e áreas de conflitos em países de clima tropical e subtropical (WHO: Chagas Disease Key Facts, 2021). Uma dessas doenças, a trypanosomíase Americana, também conhecida como doença de Chagas, por ter sido descrita primeiramente pelo pesquisador Carlos Chagas, é a segunda doença parasitária, depois da malária, que mais mata pessoas na América Latina anualmente (Dndi). No ano de 2019, quase 10000 pessoas morreram de Chagas (WHO) (WHO: Chagas Disease Key Facts, 2021). A Organização Mundial da Saúde estima que no mundo aproximadamente 7 milhões de pessoas estejam infectadas com a doença e outras 70 milhões residem em áreas de risco, gerando a cada ano uma contaminação de cerca de 30 mil pessoas. No entanto, apenas 10% dos indivíduos infectados são diagnosticados. A doença é originária da América Latina, porém, também é encontrada em outros países devido a migração de pessoas doentes das áreas endêmicas (**Figura 1**). Nos Estados Unidos, por exemplo, os dados de 2019 do Centro de Controle e Prevenção de Doenças, CDC (do inglês *Centers for Disease Control and Prevention*), mostram que mais de 300 mil pessoas estão infectadas com a doença de Chagas (CDC: Chagas Disease epidemiology & Risk Factors, 2021 FDA).

Figura 1 – As regiões endêmicas da doença de Chagas são destacadas de laranja intenso e as regiões de laranja claro apresentam casos da doença.



Fonte: Adaptado (Dndi: Chagas Disease, 2021).

INTRODUÇÃO

A transmissão da doença em áreas endêmicas ocorre principalmente pelo seu vetor, insetos da família triatomínea, conhecidos popularmente como barbeiros, infectados com o *Trypanosoma cruzi*, parasita causador da doença. O ciclo reprodutivo dos parasitas no vetor ocorre no trato gastro-intestinal dos insetos e suas fezes são contaminadas com *T. cruzi*. As áreas expostas da pele do ser humano, como a face, são normalmente onde o barbeiro pica o indivíduo e próximo à picada ele defeca (LIDANI et al., 2019). Os parasitas entram no corpo humano quando instintivamente o indivíduo espalha as fezes infectadas na ferida, nos olhos, na boca ou em qualquer área machucada da pele para entrar na corrente sanguínea. Outras formas de transmissão são: (I) o consumo de alimentos contaminados com as fezes de triatomíneos infectados com *T. cruzi*; (II) Transfusão de sangue de doadores infectados; (III) uso de órgãos de pessoas infectadas em transplantes; (IV) transmissão de uma mãe infectada durante a gravidez ou durante o parto para o recém-nascido; e (V) acidentes laboratoriais (LIDANI et al., 2019; SHIKANAI-YASUDA; CARVALHO, 2012).

No hospedeiro vertebrado, o *T. cruzi* assume diferentes formas morfológicas, incluindo formas tripomastigotas que circulam na corrente sanguínea e as formas amastigotas que se replicam intracelularmente. Após alguns ciclos de divisão binária, as formas amastigotas se transformam em formas tripomastigotas prontos para alcançar novas células e iniciar um novo ciclo de replicação. Tecidos do músculo cardíaco, esquelético e liso, são alguns dos preferidos pelo parasita, locais onde podem ser observados ninhos de formas amastigotas (SHIKANAI-YASUDA; CARVALHO, 2012).

A doença de Chagas apresenta duas fases. A primeira fase ocorre logo após a contaminação e tem duração curta, aproximadamente 60 dias. Essa fase aguda é caracterizada por uma alta parasitemia sanguínea e na maioria dos casos os sintomas são ausentes, leves ou não relacionados à doença (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018). Após o período da fase aguda, o número de parasitas na corrente sanguínea reduz e o indivíduo entra na fase crônica. Esta fase ainda não é bem compreendida e pode ser caracterizada de duas formas. Primeiro, a forma indeterminada, caracterizada pela ausência de lesões orgânicas características, mesmo com testes sorológicos positivos. Segundo, a forma cardíaca e gastrointestinal, que envolve danos nos tecidos cardíacos e digestivos (RIBEIRO; ROCHA, 1998).

A forma indeterminada é responsável pela maioria dos casos de doença de Chagas, mas geralmente tem um bom prognóstico, podendo o paciente permanecer nela por toda a vida sem manifestar sintomas. Alguns pacientes, 20 a 30%, após alguns anos nessa fase,

INTRODUÇÃO

desenvolvem sintomas cardíacos ou digestivos (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018). As complicações cardíacas são as principais manifestações e incluem o comprometimento do miocárdio e do sistema condutivo, levando à complicações mais graves, como alterações da frequência cardíaca, formação de embolia e trombos (RASSI; RASSI; LITTLE, 2000). Menos frequentes, as complicações com o sistema digestivo vão de complicações mais leves, como distúrbios da motilidade, à graves, como megacólons e megaesôfago.

O diagnóstico inclui a triagem de protozoários circulantes no sangue, usada apenas na fase aguda. Em resultados negativos em exames diretos, onde há suspeita de infecção relativamente alta, também são realizados testes de concentração como microhematócrito ou Stout. No caso do diagnóstico da doença na fase crônica são considerados o quadro clínico do paciente bem como a probabilidade do indivíduo de estar infectado como, por exemplo, no caso de pessoas que vivem em áreas de risco de contaminação. A OMS recomenda no documento “Diretrizes para o diagnóstico e tratamento para a Doença de Chagas (2018) (inglês *Guidelines for the diagnosis and treatment for Chagas disease*)”, no caso de suspeita da doença na fase crônica, o uso do *diagnostic gold standard* no qual a combinação de 2 testes sorológicos com antígenos que detectam dois tipos diferentes anticorpos contra o *T. cruzi* (ELISA, HAI ou IIF) e caso haja conflito de resultados um terceiro teste para chegar a um resultado definitivo (OMS, 2018).

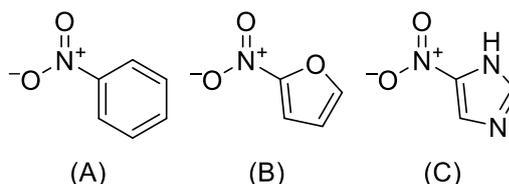
A quimioterapia para Chagas é antiga e ineficiente. A efetividade do tratamento é predominante na fase aguda na maioria das vezes (65 a 85% dos casos), enquanto na fase crônica os medicamentos geralmente são ineficazes, especialmente em pacientes adultos. A seguir é feita uma breve descrição sobre a principal classe de compostos usada no tratamento da doença de Chagas, os nitroaromáticos.

1.1.2 Tratamento da Doença de Chagas e os Compostos Nitroaromáticos

Um composto nitroaromático é uma molécula na qual um ou mais grupos nitro estão diretamente ligados a um anel aromático homogêneo ou heterogêneo (**Figura 2**). Quimicamente, o grupo nitro possui uma combinação única de propriedades, como: forte poder retirador eletrônico, polaridade e formação de ligações de hidrogênio. Além disso, o grupo nitro pode ser bioativado pela redução enzimática para formar espécies reativas de oxigênio. Em muitos casos estas espécies reativas são responsáveis pelos efeitos biológicos dos pró-fármacos.

INTRODUÇÃO

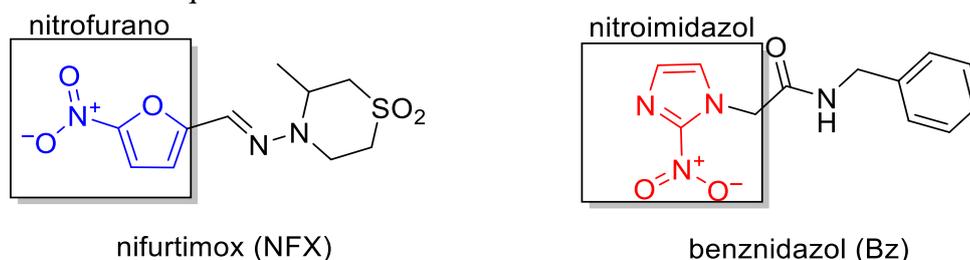
Figura 2 - Exemplos de nitroaromáticos: nitrobenzeno (A), 2-nitrofurano (B) e 5-nitroimidazol (C).



Fonte: a autora.

Os compostos contendo grupos nitroaromáticos são usados no tratamento de várias doenças como angina, insônia, doença de Parkinson, bem como no tratamento de doenças parasitárias. O nitrofurano e nitroimidazol, por exemplo, fazem parte da estrutura de dois fármacos usados na quimioterapia da doença de Chagas: o nifurtimox (NFX) e o benznidazol (Bz) (**Figura 3**).

Figura 3 – Estrutura química do nifurtimox e benznidazol.



Fonte: (PATTERSON; WYLLIE, 2014; TROCHINE et al., 2014).

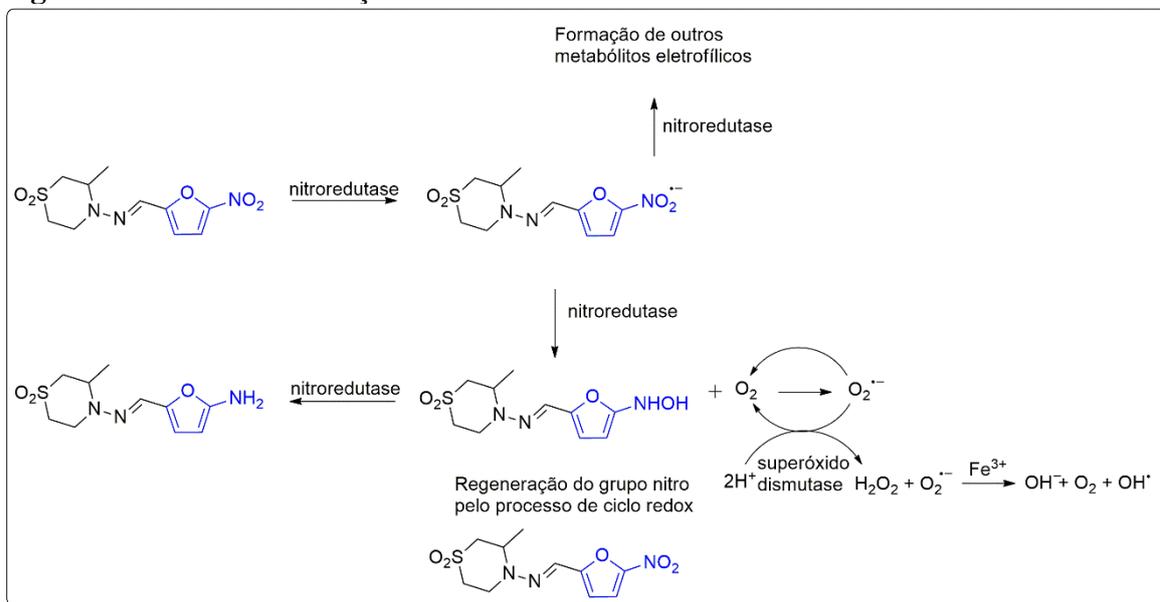
A atividade de ambos os medicamentos citados anteriormente está relacionada com a redução dos grupos nitro (NO₂) presentes nas estruturas dos fármacos por enzimas do tipo nitroredutases, formando radicais livres e/ou metabólitos eletrofílicos. No entanto, os mecanismos de ação desses compostos ocorrem por diferentes vias metabólicas. Em meio biológico o grupo Ar-NO₂ é ativado pelas nitroredutases, e a redução é dividida em duas classes: tipo (I) redução de 2 elétrons e tipo (II) redução de 1 elétron envolvendo a participação do oxigênio molecular. Essas etapas geram os grupos intermediários nitroso (Ar-N=O), hidroxilamina (Ar-NH-OH) e ânion nitro radical (Ar-NOO⁻) que agem sob biomoléculas das células e são responsáveis por seu efeito tóxico (DOCAMPO et al., 1981; MAYA et al., 2003, 2007; MORENO et al., 1982; TEMPERTON et al., 1998).

No caso do NFX, o radical reduz o oxigênio molecular (O₂) formando o íon superóxido (O₂^{•-}) e regenerando o grupo NO₂ em um processo conhecido como ciclo redox. O íon superóxido formado é captado pela enzima superóxido dismutase gerando peróxido de hidrogênio (H₂O₂) que, através da reação de Haber-Weiss na presença de íons Fe³⁺, forma

INTRODUÇÃO

radical hidroxila (OH^\bullet). O efeito tripanocida desta espécie tem sido atribuído a mecanismos complexos que envolvem ligação à lipídeos, proteínas e ao DNA do *Trypanosoma cruzi* (**Figura 4**) (DIAZ DE TORANZO et al., 1988; ROMANHA et al., 2002).

Figura 4 - Mecanismo de ação do fármaco NFX.

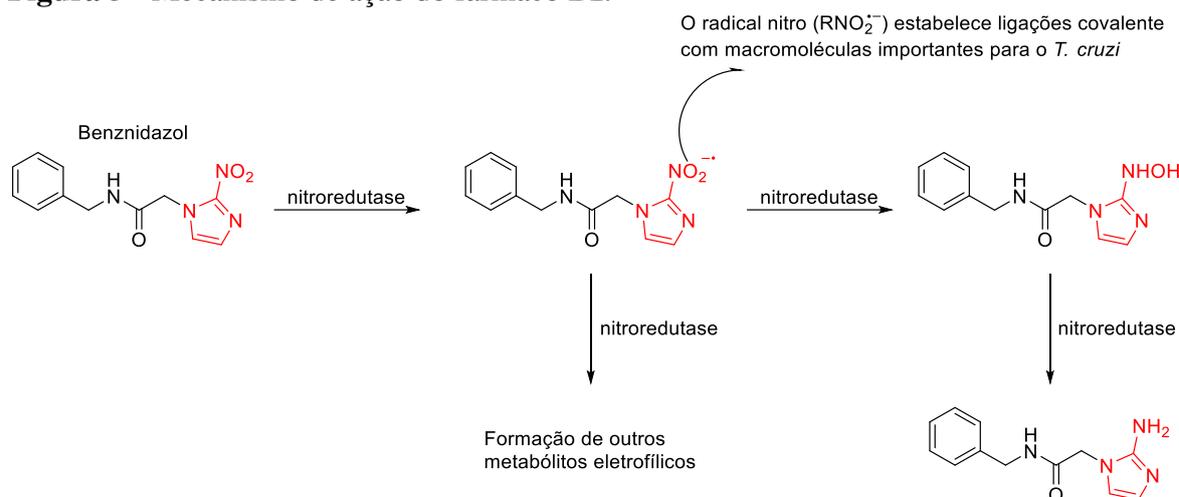


Fonte: Adaptado de (DIAS et al., 2009).

O fármaco Bz não atua através do ciclo redox e não depende diretamente de espécies reativas de oxigênio. O radical nitro formado (R-NO_2^\bullet) é responsável pelo efeito tripanocida do fármaco através da formação de ligações covalentes com macromoléculas importantes do *T. cruzi*, aumentando também o processo de fagocitose e causando a lise (quebra) do *T. cruzi* (**Figura 5**) (ROMANHA et al., 2002; TURRENS et al., 1996). Os metabólitos eletrofílicos formados através do mecanismo de ação do benznidazol e do nifurtimox podem atuar também em outros sistemas do hospedeiro, devido a sua alta reatividade. Esta baixa especificidade de ação em vias bioquímicas definidas do parasita contribui para os efeitos citotóxicos observados no tratamento dos pacientes com a doença de Chagas (DIAS et al., 2009; DIAZ DE TORANZO et al., 1988; URBINA, 2002). A investigação dos metabólitos formados a partir do benznidazol mostrou que, uma vez o composto está dentro do *T. cruzi*, ele é extensivamente metabolizado à inúmeras moléculas pequenas (TROCHINE et al., 2014). Essas moléculas são produtos da redução e adutos covalentes formados, por exemplo, os tióis (TROCHINE et al., 2014). Assim, este estudo indicou que a causa primária da toxicidade do fármaco contra os parasitas são ligações covalentes do benznidazol com tióis de baixa massa molecular e tióis de proteínas (TROCHINE et al., 2014).

INTRODUÇÃO

Figura 5 - Mecanismo de ação do fármaco Bz.



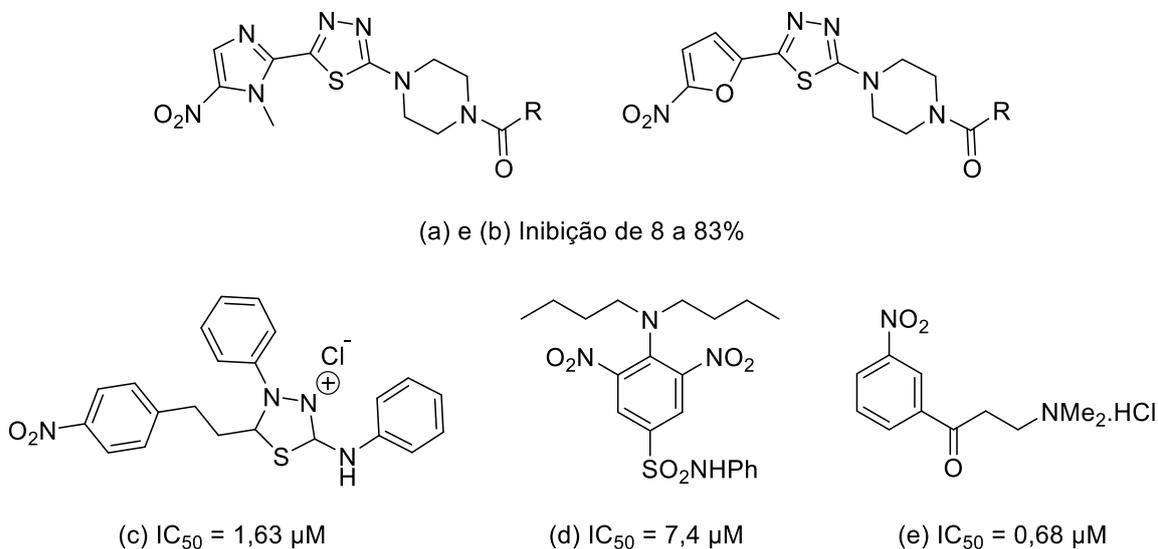
Fonte: Adaptado de (DIAS et al., 2009).

Apesar dos efeitos benéficos, compostos que apresentam grupo nitro podem causar efeitos colaterais sérios, tais como carcinogenicidade, hepatotoxicidade, mutagenicidade e supressão da medula óssea. Logo, o uso de um nitrocomposto não é a primeira opção no tratamento clínico para uma determinada doença quando há alternativas ao tratamento (PATTERSON; WYLLIE, 2014). Entretanto, o repúdio ao estudo de protótipos de fármacos nitroaromáticos, durante o desenvolvimento de fármacos por químicos medicinais, pode representar a perda de oportunidades para encontrar um composto ativo (PATTERSON; WYLLIE, 2014). Portanto, alguns laboratórios têm investido na descoberta de novos fármacos contendo o grupo nitro para doenças parasitárias devido ao histórico de princípios ativos de nitrocompostos em uso clínico.

Alguns estudos mostram que nitrocompostos são ativos contra biomoléculas específicas como as enzimas topoisomerase I e II, e a tripanotona redutase como também a proteína tubilina (**Figura 6**). Além disso, os nitrocompostos mostraram-se ativos contra parasitas de algumas espécies de *Leishmania* e da espécie *Trypanosoma brucei*. Uma vez que a tripanotona redutase é uma enzima encontrada especificamente em células dos parasitas, a sua inibição é interessante para aumentar a seletividade do composto. Ademais, a tubilina presente no parasita apresenta sequência de aminoácidos diferente da proteína correspondente encontrada em células humanas e, portanto, pode apresentar mecanismo de ação diferente (NAGLE et al., 2014).

INTRODUÇÃO

Figura 6 – Compostos ativos contra algumas espécies de *Leishmaniose* e da espécie *Trypanosoma brucei*: (a) e (b) inibidores de topoisomerasas do tipo I e II de Leishmanias; (c) apresentaram atividade *in vivo* nas espécies *Leishmania amazonenses* e *Leishmania infantum* e inibição da enzima tripanotona redutase (d) ativo contra as espécies *Leishmania tarentolae* e *Leishmania donovani* e inibidor da proteína tubulina (e) *Trypanosoma brucei* e inibidor da enzima tripanotona redutase.

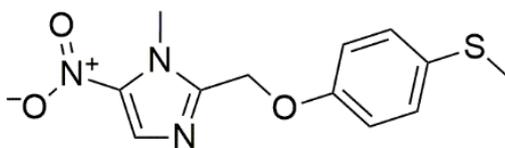


Fonte (NAGLE et al., 2014).

A Iniciativa de Drogas para Doenças Negligenciadas, do inglês *Drugs for Neglected Diseases Initiative*, (DNDi), vem investigando vários compostos nitroaromáticos por meio de programas de redescoberta de candidatos a fármacos. As vantagens desses programas são relacionadas ao baixo investimento, a abreviação do processo de desenvolvimento de fármacos e ao baixo risco do projeto, uma vez que deve haver estudos prévios dos compostos em alguma triagem clínica e, em consequência, todo o perfil farmacocinético e de segurança já conhecido (DYCK e CASAER, 2018; TORREELE *et. al.*, 2010). Até o momento, já foram testados mais de 700 nitrocompostos como agentes antiparasitários que tiveram os testes clínicos interrompidos. Um dos resultados promissores desses estudos é o fexinidazol (**Figura 7**). Na década de 70 a avaliação pré-clínica apresentou segurança e efetividade do composto no tratamento da Tripanossomíase Africana Humana, entretanto, devido ao baixo interesse comercial, o composto foi arquivado pela empresa farmacêutica que o descobriu. No programa de redescoberta de fármacos o fexinidazol apresentou excelente perfil tóxico e de segurança (DYCK e CASAER, 2018; TORREELE *et. al.*, 2010; POLLASTRI, 2018). No dia 16 de julho de 2021, o FDA aprovou o uso clínico do fexinidazol para o tratamento o tratamento da Tripanossomíase Africana Humana por meio de tratamento por via oral (FDA, 2021).

INTRODUÇÃO

Figura 7 – Estrutura Química do fexinidazol.



Fonte: Torreale *et. al.* (2010).

Diante desse contexto, pode-se concluir que os tratamentos usados hoje têm toxicidade relevante e até efeitos mutagênicos (CASTRO; DE MECCA; BARTEL, 2006). Além da aquisição de resistência ao parasita devido ao abandono do tratamento, baixa eficiência durante a fase crônica e baixo interesse das indústrias farmacêuticas em investir em doenças negligenciadas, aumentam a necessidade de mais investimento para tratamentos alternativos mais seguros e eficazes (DIAS *et al.*, 2009; PINHEIRO *et al.*, 2017). Apesar dos problemas, os nitroaromáticos ainda representam uma classe de compostos com alto potencial de atividade contra doenças parasitárias. Deste modo, uma reavaliação dos “velhos” nitroimidazóis, que buscamos fazer nesse trabalho, mostrou ser uma estratégia interessante no desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da doença de Chagas. Entretanto, para que benefícios sejam obtidos é necessário realizar modificações químicas nesses fármacos. Nesse sentido, uma vez que alguns íons metálicos apresentam atividade biológica, pode haver um efeito sinérgico no mecanismo de ação de compostos orgânicos, Logo, a utilização de um nitro-imidazol potencialmente quelante pareceu ser apropriada, sendo escolhido o composto conhecido como “megazol” para tal objetivo.

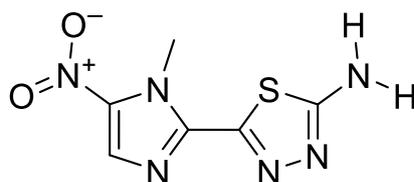
1.1.3 O Megazol (MGZ)

O megazol (**Figura 8**) é um 5-nitroimidazol contendo um anel tiadiazol que tem recebido atenção por suas propriedades farmacológicas há mais de 2 décadas (LEITES, 2018; SALOMÃO *et al.*, 2010). Ele apresenta uma alta eficácia em camundongos infectados com cepas do *Trypanosoma cruzi* e também do *Trypanosoma brucei*. Porém, o seu desenvolvimento como fármaco foi interrompido devido a problemas de toxicidade. Foi mostrado que o tratamento com o megazol leva à produção de espécies reativas de oxigênio de forma similar ao nifurtimox, as quais poderiam explicar seus efeitos tóxicos às estruturas celulares. Apesar de tais evidências, estudos envolvendo a atividade de compostos nitroheterocíclicos continuam a surgir, o que enfatiza o fato de que tripanosomatídeos são particularmente sensíveis a esta classe de compostos. Portanto, nosso grupo de pesquisa acredita que o megazol pode ser modificado com o intuito de potencializar sua atividade e

INTRODUÇÃO

diminuir sua toxicidade, sendo este o principal objetivo do presente trabalho. Neste ponto temos a possibilidade de modificação tanto pela alteração dos grupos periféricos do megalzol quanto pela coordenação a íons metálicos de transição, visto que o megalzol possui potencial para atuar como ligante quelante através dos átomos doadores de nitrogênio e enxofre. Este último fato se mostra particularmente interessante, pois a complexação pode formar moléculas híbridas capazes de atuar através de múltiplos mecanismos de ação.

Figura 8. Estrutura molecular do megalzol.



Fonte: a autora.

Os estudos *in vitro* nas formas extracelular e intracelular do *T. cruzi* em diferentes cepas relataram uma atividade tripanocida superior do MGZ as dos fármacos NFX e BZ (ENANGA et al., 2003; MAYA et al., 2003). Alguns estudos *in vivo* com camundongos mostraram que, com dosagem única do MGZ, foi possível curar os mamíferos infectados com *T. brucei* na fase aguda da doença (BOUTEILLE et al., 1995; CHAUVIÈRE et al., 2003). O mecanismo de ação do MGZ ainda não foi solucionado, não havendo explicação para seu efeito genotóxico e mutagênico. Os compostos nitroheterocíclicos há muitos anos são usados como princípios ativos de medicamentos. No entanto, o grupo nitro na posição 5 do anel imidazol parece ser o responsável pela toxicidade do MGZ, incluindo o efeito mutagênico (DOBIÁS et al., 1994; NESSLANY et al., 2004). Possivelmente, sua ação parasitária ocorre com a redução enzimática do grupo nitro produzindo radicais livres prejudiciais para os parasitos (ENANGA et al., 2003; MITAL, 2009; OLIVEIRA et al., 2008).

Uma condição grave de pacientes com Chagas que pode levar a morte do paciente, se não for tratada adequadamente, é o comprometimento cerebral. Nesse sentido, entre os fármacos tripanocidas já testados, o MGZ exibiu atividade promissora em modelos experimentais (DIAS et al., 2009), sendo a interferência na síntese proteica das formas amastigostas sugerida como responsável pelo efeito antiparasitário do MGZ (CASTRO; DIAZ DE TORANZO, 1988). Contudo, não há consenso que esse efeito é o único responsável pelo mecanismo do MGZ. Outros estudos mostraram o metabolismo do

INTRODUÇÃO

oxigênio como participante da atividade tripanocida do fármaco. O MGZ sofre dismutação originando uma espécie eletrofílica (forma nitrosa) que é sequestrador de tiol importante principalmente para a tioltripanotiona, co-fator da tripanotiona redutase, enzima essencial para a sobrevivência do *T. cruzi* (MAYA et al., 2003). Redutases presentes na fração microsomal do *T. cruzi* catalisam a redução do MGZ, dando origem ao radical nitro-ânion e interferindo com o metabolismo do oxigênio parasitário, o que induz a um estado de estresse oxidativo (VIODÉ et al., 1999). Dentro do mesmo contexto, Salomão e colaboradores (2010) estudaram a atividade tanto *in vitro* quanto *in vivo* do MGZ com cepas do *T. cruzi* resistentes ao Bz. Neste trabalho, o MGZ foi também descrito como um limpador do co-fator da tripanotiona redutase. Por outro lado, os estudos foram interrompidos porque foram relatados efeitos mutagênicos e genotóxicos *in vitro*. Por esse motivo a OMS perdeu o interesse em desenvolver o MGZ como medicamento para a doença de Chagas (SALOMÃO et al., 2010).

Apesar dos fatos acima terem desanimado a continuação da pesquisa envolvendo o megazol, acreditamos que este ainda pode ser explorado. Nos últimos anos, a Química Inorgânica Medicinal e a Bioinorgânica vêm mostrando grande potencial em preparar protótipos de fármacos e radiofármacos. Logo, é possível que esta seja uma das formas para superar as desvantagens apresentadas pelo megazol. No próximo tópico desta introdução será feita uma explanação de como a Química Inorgânica Medicinal pode ser usada para superar os efeitos adversos apresentados pelo megazol e, especialmente, como a medicina nuclear envolvendo ^{99m}Tc pode ser explorada adicionalmente.

1.2 QUÍMICA INORGÂNICA MEDICINAL

A química inorgânica medicinal já foi capaz de desenvolver fármacos para serem empregados no tratamento de diversas doenças como câncer, reumatismo, diabetes e leishmaniose, como também em diagnóstico (DE ALMEIDA et al., 2013). Em comparação aos fármacos orgânicos, os fármacos inorgânicos têm a possibilidade de ter compostos com diferentes números de coordenação, geometrias, metais com estados de oxidação variados e a presença de diferentes moléculas bioativas como ligantes. Além disso, os metais quando coordenados a fármacos orgânicos podem alterar as propriedades químicas e farmacológicas do princípio ativo (ZAKI; ARJMAND; TABASSUM, 2016), sendo uma opção válida como recurso na medicina. A cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, por exemplo, são fármacos

INTRODUÇÃO

inorgânicos amplamente empregados na quimioterapia do câncer. Além da quimioterapia, a medicina nuclear é amplamente estabelecida por meio do tratamento e diagnóstico de diferentes doenças a qual emprega uma série de fármacos inorgânicos.

1.2.1 Rênio e Tecnécio na Medicina Nuclear

Os elementos químicos rênio (Re) e tecnécio (Tc) pertencem ao grupo 7 da tabela periódica. Os seus complexos são uma das principais linhas de estudos na preparação de novos protótipos de fármacos para tratamento e diagnóstico de doenças. O Re apresenta isótopos estáveis e instáveis e, portanto, é estudado tanto como medicamento quimioterápico (isótopos $^{185/187}\text{Re}$) quanto como radiofármaco (isótopos $^{188}\text{Re}/^{186}\text{Re}$). Por outro lado, o Tc é um elemento artificial e todos seus isótopos são instáveis. O ^{99}Tc e seu isótopo metaestável $^{99\text{m}}\text{Tc}$ apresentam química bem desenvolvida devido as suas aplicações dentro da medicina nuclear diagnóstica (ALBERTO; ABRAM, 2019). A química de coordenação destes elementos é rica devido aos oito estados de oxidação possíveis e aos vários sistemas ligantes adequados a cada estado de oxidação. Além disso, a química do Re e Tc é bastante similar e geralmente formam complexos homólogos. Entretanto, esta consideração deve ser feita com cuidado já que em muitos casos a reatividade é diferente (ALBERTO et al., 2001).

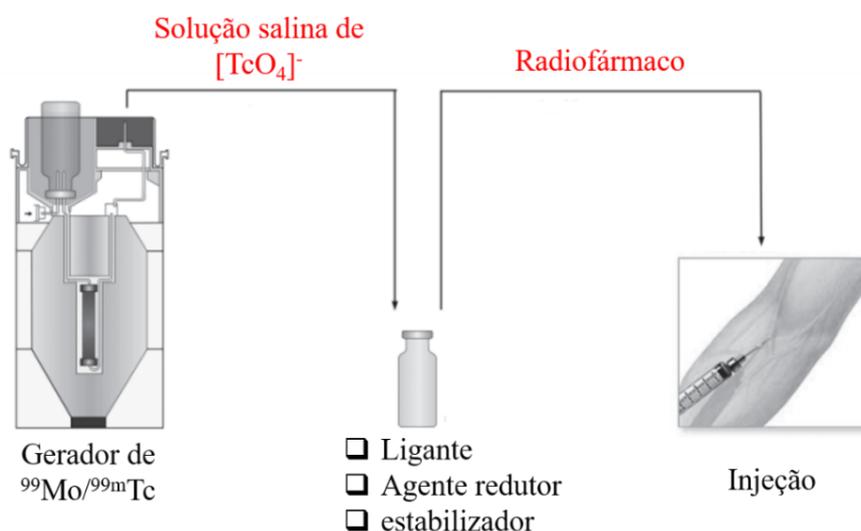
O isômero metaestável de tecnécio, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, é um emissor γ puro e o seu tempo de meia-vida (6 h) tem longevidade suficiente para a síntese, purificação e a injeção dos radiofármacos nos pacientes. Somado-se a isto, a baixa energia γ (140 keV) emitida não causa danos aos pacientes e, por sua vez, tem nível alto o suficiente para penetrar em tecidos biológicos e emergir de órgãos internos. Logo, a distribuição de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ pode ser monitorada externamente por um contador de cintilação. Por outro lado, os isótopos ^{188}Re ($t_{1/2}=16,9$ h e $E_{\text{máx}}$ 2,1 MeV) e ^{186}Re ($t_{1/2}=89,2$ h) são emissores β^- sendo utilizados no desenvolvimento de radiofármacos para a medicina nuclear e, em ambos os casos, as propriedades físicas permitem energia efetiva para transferência a tecidos cancerígenos. Assim sendo, as propriedades químicas e físicas dos isótopos $^{186/188}\text{Re}$ e $^{99\text{m}}\text{Tc}$ possibilitam uma combinação de terapia e diagnóstico englobando-se no conceito teranóstico (terapia + diagnóstico) (ABRAM; ALBERTO, 2006; ALBERTO, 2012).

Radiofármacos baseados no isótopo γ -emissor $^{99\text{m}}\text{Tc}$ são os mais frequentemente utilizados em diagnósticos na medicina por meio da Tomografia Computadorizada por

INTRODUÇÃO

Emissão de Fóton Único (do inglês: Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT), cobrindo cerca de 80 % dos diagnósticos realizados na medicina nuclear (ALBERTO; ABRAM, 2019). O uso de radiofármacos de ^{99m}Tc é justificado pelas propriedades radioativas ideais do nuclídeo destacadas acima, porém, a principal razão para o uso do ^{99m}Tc está relacionada à disponibilidade comercial do gerador de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ (**Figura 9**) (ABRAM; ALBERTO, 2006).

Figura 9 – Etapas de preparação do kit instantâneo para radiofármacos de ^{99m}Tc .

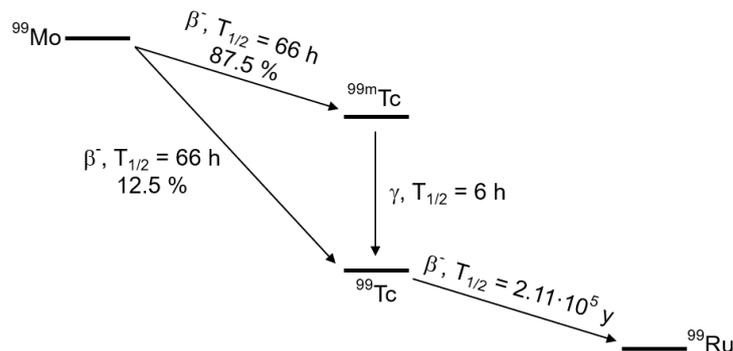


Fonte: Adaptado de (ABRAM; ALBERTO, 2006).

O isótopo metaestável ^{99m}Tc é obtido a partir do nuclídeo pai ^{99}Mo (emissor β^- ; $t_{1/2}$ 66 horas) o qual decai de duas formas: (I) com 86% a ^{99m}Tc e (II) 14% a ^{99}Tc (**Figura 10**). A separação entre os nuclídeos pai e filho estão comercialmente disponíveis por geradores de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$. Os geradores apresentam uma coluna cromatográfica de alumina onde os íons duplamente negativos $[\text{MoO}_4]^{2-}$ estão fortemente ligados e o produto do decaimento nuclear, o $[\text{TcO}_4]^-$, é eluído por soluções salinas esterilizadas com alta pureza do radionuclídeo. Portanto, uma fonte permanente de soluções de $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ é obtida através do gerador, fazendo do uso de radiofármacos de tecnécio algo muito prático, especialmente devido à possibilidade de preparação no ambiente clínico por meio dos chamados “kits instantâneos” (**Figura 9**) (ABRAM; ALBERTO, 2006; ALBERTO, 2012).

INTRODUÇÃO

Figura 10 – Esquema do decaimento de ^{99}Mo aos nuclídeos filhos $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e ^{99}Tc .



Fonte: Adaptado de (BRYAN, 2013)

Para que seja levado a um sítio específico, o íon metálico deve ser reduzido para um estado de oxidação suficientemente estável e ser estabilizado e ligado de forma covalente a uma molécula biologicamente ativa sem afetar as suas propriedades fisiológicas. O sistema ligante é importante para estabilizar o baixo estado de oxidação do metal e determinar o padrão de biodistribuição do radiofármaco. O radiofármaco é então testado por um controle de qualidade cromatográfico antes de ser injetado no paciente. As reações precisam ocorrer em uma única etapa e serem otimizadas com alto rendimento, reprodutíveis e seus produtos apresentar alta pureza (ABRAM; ALBERTO, 2006; ALBERTO, 2012).

Um desafio envolvendo esta área de pesquisa é a elucidação das estruturas dos compostos produzidos em níveis traço. A natureza diluída das soluções do isótopo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (10^{-7} – 10^{-10} M) está abaixo dos limites de detecção das técnicas de caracterização convencionais (ABRAM; ALBERTO, 2006; ALBERTO, 2012). Logo, a radioatividade dos compostos $^{99\text{m}}\text{Tc}$ é sua única característica mensurável e, para isso, se utiliza o equipamento de HPLC com detector γ é capaz de diferenciar espécies de $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Este problema é superado pelo uso do emissor β^- de vida longa ^{99}Tc , o qual é disponibilizado em quantidades macroscópicas para a realização de reações em níveis milimolares, permitindo uma caracterização estrutural completa dos produtos por métodos convencionais. Logo, os novos complexos de ^{99}Tc servem como padrões de referência para os compostos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ produzidos em escala nanomolar. Quando não há possibilidade de manuseio do isótopo de ^{99}Tc devido a problemas de permissão e segurança, os pesquisadores também podem trabalhar com os isótopos “frios” não-radioativos de rênio ($^{185/187}\text{Re}$) como padrões, uma vez que a química do Re e Tc é similar dentro de certas circunstâncias, além de evitar gerar lixo radioativo. Assim, a co-injeção de complexos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e de complexos isoestruturais de Re é utilizada como caracterização final ao se comparar os tempos de retenção do pico γ e do

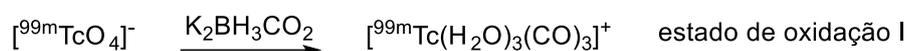
INTRODUÇÃO

pico de UV dos cromatogramas. No entanto, a química de reações em escala nanomolar muitas vezes pode diferir da química em reações com larga escala devido à diferença de concentração dos reagentes.

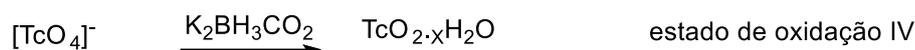
Um exemplo prático é a síntese do complexo $[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{CO})_3]^+$ quando diferentes isótopos são empregados nas reações (**Esquema 1**). As reações em microescala levam a redução do $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ ao estado de oxidação I, enquanto na reação em larga escala a redução de ^{99}Tc vai até o estado de oxidação IV, formando o produto insolúvel $\text{TcO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (ALBERTO et al., 2001; ALBERTO; BRABAND, 2013).

Esquema 1 – reações com os isótopos de Tc e $^{99\text{m}}\text{Tc}$ usando o mesmo agente redutor.

Reação em micro escala



Reação em macro escala



Fonte: A Autora.

1.2.2 Fragmento *fac*- $\{\text{M}(\text{CO})_3\}$ (M = $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e Re)

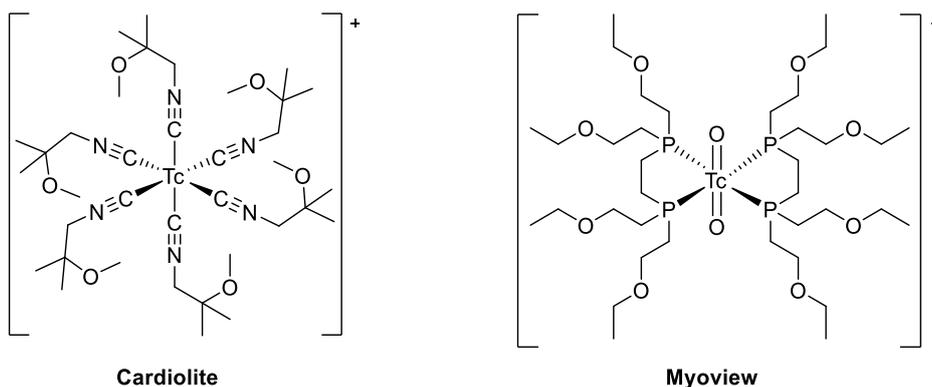
Rênio e tecnécio possuem uma química muito rica com fragmentos típicos, tais como $[\text{MO}]^{3+}$, $[\text{MN}]^{2+}$, $[\text{M}(\text{CO})_3]^+$ e M^{3+} . Nos últimos anos, a química organometálica do rênio e tecnécio em baixos estados de oxidação tem ganhado considerável atenção no desenvolvimento de novos radiofármacos alvo-específicos (LECINA et al., 2015; XU et al., 2017) (LECINA et al., 2015; LIPOWSKA et al., 2016, 2019; XU et al., 2017). Portanto, além do bem estabelecido fragmento Tc^{VO} , tricarbonil complexos de Tc^{I} e Re^{I} são bons candidatos para a obtenção de novos radiofármacos.

Os primeiros radiofármacos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ usados em medicina diagnóstica exploravam propriedades físicas como carga, tamanho e lipofilicidade dos complexos para direcioná-los a órgãos específicos como fígado, rim, coração, ossos, tireoide e cérebro para exames de cintilografia. Alguns exemplos de radiofármacos empregados em exames do coração cardiolite e myoview (**Figura 11**) são complexos monocatiônicos que são absorvidos no miocárdio (CAGNOLINI; WHITENER; JURISSON, 1998; VAN RENSBURG, 1999). Os complexos de $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{I}}$ isocianidos homolépticos de composição $[\text{Tc}^{\text{I}}\text{L}_6]^+$ apresentam

INTRODUÇÃO

estabilidade redox e cinética e, nos sistemas biológicos, a estabilidade eletrônica de complexos de configuração d^0 evita a perda dissociativa de ligantes ou substituição associativa por moléculas disponíveis no meio (ABRAM; ALBERTO, 2006; ABRAMS et al., 1983).

Figura 11 - Estrutura química do Cardiolite e Myoview usados para exames de imagem do coração.



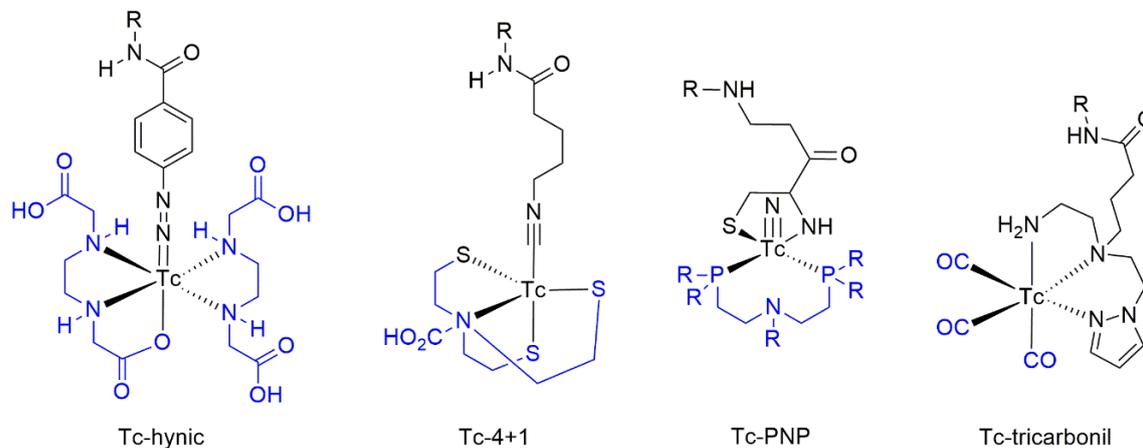
Fonte: (ABRAM; ALBERTO, 2006).

A segunda geração de radiofármacos de ^{99m}Tc explorou o uso de moléculas bioativas (peptídeos, anticorpos e drogas artificiais, por exemplo) diretamente ligadas aos fragmentos como ^{99m}Tc -hynic (GUO; HINKLE; LEE, 1999), ^{99m}Tc -4+1 (KUNSTLER et al., 2010), ^{99m}Tc -N-PNP (BOSCHI et al., 2002) ou $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ (ZOBI et al., 2003) (**Figura 12**). Alberto e colaboradores, em 2001, aperfeiçoaram a reação de preparação do precursor $fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ para uma etapa ao utilizarem com reagentes no estado sólido e estáveis ao ar. Assim, eles desenvolveram uma reação onde o $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ pode ser sintetizado em água diretamente a partir de pertecnetato de sódio, $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, sem a atmosfera de CO, usando o $\text{K}_2\text{BH}_3\text{CO}_2$ como agente redutor e também como fonte de monóxido de carbono (ALBERTO et al., 2001). O $fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ é cineticamente inerte devido a sua configuração eletrônica d^0 . Além disso, os três ligantes aqua faciais são facilmente substituídos por ligantes desejáveis e de diferentes denticidades (ligantes mono, bi e tridentados) (ver **Figura 13**), especialmente contendo aminas aromáticas como imidazóis e piridinas, pelas quais o fragmento $fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ possui afinidade. Assim, o desenvolvimento desse kit impulsionou a química do fragmento $fac\text{-}[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$ no desenvolvimento de radiofármacos organometálicos, sendo a marcação direta de biomoléculas por complexos do tipo $[^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]$ já bastante explorada. Além disso, o seu congêneres frio $fac\text{-}[\text{ReCO}_3]^+$ apresenta estabilidade em meio biológico e sua síntese pode

INTRODUÇÃO

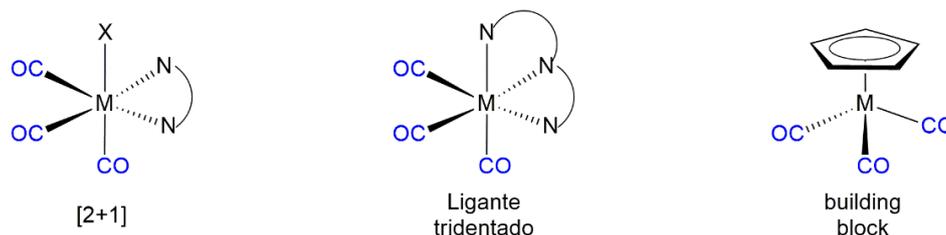
ser empregada em vários sistemas ligantes (ABRAM; ALBERTO, 2006; ALBERTO, 2012; KONKANKIT et al., 2018).

Figura 12 Segunda geração de radiofármacos de ^{99m}Tc .



Fonte: Adaptado (GUO; HINKLE; LEE, 1999; KUNSTLER et al., 2010; VAN RENSBURG, 1999; ZOBEL et al., 2003).

Figura 13 Alguns modelos de complexos com fragmento $[\text{M}(\text{CO})_3]^+$ ($\text{M} = \text{Re}$ ou Tc).



Fonte: Adaptado Referência (ALBERTO, 2012; BERNARD et al., 2003; BRINK; VISSER; ROODT, 2011).

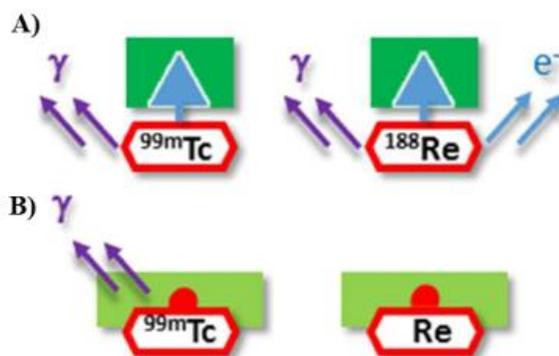
1.2.4 Agentes Multifuncionais e Justificativa

Um dos primeiros “pares teranósticos” para diagnóstico e terapia médica nuclear foi feito pela combinação dos isótopos ^{99m}Tc com os isótopos 186 e 188 do seu homólogo mais pesado, o rênio ($^{186/188}\text{Re}$). A obtenção de uma plataforma teranóstica baseada em uma molécula contendo $^{186/188}\text{Re}$ sozinho (emissão γ para diagnóstico, emissão β^- para terapia) ou em combinação com homólogos de ^{99m}Tc (**Figura 14a**) leva a formação de um par perfeito com características únicas. Entretanto, mais recentemente, uma extensão da definição do “par teranóstico” Tc/Re foi descrita por Alberto et al. através da combinação de um complexo organometálico contendo ^{99m}Tc com seu homólogo de rênio não radioativo (**Figura 14b**) (MEOLA et al., 2017). Nesse sentido, enquanto o complexo de rênio deve ser

INTRODUÇÃO

terapeuticamente ativo, o homólogo de ^{99m}Tc permitiria a visualização através de radioimagem com detecção sensível de processos biológicos profundos no corpo (*in vivo*).

Figura 14. Combinações teranósticas baseadas em: a) receptor direcionado a complexos homólogos de ^{99m}Tc (radioimagem) $^{186/188}\text{Re}$ (radioterapia e opcionalmente imagem), b) complexo de ^{99m}Tc para imagem e quantidades macroscópicas de complexo homólogo de rênio frio para terapia.

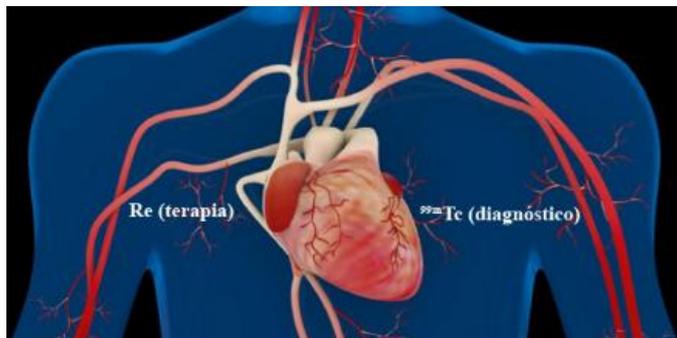


Fonte: Adaptado de (MEOLA et al., 2017).

Os complexos desses dois elementos no estado de oxidação I são isoestruturais e fisiologicamente robustos. Portanto, ao combinar a multimodalidade do fragmento $\{\text{M}(\text{CO})_3\}^+$ ($\text{M} = ^{99m}\text{Tc}, \text{Re}$) com as propriedades teranósticas do par $^{99m}\text{Tc}/\text{Re}$, um sistema multifuncional pode ser desenvolvido, o qual pode ser aplicado em conjunto realizando diagnóstico (radioimagem) e terapia simultaneamente. Deste modo, uma nova estratégia para a aplicação de Tc e Re na medicina foi criada, possibilitando novas oportunidades para esses dois elementos. Considerando que pacientes infectados pela doença de Chagas frequentemente apresentam problemas cardíacos devido ao acúmulo dos parasitas nesse tecido, o uso de complexos de ^{99m}Tc que sejam direcionados ao coração pode representar uma alternativa para o diagnóstico e acompanhamento da evolução desta enfermidade. Esta suposição não é ao acaso visto que já foi relatado anteriormente que a biodistribuição de $^{99m}\text{TcO}_4^-$ é afetada pela parasitemia com *T. cruzi* (BARBOSA et al., 2009). Ademais, devido às propriedades químicas semelhantes do Re e Tc (ALBERTO; BRABAND, 2013) e, considerando a semelhança entre o metabolismo das células cancerígenas e dos parasitas (NAVARRO et al., 2010), os complexos de Re não radioativos podem ser utilizados como modelo de comparação aos complexos análogos de tecnécio como também na quimioterapia desta doença. Deste modo, supomos que seria possível obter um dispositivo teranóstico (terapia + diagnóstico) através do efeito combinado de compostos contendo os núclídeos $^{99m}\text{Tc}/^{185,187}\text{Re}$, podendo ser utilizado para acompanhamento clínico da doença ao mesmo tempo em que o tratamento é realizado (**Figura 15**).

INTRODUÇÃO

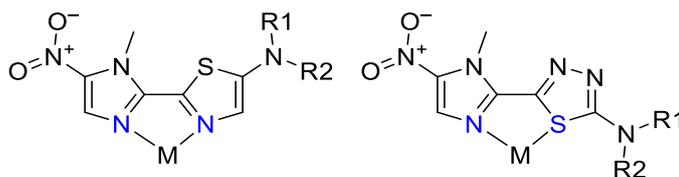
Figura 15. Sistema teranóstico de $^{99m}\text{Tc}/^{185,187}\text{Re}$ para tratamento e diagnóstico do tecido cardíaco comprometido pela doença de Chagas almejado no presente trabalho.



Fonte: adaptado da (MercadoBomSucesso: Sistema Cardiovascular, 2021).

Embora a aplicação do tecnécio seja bem estabelecida na medicina nuclear, o desenvolvimento de sistemas ligantes apropriados para serem incorporados ao tecnécio e que sejam direcionados especificamente às células patógenas ainda é um desafio. Isto significa que o íon metálico deve ser estabilizado e covalentemente ligado à molécula biologicamente ativa sem afetar sua função fisiológica. Sabe-se que o tratamento da doença de Chagas é baseado em compostos nitroheterocíclicos, cujas funções biológicas são baseadas na bioativação do grupo nitro por redução enzimática e na formação de espécies reativas de oxigênio (DOCAMPO; STOPPANI, 1979; PATTERSON; WYLLIE, 2014). Logo, o uso de tais compostos como ligantes parece ser uma escolha atraente. Entretanto, para que haja uma estabilização adequada do centro metálico, é necessário o uso de ligantes quelantes, não sendo adequada a utilização direta do benznidazol, por exemplo. Consequentemente, é preciso que o composto apresente átomos doadores em posições específicas para coordenação, além de apresentar as propriedades biológicas de interesse. Uma opção que parece ser apropriada é o megazol uma vez que, além de apresentar átomos doadores em posições adequadas (**Figura 16**), é ativo *in vivo* em cepas do *T. cruzi* e *T. brucei*, através da inibição de enzimas essenciais aos parasitas, como discutido acima.

Figura 16. Possíveis modos de coordenação do megazol.



Fonte: a autora

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve como objetivo estudar as características químicas e biológicas de complexos de $M(\text{CO})_3^+$ ($M = {}^{185/187}\text{Re}^{\text{I}}$ ou ${}^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{I}}$) com derivados do agente tripanocida conhecido como megazol. Deste modo, buscou-se obter complexos de rênio (não-radioativos) com alta atividade tripanocida e baixa citotoxicidade para serem utilizados como quimioterápicos bem como complexos de ${}^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{I}}$ análogos para serem utilizados no acompanhamento da evolução da doença de Chagas através de radioimagens.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

De forma sistemática, os objetivos específicos são apresentados abaixo:

- 1) Sintetizar e caracterizar o megazol e seus derivados obtidos através de modificações estruturais da porção amina ($\text{L}^{\text{R1,R2}}$ $\text{R1} = \text{R2} = \text{H}$; $\text{R1} = \text{H}$ e $\text{R2} = \text{CH}_3$ e $\text{R1} = \text{R2} = \text{CH}_3$);
- 2) Preparar complexos do tipo tricarbonil não radioativos com isótopos de ${}^{185/187}\text{Re}$ no estado de oxidação I a partir do megazol e seus derivados;
- 3) Realizar as caracterizações químicas e físicas dos complexos de Re^{I} usando os métodos: RMN, IV, análise elementar, UV-vis, fluorescência, espectrometria de massas e, quando possível, DRX de monocristal;
- 4) Preparar complexos de ${}^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{I}}$ e comparar com os modelos de complexos de ${}^{185,187}\text{Re}^{\text{I}}$ supostamente análogos;
- 5) Aprofundar o conhecimento das propriedades dos compostos obtidos através de métodos teóricos (DFT);
- 6) Determinar a atividade tripanocida e a citotoxicidade *in vitro* dos derivados do megazol e dos seus complexos de ${}^{185,187}\text{Re}^{\text{I}}$ tricarbonil;
- 7) Avaliar a interação dos compostos obtidos frente a *Trypanosoma cruzi* Old Yellow Enzyme (TcOYE) tanto experimentalmente quanto por docking molecular.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIAIS

O composto $(Et_4N)_2[ReBr_3(CO)_3]$ foi sintetizado de acordo com procedimento encontrado na literatura (ALBERTO et al., 1994). Os reagentes (1-metil-5-nitro-1H-2-imidazol)metanol – n° CAS 936-05-0), tiossemicarbazida (n° CAS 79-19-6), 4-metil-3-tiossemicarbazida (n° CAS 6610-29-3), 4,4-dimetil-3-tiossemicarbazida (n° CAS 6926-58-5), óxido de manganês ativado (n° CAS 1313-13-9), sulfato de ferro(III) amoniacal dodecahidratado (n° CAS 7783-83-7), boranocarbonato de sódio (n° CAS 17363-08-5), tartrato dissódico dihidrato (n° CAS 6106-24-7), tetraborato dissódico decahidratado (n° CAS 1303-96-4) e todos os solventes utilizados foram obtidos comercialmente e usados sem purificações adicionais, com exceção do solvente tolueno que foi tratado previamente segundo procedimento padrão (RIDDICK; BUNGER; SAKANO, 1986). $[^{99m}TcO_4]^-$ foi eluído de um gerador $^{99}Mo/^{99m}Tc$ Ultratechnekow FM fornecido pela companhia farmacêutica Mallinckrodt Schweiz AG.

3.2 INSTRUMENTOS E MÉTODOS

3.2.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de 1H e ^{13}C foram processados em solventes deuterados no equipamento Bruker DRX 400 (1H : 400 MHz, ^{13}C : 100,6 MHz) ou DRX 500 (1H : 400 MHz, ^{13}C : 125,8 MHz). Os deslocamentos químicos (δ) são informados em ppm (partes por milhão) relativos ao pico residual do solvente. As abreviações para as multiplicidades dos picos são as seguintes: s (singlete), d (duplete), t (triplete), q (quarteto), m (multiplete). Os experimentos de DEPT (*Distorsion less Enhancement by Polarization Transfer*) foram empregados para auxiliar na atribuição dos tipos de átomos de carbono nos sinais presentes nos espectros de ^{13}C . Nos espectros de DEPT 135 os picos positivos referem aos carbonos dos grupos metino (CH) e metil (CH_3) enquanto os picos negativos são correspondentes aos carbonos do grupo metileno (CH_2). No caso dos espectros de DEPT 90 os picos positivos são atribuídos aos

PARTE EXPERIMENTAL

carbonos do grupo metino (CH) e os negativos aos carbonos do grupo metil (CH₃). A ausência de sinal em ambas as técnicas de DEPT indicam a presença de carbono quartenário. O *software* utilizado para processamento dos dados de RMN foi o MestreNova versão 6.0.2-5475. Os experimentos foram realizados na central da analítica do campus Irchel da Universidade de Zurique – Suíça.

3.2.2 Infravermelho (IV)

Os espectros de IV foram obtidos em espectrômetro PerkinElmer Spectrum Two equipado com acessório Specac Golden Gate™ ATR (do inglês “*attenuated total reflection*”) com resolução de 4 cm⁻¹ e 32 scans. As vibrações de estiramento e de dobramento são representadas com os símbolos “ ν ” e “ δ ”, respectivamente. As intensidades das bandas são simbolizadas como forte (*s*), média (*m*), fraca (*w*). Os experimentos foram realizados no laboratório do grupo Alberto no campus Irchel na Universidade de Zurique.

3.2.3 Reações utilizando Micro-ondas (m.o)

As reações com radiação micro-ondas foram realizadas usando os equipamentos Biotage Initiator+ Robot Eight e Anton Paar (AP) Monowave 200 instrument. As reações foram realizadas no laboratório do grupo Alberto no campus Irchel na Universidade de Zurique.

3.2.4 HPLC (High-performance liquid chromatography) e UPLC (Ultra-performance liquid chromatography)

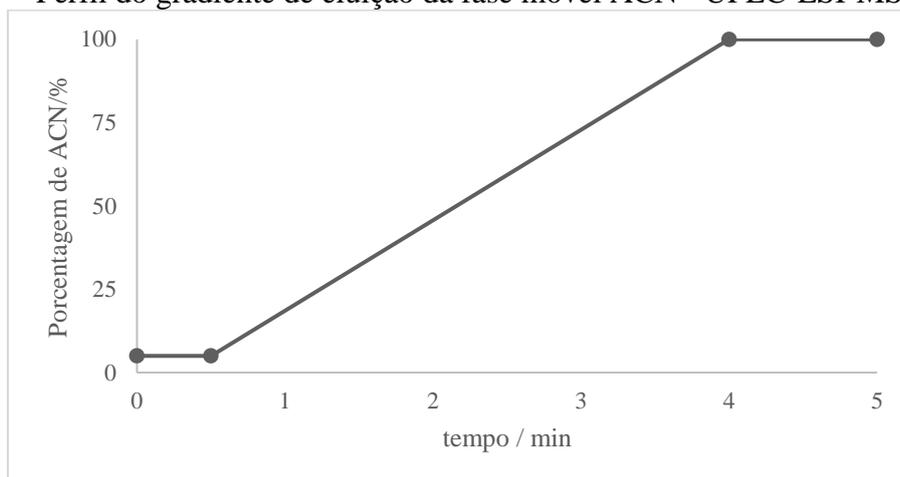
Os equipamentos utilizados e métodos empregados nas análises de HPLC/UPLC são descritos abaixo, respectivamente. Os experimentos foram realizados no laboratório do grupo Alberto no campus Irchel na Universidade de Zurique.

- ✓ **UPLC-ESI-MS** – Equipamento Sistema autosampler UPLC Waters Acquity acoplado a um Bruker HCT™, usando uma coluna Acquity UPLC BEH C18 1,7 μ m (2,1 x 50 mm). As detecções foram realizadas entre 200 nm e 480 nm, os valores de *m/z* foram originários do sinal mais intenso. **Método (Figura 17)** – As análises de

PARTE EXPERIMENTAL

UPLC-MS foram realizadas através do método gradiente linear de A (acetonitrila (Sigma-Aldrich HPLC-grade)) e B (água destilada contendo 0,1% de ácido fórmico): t = 0-0,5 min, 5% A; t = 4,0 min, 100% A; t = 5,0 min, 100% A. Velocidade de fluxo 0,6 mL/min.

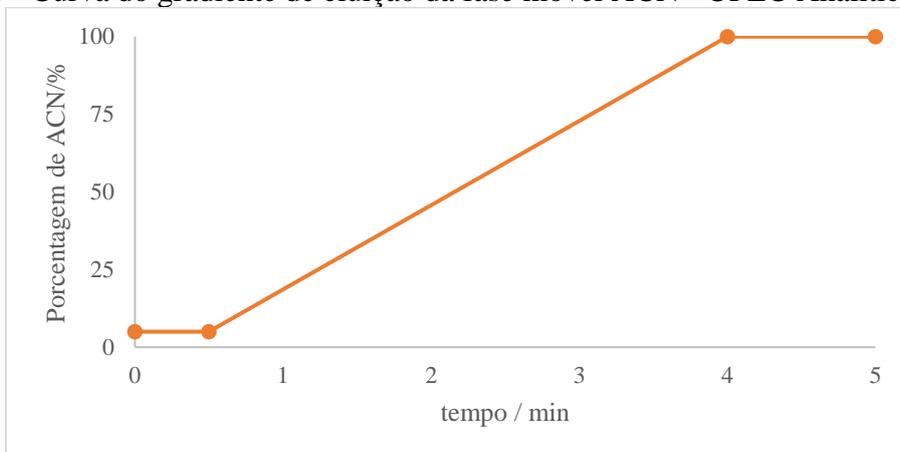
Figura 17 – Perfil do gradiente de eluição da fase móvel ACN - UPLC-ESI-MS.



Fonte: Dados da pesquisa.

- ✓ **UPLC Analítico** – Equipamento autosampler VWR Hitachi Chrommaster Ultra, usando coluna Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm (2,1 x 50 mm). **Método (Figura 18)** – As análises de UPLC foram realizadas em gradiente linear de A (acetonitrila (Sigma-Aldrich HPLC-grade)) e B (água destilada contendo 0,1% de TFA): t = 0-0,5 min, 5% A; t = 4,0 min, 100% A; t = 5,0 min, 100% A. Velocidade de fluxo 0,5 mL/min.

Figura 18 - Curva do gradiente de eluição da fase móvel ACN - UPLC Analítico.

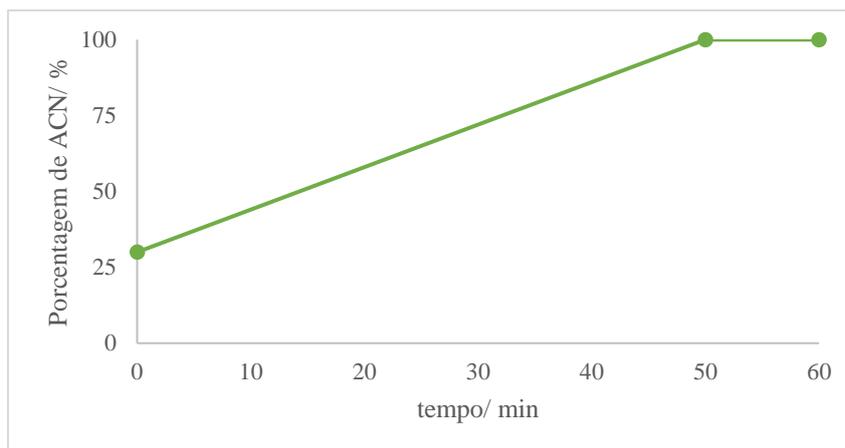


Fonte: Dados da Pesquisa.

PARTE EXPERIMENTAL

- ✓ **HPLC preparativo** – Equipamento Sistema Varian ProStar 320, usando uma coluna Dr. Maisch Reprosil C18 100-7 (40 x 250 mm). **Método (Figura 19)** – As purificações por HPLC preparativo utilizaram método gradiente linear de A (acetonitrila (Sigma-Aldrich HPLC-grade)) e B (água destilada contendo 0,1% de TFA): t = 0 – 50 min, 30 - 100% A. Velocidade de fluxo 40 mL/min.

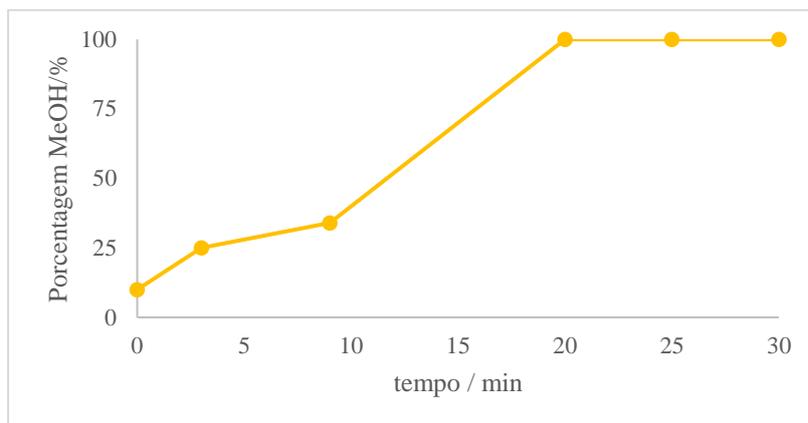
Figura 19 – Perfil da curva do gradiente de eluição da fase móvel ACN - HPLC preparativo.



Fonte: Dados da Pesquisa.

- ✓ **radioHPLC** – Equipamento *Merck Hitachi LaChrome system* com *Merck Hitachi Interface D-7000 autosampler*, acoplado a um detector-UV *Merck Hitachi LaChrome L-7400* com detector *matriz photo diodo*. A detecção radioativa dos complexos de ^{99m}Tc foram adquiridas com um equipamento detector *Berthold Technologies Flowstar LB513* equipado com células BGO-X (γ). **Método (Figura 20)** – As análises de radioHPLC foram adquiridas com método gradiente de A (MeOH (Sigma-Aldrich HPLC-grade)) e B (água destilada contendo 0,1% de ácido fórmico): t = 0 – 3 min, 10% A; t = 3 – 3,1 min, 10 – 25% A; t = 3,1 – 9 min, 25% A; t = 9 – 9,1 min, 25 - 34% A; t = 9,1 – 20 min, 34 – 100% A; t = 20 – 25 min, 100% A; t = 25 – 25.1 min, 100% A; t = 25.1 – 30 min 100% A. Velocidade de fluxo 0,5 mL/min.

Figura 20 – Perfil da curva do Método Gradiente da fase móvel MeOH - radio-HPLC.



Fonte: Dados da Pesquisa.

3.2.5 Espectrometria de Massas de Alta Resolução com ionização por *eletrospray* (HR-ESI-MS)

As análises de alta resolução (HR) ESI-MS foram realizadas pela central analítica do instituto de Química do campus Irchel da Universidade de Zurique em um espectrômetro Thermo DFS double-focusing system (ThermoFisher Scientific, Alemanha). As amostras eram preparadas com 1 mg de composto e dissolvidas em MeOH. Os dados espectros de massas são apresentados com atribuição de razão massa/carga (m/z).

3.2.6 Espectroscopia Ultravioleta-visível (UV-vis)

Os espectros eletrônicos foram medidos em um espectrofotômetro SHIMADZU-2018 no solvente DMSO, com cubetas de quartzo de caminho ótico 1 cm à temperatura ambiente. Os experimentos foram realizados no laboratório de Síntese Inorgânica e Bioinorgânica do departamento de Química da Universidade Federal do Triângulo Mineiro.

3.2.7 Análise Elementar

As medidas de CHN foram realizadas em um equipamento LecoCHNS-932 elemental analyzer. Os experimentos foram realizados na central da analítica do campus Irchel da Universidade de Zurique – Suíça.

PARTE EXPERIMENTAL

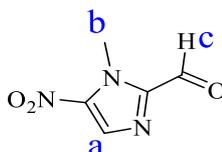
3.2.8 Cristalografia de Raios X em monocristal

Os dados de cristalografia de raios X em monocristal foram coletados à 160(1) K nos seguintes difratômetros: I) Rigaku OD XtaLAB Synergy, Dualflex, Pilatus 200 K para os compostos N12CA, L^{H,H}, L^{H,Me} e [ReBr(CO)₃L^{H,H}]₃C₃H₆O; II) Rigaku OD SuperNova/Atlas para o composto tsc^{H,Me}; e III) Rigaku OD Xcalibur (detector CCD Ruby) para os compostos tsc^{Me,Me} e [ReBr(CO)₃L^{Me,Me}], usando única fonte de comprimento de onda de raios X (radiação Cu K_α: λ = 1,54184 Å ou radiação Mo K_α: λ = 0,71073 Å) (RIGAKU OXFORD DIFFRACTION, 2015) de um micro-focus selado com tubo de raios X e sistema de resfriamento Oxford liquid-nitrogen Cryostream. Os monocristais selecionados foram montados usando óleo polibuteno em uma presilha flexível fixada em uma cabeça de goniômetro e imediatamente transferido para o difratômetro. O pré-experimento, dados coletados, redução dos dados e a correção de absorção analítica (CLARK; REID, 1995) foram realizadas usando o programa *CrysAlisPro* (AGILENT TECHNOLOGIES UK LTD, 2019). Usando o *Olex2* (DOLOMANOV et al., 2009), as estruturas foram resolvidas com o programa “small molecule structure solution” SHELXT (SHELDRICK, 2015a) e refinadas com o pacote de programas SHELXL2018/3 (SHELDRICK, 2015b) por minimização full-matrix least-squares em F². O *PLATON* (SPEK, 2009) foi usado para checar os resultados das análises de raios X. Maiores detalhes sobre a coleta de dados e parâmetros de refinamento são encontrados nas tabelas de dados e nos arquivos *checkCIFs* em anexo. Os experimentos foram realizados na central da analítica do campus Irchel da Universidade de Zurique – Suíça.

3.3 SÍNTESES

Todas as reações orgânicas e dos complexos de Re foram acompanhadas por UPLC e UPLC-ESI-MS, sendo interrompidas logo após o consumo dos reagentes.

3.3.1 – 1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-carbaldeído (N12CA)

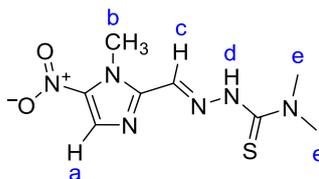


PARTE EXPERIMENTAL

Procedimento 1: Em um balão de fundo redondo de 100 mL em ambiente de N₂, 0,500 g (3,18 mmol) de 1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-metanol e 1,384 g (15,9 mmol) de óxido de manganês ativado foram adicionados em 20 mL de tolueno anidro. A solução reacional foi mantida sob refluxo à 110 °C por 4 horas e, em seguida, o sobrenadante isolado por centrifugação. Logo após, a solução foi seca e o produto bruto purificado por HPLC preparativo. Rendimento: 50,0 %

Procedimento 2: Um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 50 mg (0,318 mmol) de 1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-metanol em 10 mL de DCM foi submerso em banho de gelo e então a solução deixada em agitação constante por 10 minutos. Em seguida, 1,5 equivalentes de Periodinano de Dess-Martin (202,3 mg, 0,477 mmol) foi adicionado ao meio reacional e deixado em agitação à 0 °C por 20 h. A solução reacional foi filtrada e extraída 3 vezes com 10 mL de solução saturada de Na₂S₂O₃, 3 vezes com 10 mL de solução saturada de NaHCO₃ e 1 vez com solução saturada de NaCl. A fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e após evaporação obteve-se o composto oleoso. Rendimento: 50,0 %. Tempo de Retenção UPLC: 1,55 minutos. ¹H-RMN (CDCl₃-d₁, 500 MHz), δ/ppm: 9,95 (C-H(c), s, 1H), 8,12 (C-H(a), s, 1H) e 4,38 (CH(b), s, 3H). ¹³C-RMN (CDCl₃-d₁, 125,8 MHz), δ/ppm: 183,6 (C5), 143,1 (C4), 132,6 (C2) e 34,5 (C3) (O carbono C1 não aparece).

3.3.2 - (E)-2-((1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-il)metileno)hidrazina-1-carbotioamida derivados – tsc^{R,R}



Quantidades equimolares de 1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-carbaldeído (220,8 mg; 1,42 mmol) e da tiossemicarbazida de interesse foram dissolvidos em 5 mL de EtOH. Após a adição de 3 gotas de HCl concentrado à solução, a mistura reacional foi agitada à 80 °C sob radiação micro-ondas por 40 minutos. O controle de reação foi feito por UPLC e após o fim do tempo reacional o precipitado amarelo foi filtrado e lavado com EtOH (2 mL) e éter etílico (5 mL), respectivamente.

tsc^{H,H} (R₁ = H; R₂ = H) - Tempo de reação 40 minutos. Tempo de Retenção UPLC: 1,75 minutos. Rendimento: 76,0 % (245,6 mg). ¹H-RMN (DMSO-d₆, 400 MHz), δ/ppm: 11,8 (NH(d), s, 1H), 8,6-7,8 (NH₂(e,f), s, 2H), 8,2 (C-H(c), s, 1H), 8,1 (CH(a),s, 1H), 7,8 e 4,2

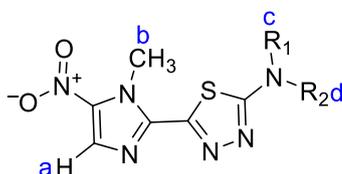
PARTE EXPERIMENTAL

(H(b), s, 3H). (+) HR-ESI-MS: 229,05035 m/z (encontrado 100% $C_6H_9N_6O_2S^+$ $[M+H]^+$; calc. 229,05022; $\Delta = 0.57$ ppm).

tsc^{Me,H} (R₁ = H; R₂ = Me) – Tempo de reação 40 minutos. Tempo de Retenção UPLC: 1,83 minutos. Rendimento: 47,30% (114,4 mg). ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ /ppm: 11,9 (NH(d), s, 1H), 8,3 (NH (f), s, 1H), 8,2 (C-H(c), s, 1H), 8,1 (CH(a),s, 1H), 4,1 (CH₃(b), s, 3H) e 3,0 (CH₃(e), d, $J = 3,03$ Hz, 3H). (+) HR-ESI-MS: 243,06589 m/z (encontrado 100% $C_7H_{11}N_6O_2S^+$ $[M+H]^+$; calc. 243,06587; $\Delta = 0.08$).

tsc^{Me,Me} (R₁ = Me; R₂ = Me) – Tempo de reação 40 minutos. Rendimento: 55,4%. ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 400 MHz), δ /ppm: 11,3 (NH(d), s, 1H), s, 1H), 8,3 (C-H(c), s, 1H), 8,2 (CH(a),s, 1H), 4,30 (CH₃(b), s, 3H) e 3,31 (CH₃(e), s, 6H). (+) HR-ESI-MS: 243,06589 m/z (encontrado 100% $C_7H_{11}N_6O_2S^+$ $[M+H]^+$; calc. 243,06587; $\Delta = 0.08$). (+) HR-ESI-MS: 257,08129 m/z (encontrado 10,90% $C_8H_{13}N_6O_2S^+$ $[M+H]^+$; calc. 257,08152; $\Delta = -0.89$ ppm); 297,08731 (encontrado 100% $C_8H_{14}N_6KO_2S^{3+}$ $[M+2H+K]^+$; calc 297,05196; $\Delta = -1,19$ ppm).

3.3.3 – Derivados 5-(1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-il)-1,3,4-tiadiazol-2-amina (L^{R,R})



1 equivalente (1 mmol) de (E)-2-((1-metil-5-nitro-1H-imidazol-2-il)metileno)hidrazina-1-carbotioamida e 4 equivalentes de sulfato de amônio férrico dodecahidratado foram adicionados em frasco biotage de 20 mL contendo 8 mL de H₂O destilada. A suspensão foi aquecida em radiação micro-ondas a 80 °C por 90 minutos. Então, os precipitados amarelos foram imediatamente filtrados e lavados com 100 mL de H₂O. Os produtos foram dissolvidos em acetona e cristais amarelos foram obtidos.

L^{H,H} (R₁ = H; R₂ = H) (1) – Tempo de reação 1 hora e 30 minutos. Tempo de Retenção UPLC: 1,88 minutos. Rendimento: 68,3% (154,5 mg). Análise Elementar calculada para $C_6H_6N_6O_2S$ (226,21 g.mol⁻¹): C: 31,9; H: 2,6; N: 37,2; Determinada: C: 31,3; H: 2,7; N: 37,1 ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ /ppm: 8,5 (CH(a), s, 1H), s, 1H), 7,6 (NH₂(c), s, 2H), e 4,9 (CH₃(b), s, 3H). ¹H-RMN (Acetona-*d*₆, 500 MHz), δ /ppm: 8,0 (CH(a), s, 1H), s, 1H), 7,1

PARTE EXPERIMENTAL

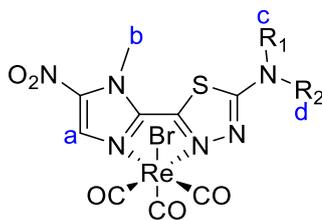
(NH₂(c), s, 2H), e 4,4 (CH₃(b), s, 3H). ¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, 125,8 MHz), δ/ppm: 170,05(C5), 148,30 (C6), 141,48(C1), 140,24(C4), 133,18(C2) e 35,07(C3). ¹³C-RMN (Acetona-*d*₆, 125,8 MHz), δ/ppm: 170,76 (C5), 150,73 (C6), 142,77 (C1), 141,49 (C4), 133,45 (C2) e 35,71 (C3). IV (cm⁻¹): 3428*w* e 3280*w* ν(N-H), 3072*w* ν(C-H), 1632*m* δ(C-N)+ν(C=N), 1518*m* δ(C=N)+ν(C=N), 1494*s* ν(N-O)_{ass}, 1365*s* ν(N-O)_s, 1336*s* ν(C-S). (+) HR-ESI-MS: 227.03453 *m/z* (encontrado 100% C₆H₇N₆O₂S⁺ [M+H]⁺; calc. 227,03512; Δ = -0.04 ppm).

L^{H,Me} (R₁ = H; R₂ = Me) (2) – Tempo de reação 1 hora e 30 minutos. Tempo de Retenção UPLC: 2,24 minutos. Rendimento: 75,0% (301,4 mg) - Análise Elementar calculada para C₇H₈N₆O₂S (240,24 g.mol⁻¹): C: 35,0; H: 3,4; N: 35,0. Determinada: C: 34,6; H: 3,40; N: 35,1. ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ/ppm: 8,3 (NH(c), m, 1H), 8,2 (CH(a), s, 1H), 4,3 (CH₃(b), s, 3H) e 3,0 (CH₃(d), d, *J* = 2,97 Hz, 3H). ¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, 125,8 MHz), δ/ppm: 170,49 (C5), 147,85 (C6), 141,42 (C1), 140,30 (C4), 133,21 (C2), 35,06 (C3) e 31,47 (C7). IV (cm⁻¹): 3193*w* ν(N-H), 3125*w* ν(C-H), 1583*m* δ(C-N)+ν(C=N), 1536*s* ν(C=N)+(C=C), 1523*s* ν(N-O)_{ass}, 1362*s* ν(N-O)_s, 1332*s* ν(C-S). (+) HR-ESI-MS: 241,05023 *m/z* (encontrado 100% C₇H₈N₆O₂S [M+H]⁺; calc. 241,05022; Δ = 0.05 ppm); 263,03217 *m/z* (encontrado: 18,75% C₇H₈N₆O₂SNa [M+Na]; calc. 263,03271; Δ = 0.02 ppm).

L^{Me,Me} (R₁ = Me; R₂ = Me) (3) – Tempo de reação 1 hora e 30 minutos. Tempo de Retenção UPLC: 2,33 minutos. Rendimento: 50,4% (301,2 mg) – Análise Elementar calculada para C₈H₁₀N₆O₂S (254,27 g.mol⁻¹): C: 37,8; H: 4,0; N: 32,1. Determinada: C: 37,6; H: 4,1; N: 32,3. ¹H-RMN (DMSO-*d*₆, 500 MHz), δ/ppm: 8,2 (CH(a), s, 1H), 4,3 (CH₃(b), s, 3H) e 3,2 (CH₃(c,d), s, 3H). ¹³C-RMN (DMSO-*d*₆, 125,8 MHz), δ/ppm: 172,54 (C5), 148,82 (C6), 141,80(C1), 140,79(C4), 133,71(C2), 41,73 (C7) e 35,52(C3). IV (cm⁻¹): 3148*w* ν(C-H), 1555*s* ν(C=N)+(C=C), 1513*s* ν(N-O)_{as}, 1397*s* ν(N-O)_{ass}, 1362*s* ν(C-S). (+)HR-ESI-MS: 255,06541 *m/z* (encontrado 100% C₈H₁₁N₆O₂S⁺ [M+H]⁺; calc. 255,06541; Δ = -1,82 ppm).

PARTE EXPERIMENTAL

3.3.4 – Complexos de $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{R},\text{R}})]$



Em um balão de fundo redondo de 25 mL contendo 4 mL de MeOH foram adicionados, respectivamente, 0,11 mmol (84,0 mg) de $[(\text{Et}_4\text{N})_2][\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]$ e 0,096 mmol do $\text{L}^{\text{R}_1\text{-R}_2}$ desejado, sendo a solução resultante mantida sob refluxo. O controle de reação foi realizado por UPLC e a reação foi encerrada após o consumo total do ligante. Após o tempo de reação a solução foi deixada à 0 °C por 72 h, sendo observada a formação de cristais vermelhos para os complexos $[\text{ReBrL}^{\text{H},\text{H}}(\text{CO})_3] \cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ e $[\text{ReBrL}^{\text{Me},\text{Me}}(\text{CO})_3]$.

$[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H},\text{H}}] \cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ($\text{R}_1 = \text{H}$; $\text{R}_2 = \text{H}$) $4 \cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ – Tempo de reação 1 hora. Rendimento: 74,0 % (40,9 mg). Análise Elementar calculada para $\text{C}_9\text{H}_6\text{BrN}_6\text{O}_5\text{ReS} \cdot \text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ ($634,44 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$): C: 22,7; H: 1,9; N: 13,3; Determinada: C: 22,5; H: 1,9; N: 13,6. ^1H RMN ($\text{CO}(\text{CD}_3)_2 - d_6$, 500 MHz) δ/ppm : 8,63 (CH(a), s, 1H), 7,99 (NH(c), s, 2H), 4,45 (CH_3 (b), s, 3H). ^{13}C RMN ($\text{CO}(\text{CD}_3)_2$, 500 MHz), δ/ppm : 197,35 (CO), 188,46 (CO), 172,20(CO), 172,14 (C5), 147,96 (C6), 147,61 (C1), 141,05 (C4), 133,98 (C2) e 36,39 (C3). HR-ESI-MS: 496,96803 m/z (encontrado $\text{C}_9\text{H}_6\text{N}_6\text{O}_5\text{ReS} [\text{M}-\text{Br}]^+$; calc. 496,96724; $\Delta = -1,91 \text{ ppm}$); 514,97822 m/z (encontrado $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_6\text{O}_6\text{ReS} [(\text{M}-\text{Br})+\text{H}_2\text{O}]^+$; calc. 514,97781; $\Delta = -1,12 \text{ ppm}$); 598,87403 m/z (encontrado 100% $\text{C}_9\text{H}_6\text{BrN}_6\text{NaO}_5\text{ReS} [\text{M}+\text{Na}]^+$; calc. 598,87535; $\Delta = -0,87 \text{ ppm}$). IV (cm^{-1}): 3407 m e 3236 m $\nu(\text{N}-\text{H})$, 2030 s , 1955 s , 1931 s e 1905 s $\nu(\text{C}\equiv\text{O})$, 1597 $\delta(\text{C}-\text{N})+(\text{C}=\text{N})$, 1528 s $\nu(\text{C}=\text{N})+(\text{C}=\text{C})$, 1497 s $\nu(\text{N}-\text{O})_{\text{as}}$, 1384 s $\nu(\text{N}-\text{O})_{\text{ass}}$, 1282 s $\nu(\text{C}-\text{S})$.

$[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me},\text{H}}] \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ ($\text{R}_1 = \text{H}$; $\text{R}_2 = \text{Me}$) $5 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ – Tempo de reação 1 hora e 30 minutos. Rendimento: 76,3 % (45,0 mg). Análise Elementar calculada para $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{BrN}_6\text{O}_5\text{ReS} \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ ($622,42 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$): C: 21,3; H: 1,94; N: 13,5. Determinada: C: 21,8; H: 1,60; N: 14,2. ^1H RMN ($\text{CO}(\text{CD}_3)_2 - d_6$, 500 MHz) δ/ppm : 8,63 (CH(a), s, 1H), 8,23 (NH(c), s, 1H), 4,45 (CH_3 (b), s, 3H) e 3,24 (CH_3 (d), s, 3H). ^{13}C RMN ($\text{CO}(\text{CD}_3)_2$, 500 MHz), δ/ppm : 197,09 (CO), 188,44 (CO), 172,92 (C5), 147,88 (C6), 146,31 (C1), 140,91 (C4), 133,89 (C2) e 36,24 (C3) e 32,84 (C7). HR-ESI-MS: 510,98239 m/z (encontrado 100% $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_6\text{O}_5\text{ReS} [\text{M}-\text{Br}]^+$; calc. 510,98289; $\Delta = 0,67 \text{ ppm}$); 528,99249 m/z (encontrado

PARTE EXPERIMENTAL

$C_{10}H_{10}N_6O_5ReS [(M-Br)+H_2O]^+$; calc. 528,99346; $\Delta = 1,52$ ppm); 612,88849 m/z (encontrado $C_{10}H_8BrN_6NaO_5ReS [M+Na]^+$; calc. 612,89100; $\Delta = 1,09$ ppm). IV (cm^{-1}): 3216 m $\nu(N-H)$, 2033 s , 1931 s e 19011 s $\nu(C\equiv O)$, 1556 s $\delta(C-N)+(C=N)$, 1529 s $\nu(C=N)+(C=C)$, 1503 s $\nu(N-O)_{as}$, 1372 s $\nu(N-O)_{ass}$, 1280 s $\nu(C-S)$.

[ReBr(CO)₃L^{Me,Me}] \cdot H₂O (R₁ = Me; R₂ = Me) \cdot 6H₂O – Tempo de reação 3 horas. Rendimento: 83,2 % (48,3 mg). Análise Elementar calculada para $C_{11}H_{10}BrN_6O_5ReS \cdot H_2O$ (622,42 $g \cdot mol^{-1}$): C: 21,2; H: 1,94; N: 13,5. Determinada: C: 22,4; H: 1,90; N: 13,6. ¹H RMN ($CO(CD_3)_2-d_6$, 500 MHz) δ/ppm : 8,62 (CH(a), s, 1H), 4,47 (CH₃(b), s, 3H) e 3,40 (CH₃(c,d), s, 3H). ¹³C RMN ($CO(CD_3)_2$, 500 MHz), δ/ppm : 197,13 (CO), 188,42 (CO), 173,79 (C5), 147,90 (C6), 146,00 (C1), 140,89(C4), 133,91 (C2) e 41,88 (C7,C8) e 36,22 (C3). HR-ESI-MS: 524,99858 m/z (encontrado 100% $C_{11}H_{10}N_6O_5ReS [M-Br]^+$; calc. 524,99854; $\Delta = - 0,38$ ppm); 626,90403 m/z (encontrado $C_{11}H_{10}BrN_6NaO_5ReS [M+Na]^+$; calc. 626,90665; $\Delta = 1,25$ ppm). IV (cm^{-1}): 2024 s , 1922 s e 1886 s $\nu(C\equiv O)$, 1578 s $\nu(C=N)+(C=C)$, 1531 s $\nu(N-O)_{as}$, 1374 s $\nu(N-O)_{ass}$, 1309 s $\nu(C-S)$.

XX

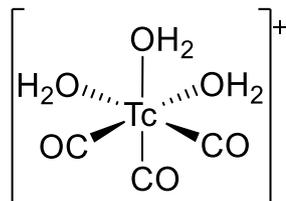
ATENÇÃO! Experimentos com ^{99m}Tc –

CUIDADO! ^{99m}Tc é γ -emissor (E= 140 keV, $t_{1/2} = 6,02$ h), portanto deve ser manipulado em local apropriadamente blindado e licenciado. Sódio boronocarbonato libera gás CO o qual é altamente tóxico, deste modo, é fortemente recomendado ser manipulado em capelas de exaustão.

XX

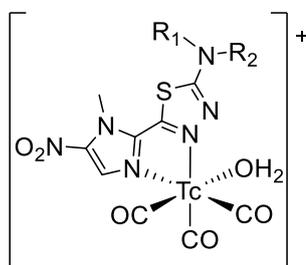
PARTE EXPERIMENTAL

3.3.5 - $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$



Em um frasco biotage (2 -5 mL) foi colocado boranocarbonato de sódio (4 mg, 38,5 μmol), tartarato dissódico dihidrato (7 mg, 30,4 μmol) e tetraborato dissódico decahidratado (7 mg, 18,5 μmol). O frasco contendo esses sais foi vedado e colocado sob fluxo de N_2 por 5 minutos e, em seguida, foi adicionado 1-2 mL de $[^{99m}\text{TcO}_4]^-$ eluído de um gerador comercial. A solução foi aquecida por radiação micro-ondas por 7 minutos à 110 $^\circ\text{C}$. Para normalizar a alta pressão, os gases desprendidos foram liberados com uma seringa descartável de 1 mL. O excesso de boranocarbonato foi eliminado com adição de HCl 1 M e posterior adição de NaOH 1M até obter o pH desejado da solução. **Dados de radio-HPLC:** Tempo de Retenção: 6,28 minutos.

3.3.6 - $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)(\text{CO})_3\text{L}^{\text{R1,R2}}]^+$



Primeiramente, a solução de $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ teve o seu pH ajustado utilizando solução de 1 M de HCl (para as reações com os ligantes $\text{L}^{\text{H,H}}$ e $\text{L}^{\text{Me,H}}$ o pH da solução de $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]$ foi ajustado para 4 e com o ligante $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ para 2). Na sequência, 0,9 mL de $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ e 0,6 mL da solução de $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ 1 mM em etanol foram adicionados a um frasco biotage de 1-2 mL selado. A solução resultante foi aquecida em radiação micro-ondas à 100 $^\circ\text{C}$ por 1 hora e então analisada por radio-HPLC.

Dados de radio-HPLC:

- ✓ $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]^+(\mathbf{7})$: Tempo de Retenção: 19,20 minutos;
- ✓ $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,Me}}]^+(\mathbf{8})$: Tempo de Retenção: 19,83 minutos;

PARTE EXPERIMENTAL

✓ $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]^+(\mathbf{9})$: Tempo de Retenção: 21,03 minutos.

3.4 ESTUDO TEÓRICO POR DFT

Os cálculos teóricos foram realizados nas dependências do Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais pelo Professor Antônio Eduardo da Hora Machado. As estruturas isoladas, foram otimizadas usando o funcional rm062X (ZHAO; TRUHLAR, 2008), da Teoria do Funcional de Densidade, em combinação com o conjunto de bases atômicas LANL2DZ (DUNNING; HAY, 1977; HAY; WADT, 1985; PRITCHARD et al., 2019; WADT; HAY, 1985). Os pontos de partida foram as estruturas cristalinas dos compostos $\text{L}^{\text{H,H}}$ e complexo **4**. As estruturas otimizadas não apresentaram frequências imaginárias. Os espectros eletrônicos teóricos foram calculados considerando as primeiras 30 transições singleto-singleto através do funcional híbrido CAM-B3LYP (YANAI; TEW; HANDY, 2004) através de uma abordagem em função do tempo (TD-DFT). Todos os cálculos foram realizados utilizando o modelo de solvatação CPCM (TAKANO; HOUK, 2005) para descrever a solvatação das espécies em DMSO. Os cálculos foram efetuados empregando-se o software Gaussian 09, Revision E.01 (FRISCH et al., 2013). As estruturas foram visualizadas empregando o software GaussView 5.0.8.

3.5 ESTUDOS BIOLÓGICOS

3.5.1 - Avaliação da citotoxicidade em células LLC-MK₂

Para avaliar os efeitos citotóxicos dos compostos foi utilizado o teste MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium). O princípio deste método descrito por Mosmann consiste em medir a viabilidade celular pela atividade enzimática de oxirredutases das células vivas (MOSMANN, 1983). O meio de cultura utilizado nas células de mamíferos é o RPMI-1640. Para o teste, $1,0 \times 10^5$ células da linhagem LLC-MK₂ são semeadas em microplacas de 96 poços na ausência ou presença dos compostos ou benznidazol, diluídas em série na base 2 (500 a $1,95 \mu\text{M}$) e incubadas em estufa a 37°C com 5% de CO_2 por 72 horas. Ao final do período de incubação, são adicionados aos poços de

PARTE EXPERIMENTAL

cultivo celular 50 µL de MTT (Sigma-Aldrich Corp. St. Louis, MO) na concentração de 5 mg. mL⁻¹, e após 3 horas de incubação serão adicionados 50 µL DMSO (dimetilsufóxido) por poço para dissolver os cristais de azul de formazan. A absorbância foi determinada em 570 nm usando espectrofotômetro de microplaca Stat Fax 2100 (Awareness Technology, Palm City, FL, USA). A porcentagem de viabilidade celular foi determinada a partir da seguinte fórmula: Viabilidade celular (%) = (Absorbância do tratamento)/(Absorbância do controle negativo)x100. O valor de IC₅₀ (concentração (µM) que inibe 50% o crescimento celular) foi determinada por meio da curva dose resposta utilizando o programa estatístico GraphPad Prism 5 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

3.5.2 - Avaliação da atividade tripanocida, *in vitro*, sobre as formas amastigotas

Os ensaios foram realizados conforme descrito anteriormente (BUCKNER et al., 1996). As formas tripomastigota e amastigota da cepa *Tulahuen LacZ* foram obtidas conforme procedimento de Buckner e colaboradores (1996) no laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP de Ribeirão Preto. Em placas de 96 poços, células da linhagem LLC-MK2 foram plaqueadas em uma concentração de 5 x10⁴ células/mL (80 µL). As formas tripomastigotas da cepa *Tulahuen LacZ* foram adicionadas na concentração de 5 x10⁵ células/mL (20 µL) e incubadas à 37 °C em 5% CO₂, por 24 h. A seguir, as formas tripomastigotas, presentes no sobrenadante foram retiradas por lavagens sucessivas e permaneceram somente as formas amastigotas. Os compostos foram adicionados em diferentes concentrações (250 a 1,95 µM- diluições seriadas) e permaneceram em cultura por 72 h. Ao final deste período, o substrato CPRG (chlorophenol red β-D-galactopyranoside, 400 µM em 0,3% Triton X-100, pH 7,4) foi adicionado. Após 4 h de reincubação à 37 °C, a placa foi analisada em um espectrofotômetro à 570 nm. Como controles foram utilizados o benznidazol, nas mesmas concentrações dos compostos avaliados (controle positivo), e o solvente que foi utilizado para a solubilização dos compostos (controle negativo).

3.6 ENSAIOS ENZIMÁTICOS

3.6.1 - Expressão e Purificação da TcOYE

A proteína recombinante *Old Yellow Enzyme* de *T. cruzi* (TcOYE) foi produzida empregando-se a metodologia descrita por Murakami et al. (2013). Sucintamente, a proteína foi expressa em cepas de bactérias *Escherichia coli* BL21(DE3) por meio da indução por IPTG empregando-se o vetor pET28a:TcOYE. A enzima foi purificada por meio de uma etapa de captura por afinidade ao níquel, pois o vetor pET28a permite a expressão de um peptídeo de fusão de poli-histidina, localizado na extremidade N-terminal da proteína. Após a purificação por afinidade, a cauda de poli-histidina foi excisada pela incubação com trombina “overnight” sendo realizada a segunda etapa de purificação por cromatografia de exclusão molecular preparativa. A purificação foi avaliada por SDS-PAGE e a concentração estimada por espectrofotometria conforme descrito em (MURAKAMI et al., 2013).

3.6.2 - Supressão da Fluorescência Intrínseca do Triptofano

Os espectros de emissão de fluorescência intrínseca do triptofano foram registrados em um leitor de placas Varioskan™ LUX (Thermo Scientific™) utilizando uma microplaca (*Greiner, U-bottom, 96-well*) no intervalo entre 315-460 nm com abertura de fendas de excitação e emissão em 510 nm e $\lambda_{ex} = 295$ nm. As intensidades de emissão de fluorescência da TcOYE foram medidas em 336 nm.

Os ligantes foram solubilizados em DMSO e posteriormente foram feitas diluições sucessivas em tampão Tris-HCl 25 mmol L⁻¹, pH 8,0, contendo 100 mmol L⁻¹ de NaCl. Para todos os experimentos a concentração final de DMSO foi mantida constante e igual a 2,5%. Soluções com concentrações crescentes dos compostos e concentração constante de TcOYE (15 μ mol L⁻¹) foram preparadas, sendo estas mantidas à 25 °C pelo período de 1 h antes da aquisição dos espectros de emissão de fluorescência.

Os parâmetros de ligação foram determinados pelo gráfico de Hill, obtendo-se a constante de dissociação (K_d) por meio do ajuste não linear da curva de saturação aos dados experimentais (gráfico B figuras em seção 4.5.2, **Equação 1**) e fixando-se $n=1$, valor este

PARTE EXPERIMENTAL

obtido pela equação duplo log, (Equação 2). A equação duplo-log foi também utilizada como uma metodologia auxiliar para fins de comparação de K_d . O gráfico duplo-log (gráfico C figuras em seção 4.5.2, **Equação 2**) foi usado para determinar a constante de ligação e o número de locais de ligação (n). Também permite o cálculo da constante de ligação (K_b) e K_d a partir de $1/K_b$. O gráfico de Stern-Volmer (gráfico C figuras em seção 4.5.2, **Equação 3**) em diferentes temperaturas demonstra a natureza estática da têmpera devido ao aumento da têmpera com o aumento da temperatura.

✓ Equação de Hill (GONÇALVES et al., 2017):

$$\frac{F_0 - F}{F_0} = \frac{[L]^n}{[L]^n + K_d} \quad (\text{Equação 1})$$

✓ Duplo-log (BI et al., 2004):

$$\log\left(\frac{F_0 - F}{F}\right) = n \log K_b - n \log\left(\frac{1}{[L] - [(F_0 - F)[P_0]/F]}\right) \quad (\text{Equação 2})$$

✓ Equação de Stern-Volmer (LAKOWICZ, 1999):

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[L] \quad (\text{Equação 3})$$

Onde, F_0 é a fluorescência na ausência de qualquer ligante; $[L]$ é a concentração do ligante; $[P_0]$ é a concentração da proteína.

A metodologia utilizada para a determinação dos valores de K_d pressupõe a formação do complexo proteína-ligante que tem como resultado a supressão da fluorescência quando comparado à proteína na ausência do supressor. O estudo da supressão de fluorescência pode ser afetado quando o ligante possui bandas de absorção que coincidam com comprimentos de onda de excitação e emissão de fluorescência (EPPS et al., 1999). Esta interferência é denominada de efeito de filtro interno, o qual pode ser minimizado utilizando-se o procedimento descrito pela **Equação 4** (EPPS et al., 1999; RAWEL et al., 2006), onde F_{obs} e F_{cor} são as intensidades de fluorescência em 336 nm medida e corrigida, respectivamente, l representa o passo óptico onde ocorre a absorção e emissão da luz e C_0 é a concentração do composto. Para a correção do efeito de filtro interno foram utilizados os valores de

PARTE EXPERIMENTAL

coeficiente de absorvidade molar determinados pela técnica de espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-vis) nos comprimentos de onda de excitação (295 nm) e emissão (336 nm) do Benznidazol ($\epsilon_{em} = 1855 \text{ nm}$ e $\epsilon_{em} = 6319$), Megazol ($L^{H,H}$) ($\epsilon_{em} = 15335 \text{ nm}$ e $\epsilon_{em} = 8207$), $[ReBr(CO)_3L^{H,H}]$ ($\epsilon_{em} = 13250 \text{ nm}$ e $\epsilon_{em} = 6803$).

$$F_{cor} = F_{obs} e^{-2.303(\epsilon_{ex} + \epsilon_{em})lC_0} \quad \text{(Equação 4)}$$

3.7 ESTUDO TEÓRICO DE DOCKING MOLECULAR NA TcOYE

As simulações de docking molecular dos compostos foram realizadas para explorar os modos de ligação na enzima TcOYE. Os dados cristalográficos de difração de raios X da Old Yellow Enzyme (TcOYE) do *Trypanosoma cruzi* foram extraídos do Protein Data Bank (BERMAN et al., 2000) (PDB, código 4E2B (MURAKAMI et al., 2013)). As estruturas moleculares dos megazol ($L^{H,H}$) e $[ReBr(CO)_3L^{H,H}]$ e benznidazol (Bz) [CCDC 680687], determinadas cristalograficamente, foram usadas nos estudos de docking. Simulações de docking dos compostos foram realizadas com o pacote do GOLD (Genetic Optimization for Ligand Docking) versão 5.5 no sítio ativo da enzima. As interações com os compostos foram verificadas com o software Mercury do pacote do GOLD. A visualização pré e pós-docking e a configuração de docking interativo foram realizadas com o software Hermes do pacote do GOLD. Todas as moléculas de água e heteroátomos foram removidos do arquivo de entrada do PDB. Resíduos dentro de 6,0 Å em torno do inibidor nativo foram usados como sítio de cavidade dos compostos e o grupo protético FMN foi mantido na estrutura nativa. Outro conjunto de simulações com ponto de corte de 10,0 Å foi executado para verificar a convergência. O método do algoritmo genético (AG) foi usado para executar os cálculos (VERDONK et al., 2003), flexibilidade total foi permitida aos compostos e as execuções de AG foram realizadas com um máximo de 100.000 operações de AG com um tamanho de população de 100 indivíduos. Diversas soluções foram geradas, os cantos dos anéis puderam girar, diversas conformações foram exploradas e nenhuma restrição foi aplicada nas simulações de acoplamento. Simulações de redocking do grupo protético FMN nativo do código PDB 4E2B foram executadas no sítio ativo da enzima com todas as funções de pontuação GOLD disponíveis e a melhor pontuação (rmsd mais baixa em relação à

PARTE EXPERIMENTAL

conformação da estrutura cristalina obtida por DRX) foi encontrada com a função de adequação do GoldScore (VERDONK et al., 2003) Assim, a função de adequação GoldScore foi escolhida para prever o modo de ligação do composto em estudo com a estrutura cristalográfica da TcOYE. A função de classificação de adequação do GoldScore foi avaliada e as três melhores poses, estruturas com melhor classificação, dos compostos foram escolhidas para a análise de interação. As figuras tridimensionais dos complexos foram preparadas com PyMOL (Molecular Graphics System, versão 1.8 Schrödinger, LLC) e as análises bidimensionais foram submetidas ao servidor web PoseView (STIERAND; RAREY, 2010) e ao software LigPlot (LASKOWSKI; SWINDELLS, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A compilação e discussão dos resultados são apresentados no decorrer do texto. No entanto, para maior clareza e facilidade no entendimento da discussão alguns dados são apresentados nos apêndices: espectros de Ressonância Magnética Nuclear (**Apêndice A**), Espectros de absorção na região do Infravermelho (**Apêndice B**), espectrometria de massas - HR-ESI-MS (**Apêndice C**), estudos Teóricos por DFT (**Apêndice D**), difração de raios X (**Apêndice E**) e cromatogramas de radio-HPLC - ^{99m}Tc (**Apêndice F**),

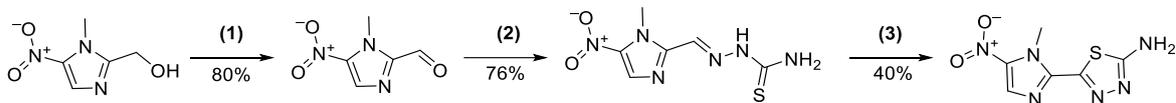
4.1 LIGANTES

O composto megazol foi sintetizado inicialmente por Berkelhammer e Asato (BERKELHAMMER; ASATO, 1968) e desde então foram desenvolvidas várias metodologias de síntese (CHAUVIÈRE et al., 2003; LEITES et al., 2018; MOSHAFI et al., 2011) após sua descoberta na década de 60 (**Esquema 2**). A necessidade de diferentes procedimentos ocorre em razão do baixo rendimento, a exceção do trabalho recente de Leites e colaboradores (2018), próximo a 50 %, atingido para atender a pureza suficiente para ser utilizado como futuro fármaco. Assim, a síntese em larga escala continua sendo um problema a ser solucionado. Dessa maneira, tentando aumentar o rendimento da reação, foi elaborada uma metodologia de síntese baseada no **método 1** de Chauvière et. al. (2003) apresentado no **Esquema 2**. Além disso, ainda que o mecanismo de ação do megazol não seja conhecido, alguns estudos de relação estrutura/atividade mostraram a importância do grupo nitro em sua estrutura química para seu modo de ação em meio biológico. Logo, foram alteradas as propriedades químicas através de mudanças estruturais na porção do grupo amina ligado ao anel 1,3,4-tiadiazol. As mudanças empregadas visaram promover uma alteração de lipofilicidade no megazol como também avaliar o comportamento do mesmo como agente complexante. Esta última característica é importante uma vez que não há descrição na literatura do megazol como ligante.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

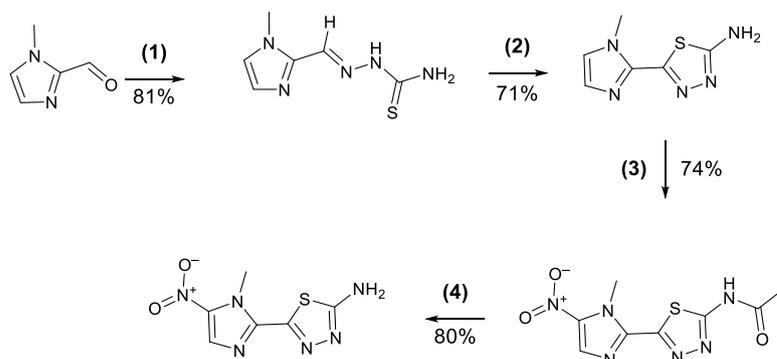
Esquema 2 – Metodologias de síntese do megazol descritas na literatura.

Método 1 - 3 etapas



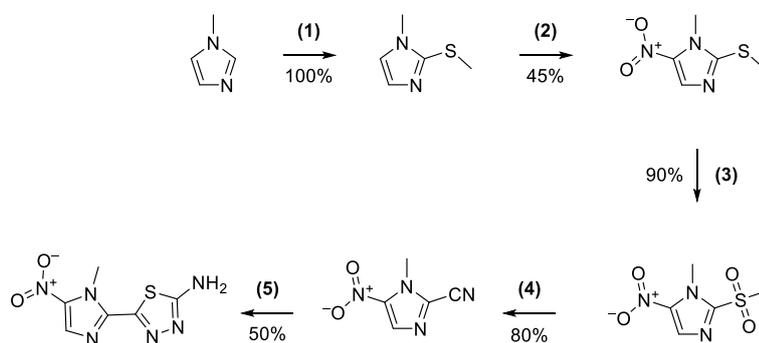
(1) 4 MnO₂, tolueno, 110°C, 4h, N₂; (2) 1 tsc, HCl, DMSO, 80°C, 2h; e (3) 4 (NH₄)Fe(SO₄)₂.12H₂O, H₂O, 100°C, 5h.

Método 2 - 4 etapas



(1) 1 tsc, AcOH, EtOH, 80°C, 5h; (2) HCl, t.a, 1h; (3) Ac₂O, 50°C, 1h; e HNO₃, 60°C, 2h; (4) HCl, 80°C, 6h.

Método 3 - 5 etapas



(1) a - 20 *n*-butillitio, THF, -30°C, 10 min; b - 1,125 DMSO, t.a, 1h; (2) HNO₃ 70%, 70°C, 1h; (3) TFA, H₂O₂ 30%, 40°C, 1h; (4) 1,1 KCN, DMSO, 80°C, 0,5 h; (5) tsc, TFA, 60°C, 15h.

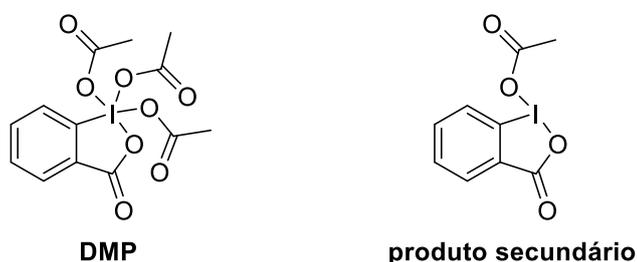
Fonte: (CHAUVIÈRE et al., 2003; LEITES et al., 2018; MOSHAFI et al., 2011).

A primeira etapa de reação, proposta na literatura, é a oxidação do álcool primário a aldeído através da reação com o agente oxidante dióxido de manganês em tolueno anidro, sob atmosfera de N₂ e refluxo por 4 horas, seguida de purificação por cromatografia preparativa (**Procedimento 1, Esquema 2 – Método 1**). Pensando em reações com condições mais brandas, seletivas e na purificação do produto bruto de maneira mais econômica sem uso de equipamentos caros, a reação com o agente oxidante o Periodinano de Dess-Martin (da sigla em inglês *DMP*, **Figura 21**) foi empregada (**Procedimento 2, Esquema 3**). A reação consiste na agitação do aldeído com 1,5 equivalente de DMP em

RESULTADOS E DISCUSSÕES

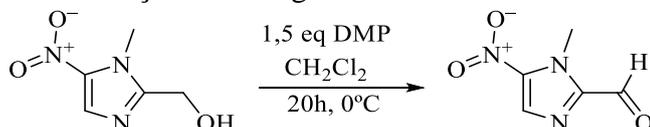
DCM em banho de gelo por 18 horas. A purificação aplicada é a extração e secagem para obter um produto oleoso marrom. No entanto, para reações empregadas com mais de 100 mg do álcool a separação do DMP tornou-se um problema. Possivelmente, o problema ocorreu devido ao excesso de DMP e do seu produto secundário (**Figura 21**) formado, como também ao fato do aldeído N12CA ser solúvel em ambas as fases aquosas e orgânicas usadas na etapa de purificação de extração. Logo, o procedimento 1 foi empregado devido a necessidade de quantidades maiores de N12CA nas duas etapas seguintes para obter o MGZ.

Figura 21 – Estrutura química do DMP e seu produto secundário da oxidação de álcoois primários.



Fonte: A Autora.

Esquema 3 – Reação de oxidação com o agente oxidante DMP.



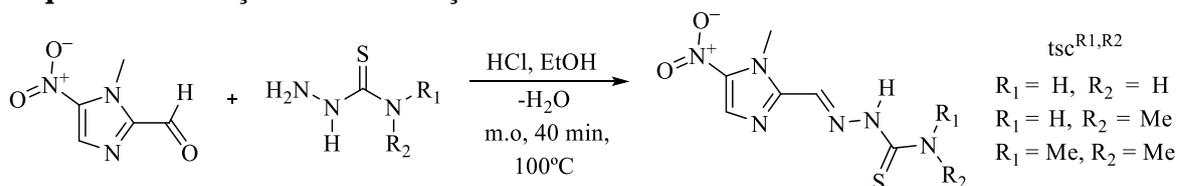
Fonte: A Autora.

A **etapa 2** utiliza DMSO como solvente que é viscoso e de difícil evaporação. Ademais, na **etapa 3** da metodologia de Chauvière foi obtido um rendimento baixo de 40 %. Portanto, algumas modificações foram empregadas objetivando contornar esses problemas: I) a troca do solvente DMSO por etanol, um solvente comum utilizado em reações de condensação para formação de bases de Schiff e II) o emprego de radiação de micro-ondas (m.o) para aquecimento das reações. As Reações Orgânicas Assistidas por Micro-ondas (do inglês *Microwave Assisted Organic Reactions* – MAOS) são caracterizadas pela interação da radiação eletromagnética com a matéria e podem apresentar como benefícios a diminuição do tempo e aumento no rendimento da reação (DÍAZ-ORTIZ; PRIETO; DE LA HOZ, 2019; GABA; DHINGRA, 2010). Para a **etapa 2** (**Esquema 4**), a reação de condensação foi otimizada depois de várias tentativas e resultou na redução do tempo de

RESULTADOS E DISCUSSÕES

reação em 80 minutos com a utilização de micro-ondas. Além disso, o aquecimento do solvente etanol acima da sua temperatura de ebulição em 20 °C também facilitou o manuseio do aparato de reação uma vez que foi realizada em frasco selado sem o uso de banho de óleo. O rendimento da reação foi menor (74 %) em comparação com o descrito na literatura (80 %), entretanto, tendo em vista as facilidades e melhorias citadas acima, esta nova metodologia mostrou-se eficiente.

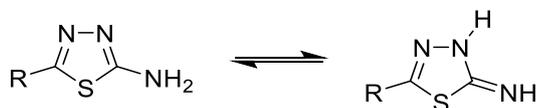
Esquema 4 – Reação de condensação entre o aldeído e as TSCs selecionadas.



Fonte: A Autora.

A **etapa 3** foi feita primeiramente seguindo o procedimento da literatura (CHAUVIÈRE et al., 2003). Portanto, realizada em refluxo durante 5 horas, em água à 100 °C (**Esquema 2 – Método 1**). O produto obtido foi um sólido marrom escuro, insolúvel em todos os solventes, até mesmo em DMSO. Deste modo, não foi possível a análise da amostra por RMN. Outro problema notado foi a baixa solubilidade do composto tsc^{H,H} em água apesar do aquecimento e forte agitação. Logo, outras formas de contornar os problemas encontrados na reação convencional foram empregadas. Na primeira tentativa por MAOS foi empregada a temperatura de ebulição da água (100 °C) por 1h e 40 minutos. O produto obtido, marrom, foi filtrado e lavado com água como descrito no procedimento. A lavagem do produto bruto com acetona gerou a solubilização de um segundo produto de cor amarela. A análise por RMN e HR-ESI-MS do produto amarelado indicou que o mesmo era o produto de interesse, o megazol. No entanto, é interessante ressaltar que após a análise por UPLC-ESI-MS ambos os produtos da reação apresentaram o mesmo tempo de retenção e mesmo valor de razão massa carga do íon molecular [M+H]. Possivelmente, pode ter ocorrido na reação de ciclização da tiossemicarbazida a formação de outro isômero do anel 1,3,4-Tiadiazol (**Esquema 5**).

Esquema 5 – Tautomerismo do anel 1,3,4 – tiadiazol.

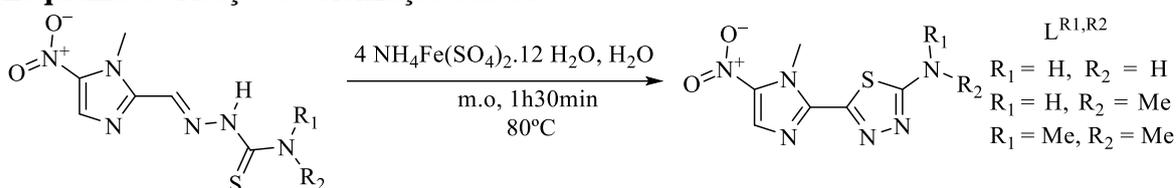


Fonte: (HU et al., 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para otimizar a síntese foram alterados tanto o tempo quanto a temperatura de reação chegando nos valores ideais de 1h e 40 min e 80 °C (**Esquema 6**). Em seguida, o produto bruto amarelo foi isolado por filtração e imediatamente dissolvido em acetona para recristalização. O rendimento da reação aumentou em mais de 70 % gerando produtos puros para serem empregados como ligantes para as reações de complexação. A melhora no rendimento pode ser explicada pelo efeito do aquecimento da radiação micro-ondas em comparação com o aquecimento convencional que gera uma distribuição eficiente e homogênea de aquecimento de toda a amostra (DÍAZ-ORTIZ; PRIETO; DE LA HOZ, 2019; GABA; DHINGRA, 2010) contornando o problema de solubilidade da $\text{tsc}^{\text{H,H}}$. Ademais, ambas as etapas são reações reproduzíveis uma vez que, utilizando tiossemicarbazidas diferentes, resultaram nos produtos previamente planejados.

Esquema 6– Reação de ciclização das $\text{tsc}^{\text{R1,R2}}$.



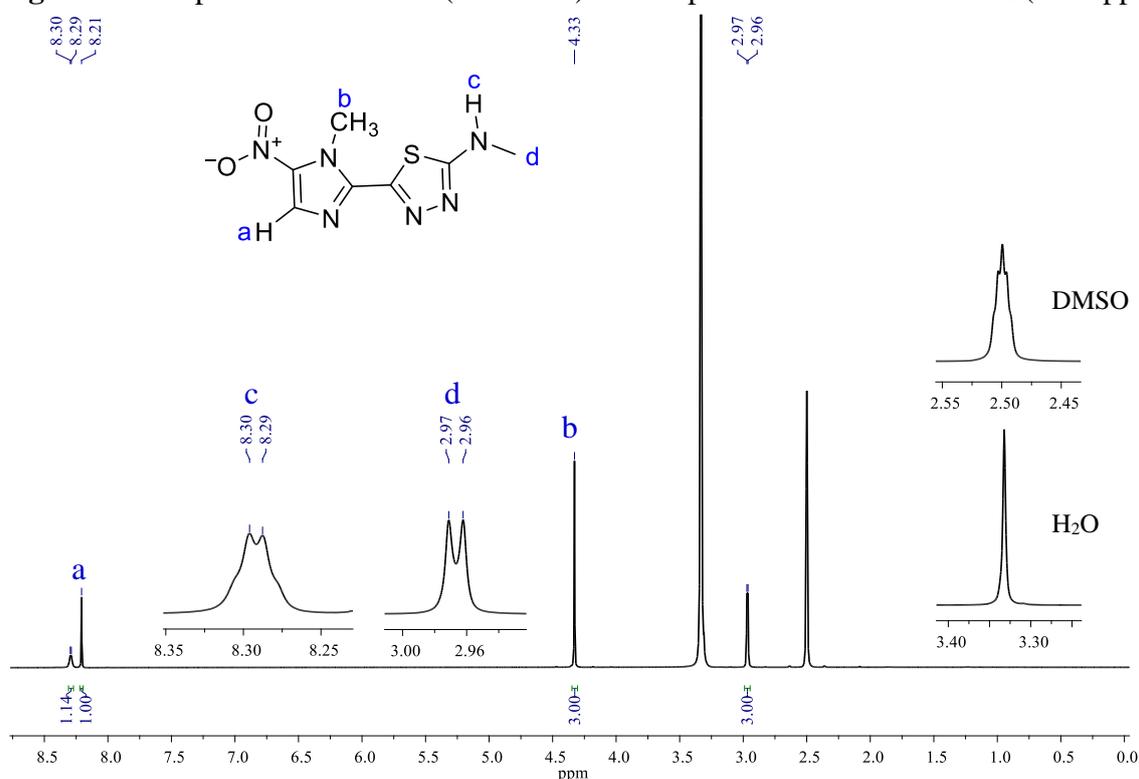
Fonte: A Autora.

Os espectros de RMN de ^1H tanto dos compostos descritos na literatura (CHAUVIÈRE et al., 2003; LEITES, 2018) quanto dos compostos inéditos estão de acordo com as estruturas propostas. A **Tabela 1** apresenta os deslocamentos químicos, multiplicidade e integração dos compostos orgânicos obtidos, enquanto os espectros são exibidos no **Apêndice A**. O hidrogênio aromático H_a ligado ao anel imidazol aparece como um sinal simpleto entre 8,1 e 8,5 ppm. Os sinais referentes ao grupo metil presente no anel imidazol H_b foram observados como um simpleto entre 4,15 e 4,90 ppm. O sinal referente ao CH do anel nitroimidazol, observado em 4,38 ppm do composto **N12CA**, é deslocado para regiões mais desblindadas nos espectros dos compostos $\text{L}^{\text{R1,R2}}$. O hidrogênio H_c , ligado a carbonila no composto **N12CA**, e o hidrogênio H_c , ligado ao carbono imina nos compostos tiossemicarbazidas $\text{tsc}^{\text{R1,R2}}$, apresentaram deslocamentos químicos em 9,9 ppm e no intervalo de 8,2-8,3 ppm, respectivamente. Com relação à porção tioamida secundária das $\text{tsc}^{\text{R1,R2}}$, os hidrogênios -NH_d aparecem na região de campo baixo como sinais simpletos com δ em 11,8, 11,9 e 11,3 ppm para os compostos $\text{tsc}^{\text{H,H}}$, $\text{tsc}^{\text{H,Me}}$ e $\text{tsc}^{\text{Me,Me}}$, respectivamente. Para os hidrogênios ligados à tioamida terminal e amina aromática (-NH_e , -NH_f) nos compostos $\text{tsc}^{\text{R1,R2}}$ e $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ foi notado o efeito do momento quadrupolar

RESULTADOS E DISCUSSÕES

para os núcleos ligados diretamente aos nitrogênios ($N^{14} I = 1$). Esse efeito varia de acordo com a velocidade de troca intermolecular dos prótons do nitrogênio em solução (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). Os espectros RMN de 1H da $tsc^{H,Me}$ (Figura 3A, Apêndice A) e $L^{H,Me}$ (Figura 22) apresentam dois sinais largos em torno de 3,0 ppm e 8,3 ppm atribuídos aos grupos $-CH_3$ e $-NH$ da amida terminal, respectivamente. Esse comportamento acontece quando a taxa de troca é baixa e o momento quadrupolar do núcleo do N provoca um tempo de meia vida intermediário dos estados de spin (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). Portanto, os prótons consideram três estados de spin do núcleo de N (o qual altera-se a uma taxa moderada) e, conseqüentemente, o próton responde como um sinal alargado. Assim sendo, os espectros de RMN 1H podem apresentar sinais alargados ou com picos parcialmente definidos dependendo do acoplamento geminal (2J) e vicinal (3J) do N com os átomos de hidrogênio ligados aos átomos C_α e C_β , respectivamente. Outro efeito observado é quando a taxa de troca é alta e os prótons NH desacoplam do átomos de N e C adjacentes resultando em apenas um sinal largo como no caso dos sinais dos compostos $L^{H,H}$ (Figura 5A, Apêndice A), $tsc^{Me,Me}$ (Figura 4A, Apêndice A) e $L^{Me,Me}$ (Figura 10A, Apêndice A) (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Figura 22 – Espectro de 1H RMN (500 MHz) do composto $L^{H,Me}$ em $DMSO-d_6$ (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 1 – Deslocamento Químico ($\delta = \text{ppm}$), multiplicidade (M) e integral (I) dos sinais dos espectros de ^1H RMN dos compostos orgânicos preparados neste trabalho.

N12CA- CDCl ₃ -d 500 MHz				tsc ^{H,H} DMSO-d ₆ 400 MHz				L ^{H,H} DMSO-d ₆ 500 MHz			
	δ	M	I	δ	M	I	δ	M	I		
a	8,1	s	1H	8,1	s	1H	8,5	s	1H		
b	4,4	s	3H	4,2	s	3H	4,9	s	3H		
c	9,9	s	1H	8,2	s	1H	-	-	2H		
d	-	-	-	11,8	s	1H	-	-	-		
e,f	-	-	-	8,6 e 7,8	s	2H	7,6	s	-		
N12CA CDCl ₃ -d 500 MHz				tsc ^{H,Me} DMSO-d ₆ 400 MHz				L ^{H,Me} DMSO-d ₆ 500 MHz			
	δ	M	I	δ	M	I	δ	M	I		
a	8,1	s	1H	8,1	s	1H	8,2	s	1H		
b	4,4	s	3H	4,1	s	3H	4,3	s	3H		
c	9,9	s	1H	8,2	s	1H	8,3	d	1H		
d	-	-	-	11,9	s	1H	3,0	d	3H		
e	-	-	-	3,0	d	3H	-	-	-		
f	-	-	-	8,3	d	1H	-	-	-		
N12CA CDCl ₃ -d 500 MHz				tsc ^{Me,Me} DMSO-d ₆ 400 MHz				L ^{Me,Me} DMSO-d ₆ 500 MHz			
	δ	M	I	δ	M	I	δ	M	I		
a	8,1	s	1	8,2	s	1H	8,2	s	1H		
b	4,4	s	3	4,3	s	3H	4,3	s	3H		
c	9,9	s	1	8,3	s	1H	3,2-	-	6H		
d	-	-	-	11,3	s	1H	-	-	-		
e	-	-	-	3,3	s	6H	-	-	-		

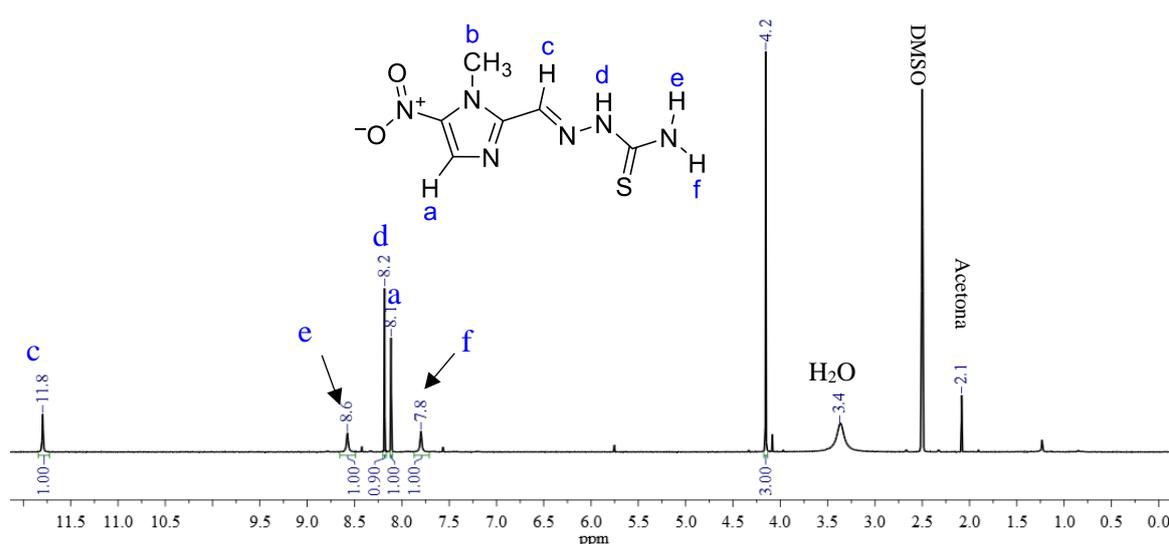
Fonte: Dados da Pesquisa.

Outro comportamento observado para hidrogênios ligados aos nitrogênios é a restrição da rotação em torno da ligação do carbono ligado ao enxofre e nitrogênio do grupo tioamida causado pela ressonância deste grupo, tornando os hidrogênios magneticamente

RESULTADOS E DISCUSSÕES

diferentes e provocando o aparecimento de dois sinais diferentes. No caso do $\text{tsc}^{\text{H,H}}$ (**Figura 23**), os dois sinais -NH^{e} e NH^{f} que ressonam em 8,6 e 7,8 ppm, respectivamente, com grande constante de acoplamento J (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Figura 23 – Espectro de ^1H RMN (400 MHz) do composto $\text{tsc}^{\text{H,H}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).

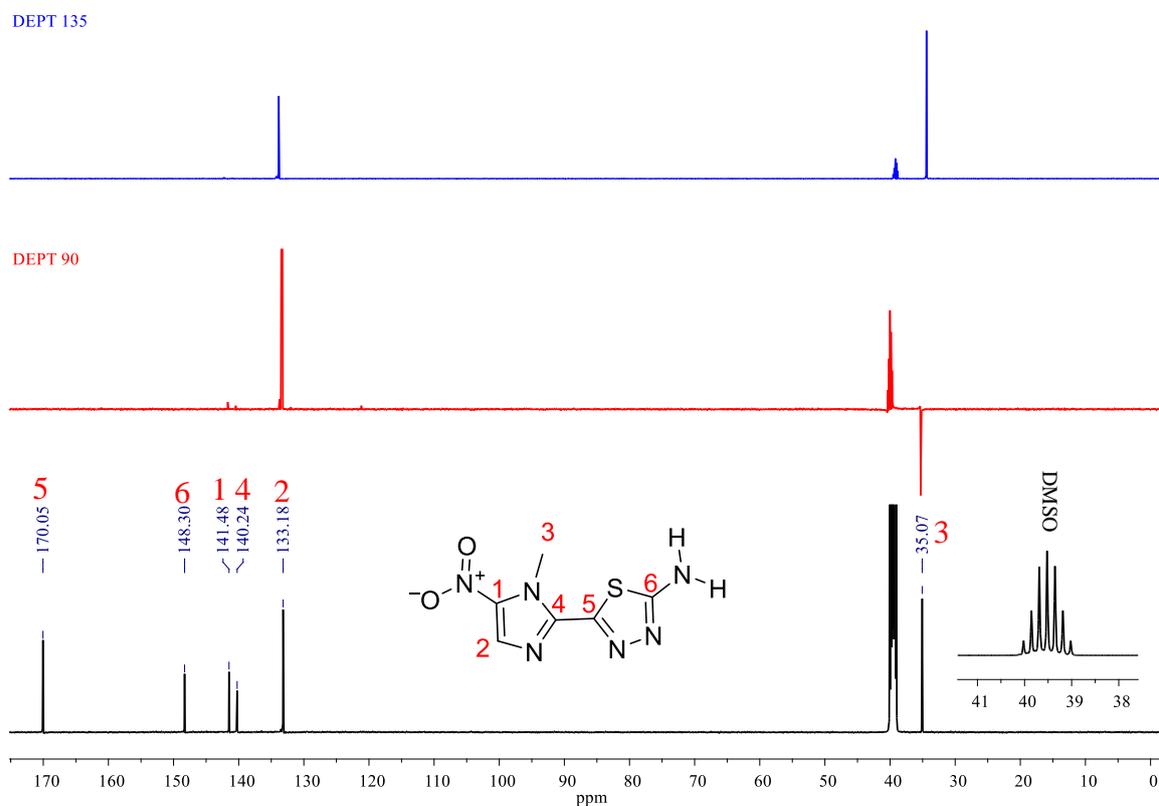


Fonte: Dados da pesquisa.

Os sinais e atribuições dos espectros de RMN de ^{13}C do aldeído **N12CA** e do ligante livre $\text{L}^{\text{H,H}}$ estão organizados na **Tabela 2**. O experimento de DEPT 135 indicou os sinais em torno de 35 ppm (**C3**), 137 ppm (**C2**) e 183,6 ppm (composto **N12CA**, **C5**) como carbonos metino e metila. Considerando esses sinais, o experimento DEPT 90 atribuiu aos sinais em aproximadamente 133 e 183 ppm aos carbonos **CH2** e **CH5** e em 35 ppm aos carbonos -**CH3**. Analisando os dados do experimento de DEPT, o sinal do carbono **CH** é notado em 133 ppm em regiões características de carbonos aromáticos. No entanto, como esperado, o sinal em 183 ppm referente ao carbono da carbonila aparece apenas no espectro do composto **N12CA**, logo a ciclização do anel nos compostos $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ pode ser confirmada devido à ausência do mesmo para os compostos $\text{L}^{\text{R1,R2}}$. O carbono ligado diretamente ao grupo nitro **C4** apresenta sinais em 138,7, 142,77 e 141,42 ppm para $\text{L}^{\text{H,H}}$ (**Figura 24**), $\text{L}^{\text{H,Me}}$ e $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ respectivamente. O carbono presente na porção N-C=N no anel imidazol ressona em 141,3 ppm para o aldeído **N12CA** e em aproximadamente 141 ppm para os compostos $\text{L}^{\text{R1,R2}}$. Os carbonos quaternários presentes no anel tiadiazol **C5** e **C6** nos compostos $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ são observados em torno de 170 e 148 ppm, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 24 – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).



Fonte Dados da Pesquisa.

Tabela 2 - Deslocamento Químico teórico e experimental dos sinais e resultados dos experimentos de DEPT dos espectros de ^{13}C RMN dos compostos orgânicos.

	δ/ppm	Teórico		DEPT		δ/ppm	Teórico		DEPT	
		135	90	135	90		135	90		
1	-	143,2	-	-	141,5	138,7	-	-	-	-
2	132,6	132,0	+	+	133,2	132,3	+	+	+	+
3	34,5	35,8	+	-	35,1	26,6	+	-	+	-
4	143,1	141,3	-	-	140,2	155,0	-	-	-	-
5	183,6	183,6	+	+	170,0	161,6	-	-	-	-
6	-	-	-	-	148,3	174,1	-	-	-	-

Fonte: Dados da Pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os compostos $L^{R1,R2}$ foram estudados experimentalmente no estado sólido por espectroscopia vibracional na região de 4000 à 600 cm^{-1} (**Figura 25**, e **Figuras B1 e B2**, **Apêndice B**). Com o objetivo de realizar uma atribuição das bandas de forma mais confiável, também foi determinado o espectro teórico por DFT do composto $L^{H,H}$, baseando-se na molécula otimizada na forma isolada do composto (discussão se encontra mais adiante), o que é equivalente ao espectro de FTIR no estado sólido. No espectro do composto $L^{H,H}$, **Figura 25**, é notado duas bandas de intensidade média, na faixa de 3428 à 3280 cm^{-1} caracterizadas como estiramentos $\nu(\text{N-H})_s$ e $\nu(\text{N-H})_{as}$ em acordo com a presença da amina primária, cujos valores são observados, respectivamente, em 3657 e 3810 cm^{-1} no espectro teórico. Por outro lado, no espectro do composto $L^{H,Me}$ (**Figura B1**, **Apêndice B**) a absorção de estiramento $\nu(\text{N-H})$ é observada como uma única banda larga e de média intensidade, característica de amina secundária, em 3193 cm^{-1} . Já no espectro do composto $L^{Me,Me}$ (**Figura B2**, **Apêndice B**) nenhuma banda de estiramento $\nu(\text{N-H})$ foi observada, como esperado para a função amina terciária. A ausência de outra banda característica de estiramento de $\nu(\text{N-H})$ de amina secundária evidencia a formação do anel tiadiazol. Além disso, aminas primárias e secundárias apresentam uma banda forte e estreita devido a vibração de dobramento da ligação $\delta(\text{C-N})$ (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001), sendo que cálculo para $L^{H,H}$ indicou que essa vibração ocorre concomitantemente ao estiramento da ligação C-NH_2 em 1675 cm^{-1} , indicando que a ligação carbono-amina possui um caráter de ligação dupla devido à ressonância. Nos espectros experimentais dos compostos $L^{H,H}$, $L^{H,Me}$ e $L^{Me,Me}$ a banda $\delta(\text{C-N}) + \nu(\text{C=N})$ aparece como uma banda fina de média intensidade em 1632, 1583 e 1555 cm^{-1} , respectivamente. Interessante observar que a adição dos grupos $-\text{CH}_3$ diminui a força da ligação C-NH_2 . A absorção de estiramento C=C no anel imidazol coincide com a absorção do estiramento da ligação C=N do anel tiadiazol adjacente, indicado no espectro teórico em 1573 cm^{-1} . Logo, as bandas observadas em 1518 cm^{-1} ($L^{H,H}$), 1536 cm^{-1} ($L^{H,Me}$) e 1532 cm^{-1} ($L^{Me,Me}$) são coerentes com as vibrações $\nu(\text{C=N}) + \nu(\text{C=C})$. No que se refere ao grupo nitro $-\text{NO}_2$, duas bandas de estiramento são observadas nos espectros IV. Os estiramentos da ligação N-O aparecem como uma banda assimétrica e outra simétrica, intensas e estreitas, em torno de 1500 cm^{-1} e 1365 cm^{-1} , respectivamente. O estiramento da ligação $\nu(\text{C-S})$ do anel tiadiazol é encontrado em 1343 cm^{-1} no espectro teórico de $L^{H,H}$ e em torno de 1350 cm^{-1} nos espectros experimentais dos compostos $L^{R1,R2}$. A **Tabela 3** resume as principais bandas de absorção na região do infravermelho para os agentes complexantes $L^{R1,R2}$.

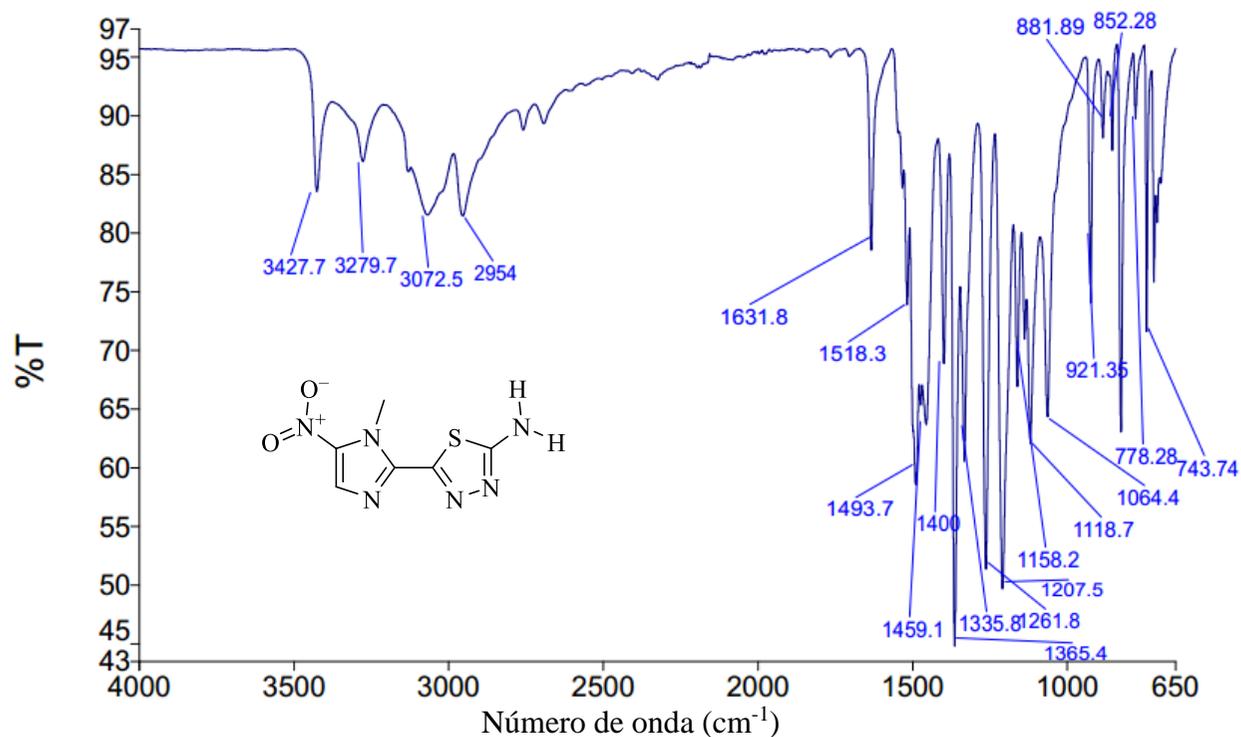
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 3 – Bandas de absorção na região do infravermelho selecionadas para os ligantes livres $L^{R1,R2}$ (cm^{-1}).

	$\nu(\text{N-H})$	$\nu(\text{C-H})$	$\delta(\text{C-N})+\nu(\text{C=N})$	$\nu(\text{C=N})+(\text{C=C})$	$\nu(\text{N-O})_{\text{as}}$	$\nu(\text{N-O})_{\text{s}}$	$\nu(\text{C-S})$
$L^{\text{H,H}}$ teórico	3810 s /3657 s	-	1675 s	1573 s	1494 s	1392 s	1343 s
$L^{\text{H,H}}$	3428 w /3280 w	3072 w	1632 m	1518 m	1494 s	1365 s	1336 s
$L^{\text{H,Me}}$	3193 w	3125 w	1583 m	1536 s	1523 s	1362 s	1332 s
$L^{\text{Me,Me}}$	-	3148 w	1555 s	1532 s	1513 s	1397 s	1362 s

as = assimétrica; s = simétrica.

Figura 25 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $L^{\text{H,H}}$ em ATR.



Fonte: Dados da pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As análises elementares (**Tabela 4**) e a espectrometria de massas de alta resolução HR-ESI-MS (**Figuras 26- 27** e **Figuras C1, C2, C3** e **C4 – Apêndice C**) confirmaram a composição dos compostos $\text{tsc}^{\text{R1,R2}}$ e $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ propostos inicialmente. Além disso, a pureza dos compostos foi confirmada indicando a ausência de subprodutos e sais derivados das reações. Portanto, a associação dos resultados de análise elementar e das técnicas espectroscópicas confirmaram a formação dos compostos.

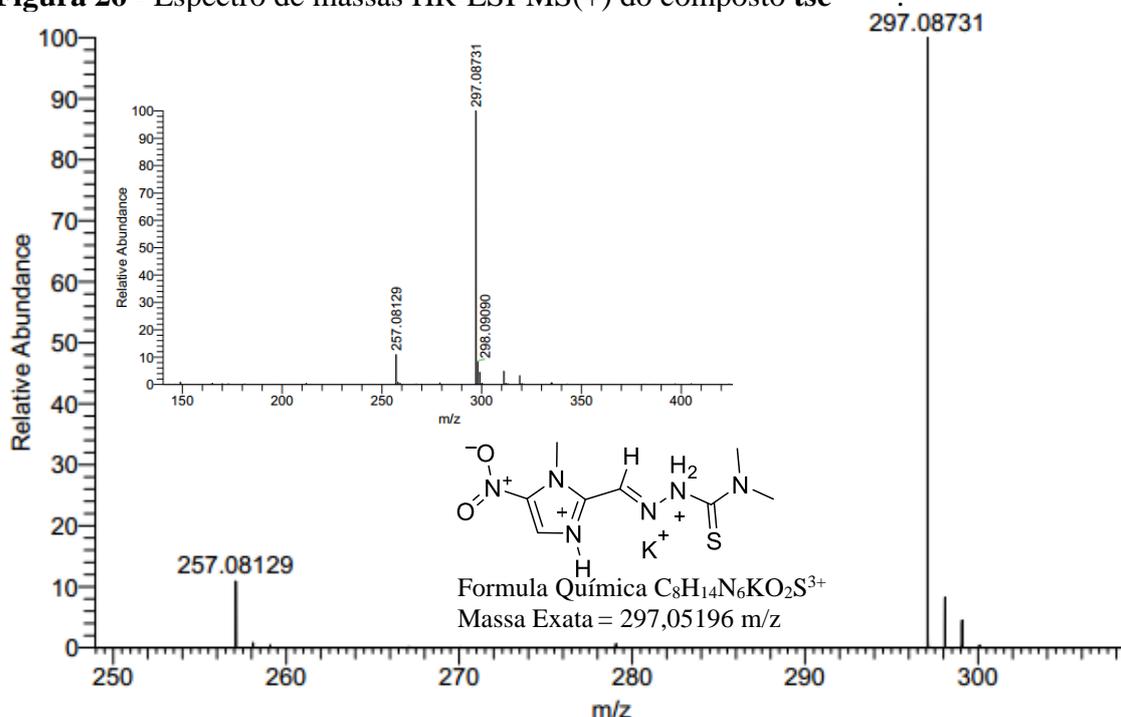
Tabela 4 – Porcentagem da composição química experimental e determinada de C, N e H dos ligantes livres $\text{L}^{\text{R1,R2}}$.

	$\text{L}^{\text{H,H}}$			$\text{L}^{\text{H,Me}}$			$\text{L}^{\text{Me,Me}}$		
	T	D	E/%	T	D	E/%	T	D	E/%
C	31,9	31,3	1,7	35,0	34,6	1,1	37,8	37,6	0,4
H	2,60	2,70	2,7	3,40	3,40	0,0	4,00	4,10	2,3
N	37,2	37,1	0,1	35,0	35,1	0,4	32,1	32,3	2,3

*T: teórico; D:determinado; E%: erro experimental.

Fonte: Dados da pesquisa.

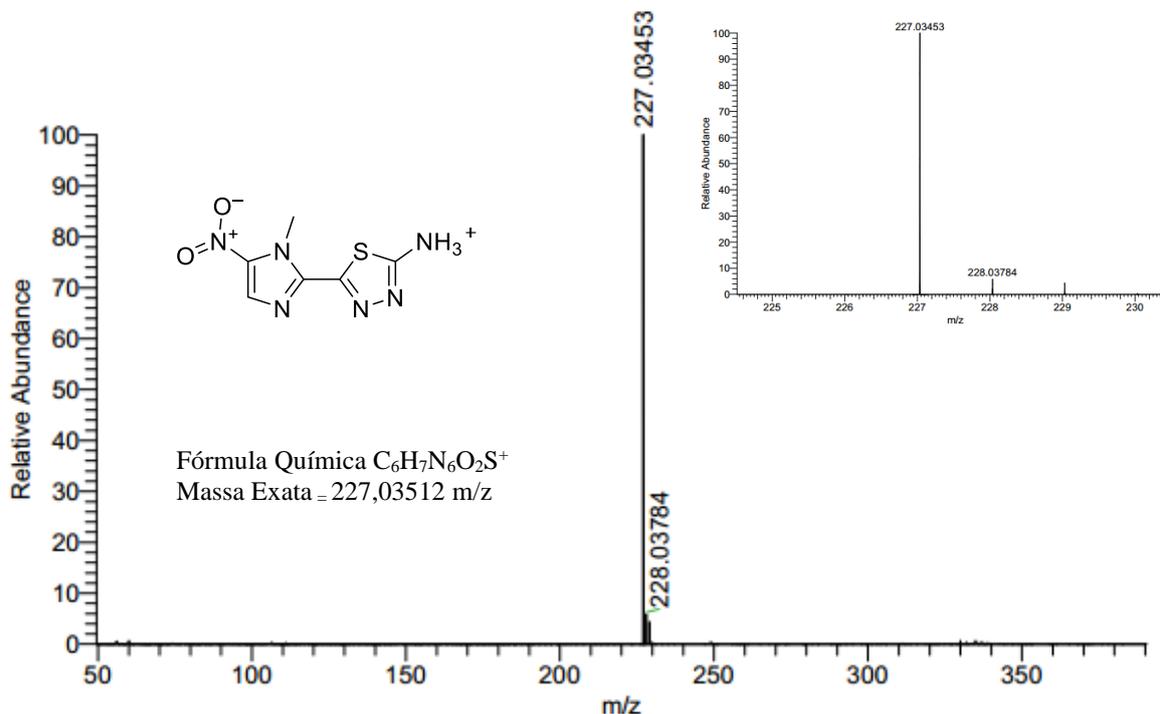
Figura 26 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $\text{tsc}^{\text{Me,Me}}$.



Fonte: Dados da pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 27 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $L^{H,H}$.



Fonte: Dados da pesquisa.

Cristais adequados para a determinação de estrutura por difração de raios X em monocristal foram obtidos para as moléculas **N12CA**, $tsc^{H,Me}$, $tsc^{Me,Me}$, $L^{H,H}$ e $L^{Me,Me}$. Os detalhes de refinamento são mostrados nas **Tabelas F1 e F2 (Apêndice E)**. Os comprimentos e ângulos de ligação selecionados dos compostos orgânicos são apresentados na **Tabela 5**. Os compostos se cristalizaram em sistema cristalino monoclinico e mostraram três grupos espaciais diferentes: i) $P2_1/m$ (**N12CA**), ii) $P2_1/c$ ($tsc^{H,Me}$, $tsc^{Me,Me}$ e $L^{H,H}$) e iii) $P2_1/n$ ($L^{H,Me}$). As estruturas de DRX apresentadas são inéditas e corroboram com os dados das análises de técnicas espectroscópicas obtidas (**Figura 28 e Figuras - E1-E2 - Apêndice E**). As ligações químicas envolvidas no grupo nitro N1–O1, N1–O2 e N1–C1 para todos os compostos determinados estruturalmente apresentam ligações com dimensões em torno de 1,23, 1,22 e 1,41 Å, respectivamente. A ligação N4–N5 nos compostos $tsc^{H,Me}$ e $tsc^{Me,Me}$ tem aproximadamente 1,36 Å e apresentam comprimento semelhante a outras ligações em tiossemicarbazonas descritas anteriormente (GONÇALVES et al., 2017; RETTONDIN et al., 2016). Foi observado que a substituição do hidrogênio no nitrogênio N6 por metilas nos compostos $tsc^{H,Me}$ e $tsc^{Me,Me}$ causou um aumento da ligação N6–C6 de 1,3200(17) Å para 1,3369(19) Å. No caso das ligações N4–N5 nos anéis 1,3,4-tiadiazóis para o composto $L^{H,Me}$ (1,367(2) Å) essa ligação é menor em relação à ligação no composto $L^{H,H}$ (1,383(4) Å) que

RESULTADOS E DISCUSSÕES

por sua vez apresenta tamanho semelhante a outros tiadiazóis descritos anteriormente (KOUTENTIS; CONSTANTINIDES, 2008). As ligações das aminas aromáticas N6–C6 nos compostos $L^{H,H}$ e $L^{H,Me}$ ocorreu a diminuição da ligação N6–C6 (de 1,341(4) Å para 1,334(3) Å), respectivamente.

Tabela 5 – Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para os compostos orgânicos.

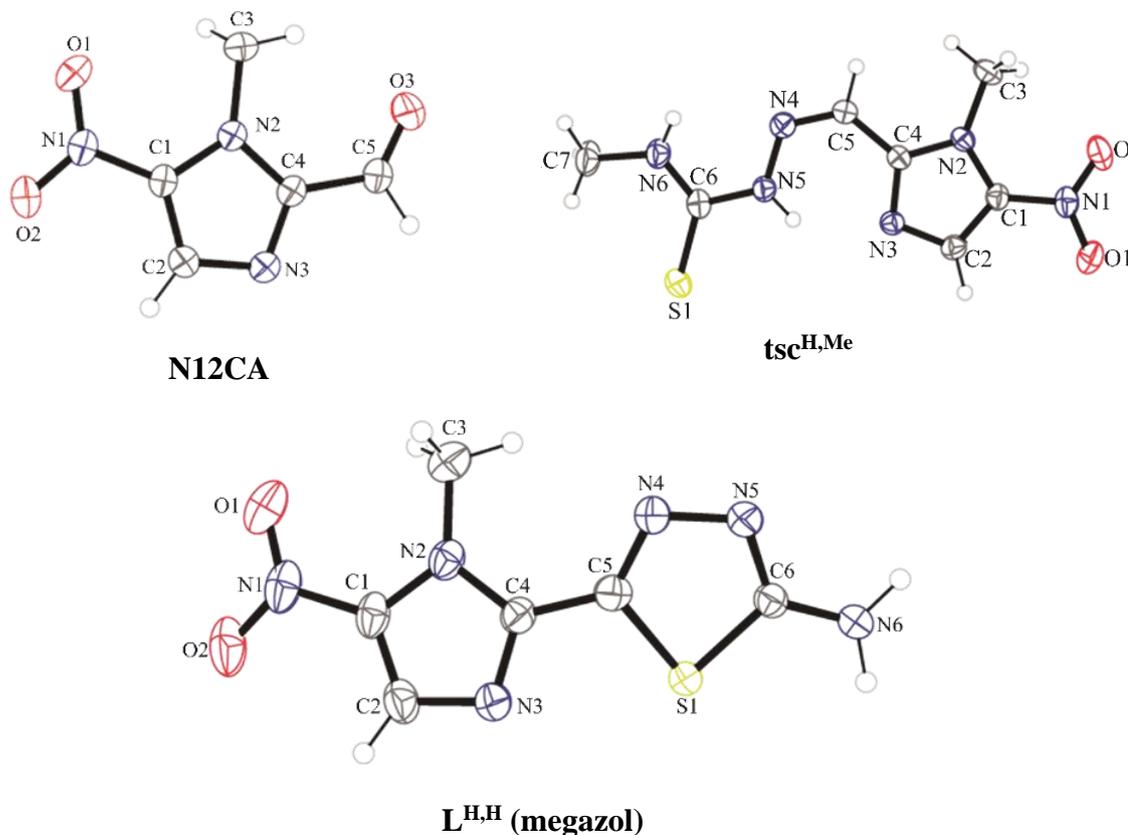
	N12CA	tsc ^{H,Me}	tsc ^{Me,Me}	L ^{H,H}	L ^{H,Me}
<i>Comprimentos de ligação</i>					
N1–O1	1,2267(19)	1,2213(15)	1,2306(17)	1,222(4)	1,232(3)
N1–O2	1,2267(19)	1,2249(16)	1,2309(16)	1,229(4)	1,233(3)
N1–C1	1,431(2)	1,4192(15)	1,4216(18)	1,429(4)	1,419(3)
N3–C2	1,384(2)	1,3506(15)	1,3542(18)	1,356(4)	1,353(3)
N3–C4	1,337(2)	1,3422(16)	1,3429(18)	1,335(4)	1,341(3)
N4–C5	-	1,2886(16)	1,2916(19)	1,304(4)	1,302(3)
N4–N5	-	1,3587(15)	1,3566(17)	1,383(4)	1,367(2)
S1–C6	-	1,6812(14)	1,6837(14)	1,734(3)	1,740(2)
N6–C6	-	1,3200(17)	1,3369(19)	1,341(4)	1,334(3)
<i>Ângulos de ligação</i>					
O1–N1–O2	124,28(15)	123,21(11)	123,99(13)	124,3(3)	123,59(19)
C2–N3–C4	105,64(13)	105,82(10)	105,99(12)	105,7(3)	105,31(17)
C5–N4–N5	-	118,60(11)	117,54(12)	112,7(3)	113,13(17)
S1–C6–N6	-	126,41(10)	124,34(11)	121,6(2)	122,60(16)

Fonte: Dados da pesquisa.

O anel imidazol apresenta dois tipos de diferentes átomos de nitrogênio, sendo um do tipo *N*-pirrol e o outro do tipo *N*-piridina. A diferença entre ambos é a participação do par de elétrons livres na ressonância do anel. O nitrogênio N2 na posição 1 do anel, é considerado do tipo *N*-pirrol quando o par de elétrons livres participa da ressonância do anel imidazol. Por outro lado, o nitrogênio N3 na posição 3 do anel é considerado do tipo *N*-piridina o qual o seu par de elétrons livres não participa da ressonância do anel. No que se refere ao anel 1,3,4-tiadiazol ambos os nitrogênios são do tipo *N*-piridina. Portanto, os nitrogênios classificados como *N*-piridina N3 e N5 apresentam maior densidade eletrônica em comparação ao nitrogênio do tipo *N*-pirrol N2 e formam ligações de hidrogênio intermoleculares se comportando como átomos aceptores de H nos compostos $L^{H,H}$ (Figura 29) e $L^{H,Me}$ (Figura E3, Apêndice E).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 28 – Representação ORTEP das moléculas **N12CA**, **tsc^{H,Me}** e **L^{H,H}** com elipsoides termais com 50 % de probabilidade.

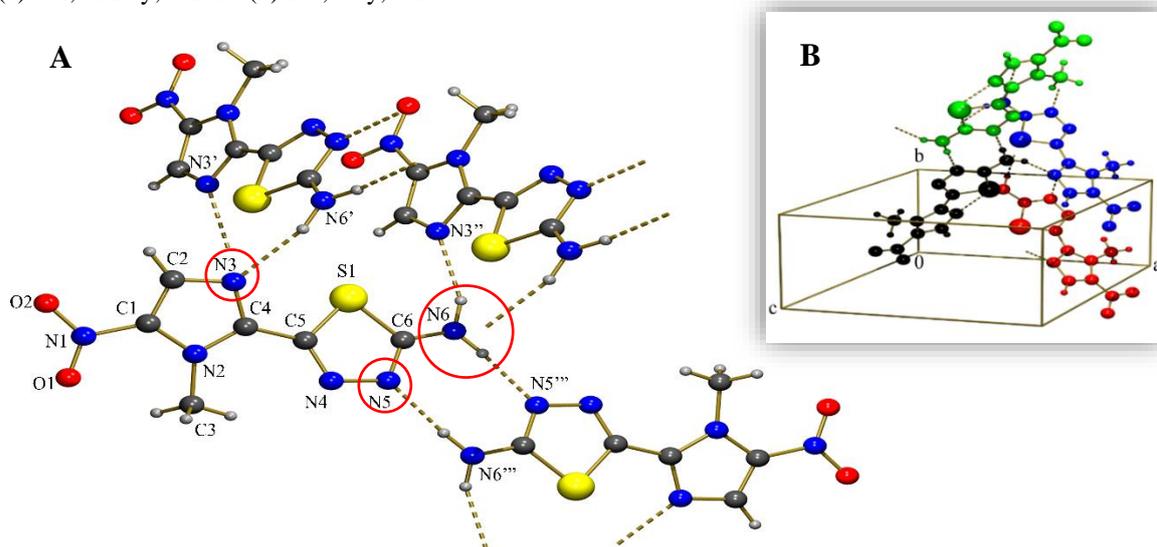


Fonte Dados da pesquisa.

Na estrutura cristalina do megazol foram observadas ligações de hidrogênio intermoleculares do tipo N–H \cdots N (Figura 29(A)). A **Figura 29(B)** destaca como o megazol, molécula central em preto, forma ligações de hidrogênio com outras três moléculas diferentes geradas por simetria. As ligações de hidrogênio são formadas entre os átomos receptores de hidrogênio N3 e N5 presentes na molécula de origem com o grupo doador de hidrogênio N6–H de duas moléculas vizinhas. Conseqüentemente, o grupo NH₂ também forma ligações de hidrogênio com duas moléculas distintas, N6–H(a) \cdots N3 e N6–H(b) \cdots N5. A ligação de hidrogênio mais forte é a N6–H(b) \cdots N5 com valor de comprimento de ligação 2,924(4) Å e ângulo de ligação 172(3)°.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 29 – (A) Ligações de hidrogênio intermoleculares envolvidas na estrutura cristalina do composto $L^{H,H}$. O grupo doador de hidrogênio N(6)–H(6) e os átomos receptores de hidrogênio N(3) e N(5) que formam as ligações de hidrogênio estão circulado de vermelho. (B) – Molécula central em preto formando ligações de hidrogênio com as moléculas vermelha, azul e verde geradas por simetria. $[N(6)\cdots N(3) = 3,026(4) \text{ \AA}$, $N(6)–H(a)\cdots N(3) = 156(4)^\circ]^a$; $[N(6)\cdots N(5) = 2,924(4) \text{ \AA}$, $N(6)–H(b)\cdots N(5) = 172(3)^\circ]^b$. Operações de simetria: (a) $1-x, -1/2+y, 3/2-z$ e (b) $1-x, -1-y, 1-z$.

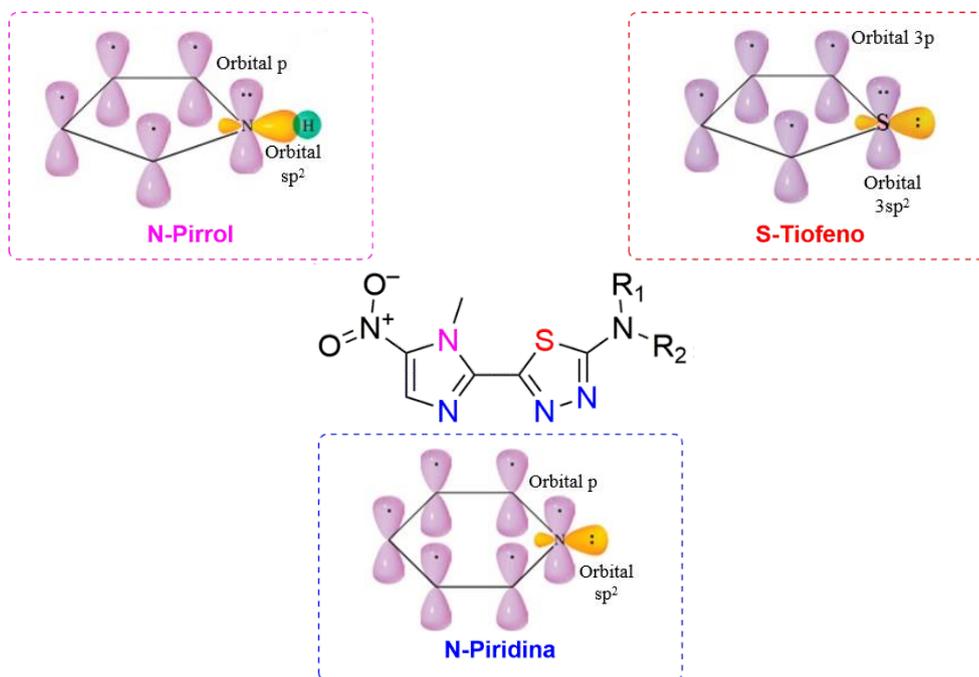


Fonte: Dados da Pesquisa.

O megazol e seus derivados foram empregados em reações de complexação devido à presença de vários átomos doadores em sua estrutura com potencial para formar quelatos com diferentes centros metálicos. Algumas observações são interessantes, além da possibilidade da formação de ligações de hidrogênio. A primeira delas é como os pares de elétrons livres dos átomos de N e S estão distribuídos nos anéis aromáticos (**Figura 30**). Considerando o esqueleto base do megazol, composto com os anéis aromáticos imidazol e tiadiazol, todos os átomos apresentam hibridização sp^2 . O átomo do tipo *N*-pirrol, presente no anel imidazol ligado ao grupo metil, o par de elétrons livres encontram-se no orbital *p* e participam da ressonância do anel. No entanto, no caso dos nitrogênios do tipo *N*-piridina, presente em ambos os anéis do megazol, os pares de elétrons livres do átomo localizam-se no orbital sp^2 . Com relação ao *S*-tiofeno há 2 pares de elétrons livres, sendo no orbital híbrido $3sp^2$ não participante na ressonância do anel. Logo, como anéis aromáticos são bastantes estáveis e dificilmente os elétrons π da aromaticidade formam outro tipo de ligações, os átomos *N*-piridina e *S*-tiofeno possibilitam a formação de ligações coordenadas. A segunda observação é a orientação dos seus orbitais na posição equatorial onde o ângulo é propício a formação de ligações com orbitais *d* dos centros metálicos como também de anéis quelatos com aromaticidade estendida aos anéis do megazol.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 30 - Distribuição eletrônica de acordo com a Teoria dos Orbitais Moleculares de anéis heterocíclicos. Os elétrons π participantes da ressonância dos anéis aromáticos piridina, pirrol e tiofeno encontram-se nos orbitais $2p$ (1 elétron), orbital $2p$ (2 elétrons) e orbital $3p$ (2 elétrons), respectivamente.



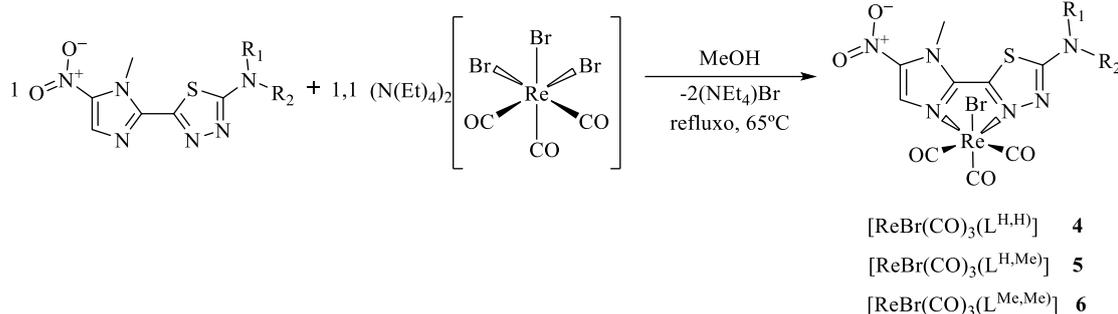
Fonte: Adaptada de (BRUICE, 2015).

4.2 COMPLEXOS DE Re^I TRICARBONIL

Os complexos foram sintetizados partindo do precursor metálico $(Et_4N)_2[ReBr_3(CO)_3]$. As reações foram realizadas em metanol com sistema de refluxo, em torno de 1 hora com os ligantes L^{R_1, R_2} (Esquema 7). Após poucos minutos de reação foi observada a mudança de coloração do amarelo, cor resultante dos agentes complexantes, para vermelho. A reação foi acompanhada por UPLC analítico e encerrada no momento em que todo o ligante foi consumido. A solução do **complexo 4** foi deixada à $0^\circ C$ por 72 h e então foi observada a formação de cristais vermelhos. Os **complexos 5 e 6** foram filtrados e o pó vermelho dissolvido em acetonitrila e hexano 1:1 (vol:vol) como solvente de arraste, utilizando a técnica de cristalização por difusão de vapor. Os complexos são solúveis em metanol, etanol, acetona, acetonitrila, diclorometano, DMSO e DMF e são pouco solúveis em água.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Esquema 7 – Reações de complexação dos ligantes $L^{R1,R2}$ com o fragmento $\{Re^I CO_3\}^+$.



Fonte: A Autora.

A composição química dos complexos **4-6** foi estudada tanto por análise elementar de CHN (**Tabela 6**) quanto por espectrometria de massas HR-ESI-MS. Ambas as técnicas ratificaram as composições químicas propostas previamente. O elemento químico Re apresenta dois isótopos naturais (abundância: ^{187}Re de 62,6 % e ^{185}Re de 37,4 %), consequentemente, os espectros de massas de complexos de Re apresentam mais de um pico e suas intensidades são correspondentes a abundância isotópica do metal. Os espectros de massas (**Figura 31** e **Figuras C5** e **C6**, **Apêndice C**) apresentam o pico do íon molecular como um aduto com Na^+ , $[M+Na]^+$, (**4**: 598,87403 m/z ; **5**: 612,88849 m/z e **6**: 626,90403 m/z). Esse comportamento foi observado em complexos de Re tricarbonyl com ligantes bipyridina no qual o Na^+ interage com o ligante (HENDERSON; EVANS, 1999; HORI et al., 1997). Além do pico atribuído ao aduto $[M+Na]^+$ foram observados outros dois picos. O segundo pico à esquerda do espectro foi notado a substituição do coligante Br^- por uma molécula de água formando o íon $[M-Br + H_2O]^+$ (514,97581 m/z para **4** e 528,99249 m/z para **5**), comportamento também observado com compostos com piridina e anel imidazol (HENDERSON; EVANS, 1999; HORI et al., 1997). No segundo caso, o primeiro pico à esquerda do espectro se trata de um pico com razão massa/carga sem o coligante Br^- $[M-Br]^+$ (496,96803, 510,98239 e 524,99858 m/z para **4**, **5** e **6**, respectivamente).

Tabela 6 – Porcentagem de composição química teórica e determinada de C, H e N dos complexos **4**, **5** e **6**.

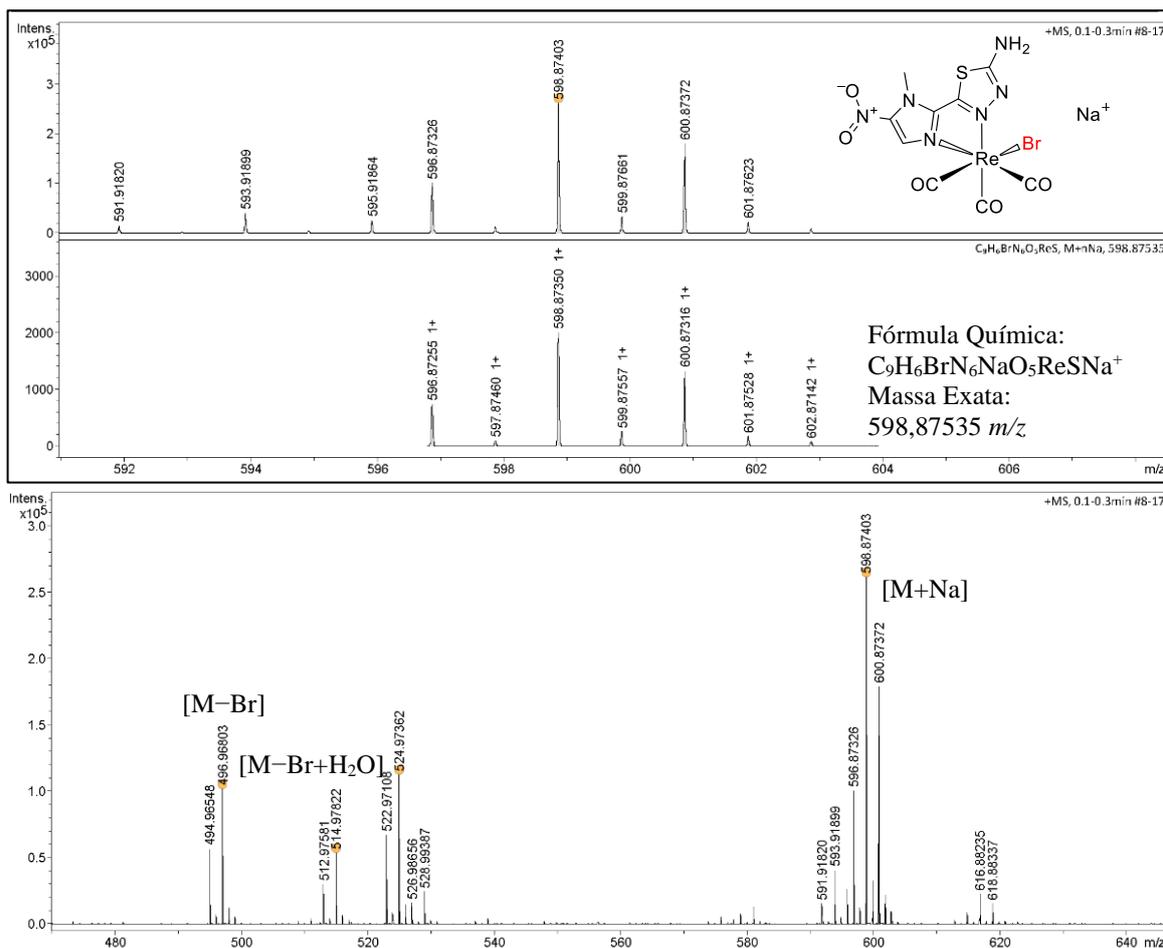
	$[ReBr(CO)_3(L^{H,H})]C_3H_6O$			$[ReBr(CO)_3(L^{H,Me})]CH_3OH$			$[ReBr(CO)_3(L^{Me,Me})]H_2O$		
	T	D	E/%	T	D	E/%	T	D	E/%
C	22,7	22,5	1,2	21,2	21,8	2,7	21,2	22,4	5,6
H	1,90	1,90	0,0	1,94	1,60	16	1,94	1,90	2,1
N	13,3	13,6	2,5	13,5	14,2	4,9	13,5	13,6	0,7

*T: teórico; D:determinado; E%: erro experimental.

Fonte: A Autora.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 31 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

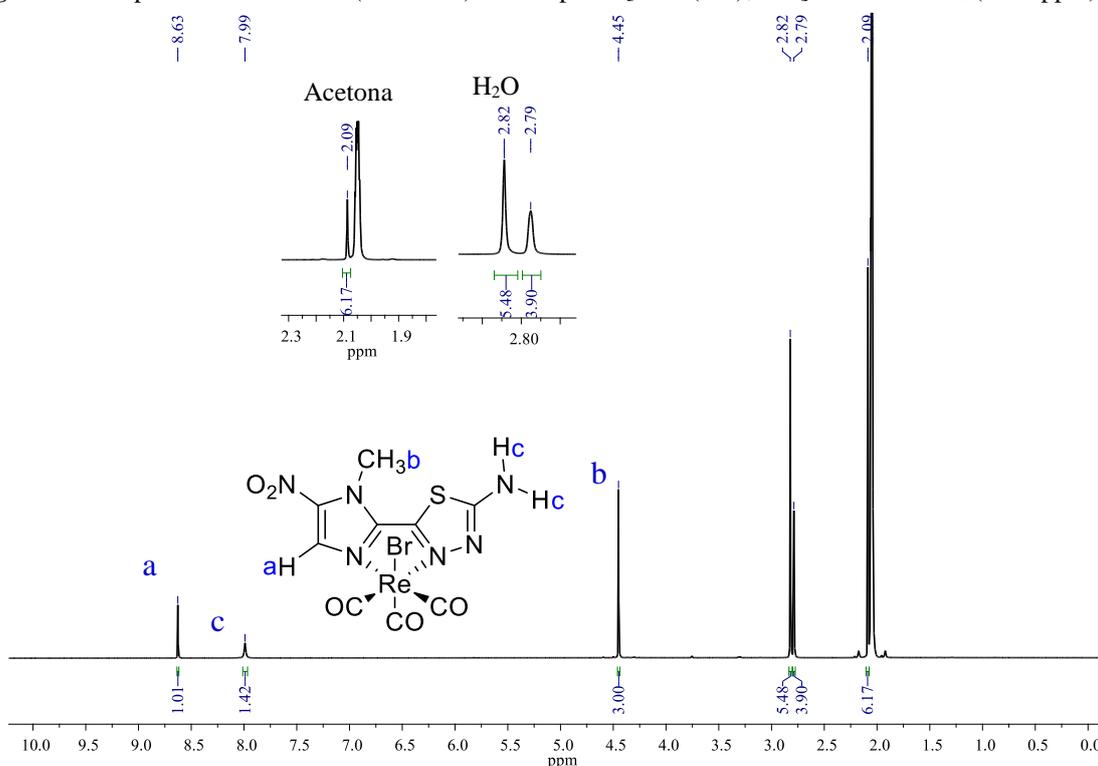
O estudo em solução por RMN de ^1H apresentou os sinais referentes aos ligantes $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ coordenados ao fragmento de $\{\text{Re}^{\text{I}}\text{CO}_3\}^+$. O RMN de ^1H do ligante livre $\text{L}^{\text{H,H}}$ em acetona (**Figura 6A, Apêndice A**) mostrou os sinais do anel imidazol(**Ha**), da amina aromática (**NHc**) e do grupo metil (**CHb**) com deslocamentos químicos apresentados em 8,1, 7,1 e 4,5 ppm, nesta ordem, com multiplicidades e integrais esperadas. Quando o $\text{L}^{\text{H,H}}$ está coordenado ao fragmento de $\{\text{Re}^{\text{I}}\text{CO}_3\}^+$ foi notado o deslocamento dos sinais para regiões mais desblindadas do espectro (**Figura 32**). Este comportamento pode ser uma consequência do aumento da ressonância que se estende nos anéis imidazol e tiadiazol até o anel quelato formado com o centro metálico, resultando no aumento do efeito anisotrópico nos hidrogênios **Ha** e **Hc**. Embora os espectros de RMN de ^1H dos agentes complexantes ($\text{L}^{\text{H,Me}}$ e $\text{L}^{\text{Me,Me}}$) e os espectros dos seus complexos tenham sido realizados em diferentes solventes ($\text{DMSO}-d_6$ e $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$), os sinais dos complexos também tiveram deslocamento dos sinais em relação aos ligantes livres. A **Tabela 7** apresenta os dados de ^1H RMN dos complexos **4**, **5** e **6**.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 7 – Deslocamentos químico (δ), multiplicidades (M) e integrais (I) dos sinais dos espectros de ^1H RMN dos complexos **4**, **5** e **6**.

	δ	M	I	δ	M	I	δ	M	I
a	8,7	s	1H	8,6	s	1H	8,6	s	1H
b	4,5	s	3H	4,4	s	3H	4,5	s	3H
c	7,98	s	1H	8,2	s	1H	-	-	-
d	-	-	-	3,2	s	1H	3,4-	-	6H

Figura 32 – Espectros de ^1H RMN (500 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ em acetona- d_6 (δ em ppm).



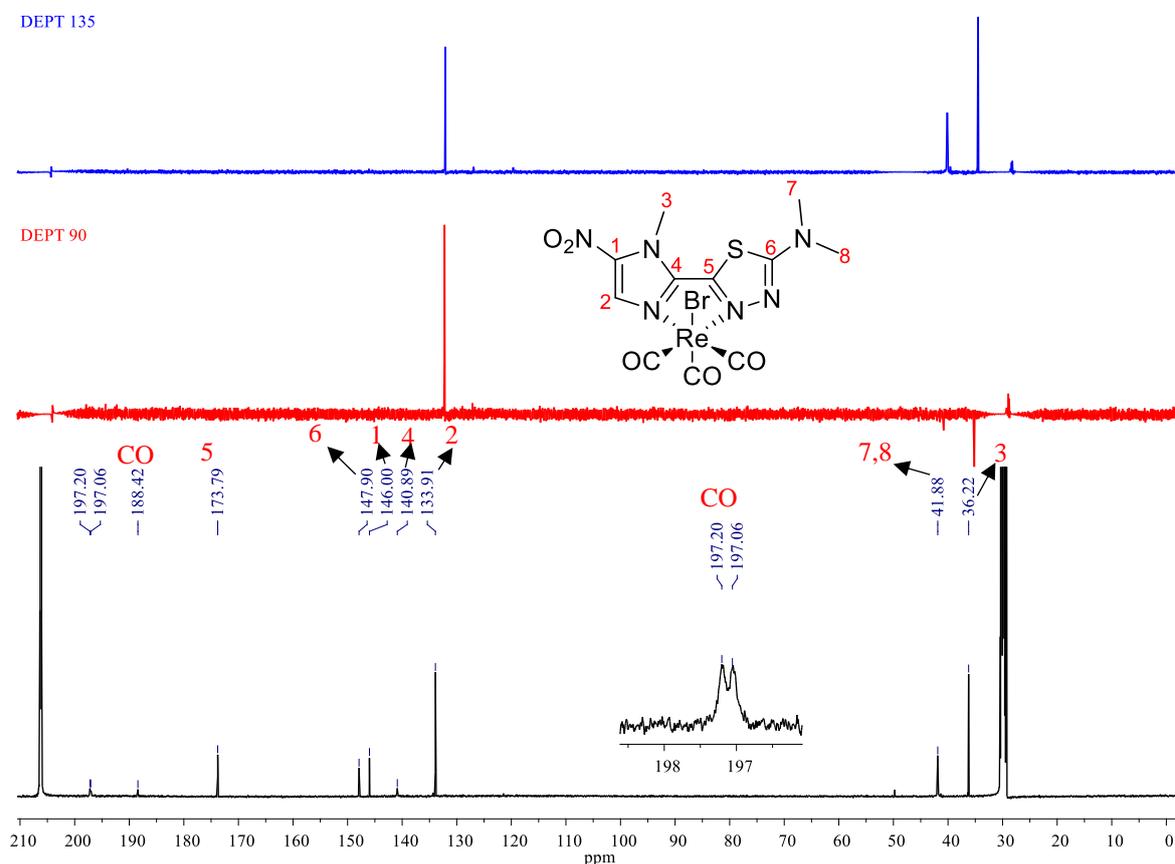
Fonte: Dados da pesquisa.

Os espectros de ^{13}C RMN dos complexos **4**, **5** e **6** (**Figura 34**, **Figuras 13A** e **Figuras 15A**, **Apêndice A**), as atribuições dos sinais dos ^{13}C e das técnicas de DEPT aplicadas estão organizados na **Tabela 8**. Os sinais dos carbonos atribuídos ao ligante $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ são encontrados em duas partes do espectro sendo a primeira região entre 30 e 40 ppm e a segunda entre 130 e 170 ppm. O sinal da metila do anel imidazol **C3** pode ser encontrado em aproximadamente 36 ppm e os sinais das metilas **C7** e **C8** do nitrogênio da amina NR_2 ligada ao anel tiadiazol

RESULTADOS E DISCUSSÕES

dos complexos **5** e **6** são encontrados em 32,8 e 41,9 ppm, respectivamente. As técnicas de DEPT 90 e 135 corroboraram com carbonos metálicos nos três espectros. Os sinais em torno de 134 ppm foram atribuídos ao carbono aromático C2H. Os carbonos quaternários do ligante foram observados na região de aromáticos entre 140 e 170 ppm. A presença do fragmento $-\{Re^I CO_3\}$ é evidenciada devido à presença dos sinais em torno de 190 e 200 ppm atribuídos aos carbonos dos ligantes monóxidos CO e estão em acordo com compostos similares encontrados na literatura (GÓMEZ et al., 2020; GRIFFITHS et al., 2011).

Figura 34– Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do complexo $[ReBr(CO)_3L^{Me,Me}]$ em acetona- d_6 (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 8 - Deslocamento químico teórico e experimental dos espectros de ^{13}C RMN e resultados dos experimentos de DEPT dos compostos em acetona- d_6 .

L^{H,H}
Acetona-
 d_6

	δ/ppm	δ/ppm	DEPT 135	DEPT 90	δ/ppm	DEPT 135	DEPT 90	δ/ppm	DEPT 135	DEPT 90
1	142,8	147,7	-	-	146,3	-	-	146,0	-	-
2	133,4	133,9	+	+	133,9	+	+	133,8	+	+
3	35,7	36,4	+	-	36,2	+	-	36,2	+	-
4	141,5	141,0	-	-	140,9	-	-	140,9	-	-
5	170,8	172,1	+	+	147,9	+	+	173,8	+	+
6	150,7	147,9	-	-	172,9	-	-	147,9	-	-
7	-	-	-	-	32,8	+	-	41,9	+	-
8	-	-	-	-	-	-	-	41,9	+	-
CO	-	197,3	-	-	188,4	-	-	188,4	-	-
CO	-	188,5	-	-	197,1	-	-	197,1	-	-
								/197,2		

Fonte: Dados da Pesquisa.

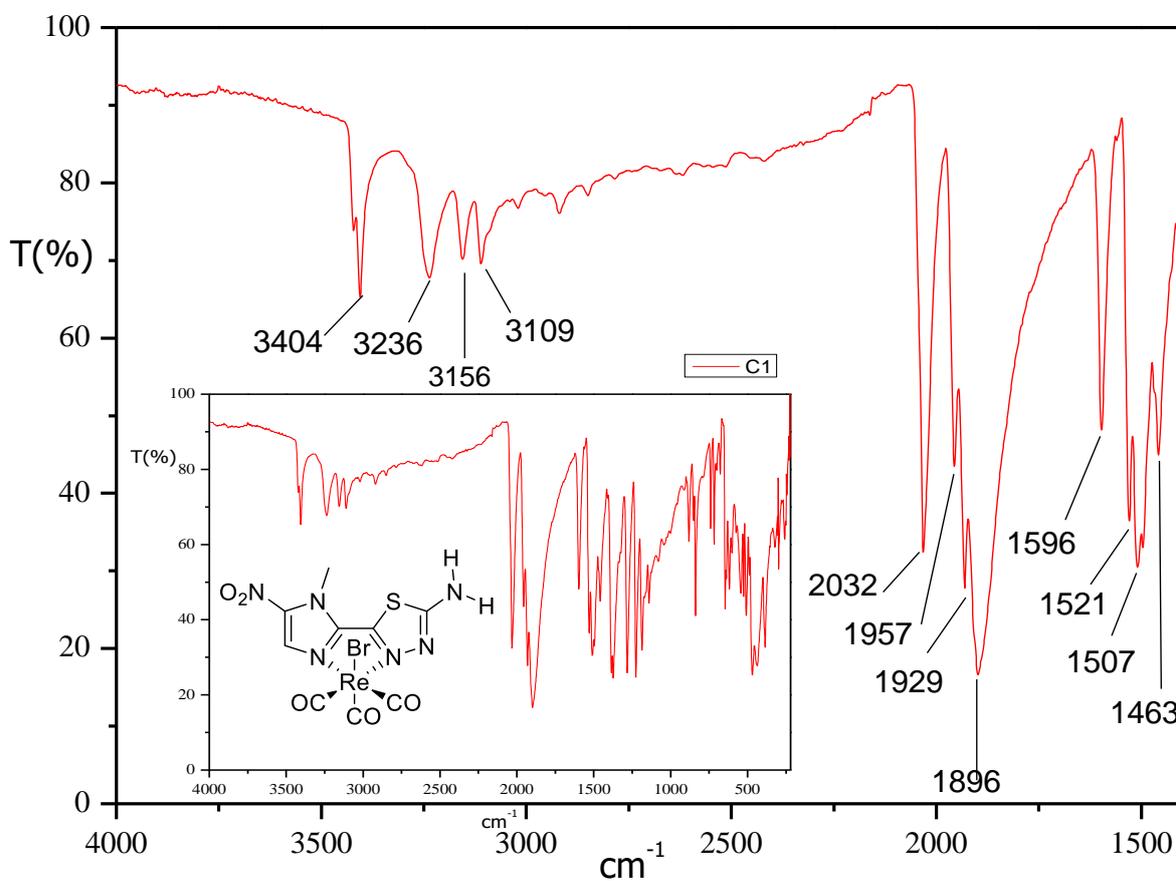
Os dados referentes as principais bandas do estudo no estado sólido por espectroscopia vibracional dos complexos **4-6** foram organizados na **Tabela 9**, assim como os espectros podem ser observados nas **Figuras 35** e **Figuras B3** e **B4** (**Apêndice B**). Visando compreender melhor o espectro experimental, também foi determinado o espectro teórico do complexo **4** a partir da sua estrutura otimizada (discussão será feita mais adiante). A presença dos ligantes **L^{R1,R2}** foi confirmada na esfera de coordenação dos complexos uma vez que as bandas presentes nos espectros de IV dos ligantes livres também são observadas no espectros dos complexos. As bandas sobrepostas $\delta(\text{C-N})+\nu(\text{C=N})$ nos complexos **4** e **5** são encontradas como uma banda fina e intensa em 1597 e 1556 cm^{-1} , respectivamente, e em ambos os casos a ligação C=N enfraquece após coordenação já que se desloca para menor número de onda em comparação a mesma banda do agente complexante correspondente. Por outro lado, no complexo **6** ocorre o fortalecimento desta banda, havendo um deslocamento para maiores números de onda em comparação com o ligante livre **L^{Me,Me}**. A presença do grupo metil na amina torna o par de elétrons mais disponível a ressonância do anel 1,3,4-tiadiazol, removendo o caráter *p* e, conseqüentemente, aumentando o caráter *s* da ligação σ na ligação dupla C=N assim fortalecendo a ressonância com o anel tiadiazol (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2001). A banda relativa ao $\nu(\text{C=N})+(\text{C=C})$ sofre pouca influência da coordenação ao fragmento $-\{\text{Re}^{\text{I}}(\text{CO})_3\}$, visto que houve apenas um pequeno deslocamento

RESULTADOS E DISCUSSÕES

destas bandas em comparação aos ligantes livres. Ademais, a coordenação do ligante ao centro metálico de Re^{I} também parece causar efeito expressivo nas bandas de estiramento referentes ao grupo nitro $\nu(\text{N-O})_{\text{as}}$ e $\nu(\text{N-O})_{\text{s}}$ uma vez que não sofrem deslocamentos significativos quando comparadas as mesmas ligações nos ligantes livres. A presença do centro *fac*- $\{\text{Re}(\text{CO})_3\}$ é confirmada devido à presença das bandas atribuídas ao ligante carbonil na faixa de 2030 a 1900 cm^{-1} , caracterizando os três ligantes CO faciais nos complexos sintetizados (**Tabela 9**). No espectro teórico do complexo **4** são previstas três bandas, uma referente ao $\nu(\text{C}\equiv\text{O})_{\text{s}}$ simétrico, em 2073 cm^{-1} , e duas referentes aos estiramentos assimétricos $\nu(\text{C}\equiv\text{O})_{\text{as}}$, em 1989 e 1956 cm^{-1} . No espectro do precursor metálico $(\text{Et}_4\text{N})_2[\text{ReBr}_3\text{CO}_3]$ a absorção do estiramento $\nu(\text{CO})$ ocorre em 1996 e 1847 cm^{-1} . Após a coordenação dos derivados do megazol, há um fortalecimento destas ligações visto que as vibrações $\nu(\text{CO})$ absorvem em maior número de onda. Os dados obtidos são semelhantes ao observado para o complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{bipy})]$ (GRIFFITHS et al., 2011). As bandas $\nu(\text{ReN}_{\text{imidazol}})$ e $\nu(\text{ReN}_{\text{tiadiazol}})$ foram observadas em 822 e 854 cm^{-1} no espectro teórico do complexo **4**, enquanto no espectro experimental foram tentativamente definidas em 838 e 850 cm^{-1} , respectivamente. Outras bandas interessantes para análise foram observadas no espectro teórico do complexo **4**, como as bandas $\rho_t(\text{Re-CO})$, $\nu(\text{ReC})$ e $\nu(\text{ReBr})$ encontradas respectivamente em 533, 495 e 187 cm^{-1} , entretanto, se localizam fora da janela experimental do equipamento utilizado.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 35 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ (4) em ATR.



Fonte: Dados da pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 9 – Bandas de absorção na região do infravermelho selecionadas para os ligantes livres $L^{R1,R2}$ e os complexos $[ReBrL^{H,H}(CO)_3] \cdot C_3H_6O$ (**4**, experimental e teórico), $[ReBr(CO)_3L^{Me,H}]$ (**5**) e $[ReBr(CO)_3L^{Me,Me}]$ (**6**).

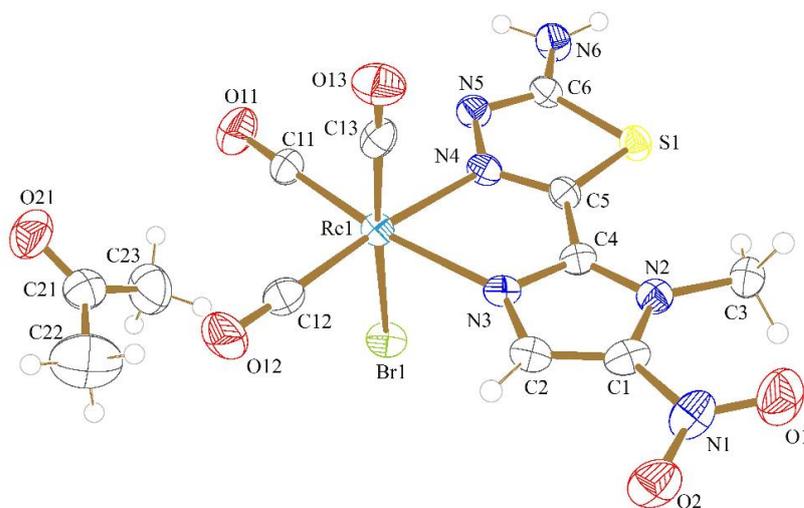
	$\nu(N-H)$	$\nu(C\equiv O)$	$\delta(C-N)+\nu(C-NH_2)$	$\nu(C=N)+\nu(C=C)$	$\nu(N-O)_{as}$	$\nu(N-O)_s$	$\nu(C-S)$
$L^{H,H}$ teórico	3810 _s 3657 _s	-	1675 _s	1573 _s	1494 _s	1392 _s	1343 _s
$L^{H,H}$	3428 _w 3280 _w	-	1632 _m	1518 _m	1494 _s	1365 _s	1336 _s
4	3407 _m 3236 _m	2032 _s 1929 _s 1896 _s	1597 _s	1528 _s	1497 _s	1384 _s	1282 _s
4 teórico	3793 _m 3640 _m	2073 _s 1989 _s , 1956 _s	1682	1627 1605	1500	1309	1334
$L^{H,Me}$	3193 _w	- 2033 _s	1583 _m	1536 _s	1523 _s	1362 _s	1332 _s
5	3216 _m	1931 _s 1911 _s	1556 _s	1529 _s	1503 _s	1372 _s	1280 _s
$L^{Me,Me}$	-	- 2024 _s	1555 _s	1532 _s	1513 _s	1397 _s	1362 _s
6	-	1922 _s 1886 _s	1577 _s	1530 _s	1531 _s	1374 _s	1309 _m

Fonte: Dados das Pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os complexos **4** e **6** foram recristalizados e cristais adequados para o estudo por cristalografia de raios X em monocristal foram obtidos (Dados experimentais ver **Tabela E3, Apêndice E**). Os complexos se cristalizam em sistema cristalino ortorrômbico e grupos espaciais $Pca2_1$ (**5**) e $Pbca$ (**6**). As **Figuras 36** e **37** mostram representações das elipsoides para os dois complexos. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados são apresentados na **Tabela 10**. A coordenação em torno do centro de Re^I é descrita como octaédrica distorcida com os três ligantes carbonil em posição facial, sendo as posições da face oposta do octaedro ocupadas pelo ligante bromido e pelos átomos N3 e N4 dos ligantes $L^{H,H}$ e $L^{Me,Me}$. A distorção do octaedro é evidenciada através dos ângulos $C13-Re1-Br$, $C11-Re1-N3$ e $C12-Re1-N4$, com um desvio do ângulo ideal de 180° na faixa de $4-10^\circ$. Além disso, o átomo de Re e os demais átomos ($X-Re1-Y$, $X = N$ e C e $Y = N, C$ e Br) deveriam formar um ângulo de 90° , entretanto, nota-se distorções em tais ângulos, sendo a mais pronunciada no ângulo de ligação $N4-Re1-N3$ ($\sim 74^\circ$) presente no anel quelato. Esta distorção é causada pela restrição causada pelo ângulo de mordida do anel quelato de cinco membros formado com os ligantes derivados do megazol. A ligação $Re1-Br1$ apresenta comprimento em torno de $2,60 \text{ \AA}$. Os ligantes atuam em modo NN -bidentado neutro, sendo os comprimentos das ligações pouco afetados com a coordenação ao centro de Re^I . Os comprimentos das ligações CN, na faixa de $1,30$ e $1,37 \text{ \AA}$, estão coerentes com o esperado para ligações duplas $C=N$ mesmo para a ligação fora dos anéis $C6-N6$.

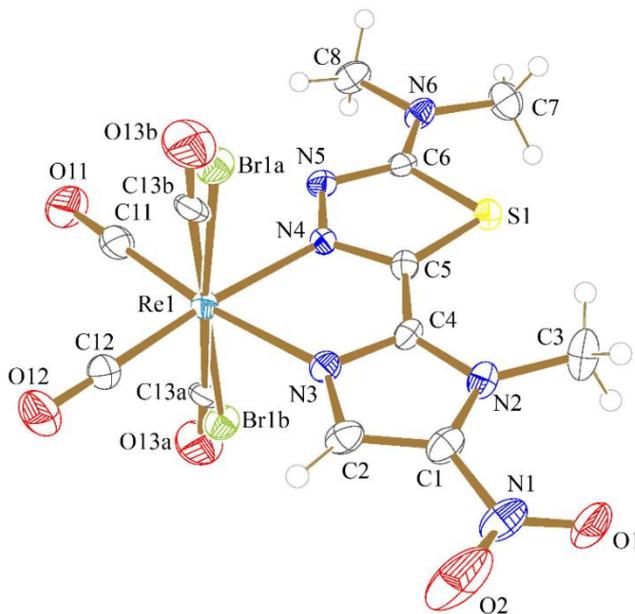
Figura 36 – Figura ORTEP do complexo **4** com elipsoides termais com 50% de probabilidade. O complexo apresenta uma molécula de acetona em sua unidade assimétrica.



Fonte: Dados da Pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 37 – Figura ORTEP do complexo **6** com elipsoides termais com 50 % de probabilidade com desordem nos átomos Br, C13, O13 (Parte A com ocupação de 83,6 % e parte B 16,4 %).



Fonte: Dados da Pesquisa.

Tabela 10 – Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados para os complexos **4** e **6**.

<i>Comprimentos de Ligação</i>					
	4	6		4	6
N1–O1	1,221(9)	1,212(6)	N3–Re1	2,177(5)	2,180(4)
N1–O2	1,234(9)	1,212(6)	N4–Re1	2,168(5)	2,174(4)
N3–C2	1,303(8)	1,357(6)	Br1–Re1	2,6274(8)	2,6055(7) /2,549(4)
N3–C4	1,371(8)	1,344(6)	Re1–C13	1,936(7)	1,969(7) /1,969(9)
C4–C5	1,447(8)	1,436(7)	Re1–C11	1,927(7)	1,914(6)
N4–N5	1,369(8)	1,351(5)	Re1–C12	1,930(6)	1,917(5)
C5–N4	1,303(8)	1,326(6)			
<i>Ângulos de Ligação</i>					
	4	6		4	6
Re1–N3–C4	115,9(4)	115,3(3)	N3–Re1–Br	87,13(12)	86,19(11) / 88,11(15)
N4–Re1–N3	73,76(18)	74,33(15)	N4–Re1–Br1	83,37(15)	83,44(10) / 87,61(15)
C11–Re1–C12	89,3(3)	88,9(2)	C13–Re1–N4	93,5(2)	91,9(2) /92,8(10)
C11–Re1–N3	174,5(2)	173,56(19)	C13–Re1–N3	90,4(2)	93,6(2) /90,4(9)
C11–Re1–N4	101,3(2)	99,2(2)	C12–Re1–Br1	90,9(2)	92,13(16) /92,44(19)
C12–Re1–N4	95,6(3)	97,5(2)	C12–Re1–C13	91,1(3)	87,4(2) /89,2(9)
C12–Re1–N3	169,3(3)	171,8(2)	C13–Re1–Br1	176,41(19)	175,2(2) /178,3(9)
			C11–Re1–Br1	94,1(2)	96,22(16) / 92,3(2)
			C11–Re1–C13	88,9(3)	88,6(3) /87,1(10)

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os comprimentos das ligações CO ficam na faixa de 1,097(9)-1,140(9) Å, sendo que o CO *trans* ao ligante bromido possui a ligação mais curta. Nos ligantes do tipo carbonil ocorre o fenômeno da retrodoação quando coordenados onde a densidade eletrônica do carbono é doada para um orbital vazio do centro metálico formando uma ligação σ e, simultaneamente, o metal doa elétrons para um orbital p^* do carbonil através de uma ligação π (HOUSECROFT; SHARPE, 2005). O comportamento conhecido como um efeito sinérgico, tem como consequência que a ocupação de elétrons em um orbital *anti*-ligante enfraquece a ligação C≡O. Visto que a ligação C13-O13 é a mais curta entre os ligantes C≡O, verificamos que a menor retrodoação ocorre no eixo axial devido a presença do ligante bromido na posição *trans*, fato este inesperado.

A elucidação estrutural dos agentes complexantes, como também dos complexos de Re, foi uma etapa precedente para à marcação do megazol e derivados com ^{99m}Tc . Os complexos de Re foram empregados como padrões de referência na caracterização dos complexos de ^{99m}Tc , tópico discutido a seguir.

4.3 MARCAÇÃO DO MEGAZOL COM ^{99m}Tc

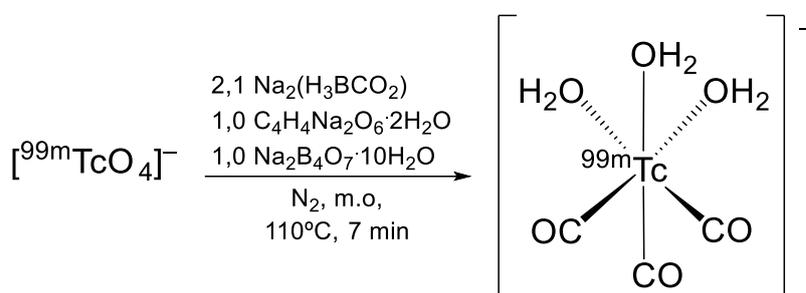
Uma vez que as caracterizações dos complexos de Re foram realizadas com sucesso, a próxima etapa foi a marcação dos derivados do megazol com ^{99m}Tc . A primeira etapa de todas as reações com ^{99m}Tc é a preparação do complexo precursor, nesse caso, o $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$. O kit é preparado em uma única etapa, partindo-se do $[\text{TcO}_4]^-$, no qual o boranocarbonato atua tanto como agente redutor quanto como fonte de monóxido de carbono em meio fisiológico (ALBERTO et al., 2001).

A obtenção do precursor ocorre com a adição de um equivalente de tartarato de sódio diidratado e um equivalente sódio tetraborato decahidratado e aproximadamente 2 equivalentes de sódio boranocarbonato em frasco biotage de 2 mL, o qual foi selado e colocado em fluxo de N_2 por 10 minutos (**Esquema 8**). Em seguida, a solução de $[\text{TcO}_4]^-$ foi adicionada ao frasco, e a solução reacional aquecida por radiação micro-ondas por 7

RESULTADOS E DISCUSSÕES

minutos. Após a reação, o excesso de sódio boranocarbonato é neutralizado com HCl até o pH desejável. Para avaliar a pureza e caracterizar os produtos formados, as reações foram acompanhadas por HPLC. O $[\text{TcO}_4]^-$ apresentou tempo de retenção de 4,05 minutos (**Figura 1F, Apêndice F**), enquanto o complexo $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ teve tempo de retenção de 6,18 minutos (**Figura 2F, Apêndice F**).

Esquema 8 – síntese do precursor $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$.

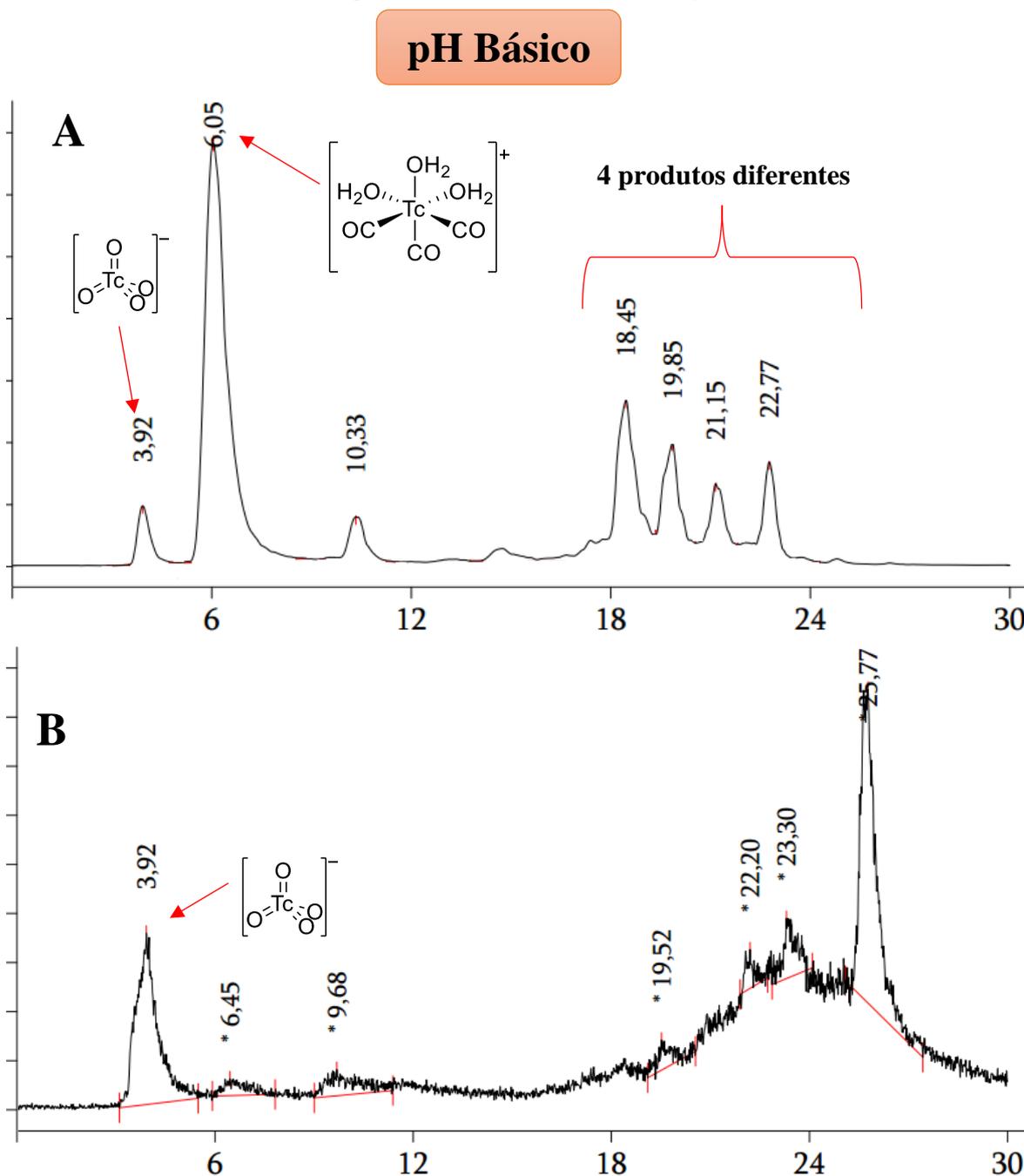


Fonte: A Autora.

A próxima etapa das reações foi a marcação dos ligantes com o fragmento $\{\text{}^{99\text{m}}\text{TcCO}_3\}^+$. As reações foram realizadas variando a temperatura, tempo de reação, concentração da solução ligante e o pH da solução reacional. Assim, as primeiras reações foram realizadas em um frasco biotage de 2 mL contendo 0,9 mL da solução de $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$, ao qual foi adicionado 0,5 mL do ligante $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ (1 mM em EtOH) e a solução aquecida por micro-ondas à 100 °C por 1 hora. As reações foram caracterizadas por radio-HPLC, sendo observado nos cromatogramas a formação de vários produtos com as reações em pH básico (**Figura 38**). Uma vez que a química com o isótopo metaestável $^{99\text{m}}\text{Tc}$ não é convencional, o ideal é empregar reações com um único produto em etapa única. Logo, foram estudadas novas reações alterando o pH da solução reacional. Apesar desses detalhes, essas reações mostraram que o megazol e seus derivados podem ser marcados.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 38 – radio-Cromatogramas das soluções das reações em pH Básico com (A) $L^{H,H}$ e (B) $L^{Me,Me}$. Foram observados mais de um produto oriundos das reações do $[^{99m}Tc(OH)_2_3(CO)_3]^+$ com os ligantes livres. Detector usado: γ .



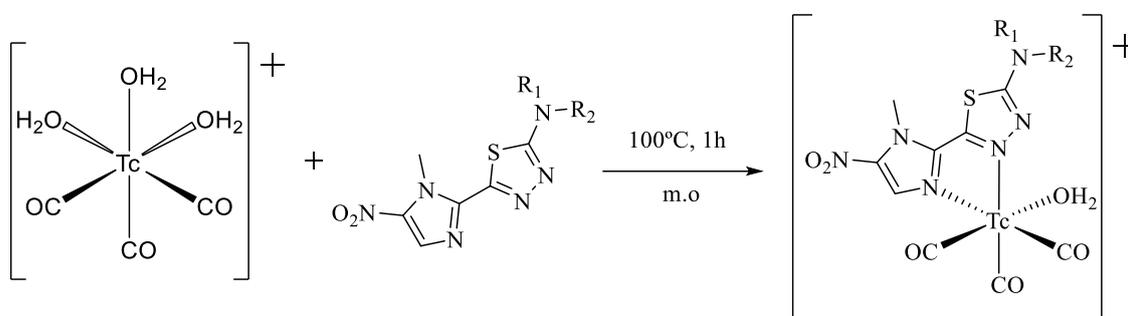
Fonte: Dados da pesquisa.

As soluções de $[^{99m}Tc(OH)_2_3(CO)_3]^+$ então foram neutralizadas usando ácido clorídrico concentrado até o boranocarbonato em excesso presente na solução reacional ser consumido para se chegar ao pH ideal para a reação com os ligantes $L^{R1,R2}$. Logo, foram obtidas as condições ideais para as reações, sendo estas as seguintes: 0,9 mL do complexo $[^{99m}Tc(OH)_2_3(CO)_3]^+$ e 0,5 mL do agente complexante (1 mM em EtOH) à 100 °C por 1 hora

RESULTADOS E DISCUSSÕES

(Esquema 9). Além disso, o aquecimento com agitação e o aquecimento por radiação micro-ondas não resultam em produtos diferentes para todos os casos. No entanto, devido a facilidade de vedação dos frascos do tipo biotage como também o volume de solução reacional se manter estável, o aquecimento por radiação micro-ondas foi empregado nos estudos. A proposta do produto formado é um complexo octaédrico catiônico de tecnécio no qual ligante do tipo megazol atua de modo bidentado com um ligante aqua completando uma face do octaedro e outros três ligantes carbonil ocupam a outra face.

Esquema 9 – reação de marcação dos ligantes megazol e derivados.



Reações:

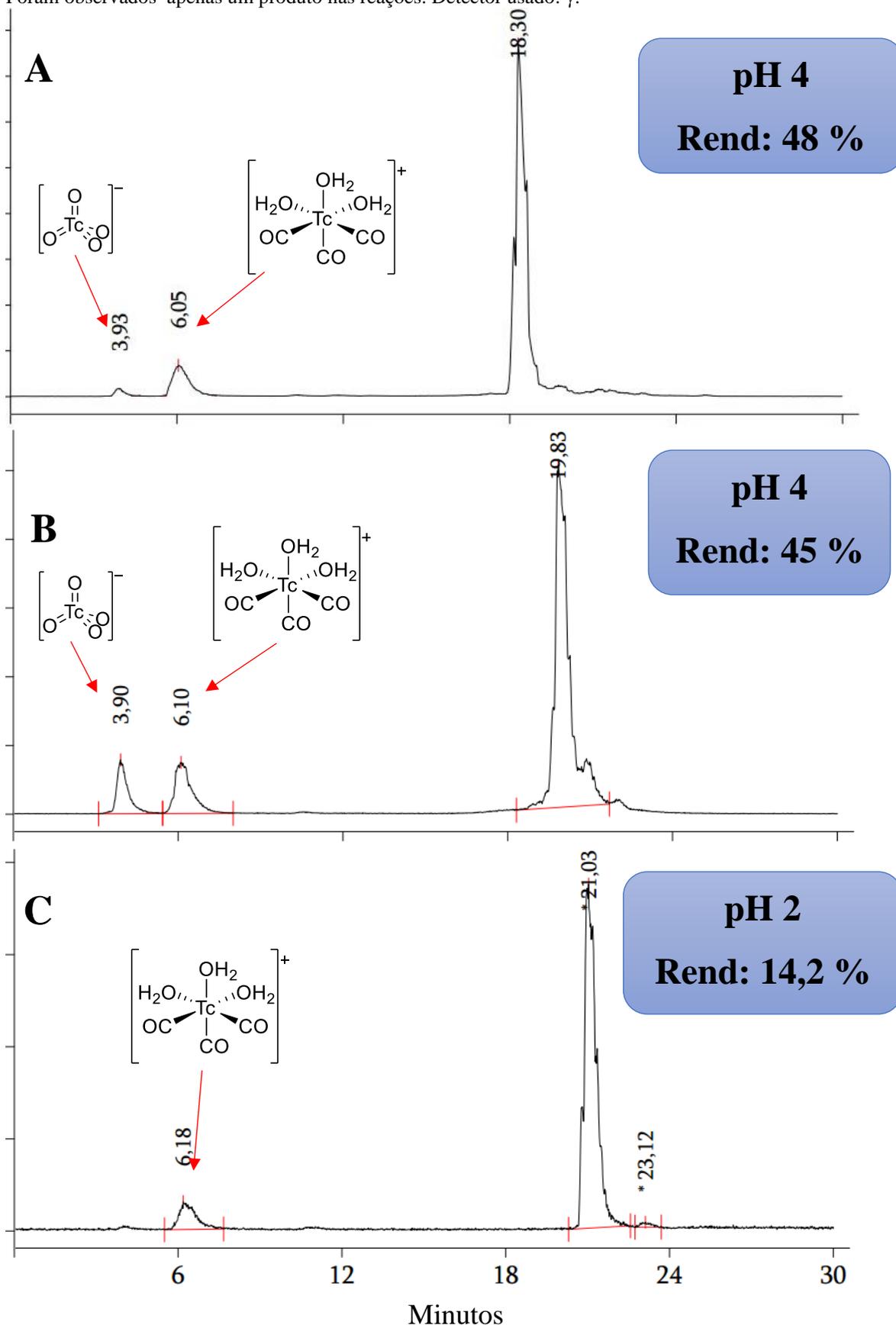
1. 0,9 mL $[\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ pH 4, 0,5 mL $\text{L}^{\text{H,H}}$ (1 mM)
2. 0,9 mL $[\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ pH 4, 0,5 mL $\text{L}^{\text{H,Me}}$ (1 mM)
3. 0,9 mL $[\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ pH 2, 0,5 mL $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ (1 mM)

Fonte: A Autora.

Os cromatogramas das reações mostraram a importância do pH da solução para a formação de um único produto de reação (**Figura 39**). Provavelmente, o grupo NR_1R_2 nos agentes complexantes $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ é protonado em meio ácido, bloqueando a coordenação do grupo amino ao fragmento $-\{\text{TcCO}_3\}^+$ e favorecendo a formação de um único produto. Por outro lado, em pH básico o par de elétrons do nitrogênio do grupo NR_1R_2 fica disponível para se coordenar ao Tc substituindo a molécula de H_2O , por exemplo. A possibilidade de formação do anel quelato é indicada devido a estabilidade termodinâmica proporcionados pelo ligante coordenados via átomos *N*-piridina nos anéis imidazol e tiadiazol. Os rendimentos das reações com os ligantes $\text{L}^{\text{H,H}}$, $\text{L}^{\text{H,Me}}$ e $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ de acordo com o radio-HPLC foram de 45, 48 e 14 %, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 39 – radio-cromatogramas das soluções reacionais em pH ácido com (A) $L^{H,H}$; (B) $L^{H,Me}$ e (C) $L^{Me,Me}$. Foram observados apenas um produto nas reações. Detector usado: γ .

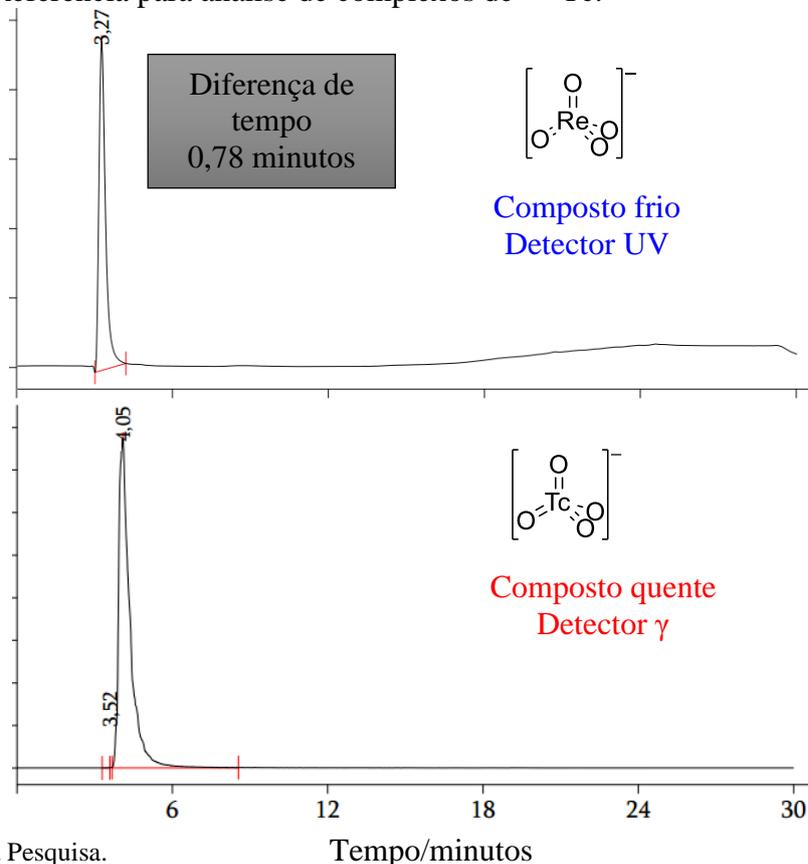


Fonte: Dados da Pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os cromatogramas dos complexos formados (**Figura 39**) indicaram o rendimento em torno de 47 % das reações de $[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ com os agentes complexantes $\text{L}^{\text{H,H}}$ e $\text{L}^{\text{H,Me}}$. As reações com o $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ apresentaram rendimento baixo (14 %) devido a baixa solubilidade do composto orgânico em água, como pode ser demonstrado pela sua lipofilicidade (t.r 22,07 minutos, **Figura 5F**, **Apêndice F**). As reações ^{99m}Tc são aplicadas para fins medicinais e ocorrem em meio aquoso, portanto, não é interessante trocar o solvente da reação. Para a caracterização completa, foram escolhidos, exemplarmente, o ligante $\text{L}^{\text{H,H}}$ (t.r 18,10 minutos, **Figura 3F**, **Apêndice F**) e seu respectivo complexo (t.r. 18,30 minutos, **Figura 2A**). A química não convencional dos complexos de ^{99m}Tc envolve a técnica de co-injeção para a caracterização dos complexos. Para o radio-HPLC, método usado nesses estudos, foi utilizado como referência o composto frio de $\text{Na}[\text{ReO}_4]$ misturado à solução salina de $\text{Na}[^{99m}\text{TcO}_4]$ (**Figura 40**). A solução é injetada no radio-HPLC e, após a solução passar pela coluna do equipamento, sua fase móvel passa em seguida pelo detector UV e por último pelo detector γ . A diferença nos tempos de retenções entre o composto frio e o composto quente foi usada como referência para caracterizar os complexos de ^{99m}Tc no equipamento de HPLC utilizado para as análises.

Figura 40 – Referência para análise de complexos de ^{99m}Tc .

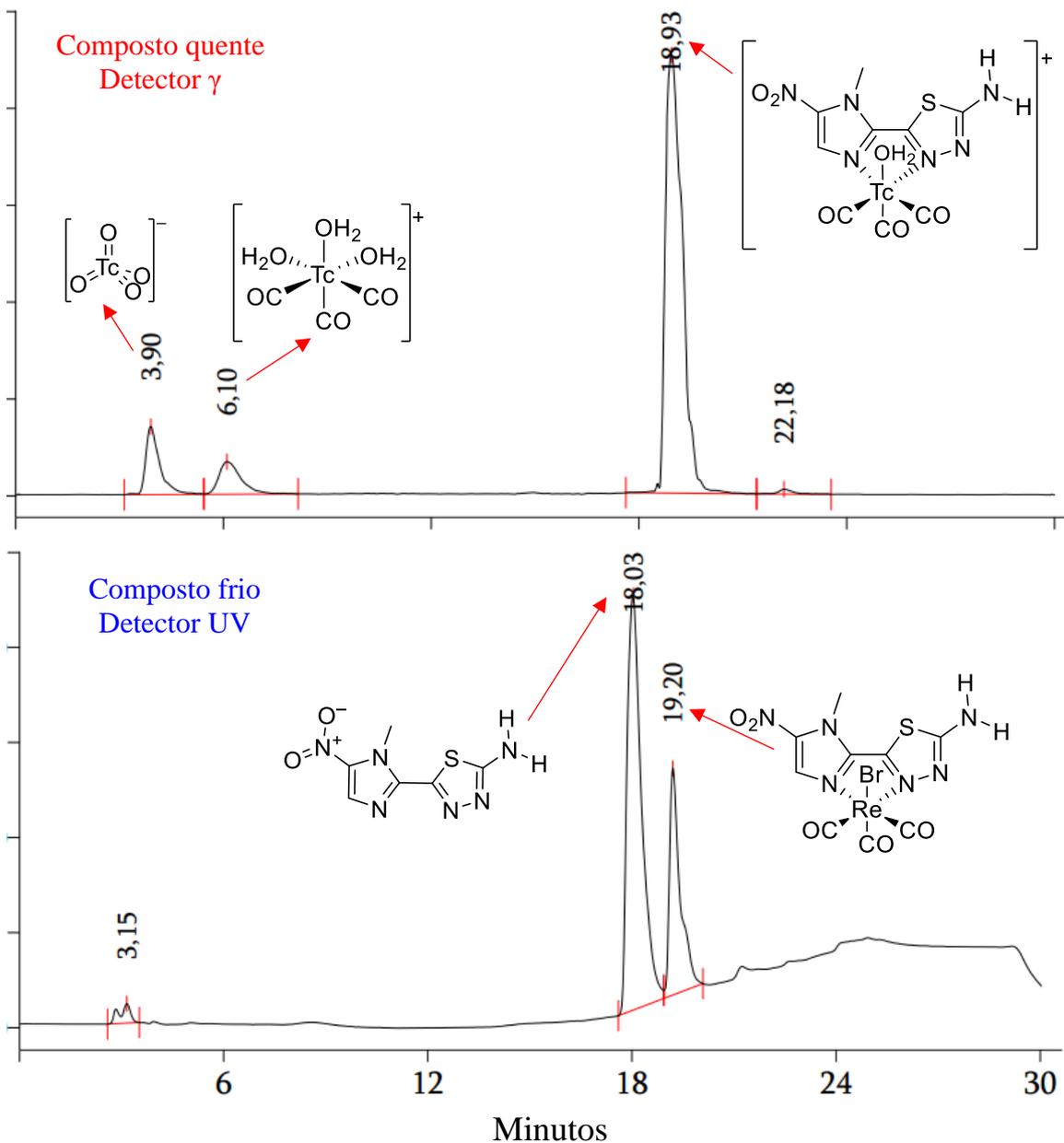


Fonte: Dados da Pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A otimização da reação chegou no tempo ideal de 1 hora de reação, sob radiação microondas. A co-injeção foi empregada para caracterização do complexo formado (Figura 41).

Figura 41 – radio-cromatogramas da co-injeção da solução com o composto quente ($[^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]^+$) e os compostos frios ($\text{L}^{\text{H,H}}$ e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$).



Fonte: Dados da Pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

No cromatograma gerado pelo detector γ foi observado um pico com tempo de retenção de 18,93 minutos atribuído ao produto da reação. No cromatograma gerado pelo detector UV foi observado um pico oriundo do ligante da reação $L^{H,H}$ e do produto frio de referência, $[ReBr(CO)_3L^{H,H}]$, com tempo de retenção de 18,03 minutos e 19,20 minutos, respectivamente. No entanto, a diferença no tempo de retenção do complexo quente e o complexo referência frio foi de 0,27 minutos, não sendo afirmar que o complexo de rênio usado como referência é homólogo ao novo complexo de ^{99m}Tc . Entretanto, este fato já era esperado uma vez que o alto tempo de retenção do complexo de Re quando comparado ao tempo de retenção do complexo de Tc pode ser explicado pela diferença de lipofilicidade entre um complexo neutro e um catiônico, respectivamente. Finalmente, é possível afirmar a etapa de marcação do megazol com ^{99m}Tc foi realizada com sucesso, sendo a etapa de estudo *in vivo* o próximo passo para tentar obter um dispositivo teranóstico.

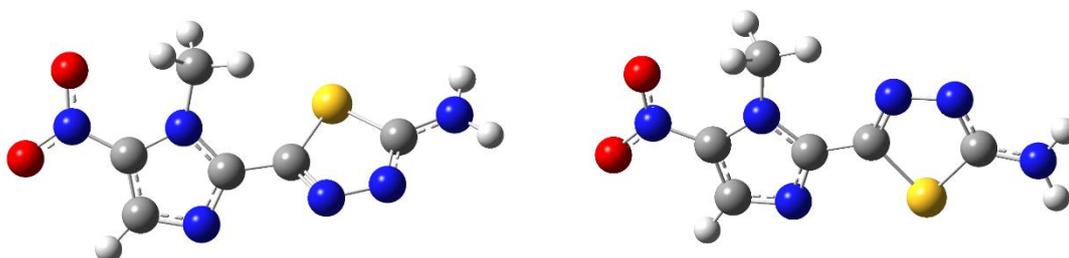
Buscando aprofundar o conhecimento sobre as propriedades do megazol e dos seus complexos de Re e Tc, foram empregados cálculos por DFT. A seguir, são apresentados os dados computacionais envolvendo os possíveis modos de coordenação do megazol, forças de ligações, parâmetros termodinâmicos relativos à formação dos complexos e hidrólise, bem como um estudo das transições eletrônicas encontradas nos mesmos. As discussões foram baseadas e comparadas com os dados experimentais discutidos nos itens 4.1 a 4.3.

4.4 CÁLCULOS POR DFT

Buscando entender a estabilidade das espécies formadas bem como as transições envolvidas nos espectros de UV-vis, as estruturas dos compostos derivados do megazol foram otimizadas e analisadas usando métodos DFT. A primeira análise foi feita com a estrutura do próprio megazol. Para início dos cálculos foram fornecidas duas estruturas diferentes, na forma A, com nitrogênio do anel tiadiazol em posição *cis* ao nitrogênio do N1 do anel imidazólico (**Figura 42**, à esquerda), e forma B, com enxofre do anel tiadiazol em posição *cis* ao nitrogênio do N1 do anel imidazólico com (**Figura 42**, à direita). Entretanto, após otimização, ambas convergiram para a forma B, sendo esta última, portanto, a forma mais estável para o megazol livre. O espectro vibracional teórico da estrutura otimizada pode ser observado na **Figura D1 (Apêndice D)**, enquanto sua discussão já foi apresentada acima (item 4.2).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 42 -. Estrutura de entrada para os cálculos DFT (forma A, à esquerda) e estrutura otimizada do megazol (Forma B, à direita).

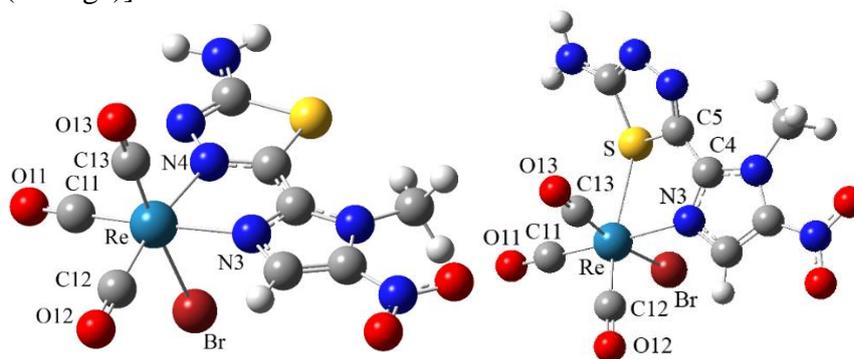


Fonte: dados da pesquisa.

As estruturas dos complexos foram otimizadas em seguida, baseando-se inicialmente na estrutura cristalina do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{H,H}})]$. Considerando a estrutura otimizada do megazol (**Figura 42**), também foi considerada a possibilidade de coordenação através do átomo de enxofre, para a qual o ligante será nomeado daqui por diante como S-mega, enquanto o ligante coordenado pelo nitrogênio será nomeado como N-mega. Em ambos os casos, as estruturas otimizadas não apresentaram frequências vibracionais imaginárias, sugerindo que a energia se encontra em um mínimo absoluto. As estruturas otimizadas podem ser observadas na **Figura 43**. Comprimentos e ângulos de ligação selecionados são apresentados na **Tabela 11** em comparação com os valores experimentais. Os valores calculados para os parâmetros geométricos para $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ sugerem boa concordância com a estrutura elucidada por difração de raios X, como mostrado pelos desvios calculados, demonstrando que a estrutura calculada apresenta alta similaridade com a estrutura cristalina. Por outro lado, a estrutura do $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]$ nitidamente apresenta um alto grau de distorção causada pela coordenação através do átomo de enxofre como pode ser observado através do ângulo de torção de $-34,18^\circ$ para N3-C4-C5-S, enquanto no $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ os anéis do ligante se encontram no mesmo plano. O espectro vibracional da espécie $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]$ (**Figura D3, Apêndice D**) apresenta pouca diferença com relação ao do $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ (**Figura D2, Apêndice D**), cuja discussão já foi feita anteriormente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

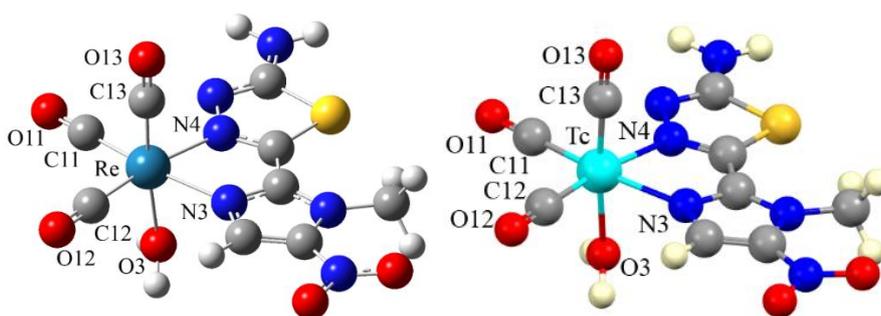
Figura 43. Estruturas otimizadas do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ e da espécie $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]$.



Fonte: dados da pesquisa.

Considerando que as análises por espectrometria de massas (**Figura 31**) indicaram a quebra da ligação Re-Br bem como a instabilidade do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{H,H}})]$, decidiu-se também verificar a possibilidade de formação do produto da hidrólise $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$, cuja estrutura otimizada é apresentada na **Figura 44a**. Além disso, foi também otimizada a estrutura do produto da reação com $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ e o megazol, para o qual a única possibilidade é a formação do aqua complexo $[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ (**Figura 44b**). Considerando-se a formação de produtos cinéticos, especialmente na reação com $[\text{}^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$, foi analisada também as estruturas das espécies coordenadas em modo *NS*-doador. A **Tabela 11** apresenta os dados de comprimentos e ângulos de ligação. As estruturas das espécies de Tc^{I} são análogas às de Re^{I} . As estruturas otimizadas não apresentaram frequências vibracionais negativas, sugerindo a estabilidade das espécies catiônicas. A **tabela D2** (Apêndice D) contém os dados vibracionais selecionados a partir dos espectros destas espécies (**Figura D4-D7**, Apêndice D).

Figura 44. Estruturas otimizadas das espécies $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ e $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 11. Comparação dos comprimentos e ângulos de ligação selecionados para $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{H,H}})]$, $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]$. Os dados teóricos foram calculados usando o nível teórico M062X/LANL2DZ.

Comprimentos de ligação (Å)	$[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{H,H}})]$	$[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$	$[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]$
Re-Br	2,6274(8)	2.70893	2.65285
Re-C11	1,927(7)	1.91844	1.92102
Re-C12	1,930(6)	1.91338	1.87253
Re-C13	1,936(7)	1.89430	1.90098
Re-N3	2,177(5)	2.18286	2.19939
Re-N4	2,168(5)	2.17855	—
Re-S	—	—	2.88178
Ângulos de ligação (°)			
C13-Re-Br	176,41(19)	175.98598	170.46431
C12-Re-N4/ C12-Re-S	174,7(3)	170.18680	170.29466
C11-Re-N3	169,2(3)	167.35385	172.14170
N3-Re-N4/ N3-Re-S	73,76(18)	73.54211	75.32791
Br-Re-N4/Br-Re-S	83,37(15)	82.01545	78.69838
Br-Re-N3	87,13(12)	80.30128	82.37801

4.4.1 -Parâmetros Termodinâmicos

Partindo do pressuposto de que a água presente no DSMO (solvente usado nos testes biológicos) está em baixa concentração, considerou-se, no processo de hidrólise, a associação de apenas uma molécula de água por íon brometo, concomitante à coordenação de uma molécula de água ao complexo (equação **i**). Assim, considerando os parâmetros termodinâmicos obtidos a partir do cálculo das frequências vibracionais para o complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ e seu produto hidrolisado $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO (solvente, além dos parâmetros termodinâmicos calculados para as demais espécies reagentes (água e brometo hidratado), otimizados em condições semelhantes às adotadas para os complexos, foi possível calcular os parâmetros ΔG e ΔH para o processo de hidratação dos íons brometos a partir da sua substituição por H_2O (ver **Tabela 12**).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 12 - Valores de correção da entalpia termal (H) e da correção da energia livre termal (G) para as espécies envolvidas na reação de hidrólise do $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$.

	$[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$	$[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$	H_2O	$[\text{Br}(\text{H}_2\text{O})]^-$
H	-1152,63	-1215,69	-76,36	-89,67
G	-1152,71	-1215,77	-76,386	-89,70

Considerando a interconversão:



$$\Delta H = -1215,69 + 1152,63 + 2(76,36) - 89,67 = 0,0021 \text{ Hartrees (5,53 kJ/mol)}$$

$$\Delta G = -1215,77 + 1152,71 + 2(76,39) - 89,70 = 0,015 \text{ Hartrees (40,17 kJ/mol)}$$

Portanto, a “hidrólise” do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ ou hidratação do íon brometo não é um processo favorável ($\Delta G = 40,17 \text{ kJ/mol}$ e $\Delta H = 5,53 \text{ kJ/mol}$). Deste modo, a espécie $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$, observada no espectro de massas, deve se formar apenas nas condições do experimento ou em condições de grande excesso de água.

Além da possibilidade de hidrólise, também foi considerada a coordenação através do átomo de enxofre do megazol, como mostrado na **Figura 43**. Logo, considerando-se os valores da energia livre apresentados na **Tabela 13** e a interconversão das espécies $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ e $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$ (equação **ii**), coordenadas através do nitrogênio e enxofre, respectivamente, verificou-se que a espécie onde o ligante atua como *NN*-doador é mais estável que o a espécie com o ligante em modo *NS*-doador.

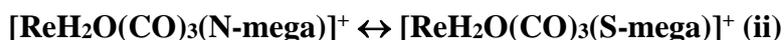


Tabela 13 - valores dos parâmetros termodinâmicos para $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ e $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$.

	$[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$	$[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$
H	-1215,59 Hartree	-1215,54 Hartree
G	-1215,67 Hartree	-1215,62 Hartree
	(-3191739,10 kJ/mol)	(-3191624,43 kJ/mol)

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tomando por base os valores das energias Livres (**Tabela 14**) para as espécies de Tc^I, e considerando a interconversão apresentada na equação iii, verificou-se que a espécie [TcH₂O(CO)₃(N-mega)]⁺ também é mais estável que [TcH₂O(CO)₃(S-mega)]⁺.

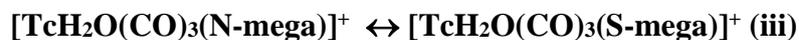


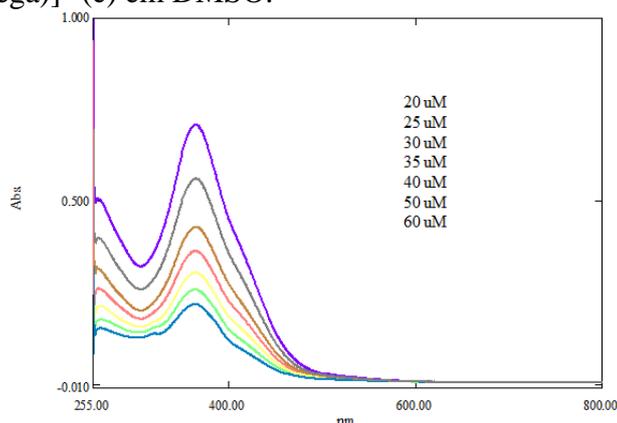
Tabela 14 - valores dos parâmetros termodinâmicos para [TcH₂O(CO)₃(N-mega)]⁺ e [TcH₂O(CO)₃(S-mega)]⁺.

	[TcH ₂ O(CO) ₃ (N-mega)] ⁺	[TcH ₂ O(CO) ₃ (S-mega)] ⁺
H	-1216,56 Hartree	-1216,52 Hartree
G	-1216,64 Hartree (-3194293,11 kJ/mol)	-1216,60 Hartree (-3194193,77 kJ/mol)

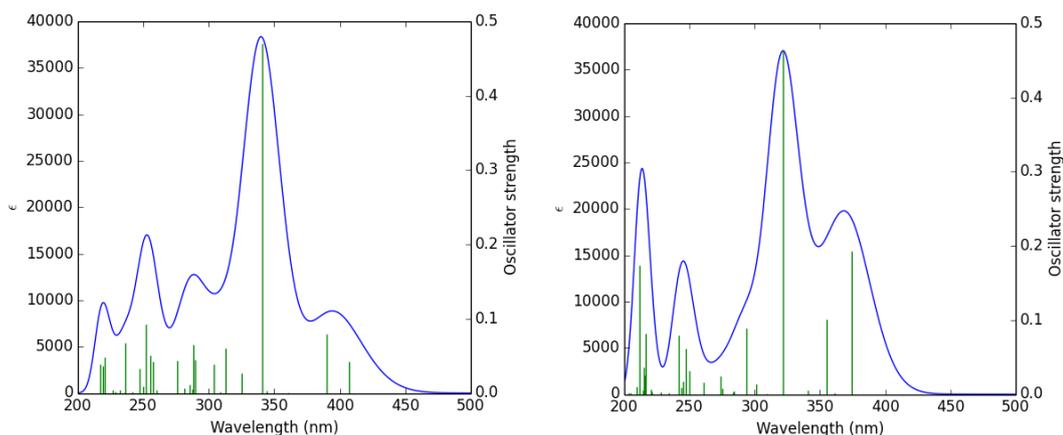
4.4.2 -Análise das Transições Eletrônicas e Orbitais Moleculares Mais Representativos

Visando entender as transições envolvidas nos espectros de UV-vis, os espectros eletrônicos das espécies contendo a forma de coordenação mais estável N-mega foram estimados em DMSO por métodos TD-DFT. Os espectros de UV-vis calculados em DMSO para as espécies [ReBr(CO)₃(N-mega)] (experimental e teórico) e [ReH₂O(CO)₃(N-mega)]⁺ podem ser visualizados na **Figura 45**.

Figura 45. Espectro eletrônico experimental (a) e teórico (b) para [ReBr(CO)₃(N-mega)] e [Re(H₂O)(CO)₃(N-mega)]⁺ (c) em DMSO.



RESULTADOS E DISCUSSÕES



Fonte: Dados da Pesquisa.

As energias relacionadas às transições mais representativas juntamente com os respectivos orbitais moleculares também estão listadas nas **tabelas D3.1-D3.4 e D4.1-D4.3** (Apêndice D). Os espectros de UV calculados, na faixa analisada, sugerem a presença de 5 bandas para os complexos $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ e $[\text{MH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$. Analisando-se o espectro experimental do $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ (**Figura 45**), medido em DMSO na faixa de 255-800 nm, é possível observar que as bandas com máximos em 408, 364 e 320 nm são associadas, respectivamente, com as transições em 407 nm ($f = 0,0425$), 390 nm ($f = 0,0800$), 340 nm ($f = 0,4701$) e 288 nm ($f = 0,065$) encontradas no espectro teórico. Estas transições também podem ser observadas no espectro da espécie hidrolisada $[\text{Re}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$, porém, sofrem deslocamento hipsocrômico, sendo encontradas em 374 nm ($f = 0,1925$), 355 nm ($f=0,1005$), 322 nm ($f = 0,4635$) e 293 nm ($f = 0,0892$), respectivamente. As bandas abaixo desta faixa não puderam ser determinadas experimentalmente por estarem fora da janela experimental.

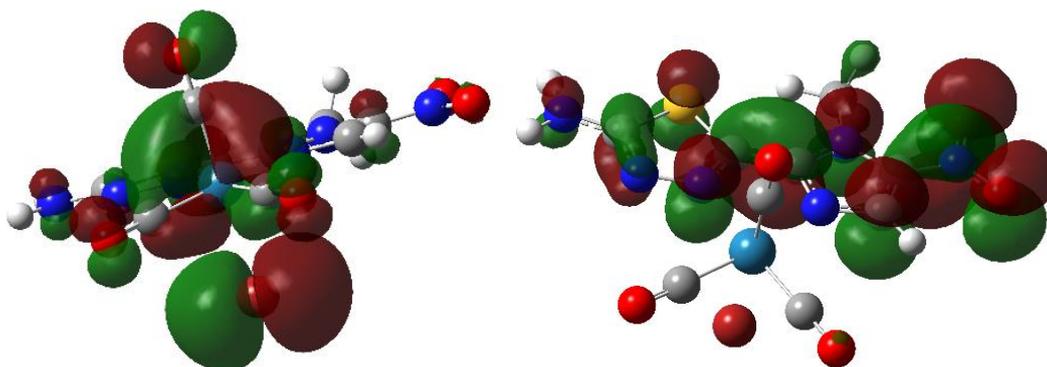
As análises dos orbitais sugerem que as transições envolvidas com essas bandas são preponderantemente do tipo TCML, porém foram observadas transições do tipo TCLL. A transição HOMO-LUMO no estado S1, por exemplo, para $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ (**Figura 46**), além das transições do tipo TCLL, apresenta transições entre o ligante e os coligantes ($\text{TCLL}_{\text{Br} \rightarrow \text{mega}}$ e $\text{TCLL}_{\text{co} \rightarrow \text{mega}}$) do complexo. Além do mais, possivelmente há transições centradas no ligante megazol do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ de caráter intraligante. Esse tipo de comportamento foi descrito em estudos de complexos similares encontrados na literatura (SOUZA, 2020).

Observando-se o orbital HOMO (**Figura 46**), é possível verificar a presença de densidade eletrônica especialmente no eixo Br-Re-CO, mostrando a influência do ligante σ

RESULTADOS E DISCUSSÕES

e π doador Br^- . Entretanto, transições TCML com as absorptividades molares mais altas são observadas no estado S5 tanto para a espécie com Br^- quanto para o produto da hidrólise, a partir do orbital HOMO-3, onde a densidade eletrônica está localizada principalmente nos orbitais d do centro de Re^{I} e em orbitais intraligantes do megazol.

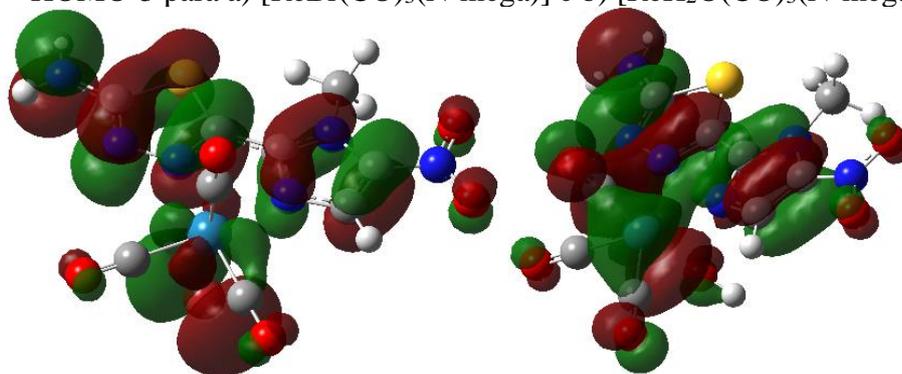
Figura 46 - Orbitais HOMO e LUMO para $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

O espectro teórico para a espécie $[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ também foi calculado (**Figura 47**). O espectro é bastante semelhante da espécie $[\text{Re}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$, porém, apresenta duas bandas de alta intensidade em 359 nm ($f = 0.2735$) e 316 nm ($f = 0.3365$) correspondentes aos estados S2 e S5 (**Figura 48**). Os orbitais HOMO e LUMO são apresentados na **Figura 49**. Assim como para o complexo de Re^{I} a densidade eletrônica do HOMO está localizada principalmente nos orbitais d do centro de Re^{I} e em orbitais intraligantes do megazol e coligantes (Br e CO) enquanto que o orbital LUMO está localizado essencialmente no megazol. A **Tabela D5.1-D.6** (Apêndice D) mostra uma análise mais detalhada das transições mais relevantes e suas configurações.

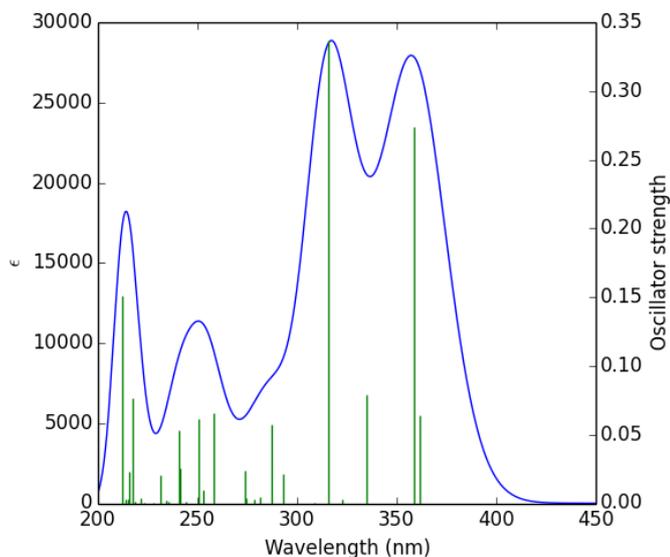
Figura 47 - HOMO-3 para a) $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ e b) $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

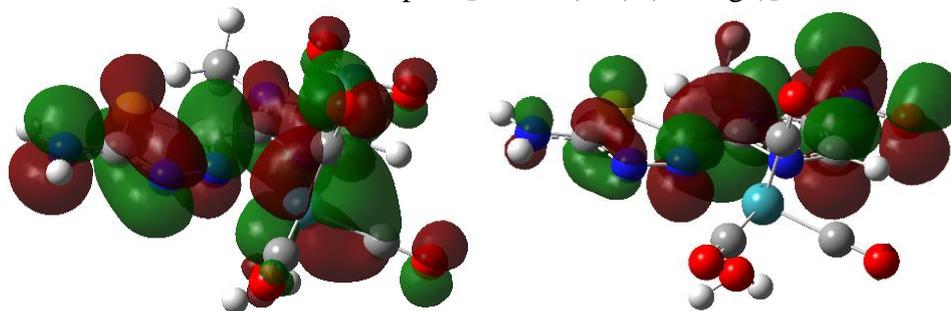
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 48 - Espectro eletrônico teórico para $[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 49 - Orbitais HOMO e LUMO para $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$.



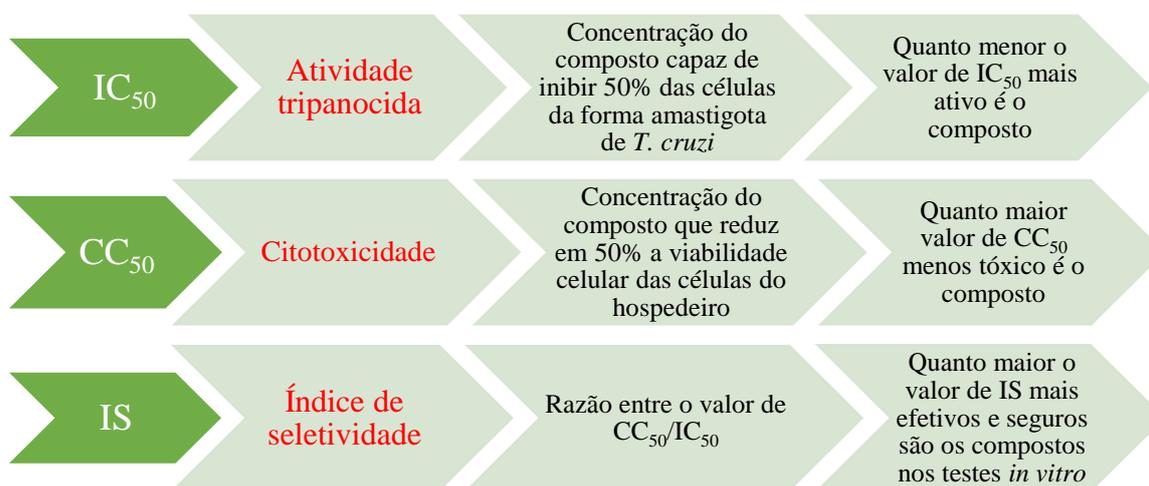
Fonte: Dados da Pesquisa.

Uma vez finalizada a elucidação estrutural dos compostos de Re e a marcação do megazol com $^{99\text{m}}\text{Tc}$, os compostos desenvolvidos neste trabalho, $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{R1,R2}}]$, foram então avaliados como agentes antiparasitários, sendo um dos possíveis mecanismos de ação deles também estudado. A seguir é apresentada a discussão dos resultados obtidos.

4.5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

No ano de 2015, entre as pessoas afetadas pela doença de Chagas no mundo, estima-se que apenas 20 % tiveram acesso a diagnóstico e tratamento específico para a doença. Além disso, nem todos os pacientes são indicados ao tratamento especialmente na fase crônica (PINHEIRO et al., 2017). No hospedeiro humano, durante esta fase da doença, o *T. cruzi* apresenta o tipo morfológico intracelular forma amastigota. Portanto, pensando na falta de tratamento eficaz para essa fase da doença, foram realizados os testes *in vitro* frente a forma amastigota da cepa Tulahuen do *T. cruzi* para avaliar a atividade tripanocida dos compostos preparados nesse trabalho. Além disso, a citotoxicidade foi estudada em células de rim de macaco LLC-MK2. Por fim, o índice de seletividade (IS) foi calculado visando estabelecer parâmetros de efetividade e segurança dos compostos. A **Figura 50** define os termos IC₅₀ (atividade tripanocida), CC₅₀ (citotoxicidade) e IS (índice de seletividade) e como são interpretados os resultados obtidos.

Figura 50 – Resumo da definição dos termos IC₅₀, CC₅₀ e IS e a interpretação dos resultados dos testes *in vitro*.



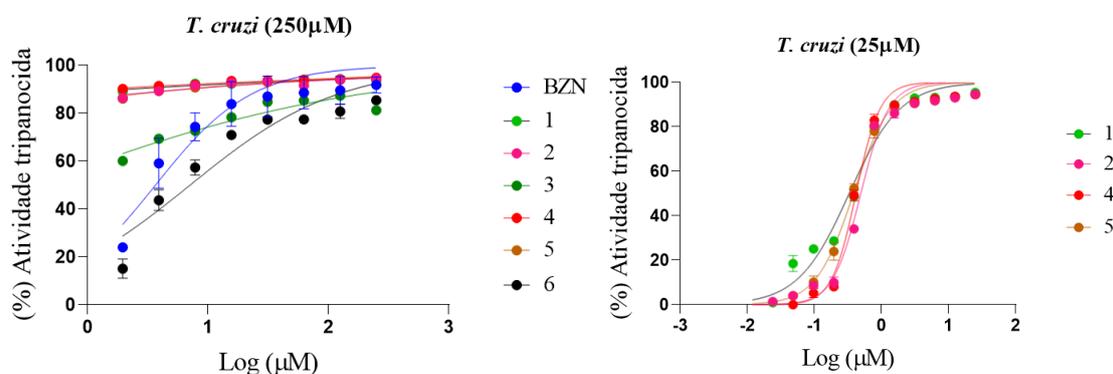
Fonte: A Autora.

O valor de IC₅₀ foi determinado após a avaliação da porcentagem de inibição de parasitos com diferentes concentrações dos compostos. Foram realizados testes partindo da maior concentração de 250 µM e depois em diluições seriadas usando-se DMSO até, no máximo, 5 % (**Gráfico 1 – Figura 51**). Os compostos mostraram excelente porcentagem de inibição das células do parasito em comparação ao fármaco referência, o benznidazol (IC₅₀

RESULTADOS E DISCUSSÕES

= 3,08 μM). O megazol $\text{L}^{\text{H,H}}$ ($\text{IC}_{50} = 0,32 \pm 7,78 \times 10^{-4} \mu\text{M}$) apresentou excelente atividade antiparasitária *in vitro*, em acordo com dados da literatura (LEITES et al., 2018). Além disso, os outros derivados do megazol bem como os complexos estudados mantiveram boa atividade (Tabela 15). No geral, a coordenação ao centro metálico de Re^{I} não alterou significativamente os valores de IC_{50} determinados, com exceção para o complexo **6**, o qual diminuiu consideravelmente a sua atividade antiparasitária. Por outro lado, o complexo **5** ($\text{IC}_{50} = 0,38 \pm 0,002 \mu\text{M}$) foi observada uma melhora na atividade em relação ao ligante livre $\text{L}^{\text{H,Me}}$ ($\text{IC}_{50} = 0,49 \pm 7,78 \times 10^{-4} \mu\text{M}$). A diferença de atividade entre complexo e ligante pode ser explicada pela estabilidade do quelato formado após a coordenação o que pode levar a diferentes interações com biomoléculas no meio celular ou nos parasitas e, assim, modificar o mecanismo de ação dos compostos. Por outro lado, quando comparadas as atividades dos complexos **4**, **5** e **6** isoladamente, o fator lipofilicidade destes teve fator determinante na atividade quando comparadas às atividades das moléculas orgânicas por si só. Além disso, em todos os experimentos em solução, isto é, RMN, espectrometria de massas e HPLC-MS, mostraram a estabilidade da ligação entre ligantes $\text{L}^{\text{R1,R2}}$ e o metal. Provavelmente, o complexo **5** consegue atravessar mais facilmente a parede celular das células hospedeiras para atingir os parasitos intracelulares. A exceção a essa tendência é do complexo **6** uma vez que este apresentou IC_{50} bem maior que o do seu ligante livre, o composto mais hidrofóbico da série estudada.

Figura 51 – Porcentagem de atividade tripanocida em diferentes concentrações para os compostos benznidazol (Bz), $\text{L}^{\text{H,H}}$ (**1**), $\text{L}^{\text{H,Me}}$ (**2**), $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ (**3**), $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ (**4**), $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,H}}]$ (**5**) e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ (**6**) frente à cepa Tulahuen de *T. cruzi*. Gráfico da esquerda representa experimento com concentração inicial dos compostos 250 μM . Gráfico da direita representa experimento com concentração inicial dos compostos 25 μM .

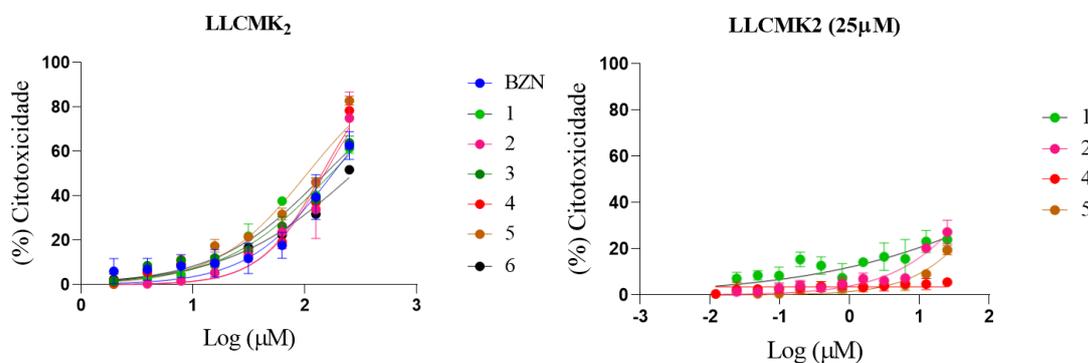


Fonte: Dados da Pesquisa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os compostos **2-6** atingiram porcentagem considerável de inibição das células normais em concentrações apenas acima de 100 μM (**Figura 52**). Portanto, os compostos **2-6** apresentaram baixa toxicidade frente as células do macrófago. Entretanto, os compostos **2-5** apresentaram CC_{50} menor que o fármaco padrão **Bz** ($\text{CC}_{50} = 272,1 \mu\text{M}$). Por outro lado, o megazol (**1**) apresentou porcentagem de inibição de células LLC-MK2 apenas em uma altíssima concentração ($\text{CC}_{50} = 1313 \pm 41,6 \mu\text{M}$), um resultado claramente melhor que a referência **Bz**. Além disso, a citotoxicidade aumenta após a coordenação apenas no caso do megazol. O composto mais hidrofóbico, o complexo **6** ($\text{CC}_{50} 272,4 \pm 4,08 \mu\text{M}$), foi o menos tóxico em comparação aos compostos **2-5**, porém, também foi o que apresentou a menor atividade antiparasitária. Nenhum dos compostos apresentou toxicidade significativa, portanto, supomos que estes são capazes de atuar no meio intracelular diretamente nos parasitos.

Figura 52 – Porcentagem de citotoxicidade em diferentes concentrações para os compostos benznidazol (Bz), $\text{L}^{\text{H,H}}$ (**1**), $\text{L}^{\text{H,Me}}$ (**2**), $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ (**3**), $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ (**4**), $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,H}}]$ (**5**) e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ (**6**) frente à cepa Tulahuen de *T. cruzi*. Gráfico da esquerda representa experimento com concentração inicial dos compostos 250 μM . Gráfico da direita representa experimento com concentração inicial dos compostos 25 μM .



Fonte: Dados da Pesquisa.

Um composto precisa ser tóxico para o parasita (menores valores de IC_{50}) e não causar efeitos tóxicos às células normais (maiores valores de CC_{50}) para ser empregado no combate ao *T. cruzi*. A Organização de Iniciativas de Medicamentos para Doenças Negligenciadas (*DNDi* – Drugs for Neglected Diseases Initiative) utiliza o IS como parâmetro para avaliação de novos fármacos para o tratamento da doença de Chagas: fármaco promissor $10 > \text{IS} > 100$; candidato líder para o desenvolvimento como fármaco tripanocida $\text{IS} \geq 100$ (GONÇALVES et al., 2017). Deste modo, uma diferença na atividade

RESULTADOS E DISCUSSÕES

e citotoxicidade ao avaliar os resultados de IC₅₀ e CC₅₀ podem refletir em compostos mais seguros e menos tóxicos para o tratamento da doença de Chagas. O L^{H,H} (megazol) sintetizado neste trabalho apresentou um IS excelente (≈ 4103). Além do mais, todos os compostos (**Tabela 15**), com exceção do **6**, apresentaram valor de IS pelo menos 3x melhor que o fármaco referência o Bz (IS 88,3). Deste modo, a presença do fragmento metálico de Re^I(CO)₃ pode alterar a forma de interações com as biomoléculas tanto dos parasitos quanto das células LLC-MK₂, alterando a atividade e a citotoxicidade, podendo esta ser para aumentada ou diminuída a depender dos grupos periféricos dos ligantes.

Tabela 15 – Valores de IC₅₀, CC₅₀ e IS obtidos para os compostos, L^{H,H} (**1**), L^{H,Me} (**2**), L^{Me,Me} (**3**), [ReBr(CO)₃L^{H,H}] (**4**), [ReBr(CO)₃L^{Me,H}] (**5**) e [ReBr(CO)₃L^{Me,Me}] (**6**). O Bz é utilizado como fármaco referência.

Composto	IC ₅₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	IS
Bz	3,08	272,1	88,3
1	0,32 ± 7,78x10 ⁻⁴	1313 ± 41,6	4103,1
2	0,49±7,78x10 ⁻⁴	113,9 ± 7,84	232,4
3	0,35 ± 0,01*	170,9 ± 2,54*	488,3
4	0,41 ± 0,009	142,1 ± 2,54	346,6
5	0,38 ± 0,002	161,2 ± 2,9	424,2
6	7,07 ± 0,49**	272,4 ± 4,08*	38,5

* experimento realizado em duplicata;** experimento realizado uma vez; Os outros experimentos foram realizados em triplicata.

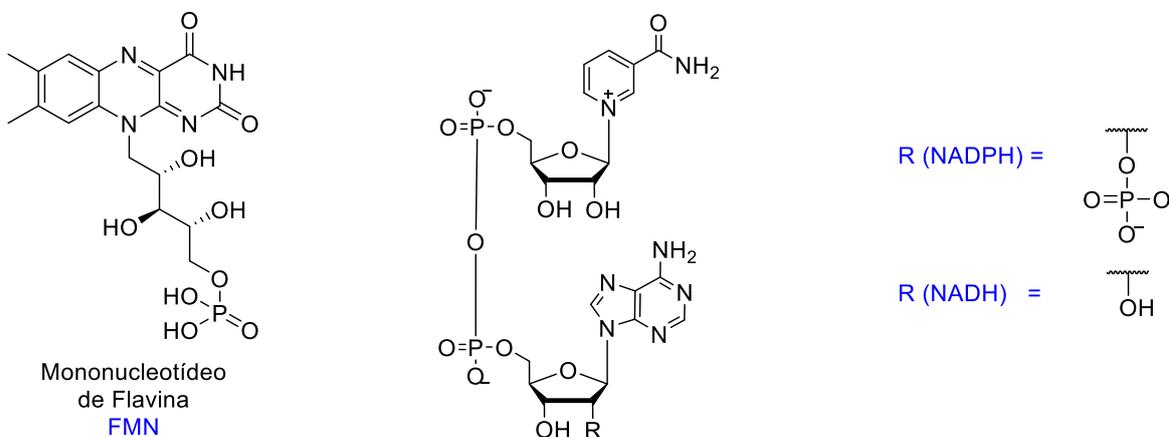
4.6 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO COM A TcOYE

O desenvolvimento de fármacos envolve diferentes etapas, além dos estudos de relação entre estrutura e atividade de novas entidades químicas, também são realizadas pesquisas envolvendo possíveis mecanismos de ação. No que se refere às doenças infecciosas, entender o metabolismo, morfologia, fisiologia e biomoléculas que possuem papel no ciclo celular destes agentes etiológicos é importante para o desenvolvimento racional de fármacos e novas formulações de medicamentos (DE ALMEIDA et al., 2013). O sequenciamento genético possibilitou a descobertas de inúmeras biomoléculas como proteínas e enzimas, são essenciais à sobrevivência e são encontradas apenas nos agentes causadores dessas doenças. Portanto, tais biomoléculas podem ser pontos de partida fundamentais para entender o mecanismo de ação, além do que, apresentam potencial como novos alvos moleculares para o design de fármacos, aumentando a seletividade dos agentes antiparasitários.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

As OYEs possuem como seu grupo prostético o mononucleotídeo de flavina (FMN) (**Figura 53a**) que por sua vez confere a proteína a coloração amarela e ao nome dessa família de proteínas. As OYEs são consideradas NAD(P)H flavina oxidoreduases e são encontradas em vários organismos como bactérias, fungos, plantas e protozoários. As reações catalisadas pelas OYEs utilizam os cofatores nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) (**Figura 53b**) como agentes redutores e ocorrem na presença de vários substratos como ciclohexanona, duroquinona e menadiona (WILLIAMS; BRUCE, 2002).

Figura 53 – Estruturas Químicas do Mononucleotídeo de flavina e dos nucleotídeos NAD e NADP.

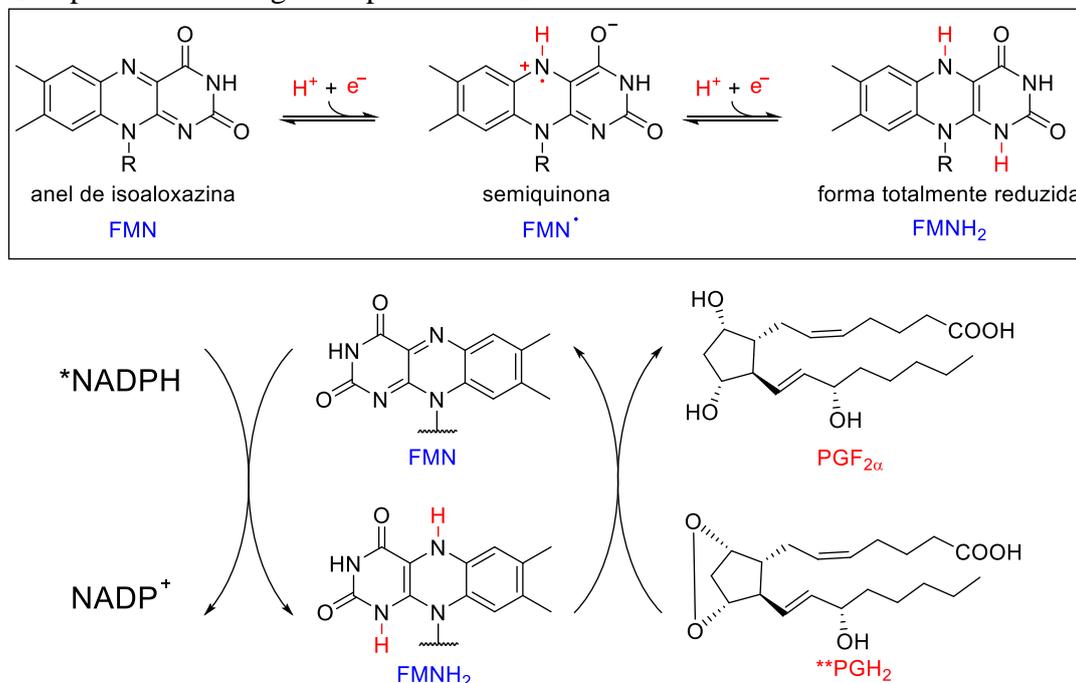


Fonte: (WILLIAMS; BRUCE, 2002).

A proteína Old Yellow Enzyme de *T. cruzi* (TcOYE) consiste em uma NADPH oxidoreduase que atua na via de síntese de prostaglandina por meio da conversão de prostaglandina H₂ (PGH₂) em prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}). O grupo prostético da TcOYE, o FMN, é reduzido a FMNH₂ pelo agente redutor NADPH, por sua vez o FMNH₂ promove a redução da PGH₂ a PGF_{2α} pela transferência de elétrons. Prostaglandinas são potentes mediadores de respostas fisiológicas e patológicas, algumas delas observadas na doença de Chagas, porém sua função em *T. cruzi* não é bem esclarecida (**Figura 54**) (KUBATA et al., 2002; YAMAGUCHI et al., 2011). O estudo de Meah e Massey mostrou que a OYE catalisa a redução do grupo nitro de nitroolefinas insaturadas e atua como catalisador ácido/base. O processo de redução é intermediado pelo resíduo aminoácido tirosina 196 da enzima (MEAH; MASSEY, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 54 – (a) Estruturas das FMN oxidado e reduzido. As FMN podem participar em reações em transferência de dois elétrons e dois prótons dando origem a forma totalmente reduzida FMNH₂. A forma radical livre ocorre quando aceita apenas um hidrogênio e um elétron é chamada de semiquinona FMN[•]. (b) A TcOYE catalisa síntese da F_{2α}: ocorre a redução da PGH₂ a PGF_{2α} pela TcOYE. A FMN reduz a FMNH₂ via NADPH e o produto PGF_{2α} é posteriormente gerado pela FMNH₂.



Fonte: (KUBATA et al., 2002; YAMAGUCHI et al., 2011)

Além disso, foi provado que a TcOYE é uma enzima importante no metabolismo de fármacos utilizados no tratamento da doença de Chagas uma vez que estudos com diferentes cepas de *T. cruzi* mostram que a superexpressão ou a ausência delas são determinantes na suscetibilidade ou resistência ao benznidazol. Os estudos mostram que quando cópias do gene TcOYE foram deletadas, as cepas foram resistentes ao fármaco e quando houve superexpressão de TcOYE as cepas foram suscetíveis ao benznidazol (KUBATA et al., 2002). Pensando nisso foi estudada a interação dos compostos **Bz**, L^{H,H} e [ReBr(CO)₃L^{H,H}] com a proteína Old Yellow Enzyme (TcOYE).

As soluções de **Bz**, L^{H,H} e [ReBr(CO)₃L^{H,H}] foram preparadas em solução tampão Tris-HCl com 25% de DMSO. A concentração final de DMSO para todos os compostos do experimento foi mantida em 2,5%. O TcOYE foi preparado de acordo com a literatura (MURAKAMI et al., 2013). As **Figura 55/56/57** reportam os resultados obtidos dos espectros de emissão de fluorescência da sonda intrínseca triptofano (**Figura 55/56/57A**) na presença dos compostos Bz (**Figura 55**), L^{H,H} (**Figura 56**) e o complexo metálico [ReBr

RESULTADOS E DISCUSSÕES

(CO)₃L^{H,H}] (**Figura 57**). Todos os compostos testados apresentaram perfil de saturação com o aumento da concentração do **Bz**, L^{H,H} e [ReBr(CO)₃L^{H,H}], isto possibilitou o ajuste à equação de Hill para determinação de K_d, **Figura 55/56/57B**. A relação de Stern-Volmer permite que o estudo cinético da desativação fotofísica do fluoróforo possa ser realizado. A natureza desta desativação pode ser estática ou dinâmica (FRAIJI; HAYES; WERNER, 1992; LAKOWICZ, 1999). A desativação estática ocorre quando a interação resulta na formação do complexo proteína-composto que se reflete na diminuição das intensidades de fluorescência. A supressão de fluorescência pode também ser resultado da desativação pelo choque entre as moléculas e este fenômeno é chamado de supressão dinâmica (LAKOWICZ, 1999), sendo que esta pode ocorrer juntamente à supressão estática quando na presença de altas concentrações do composto livre e é favorecido pelo aumento da temperatura (LAKOWICZ, 1999). A **Figura 55/56/57D** mostra que o aumento da temperatura não resulta em um incremento na taxa de supressão. Isto está relacionado à natureza da interação entre os compostos testados e a TcOYE ser estática, uma vez que a temperatura não afeta os choques entre as moléculas o que no caso favoreceria fenômenos de natureza dinâmica.

A **Tabela 16** mostra que os compostos apresentaram K_d na ordem de μmol L⁻¹. O composto megazol, bem como o complexo metálico com rênio apresentaram maior afinidade pela TcOYE quando comparados com o Bz. A interação do complexo metálico contendo megazol apresentou valores de K_d próximos o que indica que a presença do metal não afetou significativamente a capacidade de interação da molécula com a proteína.

Tabela 16 – Constante de dissociação (K_d), número de locais ligantes (n), constante de associação (K_b), constante Stern-Volmer (K_{sv}), para a interação de enzimas TcOYE com benznidazol, megazol (L^{H,H}) e o seu complexo de rênio. Experimentos foram realizados em tampão Tris-HCl pH 8,0, NaCl 100 mmol/L.

Proteína/Ligante	n ^{***}	K _{sv} ^{**} × 10 ⁴	K _d [*] (μmol L ⁻¹)	K _b ^{***} × 10 ⁴ (L mol ⁻¹)	K _d ^{***} (μmol L ⁻¹)
TcOYE/Benznidazol	1,2±0,1	1,8±0,1	64±3	1,1±0,2	90±1
TcOYE/Megazol	1,1±0,1	5,1±0,3	16±2	6,5±0,2	15±1
TcOYE/[ReBr(CO) ₃ L ^{H,H}]	0,9±0,1	5,2 ±0,2	18±2	5,0±0,1	20±1

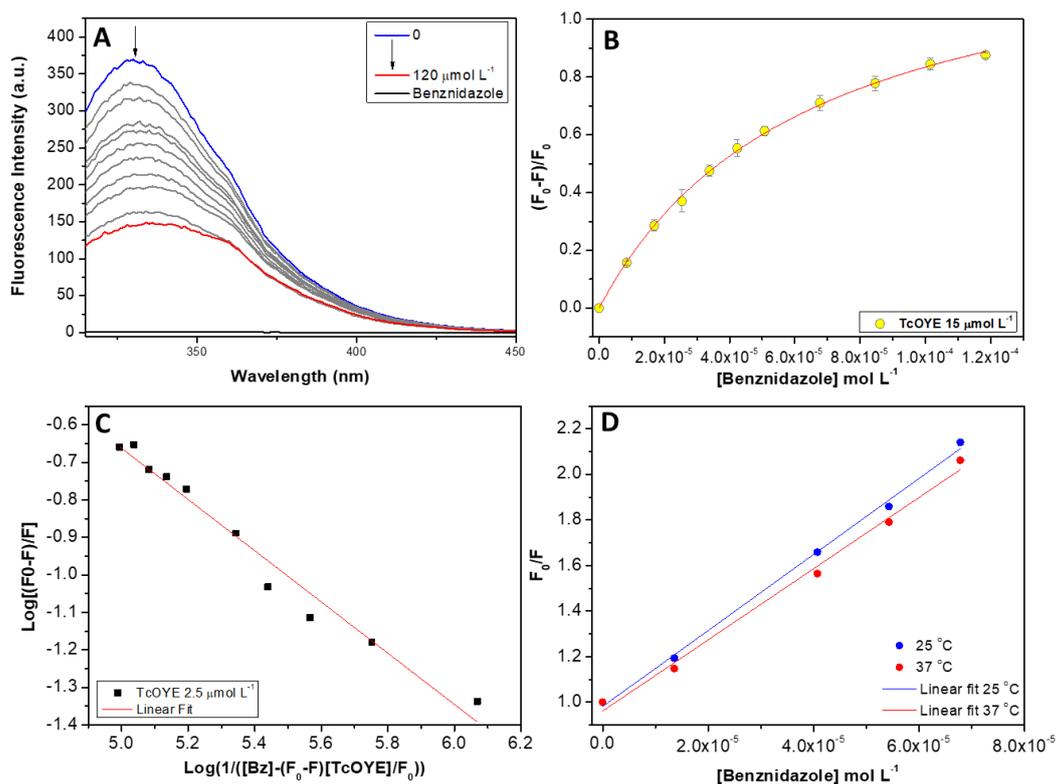
*Hill Plot (n=1), Equação (1)

** Stern-Volmer, Equação (2)

Duplo log, Equação (3), onde K_d^{} = 1/K_b^{***}

RESULTADOS E DISCUSSÕES

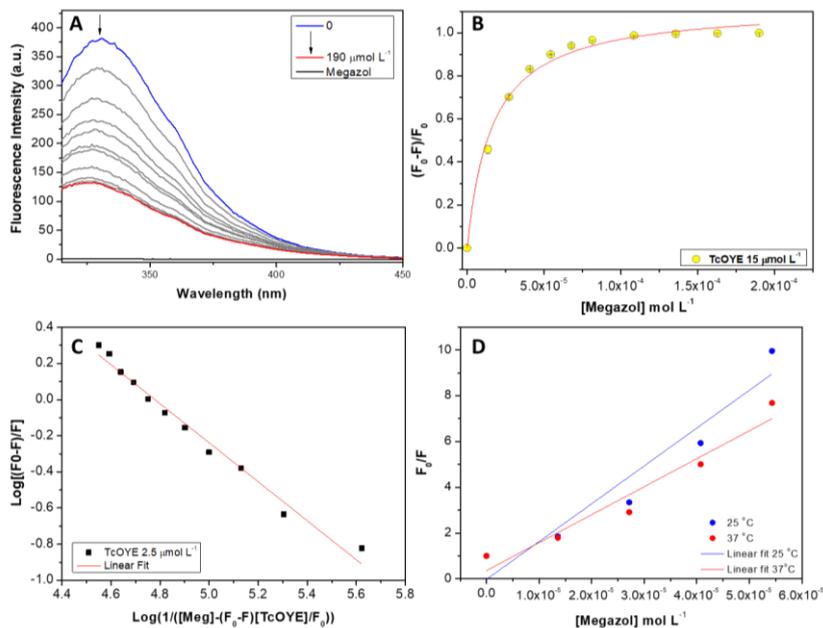
Figura 55 - (A) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{\text{ex}} = 295 \text{ nm}$) da proteína TcOYE na concentração de $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de concentrações crescente do ligante benzimidazol. (B) Variação das intensidades do máximo de fluorescência ($\lambda_{\text{máx}} = 336 \text{ nm}$) e ajuste não linear à equação de Hill (Equação 1). (C) Relação logarítmica para obtenção do número de sítios ligantes segundo à Equação 2. Relação de Stern-Volmer às temperaturas de 25 e 37 °C. Os espectros foram obtidos em tampão Tris-HCl, pH 8,0; 100 mmol L^{-1} de NaCl e 2,5 % de DMSO.



Fonte: Dados da Pesquisa.

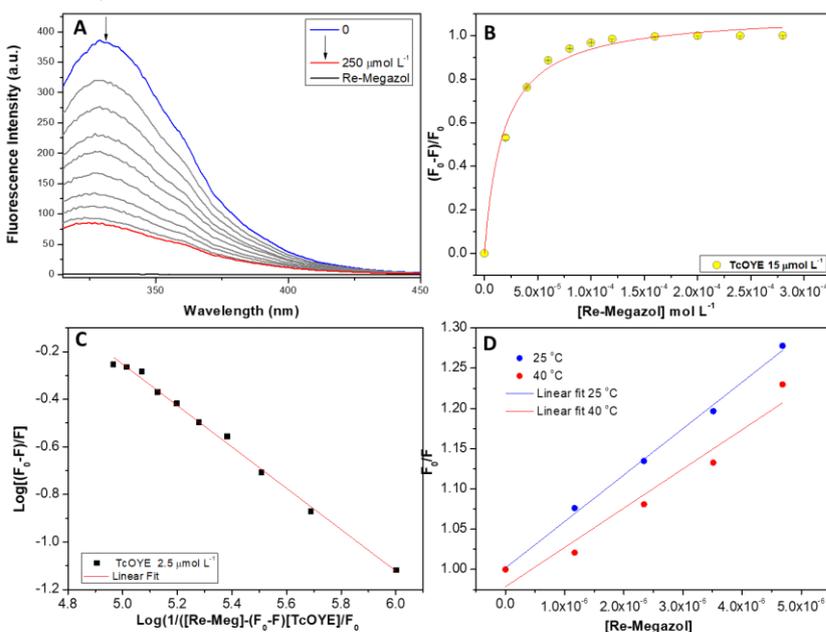
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Figura 56. (A) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{ex} = 295$ nm) da proteína TcOYE na concentração de $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de concentrações crescente do ligante Megazol. (B) Variação das intensidades do máximo de fluorescência ($\lambda_{m\acute{a}x} = 336$ nm) e ajuste não linear à equação de Hill (Equação 1). (C) Relação logarítmica para obtenção do número de sítios ligantes segundo à Equação 2. (D) Relação de Stern-Volmer às temperaturas de 25°C e 37°C . Os espectros foram obtidos em tampão Tris-HCl, pH 8,0; 100 mmol L^{-1} de NaCl e 2,5 % de DMSO.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Figura 57 - (A) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{ex} = 295$ nm) da proteína TcOYE na concentração de $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ na presença de concentrações crescente do composto Re-Megazol ($[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{H,H}})]$). (B) Variação das intensidades do máximo de fluorescência ($\lambda_{m\acute{a}x} = 336$ nm) e ajuste não linear à equação de Hill (Equação 1). (C) Relação logarítmica para obtenção do número de sítios ligantes segundo à Equação 2. (D) Relação de Stern-Volmer às temperaturas de 25°C e 40°C . Os espectros foram obtidos em Tris-HCl pH 8,0, 100 mmol L^{-1} de NaCl e 2,5 % de DMSO.



Fonte: Dados da Pesquisa.

4.7 ESTUDOS DE DOCKING MOLECULAR

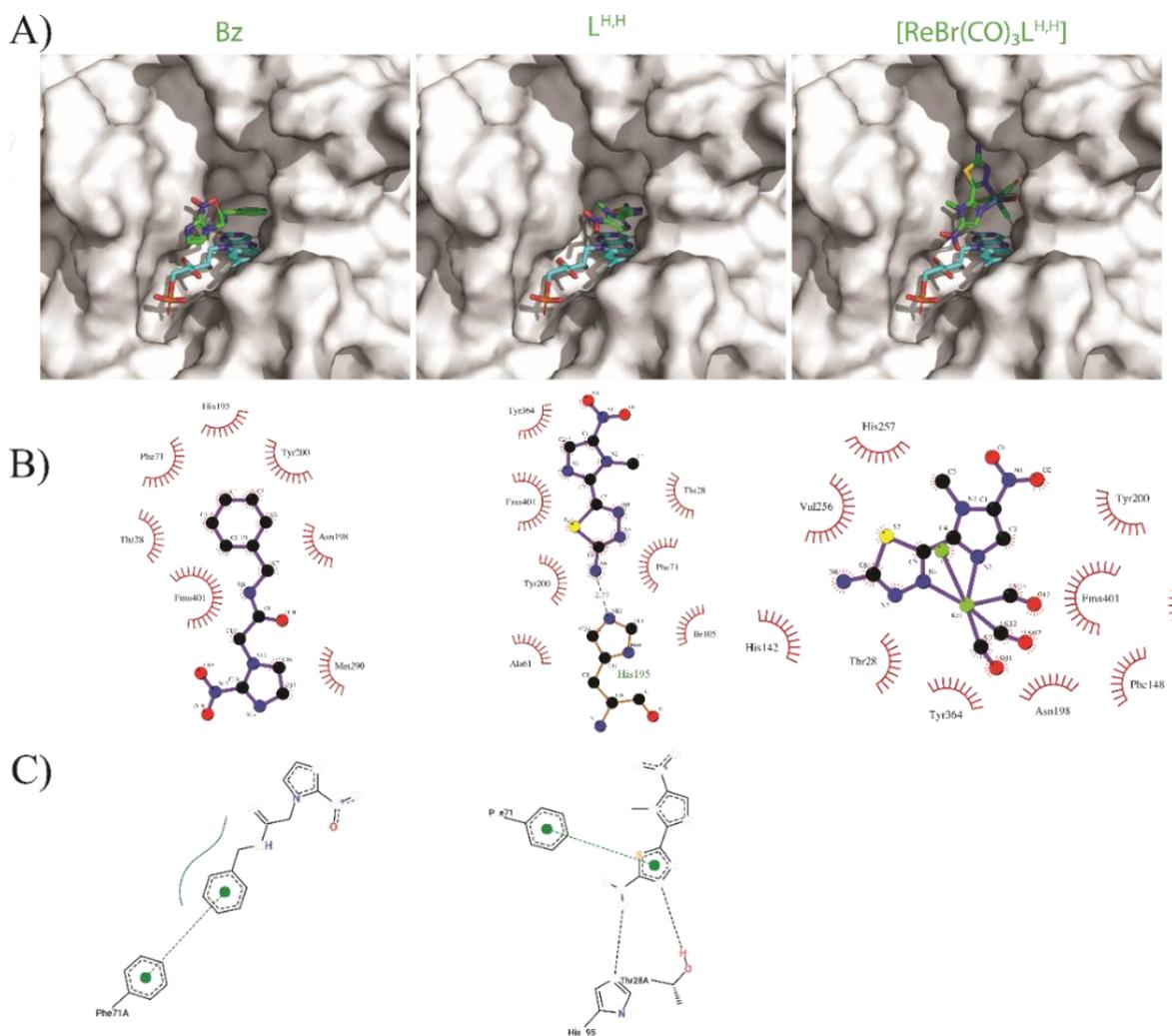
Como discutido anteriormente, os estudos biológicos mostraram que a coordenação do L^{H,H} (megazol) ao centro de Re^I não altera significativamente a atividade tripanocida do megazol e, somado se a isto, o megazol e seu complexo [ReBrCO₃(L^{H,H})] apresentou valores de K_d próximos sugerindo que a interação destes com a TcOYE é semelhante. Diante deste contexto, o docking molecular dos compostos L^{H,H} (megazol) e do seu complexo de [ReBrCO₃(L^{H,H})] foi realizado visando conhecer os modos de ligação com a TcOYE. Adicionalmente, para comparação, foi feito também o docking com o fármaco padrão, o benznidazol. As melhores poses, obtidas pela função de ranqueamento do pacote do GOLD, são mostrados na **Figura 58**.

É possível verificar que tanto o benznidazol quanto o megazol e seu complexo se ajustaram bem em cima do grupo prostético FMN (**Figura 58A**). Interessante mencionar que a cavidade da TcOYE é relativamente grande e que os compostos aqui estudados são pequenos em relação a mesma, o que deveria trazer a possibilidade de acomodação em qualquer local da cavidade. Contudo, os compostos acabaram se ligando bem no fundo do funil da cavidade próximo ao grupo prostético, indicando que possuem afinidade com o sítio enzimático da TcOYE. Todos interagiram com um grande número de interações hidrofóbicas (**Figura 58B**) e formaram uma ligação π - π stacking com a Phe71 (fenilalanina 71) da TcOYE (**Figura 58C**). Além disso, o megazol e o complexo ficaram bem enterrados na cavidade do sítio de ligação e com o grupo NO₂ voltado para face da cavidade, porém, somente o megazol formou uma ligação de hidrogênio com a HIS195. Este fato merece destaque, pois o resíduo His195 possui importância em reações de transferência de hidreto com enonas α,β -insaturadas e na redução do PGH₂ para PGF_{2 α} da prostagladina (Karplus, 1995; Okamoto, 2011). Em trabalhos anteriores deste grupo de pesquisa (CARNEIRO et al., 2019; GONÇALVES et al., 2017), as simulações de docking mostraram que o átomo de nitrogênio N5 do FMN e a His195 ficaram cerca de 3 Å dos inibidores [AuCl(L1)] (L1 = tiosemicarbazona derivada de diacetilmonooxima) e HFedtc (*S*-benzil-*N*-(ferrocenil)metileno-ditiocarbazato), uma distância adequada para transferência de hidretos, assim como a apresentada pelos compostos estudados aqui. Entretanto, o mecanismo de inibição destes dois compostos é diferente, enquanto o [AuCl(L1)] é processado pela TcOYE recebendo elétrons da mesma, o HFedtc atua como inibidor competitivo evitando que a

RESULTADOS E DISCUSSÕES

menadiona (um inibidor clássico da TcOYE) se ligue ao sítio ativo da enzima e prevenindo a formação do produto redox da menadiona.

Figura 58. Resultados de docking molecular do complexo ternário TcOYE/FMN/Composto. A). Representação tridimensional das poses estruturais de primeira classificação de cada composto (verde) ligado na cavidade TcOYE (desenho cinza e superfície) contendo o grupo prostético FMN (ciano). Projeção bidimensional da interação dos compostos com TcOYE/FMN obtida pelo B) software LigPlot (STIERAND; RAREY, 2010) e C) servidor web PoseView (LASKOWSKI; SWINDELLS, 2011). As ligações de hidrogênio são mostradas em linhas tracejadas, as interações hidrofóbicas em contornos verdes e vermelhos e as interações π - π em linhas tracejadas em verde. PoseView não calculou uma projeção bidimensional para as interações $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ com a enzima.



Fonte: Dados da Pesquisa.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

A síntese do megazol foi explorada através de diferentes metodologias promovendo também modificações estruturais no mesmo. A vantagem obtida na nova rota sintética desenvolvida foi o aumento do rendimento e contornou alguns dos problemas há muito tempo estudados por outros métodos. Além disso, pela primeira vez, o megazol foi explorado na química de coordenação. Diversas técnicas espectroscópicas e espectrométricas foram usadas nas caracterizações dos compostos, bem como estudos por cálculos teóricos (DFT). No que se refere a química de coordenação, foi possível verificar que o megazol e seus derivados formaram complexos octaédricos do tipo [2+1] de composição $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{L}^{\text{R,R}})]$, confirmando sua atuação como ligante bidentado neutro. Parâmetros termodinâmicos calculados por métodos DFT mostraram que a “hidrólise” do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]$ ou hidratação do íon brometo não é um processo favorável. Deste modo, a espécie $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$, embora seja estável, não é formada em condições normais mesmo na presença de água. Os cálculos também mostraram que a espécie $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ é estável, sendo esta a espécie mais provável de ser formada nas reações de radiomarcção. Deste modo, é bem plausível concluir que a diferença no tempo de retenção entre a referência de rênio e com complexo de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ se deve ao fato de serem espécies neutras e catiônicas, respectivamente. Embora a radiomarcção com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ tenha indicado uma diferença entre os complexos de rênio usados como referência e os formados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$, foi possível afirmar que a etapa de marcação do megazol com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ foi realizada com sucesso. No que diz respeito à atividade biológica, todos os compostos, com exceção de um deles, revelaram-se altamente seletivos para o parasita da doença de Chagas, com índices de seletividade bem superiores ao do fármaco de referência, o benznidazol. Os estudos de interação experimentais e por docking molecular com a enzima TcOYE também indicaram uma interação do megazol e do seu complexo de Re^{I} melhor do que a do benznidazol, sendo este um provável alvo destes compostos. Como um todo, este trabalho mostrou que os complexos de Re^{I} e $^{99\text{m}}\text{Tc}^{\text{I}}$ com o megazol representam uma possibilidade concreta para desenvolvimento de um dispositivo teranóstico para tratamento e diagnóstico simultâneo da doença de Chagas.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABRAM, Ulrich; ALBERTO, Roger. Technetium and Rhenium - Coordination Chemistry and Nuclear Medical. **J. Braz. Chem. Soc.**, [S. l.], v. 17, n. 8, p. 1486–1500, 2006. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532006000800004>.

ABRAMS, Michael J.; DAVISON, Alan; JONES, Alun G.; COSTELLO, Catherine E.; PANG, Henrianna. Synthesis and characterization of hexakis(alkyl isocyanide) and hexakis(aryl isocyanide) complexes of technetium(I). **Inorganic Chemistry**, [S. l.], v. 22, n. 20, p. 2798–2800, 1983. DOI: 10.1021/ic00162a007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ic00162a007>.

AGILENT TECHNOLOGIES UK LTD. **CrysAlisPRO**, Oxford **Diffraction** Yarnton Agilent Technologies, , 2019.

ALBERTO, Roger. Application of Technetium and Rhenium in Nuclear Medicine. **COSMOS**, [S. l.], v. 08, n. 01, p. 83–101, 2012. DOI: 10.1142/S0219607712300019. Disponível em: <https://doi.org/10.1142/S0219607712300019>.

ALBERTO, Roger; ABRAM, Ulrich. International Year of the Periodic Table 2019: Elements Important for Life Sciences. **Chimia**, Switzerland, v. 73, n. 3, p. 207–209, 2019. DOI: 10.2533/chimia.2019.207.

ALBERTO, Roger; BRABAND, Henrik. SPECT/PET Imaging with Technetium, Gallium, Copper, and Other Metallic Radionuclides. *In*: ELSEVIER (org.). **Comprehensive Inorganic Chemistry II**. 2. ed. Oxford. p. 785–817.

ALBERTO, Roger; EGLI, André; ABRAM, Ulrich; HEGETSCHWEILER, Kaspar; GRAMLICH, Volker; SCHUBIGER, P. August. Synthesis and reactivity of [NEt₄]₂[ReBr₃(CO)₃]. Formation and structural characterization of the clusters [NEt₄][Re₃(μ³-OH)(μ-OH)₃(CO)₉] and [NEt₄][Re₂(μ-OH)₃(CO)₆] by alkaline titration. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, [S. l.], n. 19, p. 2815–2820, 1994. DOI: 10.1039/DT9940002815. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/DT9940002815>.

ALBERTO, Roger; ORTNER, Kirstin; WHEATLEY, Nigel; SCHIBLI, Roger; SCHUBIGER, August P. Synthesis and Properties of Boranocarbonate: A Convenient in Situ CO Source for the Aqueous Preparation of [99mTc(OH)₂]₃(CO)₃⁺. **Journal of the American Chemical Society**, [S. l.], v. 123, n. 13, p. 3135–3136, 2001. DOI: 10.1021/ja003932b. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja003932b>.

BARBOSA, Vanessa S. A.; HOLANDA, Cecília M. C. X.; CÂMARA, Antônia C. J.; SILVA, Roseane P.; OLIVEIRA, Daniel P.; MOREIRA, Jeanete A.; MEDEIROS, Aldo C. Trypanosoma cruzi: biodistribution of technetium-99m pertechnetate in infected rats. **Experimental parasitology**, United States, v. 123, n. 4, p. 309–312, 2009. DOI: 10.1016/j.exppara.2009.08.006.

BERKELHAMMER, G.; ASATO, G. 2-Amino-5-(1-methyl-5-nitro-2-imidazolyl)-1,3,4-thiadiazole: a new antimicrobial agent. **Science (New York, N.Y.)**, United States, v.

REFERÊNCIAS

162, n. 3858, p. 1146, 1968. DOI: 10.1126/science.162.3858.1146.

BERMAN, Helen M.; WESTBROOK, John; FENG, Zukang; GILLILAND, Gary; BHAT, T. N.; WEISSIG, Helge; SHINDYALOV, Ilya N.; BOURNE, Philip E. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**, [S. l.], v. 28, n. 1, p. 235–242, 2000. DOI: 10.1093/nar/28.1.235. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.

BERNARD, Jonathan; ORTNER, Kirstin; SPINGLER, Bernhard; PIETZSCH, H. J.; ALBERTO, Roger. Aqueous Synthesis of Derivatized Cyclopentadienyl Complexes of Technetium and Rhenium Directed toward Radiopharmaceutical Application. **Inorganic Chemistry**, [S. l.], v. 42, n. 4, p. 1014–1022, 2003. DOI: 10.1021/ic0204575. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ic0204575>.

BI, Shuyun; DING, Lan; TIAN, Yuan; SONG, Daqian; ZHOU, Xin; LIU, Xia; ZHANG, Hanqi. Investigation of the interaction between flavonoids and human serum albumin. **Journal of Molecular Structure**, [S. l.], v. 703, n. 1, p. 37–45, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2004.05.026>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022286004004223>.

BOSCHI, A.; BOLZATI, C.; UCCELLI, L.; DUATTI, A.; BENINI, E.; REFOSCO, F.; TISATO, F.; PIFFANELLI, A. A class of asymmetrical nitrido ^{99m}Tc heterocomplexes as heart imaging agents with improved biological properties. **Nuclear Medicine Communications**, [S. l.], v. 23, n. 7, 2002. Disponível em: https://journals.lww.com/nuclearmedicinecomm/Fulltext/2002/07000/A_class_of_asymmetrical_nitrido_99mTc.14.aspx.

BOUTEILLE, B.; MARIE-DARAGON, A.; CHAUVIÈRE, G.; DE ALBUQUERQUE, C.; ENANGA, B.; DARDÉ, M. L.; VALLAT, J. M.; PÉRIÉ, J.; DUMAS, M. Effect of megazol on *Trypanosoma brucei brucei* acute and subacute infections in Swiss mice. **Acta tropica**, Netherlands, v. 60, n. 2, p. 73–80, 1995. DOI: 10.1016/0001-706x(95)00109-r.

BRINK, Alice; VISSER, Hendrik G.; ROODT, Andreas. Synthesis, crystallographic, and theoretical investigation of fac-[ReI(salen)(CO)₃(S)] complexes, salen = monocharged bidentate Schiff-base and S = pyridine, CH₃OH. **Journal of Coordination Chemistry**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 122–133, 2011. DOI: 10.1080/00958972.2010.538050. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00958972.2010.538050>.

BRUCE, Paula Yurkains. **Organic Chemistry**. 8. ed. Santa Barbara: Pearson Education, 2015.

BRYAN, J. C. **Introduction to Nuclear Science**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2013.

BUCKNER, F. S.; VERLINDE, C. L.; LA FLAMME, A. C.; VAN VOORHIS, W. C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, [S. l.], v. 40, n. 11, p. 2592–2597, 1996. DOI: 10.1128/AAC.40.11.2592.

CAGNOLINI, Aldo; WHITENER, Donna; JURISSON, Silvia. Comparison of the Kit Performance of Three ^{99m}Tc Myocardial Perfusion Agents. **Nuclear Medicine and**

REFERÊNCIAS

Biology, [S. l.], v. 25, n. 4, p. 435–439, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(97\)00209-6](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(97)00209-6). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969805197002096>.

CARNEIRO, Zumira A. et al. Heterobimetallic nickel(II) and palladium(II) complexes derived from S-benzyl-N- (ferrocenyl)methylenedithiocarbamate: Trypanocidal activity and interaction with Trypanosoma cruzi Old Yellow Enzyme (TcOYE). **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 180, p. 213–223, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S022352341930635X>.

CASTRO, J. A.; DIAZ DE TORANZO, E. G. Toxic effects of nifurtimox and benznidazole, two drugs used against American trypanosomiasis (Chagas' disease). **Biomedical and environmental sciences : BES**, China, v. 1, n. 1, p. 19–33, 1988.

CASTRO, José A.; DE MECCA, Maria Montalto; BARTEL, Laura C. Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). **Human & experimental toxicology**, [S. l.], v. 25, n. 8, p. 471–9, 2006. DOI: [10.1191/0960327106het653oa](https://doi.org/10.1191/0960327106het653oa).

CHAUVIÈRE, Gérard; BOUTEILLE, Bernard; ENANGA, Bertin; DE ALBUQUERQUE, Cristina; CROFT, Simon L.; DUMAS, Michel; PÉRIÉ, Jacques. Synthesis and Biological Activity of Nitro Heterocycles Analogous to Megazol, a Trypanocidal Lead. **Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 46, n. 3, p. 427–440, 2003. DOI: [10.1021/jm021030a](https://doi.org/10.1021/jm021030a). Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm021030a>.

CLARK, R. C.; REID, J. S. The analytical calculation of absorption in multifaceted crystals. **Acta Crystallographica Section A**, [S. l.], v. 51, n. 6, p. 887–897, 1995. DOI: [10.1107/S0108767395007367](https://doi.org/10.1107/S0108767395007367). Disponível em: <https://doi.org/10.1107/S0108767395007367>.

DE ALMEIDA, Andreia; OLIVEIRA, Bruno L.; CORREIA, João D. G.; SOVERAL, Graça; CASINI, Angela. Emerging protein targets for metal-based pharmaceutical agents: An update. **Coordination Chemistry Reviews**, [S. l.], v. 257, n. 19, p. 2689–2704, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.01.031>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001085451300026X>.

DIAS, Luiz C.; DESSOY, Marco A.; SILVA, Jean Jerley N.; THIEMANN, Otavio H.; OLIVA, Glaucius; ANDRICOPULO, Adriano D. **Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos** Química Nova sciELO, , 2009.

DÍAZ-ORTIZ, Á.; PRIETO, P.; DE LA HOZ, A. A Critical Overview on the Effect of Microwave Irradiation in Organic Synthesis. **The Chemical Record**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 85–97, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/tcr.201800059>. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/tcr.201800059>.

DIAZ DE TORANZO, E. G.; CASTRO, J. A.; FRANKE DE CAZZULO, B. M.; CAZZULO, J. J. Interaction of benznidazole reactive metabolites with nuclear and kinetoplastic DNA, proteins and lipids from Trypanosoma cruzi. **Experientia**, Switzerland,

REFERÊNCIAS

v. 44, n. 10, p. 880–881, 1988. DOI: 10.1007/bf01941187.

DOBIÁS, L.; CERNÁ, M.; RÖSSNER, P.; SRÁM, R. Genotoxicity and carcinogenicity of metronidazole. **Mutation research**, Netherlands, v. 317, n. 3, p. 177–194, 1994.

DOCAMPO, R.; MORENO, S. N.; STOPPANI, A. O.; LEON, W.; CRUZ, F. S.; VILLALTA, F.; MUNIZ, R. F. Mechanism of nifurtimox toxicity in different forms of *Trypanosoma cruzi*. **Biochemical pharmacology**, England, v. 30, n. 14, p. 1947–1951, 1981. DOI: 10.1016/0006-2952(81)90204-5.

DOCAMPO, R.; STOPPANI, A. O. Generation of superoxide anion and hydrogen peroxide induced by nifurtimox in *Trypanosoma cruzi*. **Archives of biochemistry and biophysics**, United States, v. 197, n. 1, p. 317–321, 1979. DOI: 10.1016/0003-9861(79)90251-0.

DOLOMANOV, Oleg V; BOURHIS, Luc J.; GILDEA, Richard J.; HOWARD, Judith A. K.; PUSCHMANN, Horst. OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. **Journal of Applied Crystallography**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 339–341, 2009. DOI: 10.1107/S0021889808042726. Disponível em: <https://doi.org/10.1107/S0021889808042726>.

DUNNING, Thom H.; HAY, P. Jeffrey. Gaussian Basis Sets for Molecular Calculations. In: Schaefer H.F. (eds) **Methods of Electronic Structure Theory**. In: SPRINGER (org.). **Methods of Electronic Structure Theory. vol.3**. Boston, MA. p. 1–27. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0887-5_1. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4757-0887-5_1#citeas.

ENANGA, Bertin; ARIYANAYAGAM, Mark R.; STEWART, Mhairi L.; BARRETT, Michael P. Activity of megalzol, a trypanocidal nitroimidazole, is associated with DNA damage. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, [S. l.], v. 47, n. 10, p. 3368–3370, 2003. DOI: 10.1128/aac.47.10.3368-3370.2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14506061>.

EPPS, D. E.; RAUB, T. J.; CAIOLFA, V.; CHIARI, A.; ZAMAI, M. Determination of the affinity of drugs toward serum albumin by measurement of the quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence of the protein. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, England, v. 51, n. 1, p. 41–48, 1999. DOI: 10.1211/0022357991772079.

FDA. Cumulative Supplement Number 07 : July 2021. In: **Prescription and Over-the-Counter Drug Product List**. 41. ed. [s.l.: s.n.]. p. 10. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/151492/download>.

FRAJLI, Lee K.; HAYES, David M.; WERNER, T. C. Static and dynamic fluorescence quenching experiments for the physical chemistry laboratory. **Journal of Chemical Education**, [S. l.], v. 69, n. 5, p. 424, 1992. DOI: 10.1021/ed069p424. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ed069p424>.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 09** Wallington CT Gaussian, , 2013.

GABA, Monika; DHINGRA, Neelima. **Microwave Chemistry: General Features and**

REFERÊNCIAS

Applications. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, [S. l.], v. 45, n. 2, p. 175–183, 2010.

GÓMEZ, Alejandra et al. Synthesis of mono/dinuclear rhenium(i) tricarbonyl substituted with 4-mercaptopyridine related ligands: spectral and theoretical evidence of thiolate/thione interconversion. **New Journal of Chemistry**, [S. l.], v. 44, n. 33, p. 14171–14179, 2020. DOI: 10.1039/D0NJ02328K. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/D0NJ02328K>.

GONÇALVES, Ana C. R. et al. Pt(II), Pd(II) and Au(III) complexes with a thiosemicarbazone derived from diacetylmonooxime: Structural analysis, trypanocidal activity, cytotoxicity and first insight into the antiparasitic mechanism of action. **European journal of medicinal chemistry**, France, v. 141, p. 615–631, 2017. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.10.013.

GRIFFITHS, D. Vaughan; CHEONG, Yuen-Ki; DUNCANSON, Philip; MOTEVALLI, Majid. Studies of the reactions of tripodal pyridine-containing ligands with Re(CO)₅Br leading to rheniumtricarbonyl complexes with potential biomedical applications. **Dalton Transactions**, [S. l.], v. 40, n. 39, p. 10215–10228, 2011. DOI: 10.1039/C1DT11020A. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/C1DT11020A>.

GUO, W.; HINKLE, G. H.; LEE, R. J. 99mTc-HYNIC-folate: a novel receptor-based targeted radiopharmaceutical for tumor imaging. **Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine**, United States, v. 40, n. 9, p. 1563–1569, 1999.

HAY, P. Jeffrey; WADT, Willard R. *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals. **The Journal of Chemical Physics**, [S. l.], v. 82, n. 1, p. 299–310, 1985. DOI: 10.1063/1.448975. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.448975>.

HENDERSON, William; EVANS, Cameron. Electrospray mass spectrometric analysis of transition-metal halide complexes. **Inorganica Chimica Acta**, [S. l.], v. 294, n. 2, p. 183–192, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0020-1693\(99\)00212-1](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(99)00212-1). Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020169399002121>.

HORI, Hisao; ISHIHARA, Jun; KOIKE, Kazuhide; TAKEUCHI, Koji; IBUSUKI, Takashi; ISHITANI, Osamu. Electrospray Mass Spectrometric Detection of Neutral Rhenium Bipyridine Complexes Using NaNO₃ as an Ionization Agent. **Chemistry Letters**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 273–274, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1246/cl.1997.273>.

HOUSECROFT, Catherine E.; SHARPE, Alan G. **Inorganic Chemistry**. 2. ed. Harlow: Pearson Education, 2005.

HU, Yang; LI, Cui-Yun; WANG, Xiao-Ming; YANG, Yong-Hua; ZHU, Hai-Liang. 1,3,4-Thiadiazole: Synthesis, Reactions, and Applications in Medicinal, Agricultural, and Materials Chemistry. **Chemical Reviews**, [S. l.], v. 114, n. 10, p. 5572–5610, 2014. DOI: 10.1021/cr400131u. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/cr400131u>.

KONKANKIT, Chilaluck C.; MARKER, Sierra C.; KNOFF, Kevin M.; WILSON, Justin J. Anticancer activity of complexes of the third row transition metals, rhenium, osmium, and iridium. **Dalton Transactions**, [S. l.], v. 47, n. 30, p. 9934–9974, 2018. DOI:

REFERÊNCIAS

10.1039/C8DT01858H. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/C8DT01858H>.

KOUTENTIS, P. A.; CONSTANTINIDES, C. P. 5.10 - 1,3,4-Thiadiazoles. *In*: KATRITZKY, Alan R.; RAMSDEN, Christopher A.; SCRIVEN, Eric F. V; TAYLOR, Richard J. K. B. T. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry I. I. I.* (org.). Oxford: Elsevier, 2008. p. 567–605. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-008044992-0.00510-1>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780080449920005101>.

KUBATA, Bruno Kilunga et al. A Key Role for Old Yellow Enzyme in the Metabolism of Drugs by *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Experimental Medicine**, [S. l.], v. 196, n. 9, p. 1241–1252, 2002. DOI: 10.1084/jem.20020885. Disponível em: <https://doi.org/10.1084/jem.20020885>.

KUNSTLER, Jens-Uwe et al. Novel ^{99m}Tc '4 + 1' peptide conjugates: Tuning the biodistribution by variation of coligands. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 45, n. 9, p. 3645–3655, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.05.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523410003491>.

LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of fluorescence Spectroscopy**. 2. ed. New York: Kluwer/Plenum, 1999.

LASKOWSKI, Roman A.; SWINDELLS, Mark B. LigPlot+: Multiple Ligand–Protein Interaction Diagrams for Drug Discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [S. l.], v. 51, n. 10, p. 2778–2786, 2011. DOI: 10.1021/ci200227u. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ci200227u>.

LECINA, Joan; PALACIOS, Òscar; ATRIAN, Sílvia; CAPDEVILA, Mercè; SUADES, Joan. Rhenium and technetium tricarbonyl, $\{\text{M}(\text{CO})_3\}^+$ (M = Tc, Re), binding to mammalian metallothioneins: new insights into chemical and radiopharmaceutical implications. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 465–474, 2015. DOI: 10.1007/s00775-014-1226-2. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00775-014-1226-2>.

LEITES, H. B.; DAMASCENO, F. S.; SILBER, A. M.; MENDONÇA, R. Z. ALBURQUERQUE, C. N. Synthesis and evaluation trypanosomicidal activity of new derivatives of megalol. **Pharmaceutical and Biological Evaluations**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 40–51, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.26510/2394-0859.pbe.2018.05>.

LEITES, Helena Braga. **Síntese de derivados do megalol: um potente fármaco antiparasitário**. 2018. Universidade de São Paulo, [S. l.], 2018. DOI: <https://doi.org/10.11606/D.87.2019.tde-13112019-111903>. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-13112019-111903/pt-br.php>.

LIDANI, Kárita Cláudia Freitas; ANDRADE, Fabiana Antunes; BAVIA, Lorena; DAMASCENO, Flávia Silva; BELTRAME, Marcia Holsbach; MESSIAS-REASON, Iara J.; SANDRI, Thaisa Lucas. Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem. **Frontiers in public health**, [S. l.], v. 7, p. 166, 2019. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00166. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31312626>.

LIPOWSKA, Malgorzata; JARKAS, Nashwa; KLENC, Jeffrey; VOLL, Ronald; GOODMAN, Mark; TAYLOR, Andrew. Radiosynthesis of $\text{Re}(\text{CO})_3(18\text{F-FEDA})$, a

REFERÊNCIAS

structural analog of $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{FEDA})$ and new PET tracer for renal imaging and renal function assessment. **Journal of Nuclear Medicine**, [S. l.], v. 57, n. supplement 2, p. 1066 LP – 1066, 2016. Disponível em: http://jnm.snmjournals.org/content/57/supplement_2/1066.abstract.

LIPOWSKA, Malgorzata; KLENC, Jeffrey; TAYLOR, Andrew T.; MARZILLI, Luigi G. fac-(^{99m}Tc)/Re-tricarbonyl complexes with tridentate aminocarboxyphosphonate ligands: suitability of the phosphonate group in chelate ligand design of new imaging agents. **Inorganica chimica acta**, [S. l.], v. 486, p. 529–537, 2019. DOI: 10.1016/j.ica.2018.11.012.

MAYA, Juan Diego; BOLLO, Soledad; NUÑEZ-VERGARA, Luis J.; SQUELLA, Juan A.; REPETTO, Yolanda; MORELLO, Antonio; PÉRIÉ, Jacques; CHAUVIÈRE, Gérard. Trypanosoma cruzi: effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofuran derivatives. **Biochemical pharmacology**, England, v. 65, n. 6, p. 999–1006, 2003. DOI: 10.1016/s0006-2952(02)01663-5.

MAYA, Juan Diego; CASSELS, Bruce K.; ITURRIAGA-VÁSQUEZ, Patricio; FERREIRA, Jorge; FAÜNDEZ, Mario; GALANTI, Norbel; FERREIRA, Arturo; MORELLO, Antonio. Mode of action of natural and synthetic drugs against Trypanosoma cruzi and their interaction with the mammalian host. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, [S. l.], v. 146, n. 4, p. 601–620, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.03.004>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1095643306001735>.

MEAH, Younus; MASSEY, Vincent. Old Yellow Enzyme: Stepwise reduction of nitro-olefins and catalysis of aci-nitro tautomerization. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 97, n. 20, p. 10733 LP – 10738, 2000. DOI: 10.1073/pnas.190345597. Disponível em: <http://www.pnas.org/content/97/20/10733.abstract>.

MEOLA, Giuseppe; BRABAND, Henrik; JORDI, Sara; FOX, Thomas; BLACQUE, Olivier; SPINGLER, Bernhard; ALBERTO, Roger. Structure and reactivities of rhenium and technetium bis-arene sandwich complexes $[\text{M}(\eta^6\text{-arene})_2]^+$. **Dalton Transactions**, [S. l.], v. 46, n. 42, p. 14631–14637, 2017. DOI: 10.1039/C7DT02072D. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/C7DT02072D>.

MITAL, Alka. **Synthetic Nitroimidazoles: Biological Activities and Mutagenicity Relationships** *Scientia Pharmaceutica*, 2009. DOI: 10.3797/scipharm.0907-14.

MORENO, S. N.; DOCAMPO, R.; MASON, R. P.; LEON, W.; STOPPANI, A. O. Different behaviors of benzimidazole as free radical generator with mammalian and Trypanosoma cruzi microsomal preparations. **Archives of biochemistry and biophysics**, United States, v. 218, n. 2, p. 585–591, 1982. DOI: 10.1016/0003-9861(82)90383-6.

MOSHAFI, Mohammad Hassan et al. 5-Nitroimidazole-based 1,3,4-thiadiazoles: heterocyclic analogs of metronidazole as anti-Helicobacter pylori agents. **Archiv der Pharmazie**, Germany, v. 344, n. 3, p. 178–183, 2011. DOI: 10.1002/ardp.201000013.

MOSMANN, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**,

REFERÊNCIAS

[S. l.], v. 65, n. 1, p. 55–63, 1983. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4). Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022175983903034>.

MURAKAMI, Mário T.; RODRIGUES, Nathalia C.; GAVA, Lisandra M.; HONORATO, Rodrigo V; CANDURI, Fernanda; BARBOSA, Leandro R. S.; OLIVA, Glaucius; BORGES, Júlio C. Structural studies of the Trypanosoma cruzi Old Yellow Enzyme: Insights into enzyme dynamics and specificity. **Biophysical Chemistry**, [S. l.], v. 184, p. 44–53, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2013.08.004>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301462213001397>.

NAGLE, Advait S. et al. Recent developments in drug discovery for leishmaniasis and human African trypanosomiasis. **Chemical reviews**, United States, v. 114, n. 22, p. 11305–11347, 2014. DOI: 10.1021/cr500365f.

NAVARRO, Maribel; GABBIANI, Chiara; MESSORI, Luigi; GAMBINO, Dinorah. Metal-based drugs for malaria, trypanosomiasis and leishmaniasis: recent achievements and perspectives. **Drug discovery today**, England, v. 15, n. 23–24, p. 1070–1078, 2010. DOI: 10.1016/j.drudis.2010.10.005.

NESSLANY, Fabrice; BRUGIER, Serge; MOURIÈS, Marie-Annick; LE CURIEUX, Frank; MARZIN, Daniel. In vitro and in vivo chromosomal aberrations induced by megalozol. **Mutation research**, Netherlands, v. 560, n. 2, p. 147–158, 2004. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2004.02.013.

OLIVEIRA, Maria de Fatima; NAGAO-DIAS, Aparecida T.; DE PONTES, Vânia Maria Oliveira; DE SOUZA JÚNIOR, Alcidésio Sales; COELHO, Helena Lutécia Luna; COELHO, Ivo Castelo Branco. Tratamento Etiológico da Doença de Chagas no Brasil. **Revista da Patologia Tropical**, [S. l.], v. 37, n. 3, p. 209–228, 2008.

OMS. **Guidelines for the Diagnosis and treatment of Chagas Disease**, 2018. Disponível em: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/49653/9789275120439_eng.pdf.

PATTERSON, Stephen; WYLLIE, Susan. Nitro drugs for the treatment of trypanosomatid diseases: past, present, and future prospects. **Trends in Parasitology**, [S. l.], v. 30, n. 6, p. 289–298, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.04.003>. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492214000579>.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S. Introduction to Spectroscopy. In: **Introduction to Spectroscopy**. 3. ed. Bellingham, Washington: Thomson Learning Inc., 2001. p. 314–323.

PÉREZ-MOLINA, José A.; MOLINA, Israel. Chagas disease. **The Lancet**, [S. l.], v. 391, n. 10115, p. 82–94, 2018. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31612-4.

PINHEIRO, Eloan; BRUM-SOARES, Lucia; REIS, Renata; CUBIDES, Juan-Carlos. Chagas disease: review of needs, neglect, and obstacles to treatment access in Latin America. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 50, p. 296–300, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822017000300296&nrm=iso.

REFERÊNCIAS

POLLASTRI, Michael P. Fexinidazole: A New Drug for African Sleeping Sickness on the Horizon. **Trends in parasitology**, [S. l.], v. 34, n. 3, p. 178–179, 2018. DOI: 10.1016/j.pt.2017.12.002.

PRITCHARD, Benjamin P.; ALTARAWY, Doaa; DIDIER, Brett; GIBSON, Tara D.; WINDUS, Theresa L. New Basis Set Exchange: An Open, Up-to-Date Resource for the Molecular Sciences Community. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [S. l.], v. 59, n. 11, p. 4814–4820, 2019. DOI: 10.1021/acs.jcim.9b00725. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00725>.

RASSI, A.; RASSI, A.; LITTLE, W. C. Chagas' heart disease. **Clinical cardiology**, [S. l.], v. 23, n. 12, p. 883–9, 2000. DOI: 10.1002/clc.4960231205.

RAWEL, Harshadrai M.; FREY, Simone K.; MEIDTNER, Karina; KROLL, Jürgen; SCHWEIGERT, Florian J. Determining the binding affinities of phenolic compounds to proteins by quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence. **Molecular nutrition & food research**, Germany, v. 50, n. 8, p. 705–713, 2006. DOI: 10.1002/mnfr.200600013.

RETTONDIN, Andressa R. et al. Gold(III) complexes with ONS-Tridentate thiosemicarbazones: Toward selective trypanocidal drugs. **European journal of medicinal chemistry**, France, v. 120, p. 217–226, 2016. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.05.003.

RIBEIRO, Antonio Luiz Pinho; ROCHA, Manoel Otávio da Costa. Forma indeterminada da doença de Chagas: considerações acerca do diagnóstico e do prognóstico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 31, n. 3, p. 301–314, 1998. DOI: 10.1590/s0037-86821998000300008.

RIDDICK, John A.; BUNGER, William B.; SAKANO, Theodore K. **Organic Solvents Physical Properties and Methods of Purification**. 4. ed. Wiley. v. II

Rigaku Oxford Diffraction., 2015.

ROMANHA, Alvaro J.; ALVES, Rosana O.; MURTA, Silvane M. F.; SILVA, João S.; ROPERT, Catherine; GAZZINELLI, Ricardo T. Experimental Chemotherapy against *Trypanosoma cruzi* Infection: Essential Role of Endogenous Interferon- γ in Mediating Parasitologic Cure. **The Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 186, n. 6, p. 823–828, 2002. DOI: 10.1086/342415. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/342415>.

SALOMÃO, K.; DE SOUZA, E. M.; CARVALHO, S. A.; DA SILVA, E. F.; FRAGA, C. A. M.; BARBOSA, H. S.; DE CASTRO, S. L. In Vitro and In Vivo Activities of 1,3,4-Thiadiazole-2-Arylhydrazone Derivatives of Megazol against Trypanosoma cruzi. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [S. l.], v. 54, n. 5, p. 2023 LP – 2031, 2010. DOI: 10.1128/AAC.01241-09. Disponível em: <http://aac.asm.org/content/54/5/2023.abstract>.

SHELDRICK, George M. {it SHELXT} {--} Integrated space-group and crystal-structure determination. **Acta Crystallographica Section A**, [S. l.], v. 71, n. 1, p. 3–8, 2015. a. DOI: 10.1107/S2053273314026370. Disponível em: <https://doi.org/10.1107/S2053273314026370>.

SHELDRICK, George M. Crystal structure refinement with {it SHELXL}. **Acta**

REFERÊNCIAS

Crystallographica Section C, [S. l.], v. 71, n. 1, p. 3–8, 2015. b. DOI: 10.1107/S2053229614024218. Disponível em: <https://doi.org/10.1107/S2053229614024218>.

SHIKANAI-YASUDA, Maria Aparecida; CARVALHO, Noemia Barbosa. Oral transmission of Chagas disease. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, [S. l.], v. 54, n. 6, p. 845–52, 2012. DOI: 10.1093/cid/cir956.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. Spectrometric Identification of Organic Compounds. *In: Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley ed. Danver, MA. p. 150–155.

SOUZA, B. L.; FAUSTINO, L. A.; PRADO, F. S.; SAMPAIO, R. N.; MAIA, P. I. S.; HORA MACHADO, A. E.; PATROCINIO, A. O. **Spectroscopic characterization of a new Re(I) tricarbonyl complex with a thiosemicarbazone derivative: towards sensing and electrocatalytic applications**. Dalton Trans., v. 49, p. 16368-16379, 2020. DOI: 10.1039/D0DT01078B.

SPEK, Anthony L. Structure validation in chemical crystallography. **Acta Crystallographica Section D**, [S. l.], v. 65, n. 2, p. 148–155, 2009. DOI: 10.1107/S090744490804362X. Disponível em: <https://doi.org/10.1107/S090744490804362X>.

STIERAND, Katrin; RAREY, Matthias. Drawing the PDB: Protein–Ligand Complexes in Two Dimensions. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 1, n. 9, p. 540–545, 2010. DOI: 10.1021/ml100164p. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ml100164p>.

TAKANO, Yu; HOUK, K. N. Benchmarking the Conductor-like Polarizable Continuum Model (CPCM) for Aqueous Solvation Free Energies of Neutral and Ionic Organic Molecules. **Journal of Chemical Theory and Computation**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 70–77, 2005. DOI: 10.1021/ct049977a. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ct049977a>.

TEMPERTON, N. J.; WILKINSON, S. R.; MEYER, D. J.; KELLY, J. M. Overexpression of superoxide dismutase in *Trypanosoma cruzi* results in increased sensitivity to the trypanocidal agents gentian violet and benznidazole. **Molecular and biochemical parasitology**, Netherlands, v. 96, n. 1–2, p. 167–176, 1998. DOI: 10.1016/s0166-6851(98)00127-3.

TROCHINE, Andrea; CREEK, Darren J.; FARAL-TELLO, Paula; BARRETT, Michael P.; ROBELLO, Carlos. Benznidazole Biotransformation and Multiple Targets in *Trypanosoma cruzi* Revealed by Metabolomics. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. e2844, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002844>.

TURRENS, J. F.; WATTS, B. P. Jr; ZHONG, L.; DOCAMPO, R. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* and *T. brucei* NADH fumarate reductase by benznidazole and anthelmintic imidazole derivatives. **Molecular and biochemical parasitology**, Netherlands, v. 82, n. 1, p. 125–129, 1996. DOI: 10.1016/0166-6851(96)02722-3.

URBINA, Julio A. Chemotherapy of Chagas disease. **Current pharmaceutical**

REFERÊNCIAS

design, United Arab Emirates, v. 8, n. 4, p. 287–295, 2002. DOI: 10.2174/1381612023396177.

VAN RENSBURG, A. J. An investigation into the differences in uptake in various tissue types between cardiolite and myotec in the rat model. *In: JOINT SAAPMB/SARPA AUTUMN SCHOOL AND CONGRESS, 11-14 MAY 1999, MOUNT AMANZI LODGE, HARTBEESPOORT PROGRAMME AND ABSTRACTS 1999, South Africa. Anais [...]. South Africa p. 90. Disponível em: http://inis.iaea.org/search/search.aspx?orig_q=RN:32067613.*

VERDONK, Marcel L.; COLE, Jason C.; HARTSHORN, Michael J.; MURRAY, Christopher W.; TAYLOR, Richard D. Improved protein-ligand docking using GOLD. **Proteins**, United States, v. 52, n. 4, p. 609–623, 2003. DOI: 10.1002/prot.10465.

VIODÉ, C.; BETTACHE, N.; CENAS, N.; KRAUTH-SIEGEL, R. L.; CHAUVIÈRE, G.; BAKALARA, N.; PÉRIÉ, J. Enzymatic reduction studies of nitroheterocycles. **Biochemical pharmacology**, England, v. 57, n. 5, p. 549–557, 1999. DOI: 10.1016/s0006-2952(98)00324-4.

WADT, Willard R.; HAY, P. Jeffrey. *Ab initio* effective core potentials for molecular calculations. Potentials for main group elements Na to Bi. **The Journal of Chemical Physics**, [S. l.], v. 82, n. 1, p. 284–298, 1985. DOI: 10.1063/1.448800. Disponível em: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.448800>.

WILLIAMS, Richard E.; BRUCE, Neil C. 'New uses for an Old Enzyme'--the Old Yellow Enzyme family of flavoenzymes. **Microbiology (Reading, England)**, England, v. 148, n. Pt 6, p. 1607–1614, 2002. DOI: 10.1099/00221287-148-6-1607.

XU, Xiaoping; ZHANG, Jianping; HU, Silong; HE, Simin; BAO, Xiao; MA, Guang; LUO, Jianmin; CHENG, Jingyi; ZHANG, Yingjian. 99mTc-labeling and evaluation of a HYNIC modified small-molecular inhibitor of prostate-specific membrane antigen. **Nuclear Medicine and Biology**, [S. l.], v. 48, p. 69–75, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2017.01.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969805116301986>.

YAMAGUCHI, Keishi; OKAMOTO, Naoki; TOKUOKA, Keiji; SUGIYAMA, Shigeru; UCHIYAMA, Nahoko; MATSUMURA, Hiroyoshi; INAKA, Koji; URADE, Yoshihiro; INOUE, Tsuyoshi. Structure of the inhibitor complex of old yellow enzyme from *Trypanosoma cruzi*. **Journal of synchrotron radiation**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 66–69, 2011. DOI: 10.1107/S0909049510033595.

YANAI, Takeshi; TEW, David P.; HANDY, Nicholas C. A new hybrid exchange–correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). **Chemical Physics Letters**, [S. l.], v. 393, n. 1, p. 51–57, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2004.06.011>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009261404008620>.

ZAKI, Mehvash; ARJMAND, Farukh; TABASSUM, Sartaj. Current and future potential of metallo drugs: Revisiting DNA-binding of metal containing molecules and their diverse mechanism of action. **Inorganica Chimica Acta**, [S. l.], v. 444, p. 1–22, 2016. DOI:

REFERÊNCIAS

<https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.01.006>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020169316000074>.

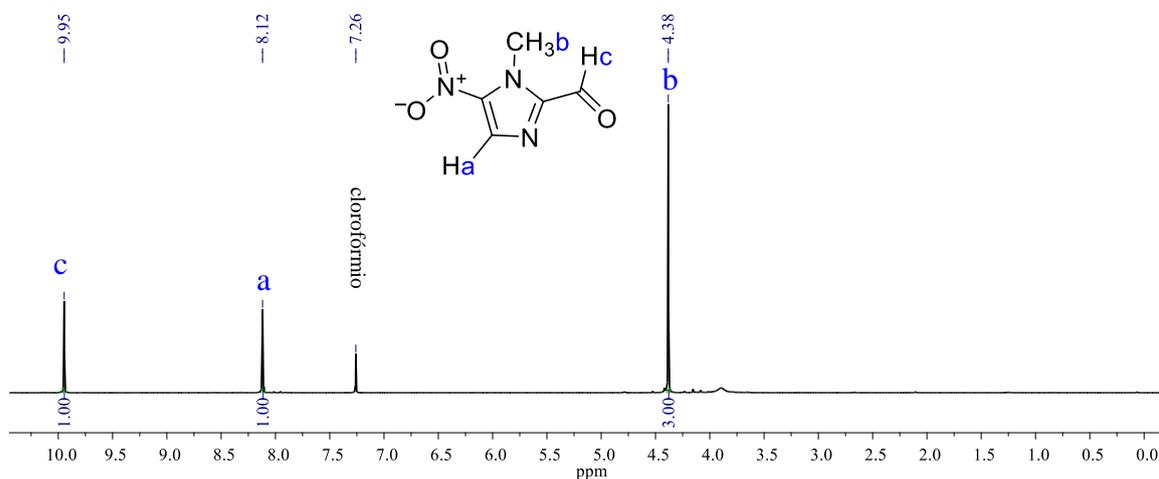
ZHAO, Yan; TRUHLAR, Donald G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. **Theoretical Chemistry Accounts**, [S. l.], v. 120, n. 1, p. 215–241, 2008. DOI: 10.1007/s00214-007-0310-x. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x>.

ZOBI, Fabio; SPINGLER, Bernhard; FOX, Thomas; ALBERTO, Roger. Toward Novel DNA Binding Metal Complexes: Structure and Basic Kinetic Data of $[M(9MeG)_2(CH_3OH)(CO)_3]^+$ (M = ^{99}Tc , Re). **Inorganic Chemistry**, [S. l.], v. 42, n. 9, p. 2818–2820, 2003. DOI: 10.1021/ic030028m. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ic030028m>.

APÊNDICE

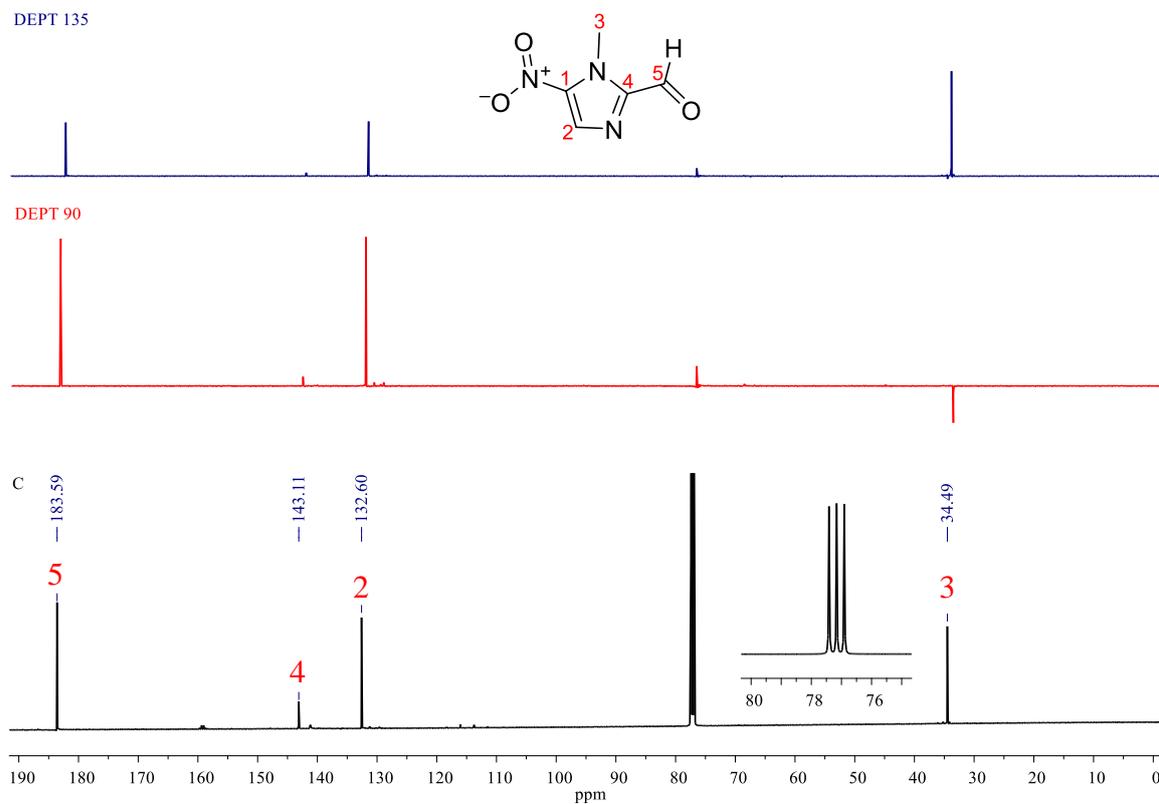
APÊNDICE A – ESPECTROS DE RMN

Figura 1A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto N12CA em clorofórmio- d_1 (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

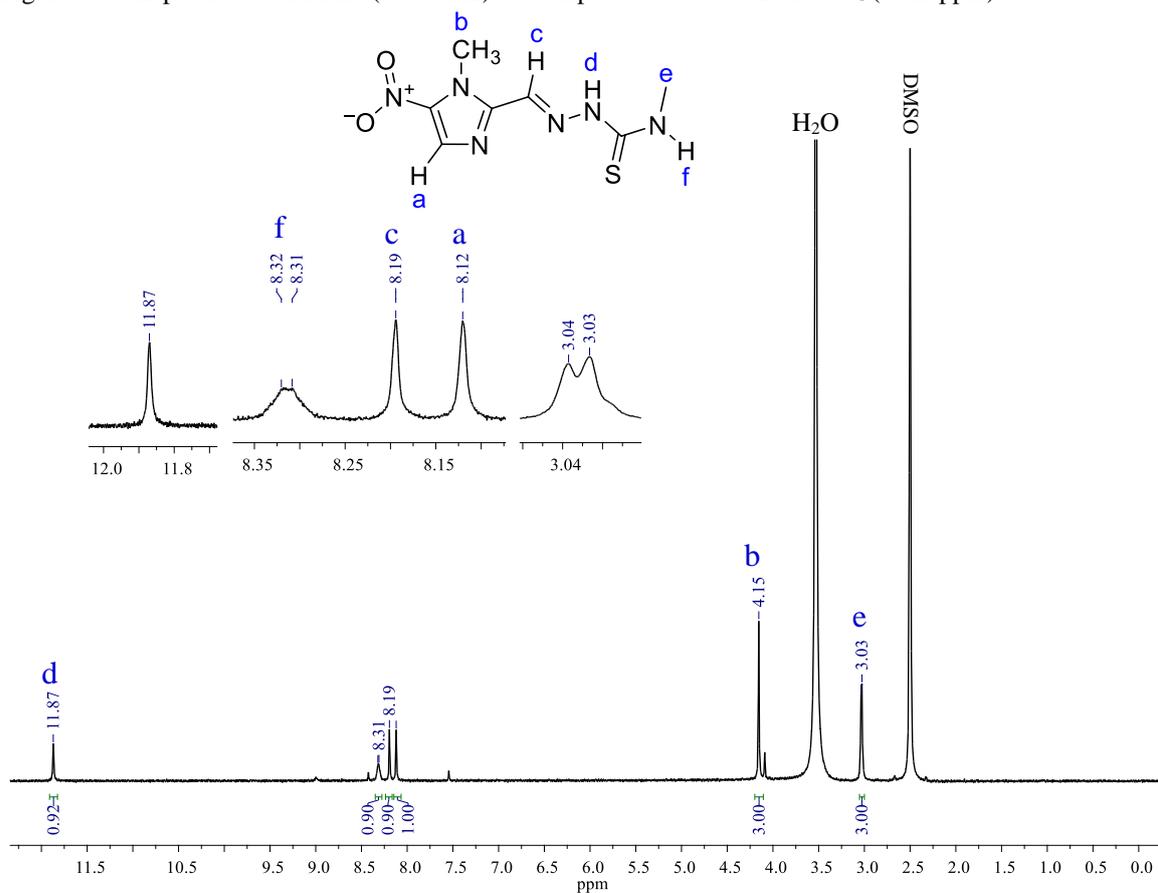
Figura 2A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto N12CA em clorofórmio- d_1 (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

APÊNDICE

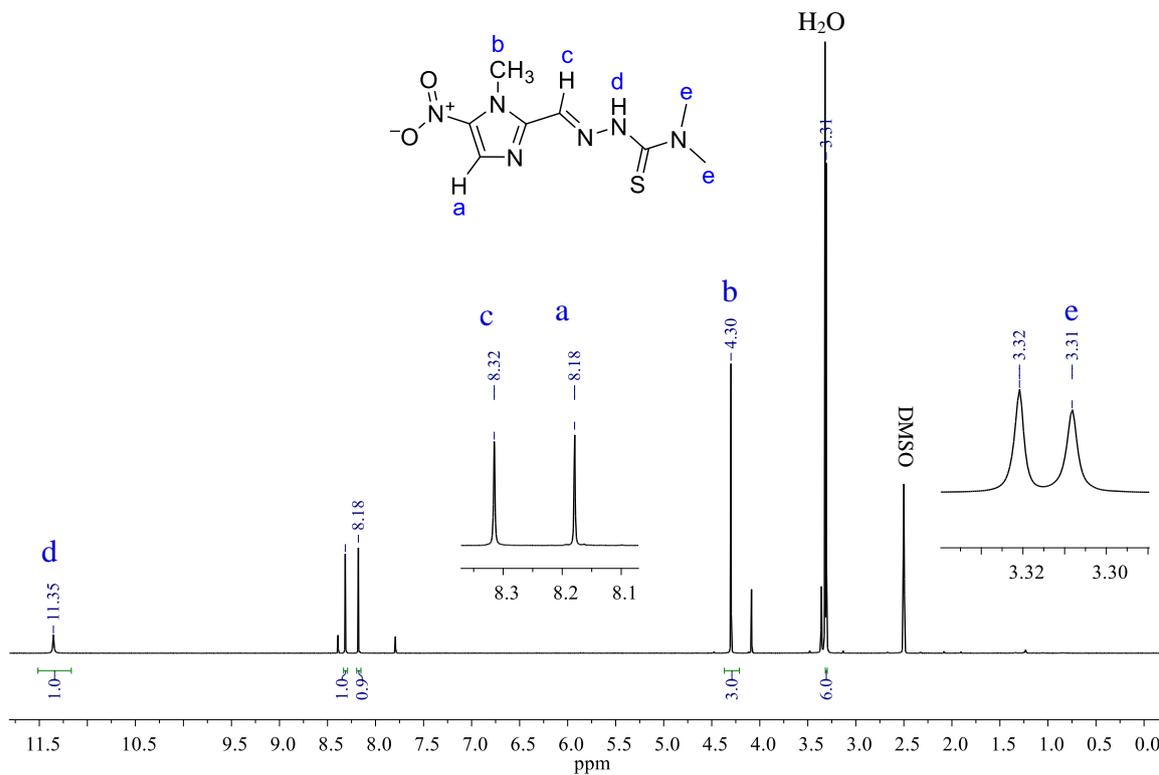
Figura 3A – Espectro de ^1H RMN (400 MHz) do composto $\text{tsc}^{\text{H,Me}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

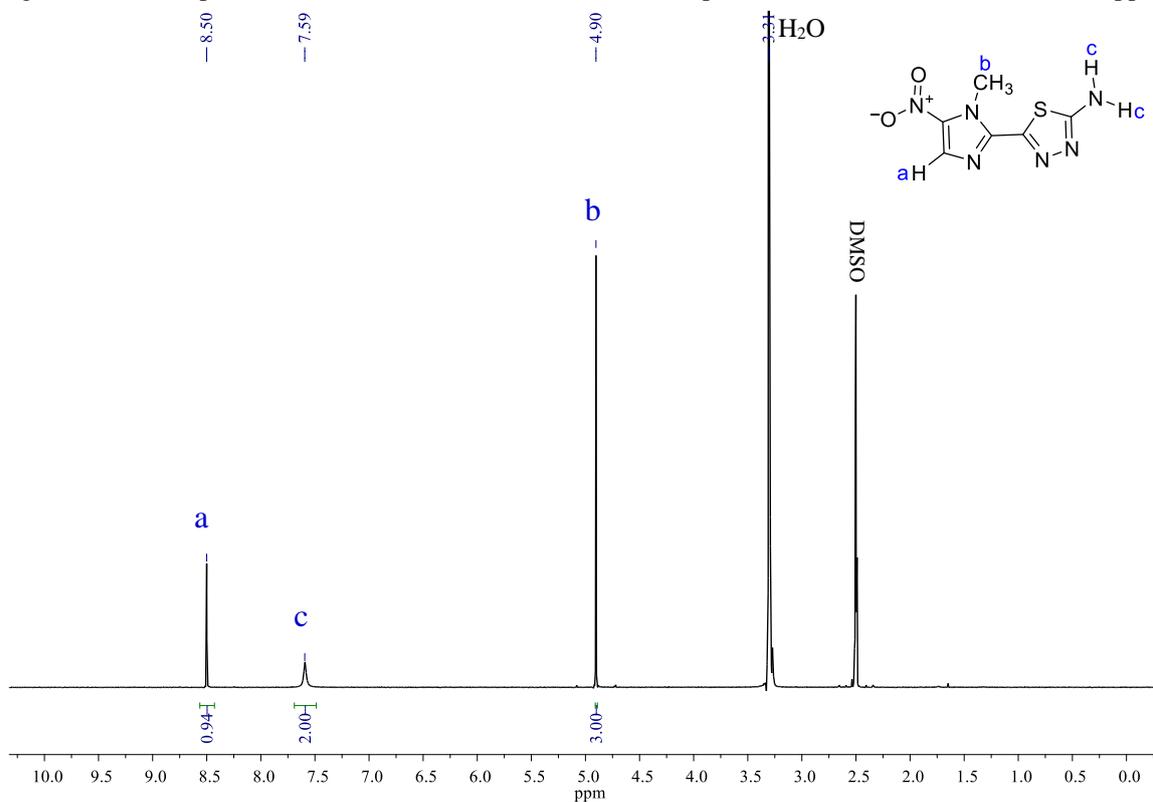
APÊNDICE

Figura 4A – Espectro de ^1H RMN (400 MHz) do composto $\text{tsc}^{\text{Me,Me}}$ em $\text{DMSO}-d_6$ (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

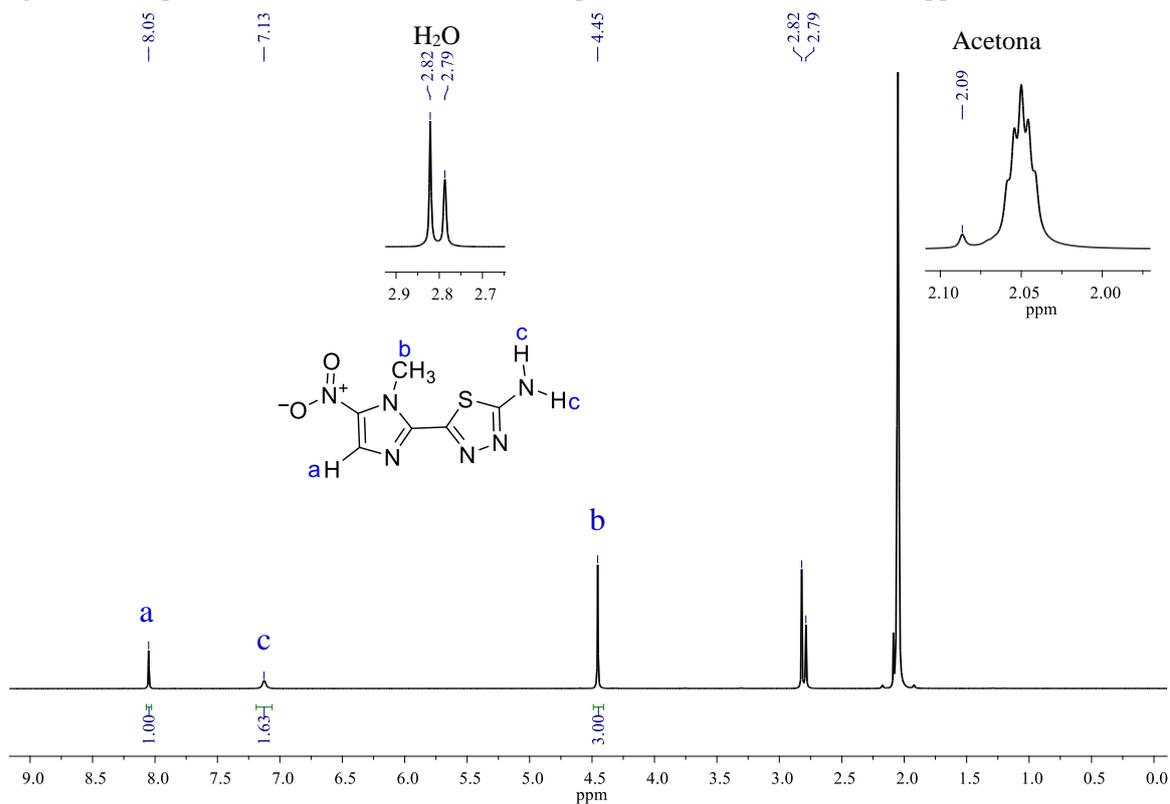
Figura 5A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em $\text{DMSO}-d_6$ (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

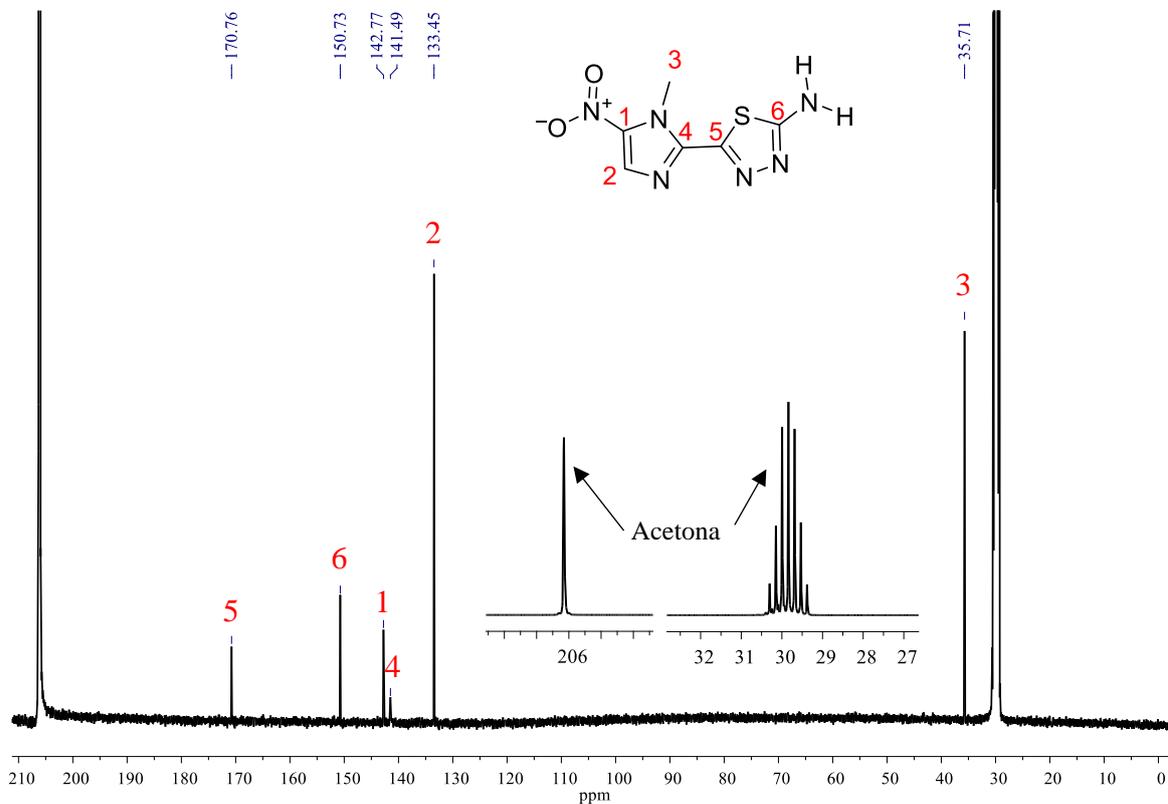
APÊNDICE

Figura 6A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

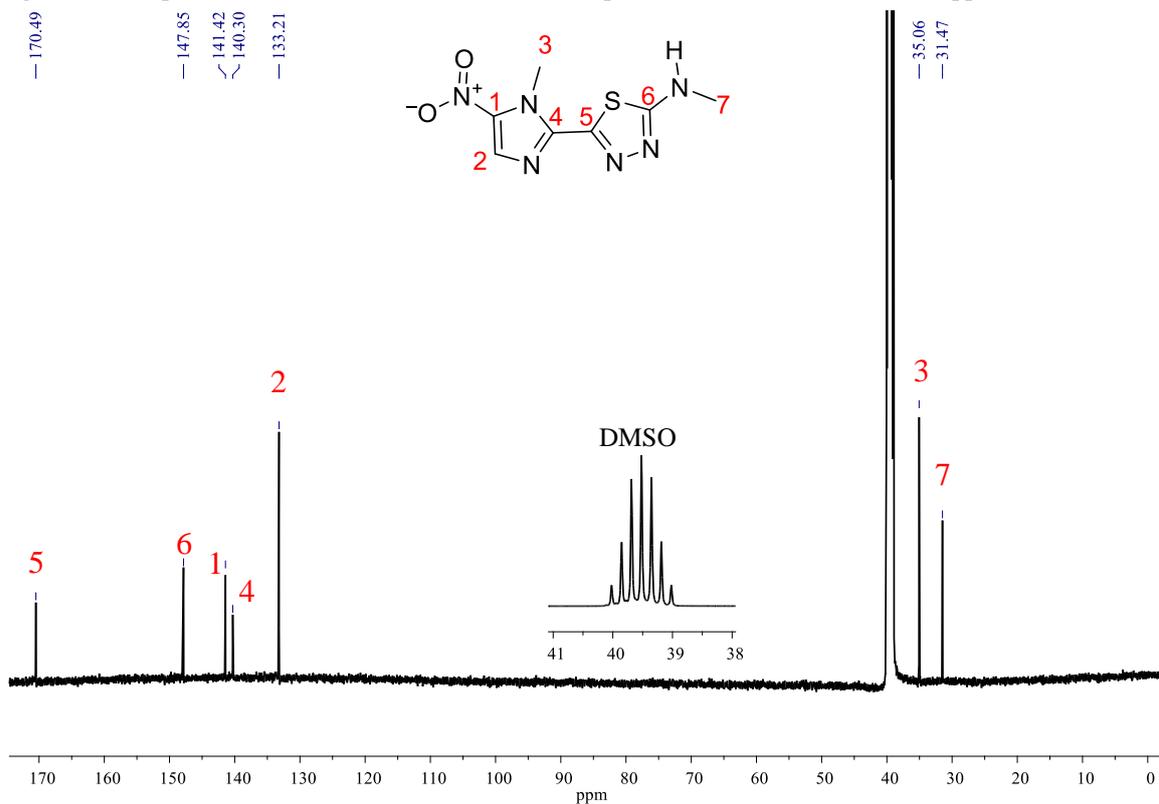
Figura 7A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,H}}$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

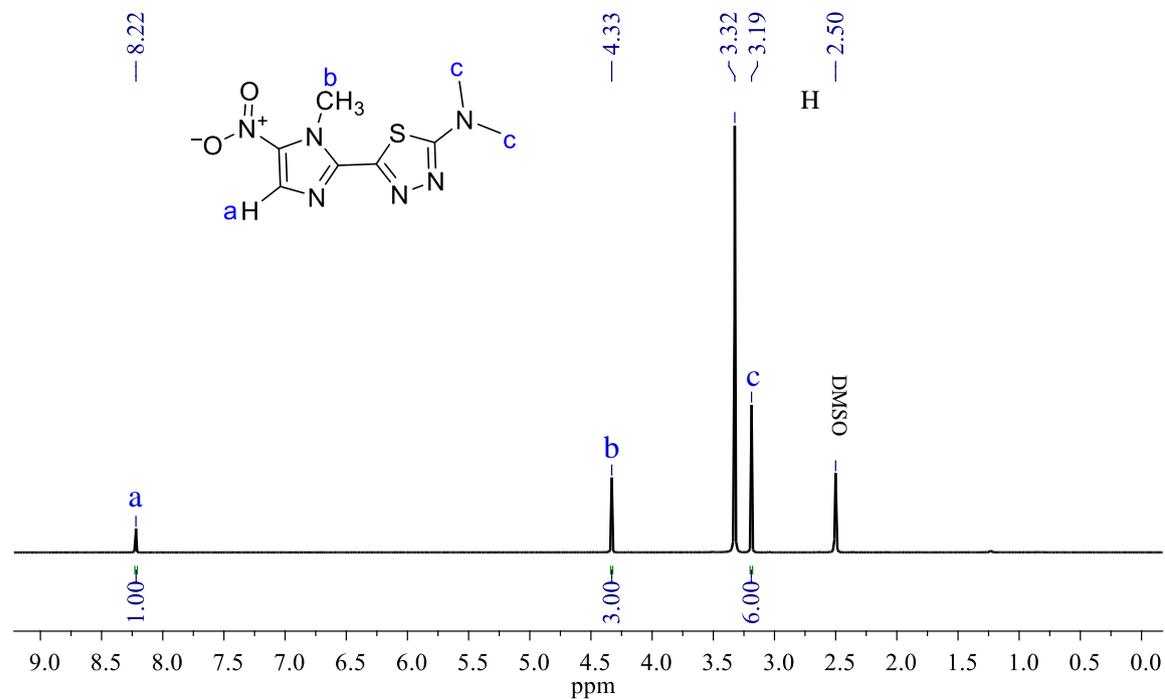
APÊNDICE

Figura 8A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto $\text{L}^{\text{H,Me}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

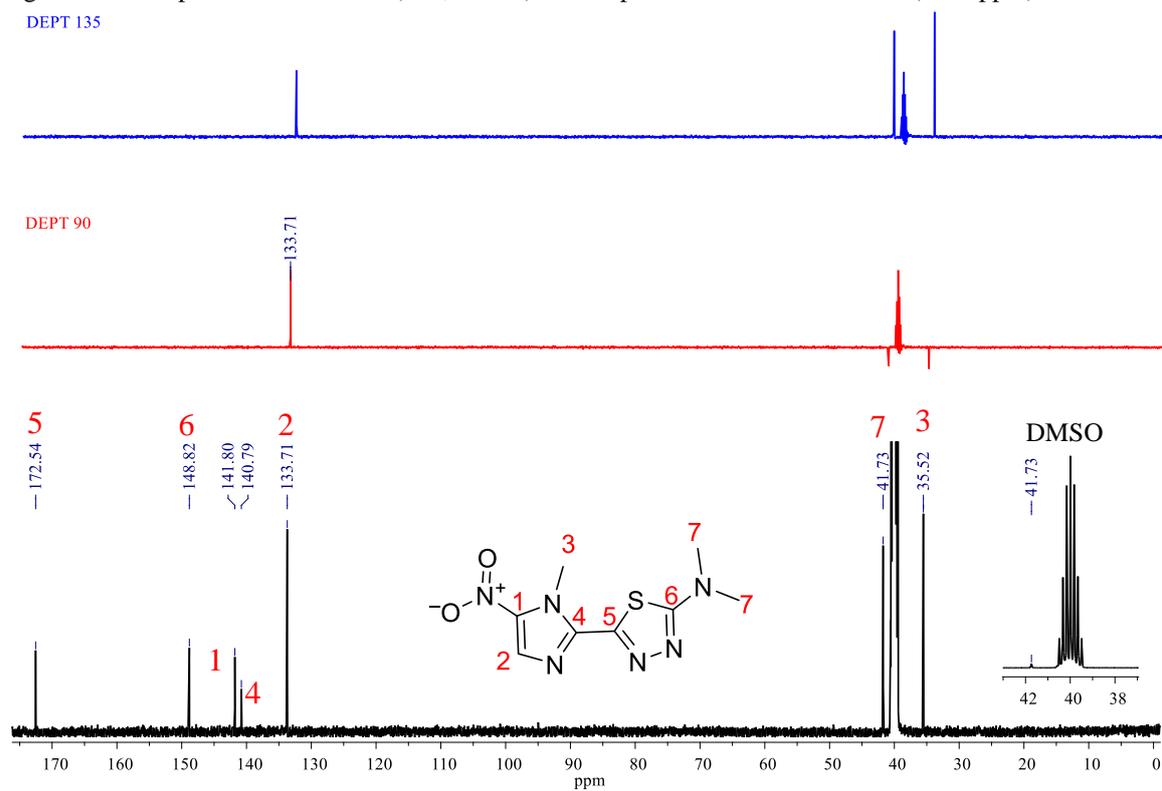
Figura 10A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do composto $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

APÊNDICE

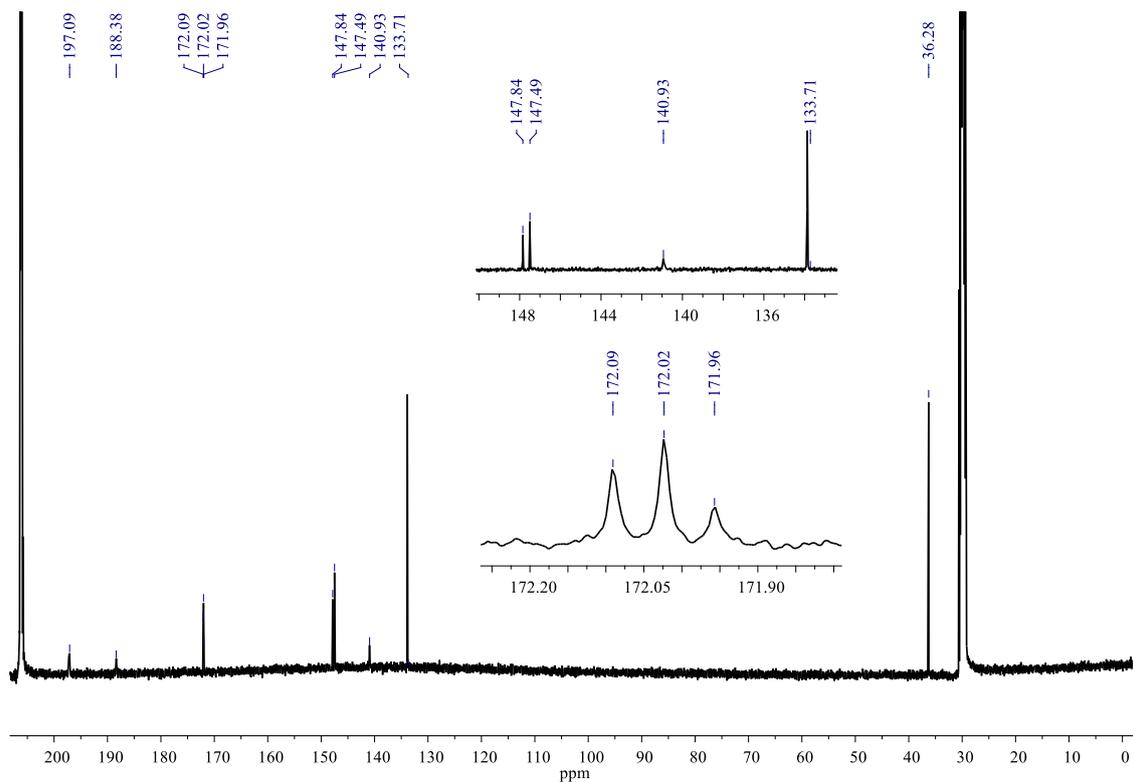
Figura 11A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do composto $\text{L}^{\text{Me,Me}}$ em $\text{DMSO-}d_6$ (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

APÊNDICE

Figura 13A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ em Acetona- d_6 (δ em ppm). cristal.

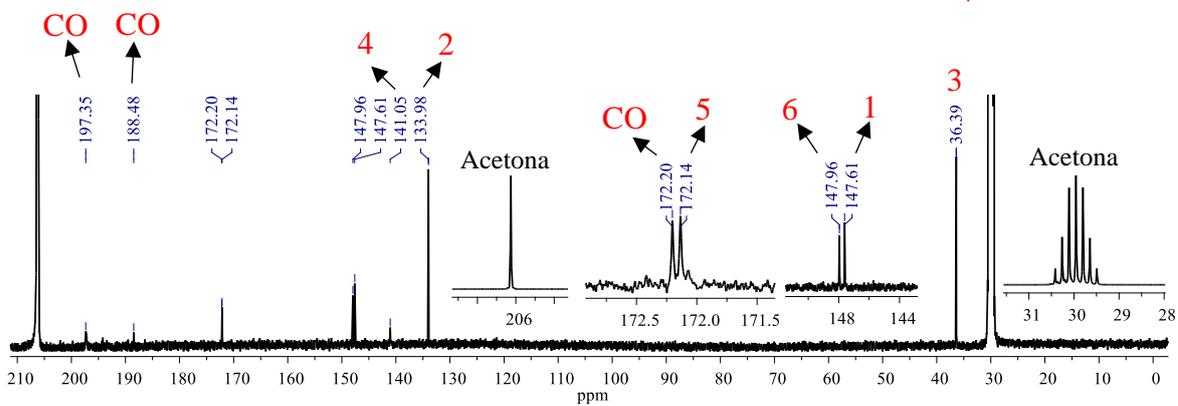
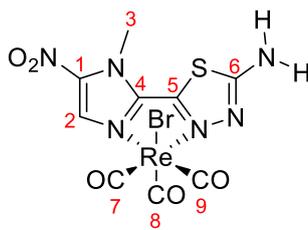
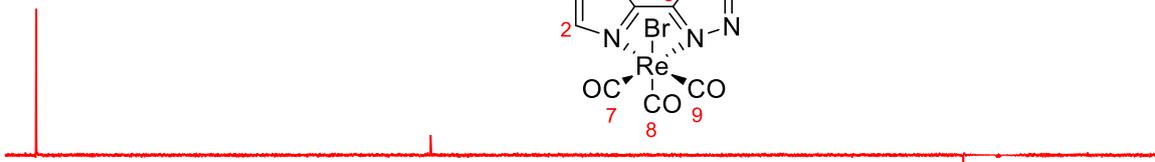


Pó

DEPT 135



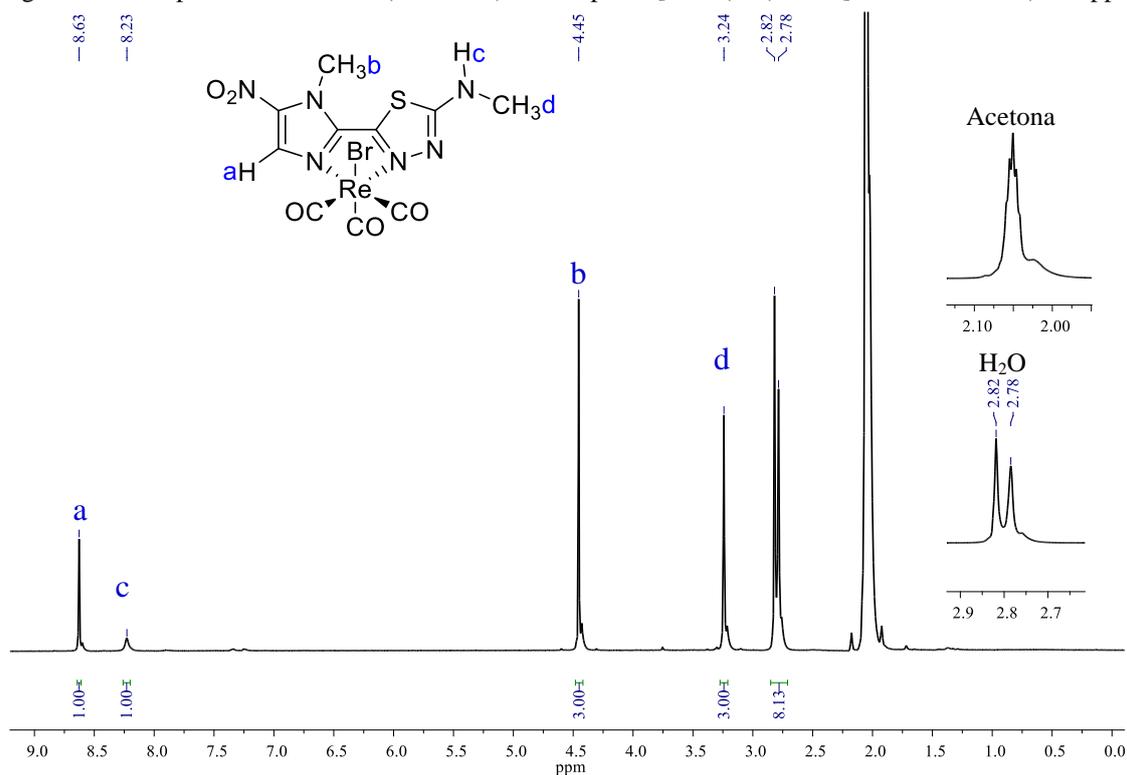
DEPT 90



Fonte: Dados da pesquisa.

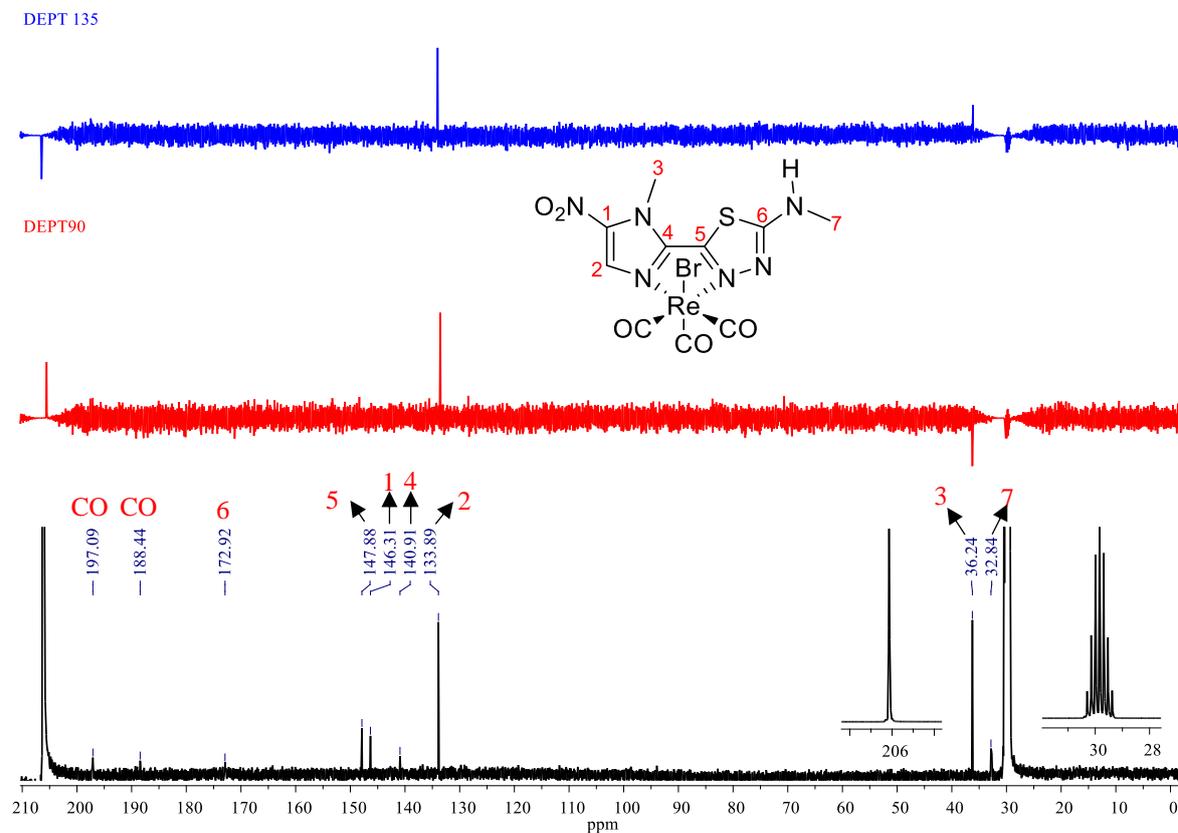
APÊNDICE

Figura 14A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,Me}}]$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

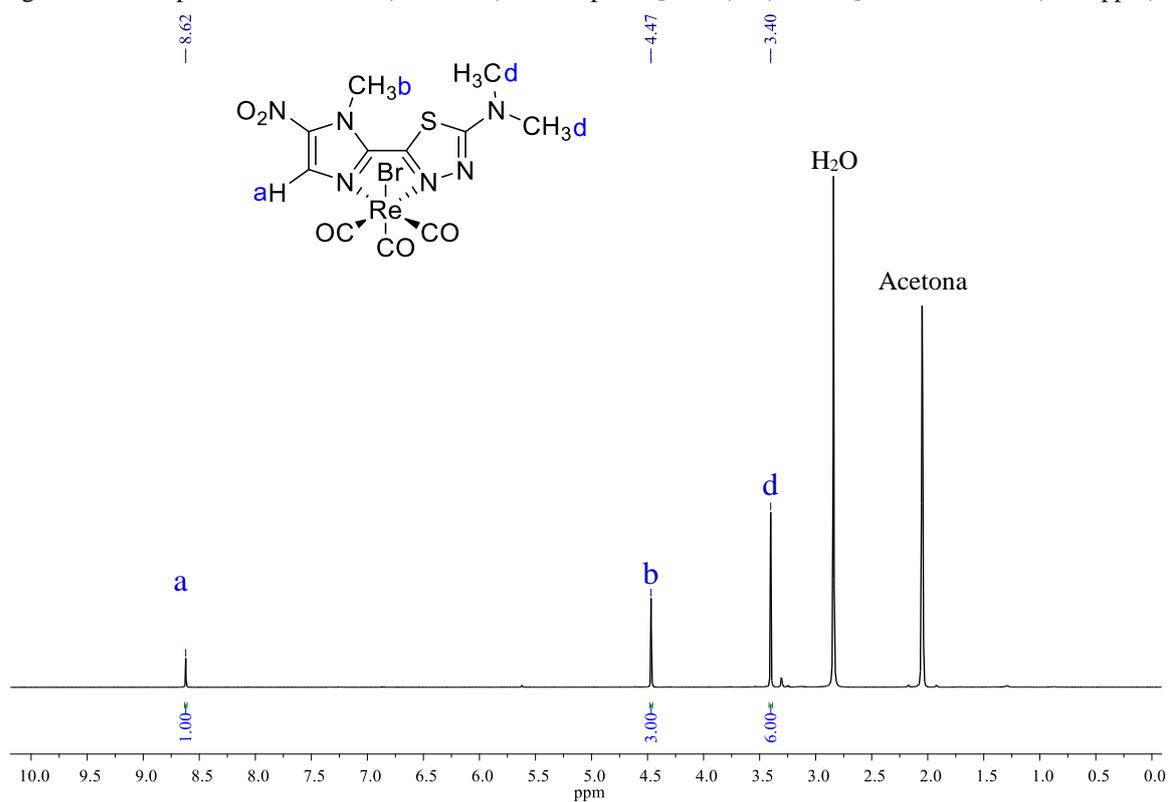
Figura 15A – Espectro de ^{13}C RMN (125,8 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,Me}}]$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).



Fonte: Dados da pesquisa.

APÊNDICE

Figura 16A – Espectro de ^1H RMN (500 MHz) do complexo $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ em Acetona- d_6 (δ em ppm).

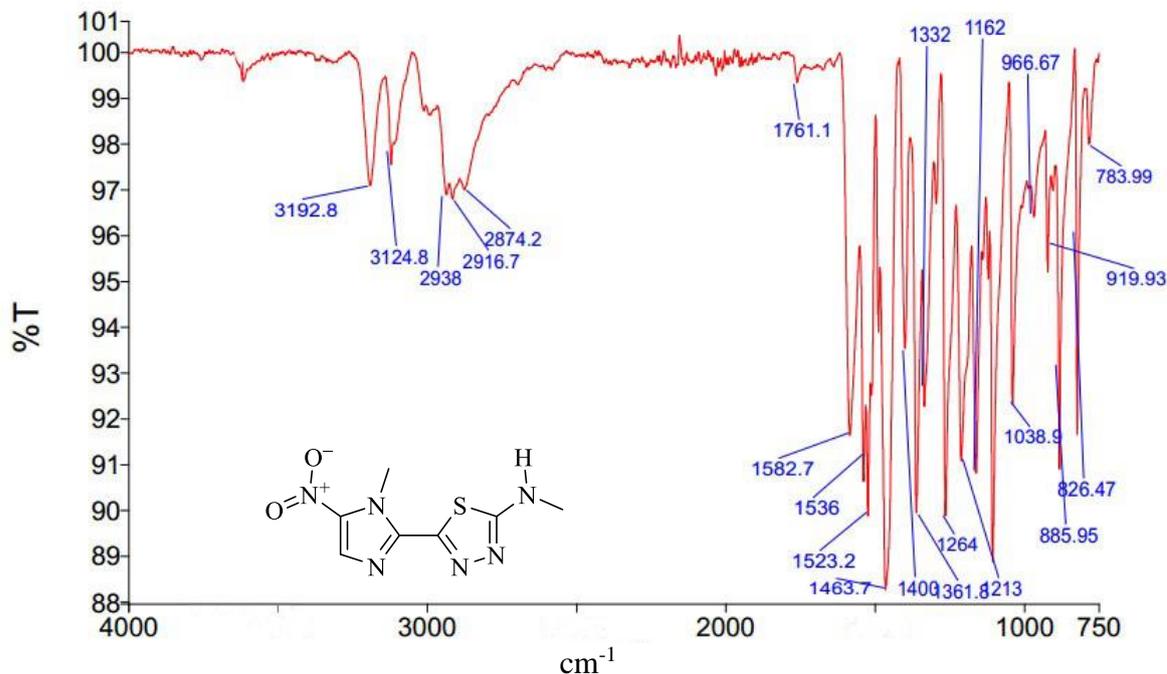


Fonte: Dados da pesquisa.

APÊNDICE

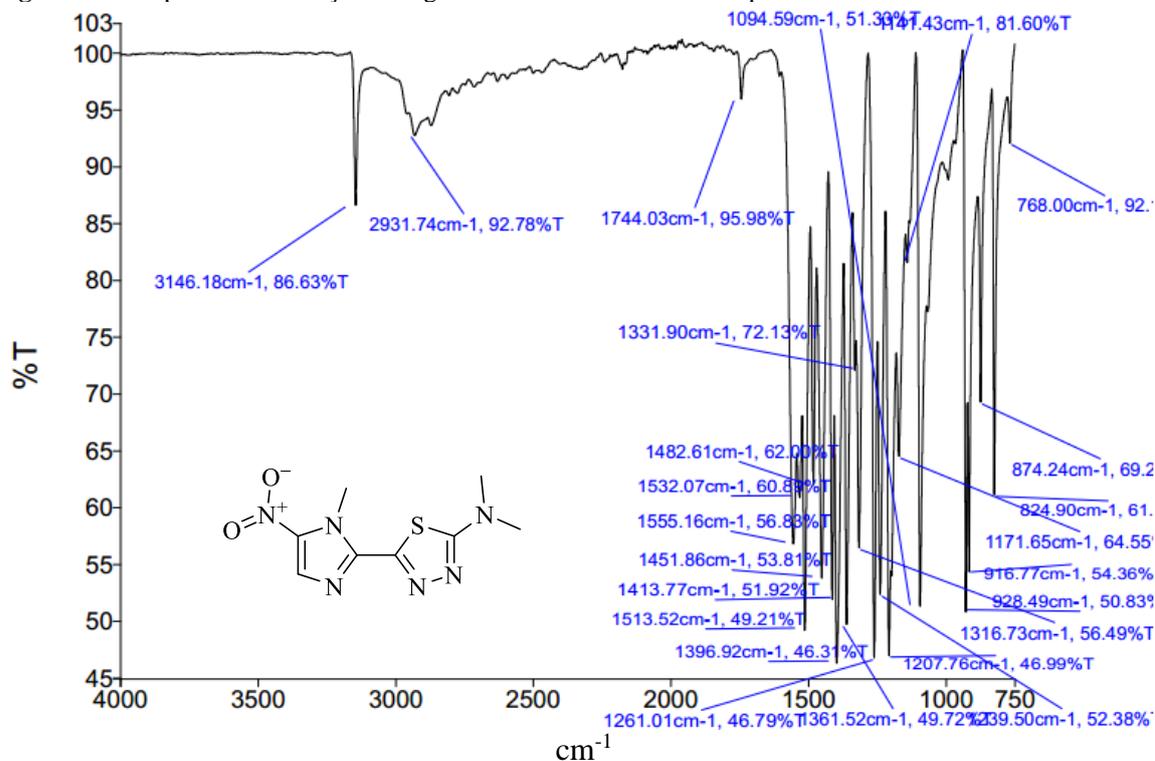
APÊNDICE B – ESPECTROS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO IV

Figura B1 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto L^{H,Me} em ATR.



Fonte: Dados da pesquisa.

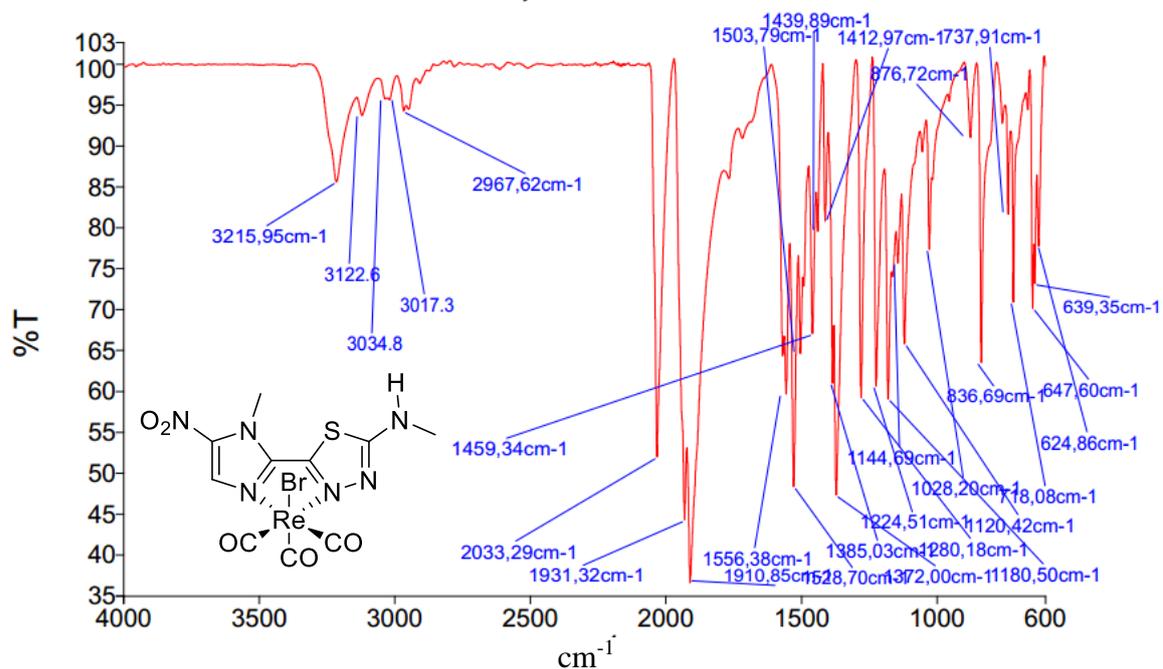
Figura B2 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto L^{Me,Me} em ATR.



Fonte: Dados da pesquisa.

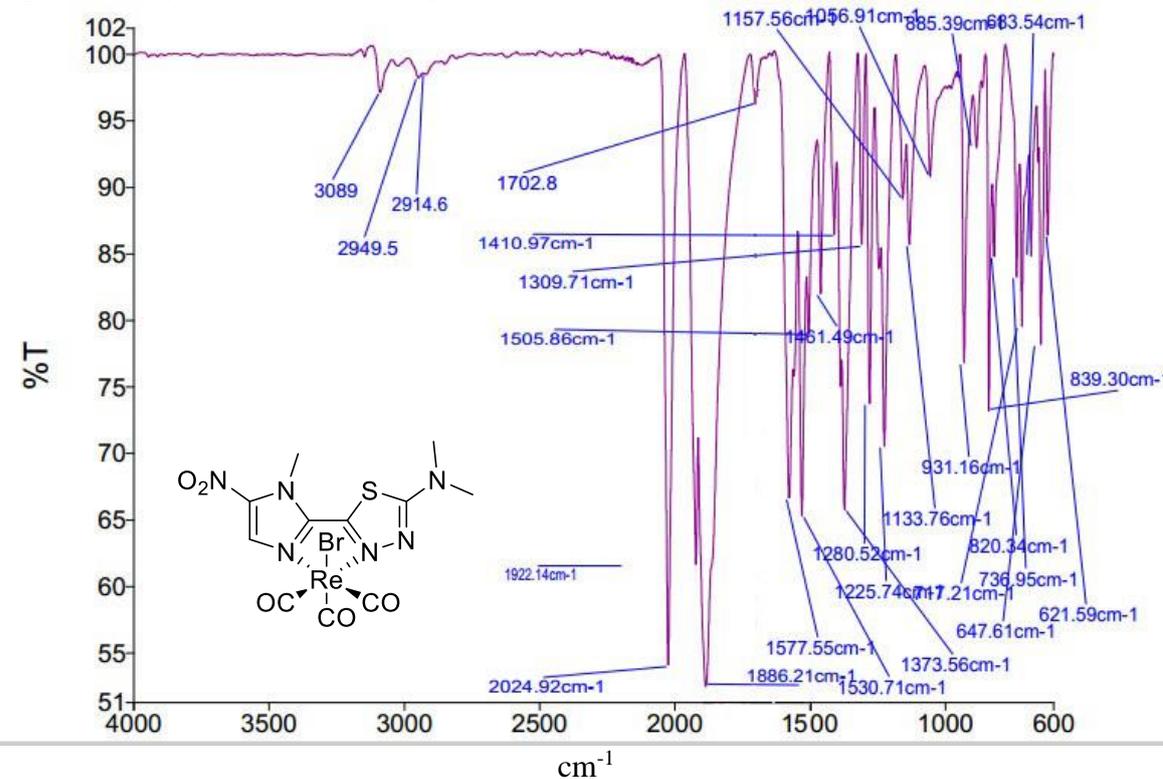
APÊNDICE

Figura B3 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,Me}}]$ (**5**) em ATR.



Fonte: Dados da pesquisa.

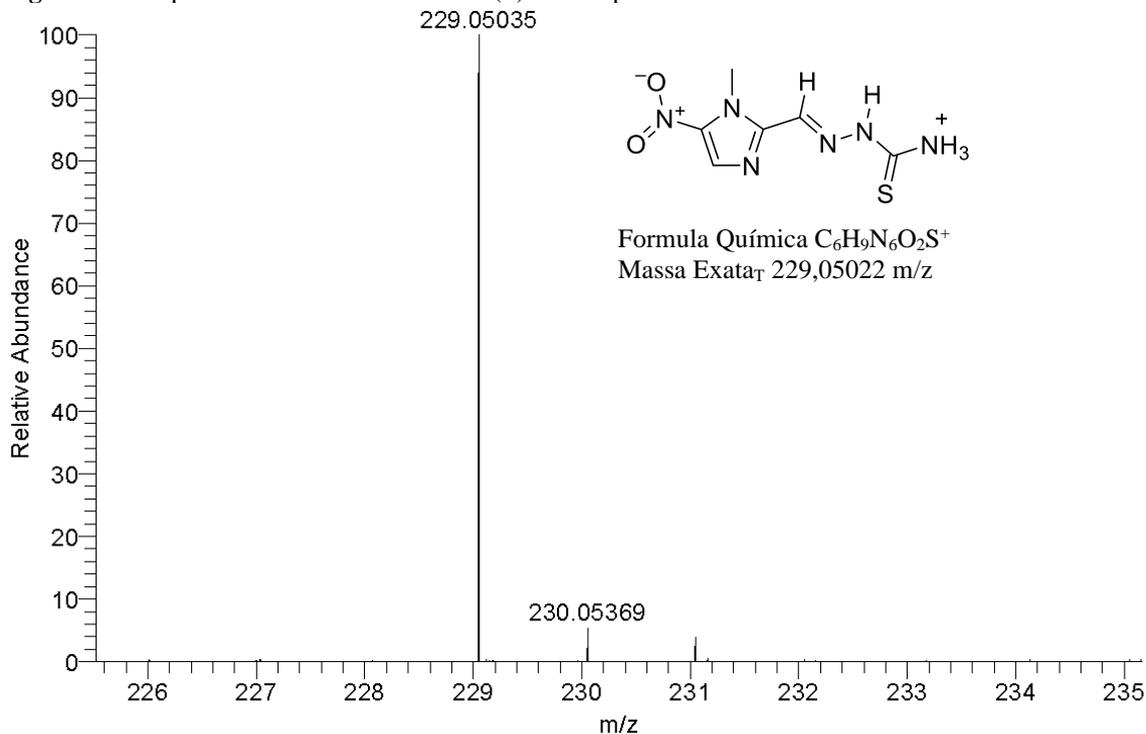
Figura B4 – Espectro de absorção na região do infravermelho do composto $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$ (**6**) em ATR.



Fonte: Dados da pesquisa.

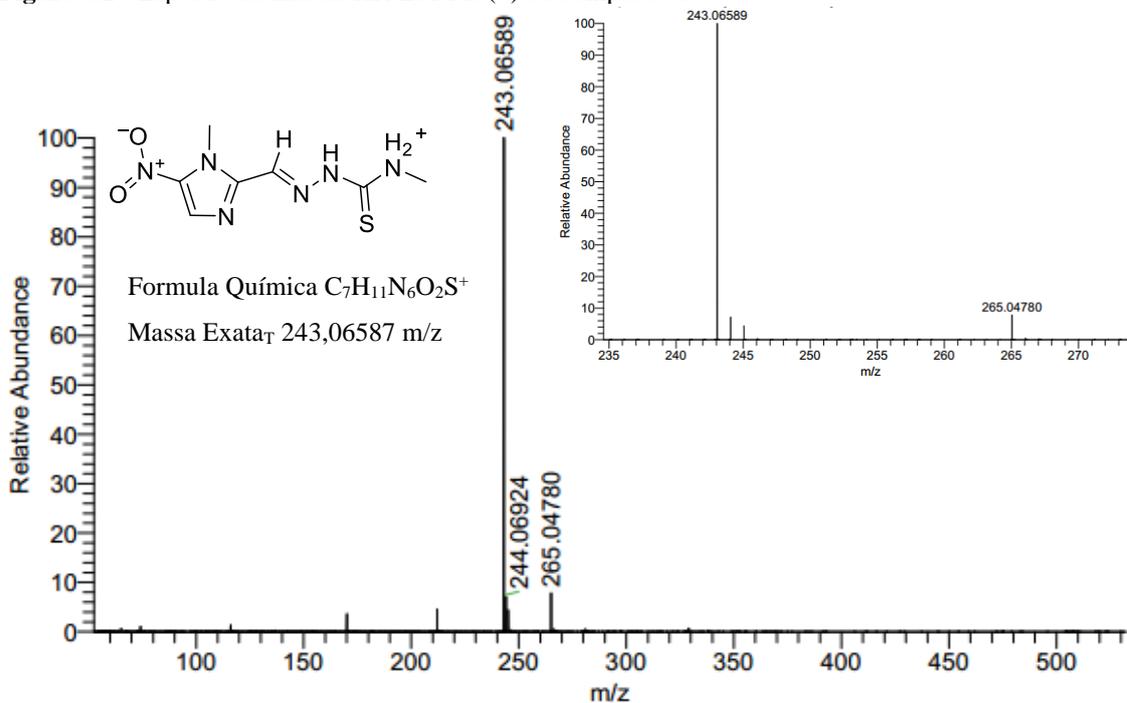
APÊNDICE C – ESPECTROMETRIA DE MASSAS - HR-ESI-MS

Figura C1 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto tsc^{H,H}.



Fonte: Dados da pesquisa.

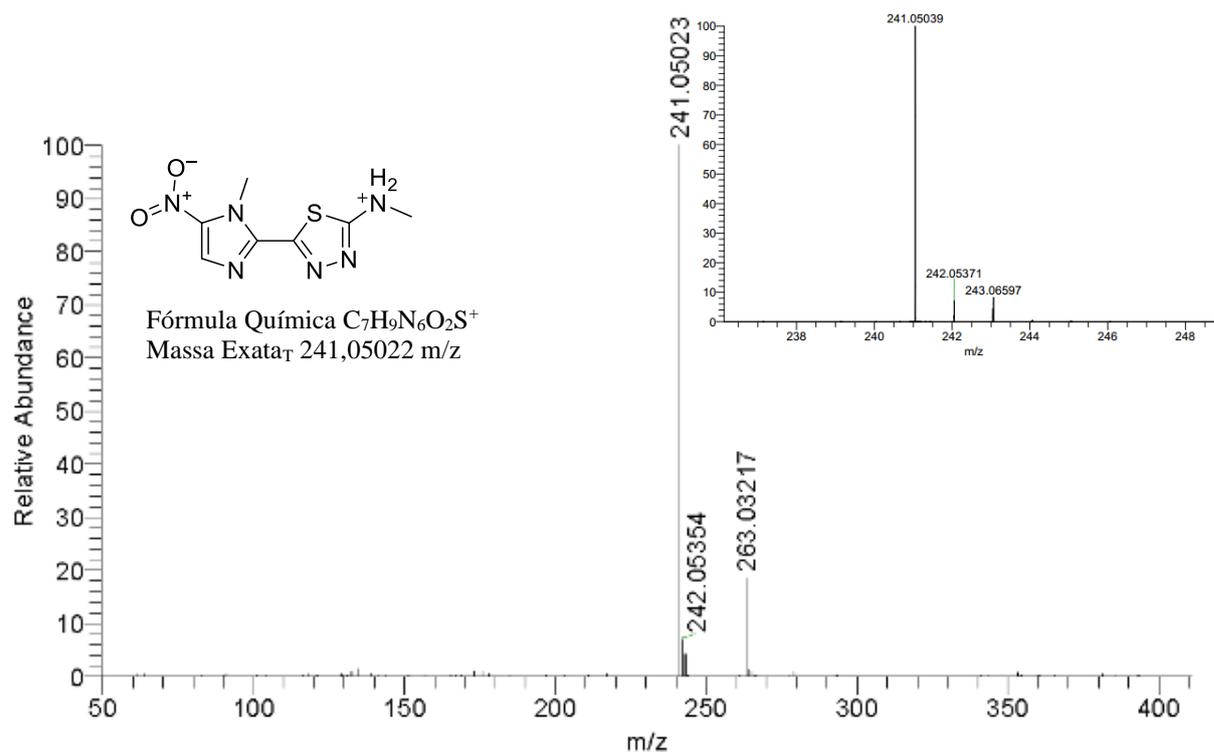
Figura C2 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto tsc^{Me,H}.



Fonte: Dados da pesquisa.

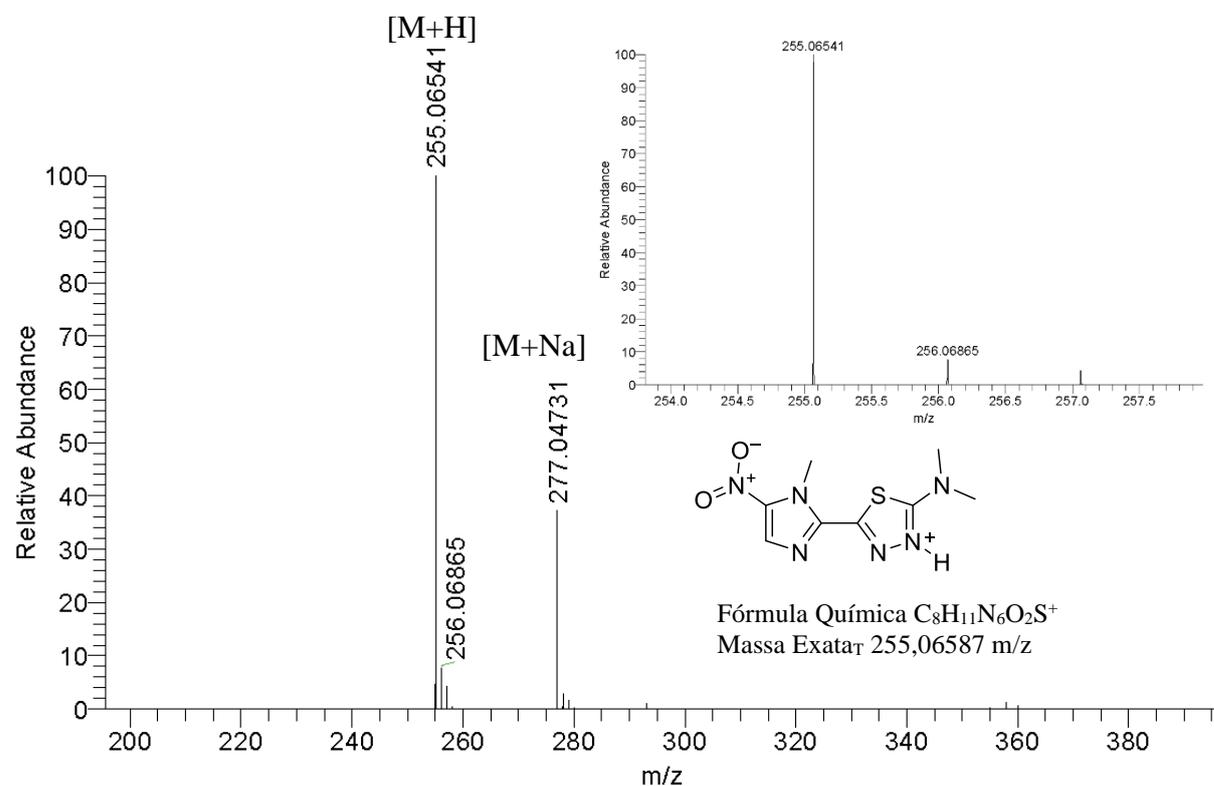
APÊNDICE

Figura C3 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto L^{H,Me}.



Fonte: Dados da pesquisa.

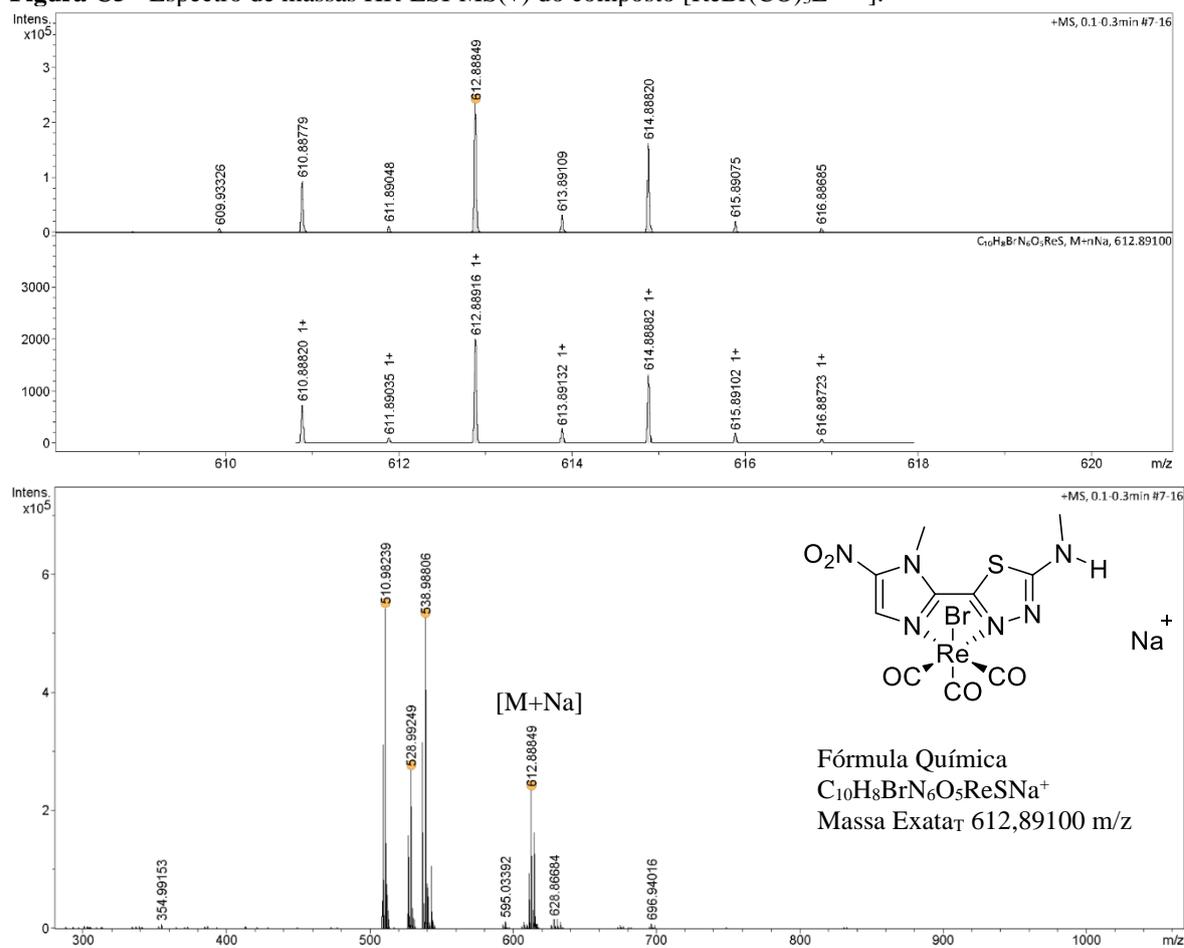
Figura C4 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto L^{Me,Me}.



Fonte: Dados da pesquisa.

APÊNDICE

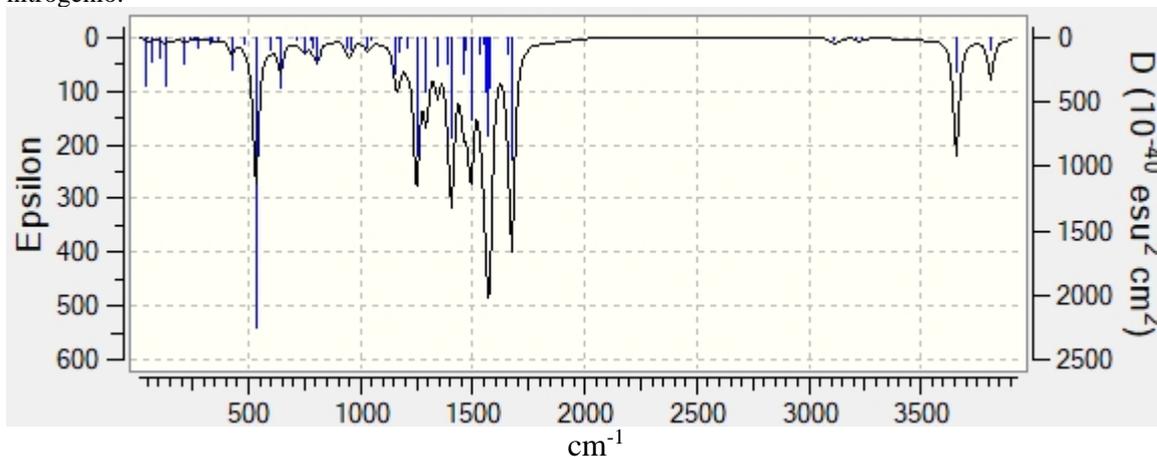
Figura C5 - Espectro de massas HR-ESI-MS(+) do composto $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H.Me}}]$.



Fonte: Dados da pesquisa.

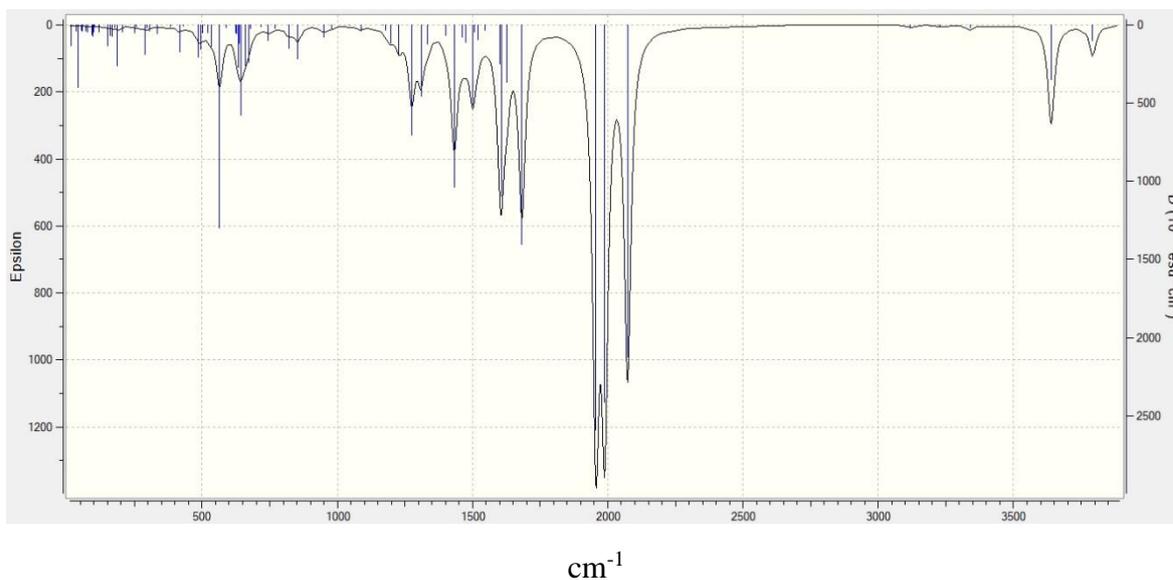
APÊNDICE D – ESTUDOS TEÓRICOS POR DFT

Figura D1 - Espectro de IV calculado para megazol. Forma mais estável com enxofre do mesmo lado do nitrogênio.



Fonte: Dados da Pesquisa.

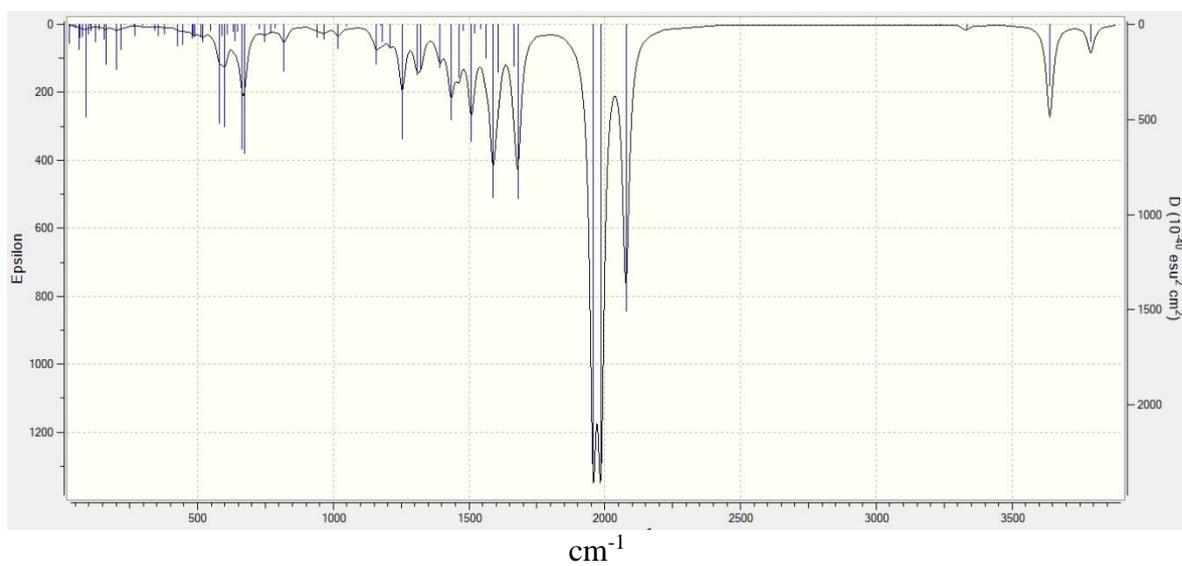
Figura D2 - Espectro de IV calculado para $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{Nmega})]^+$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

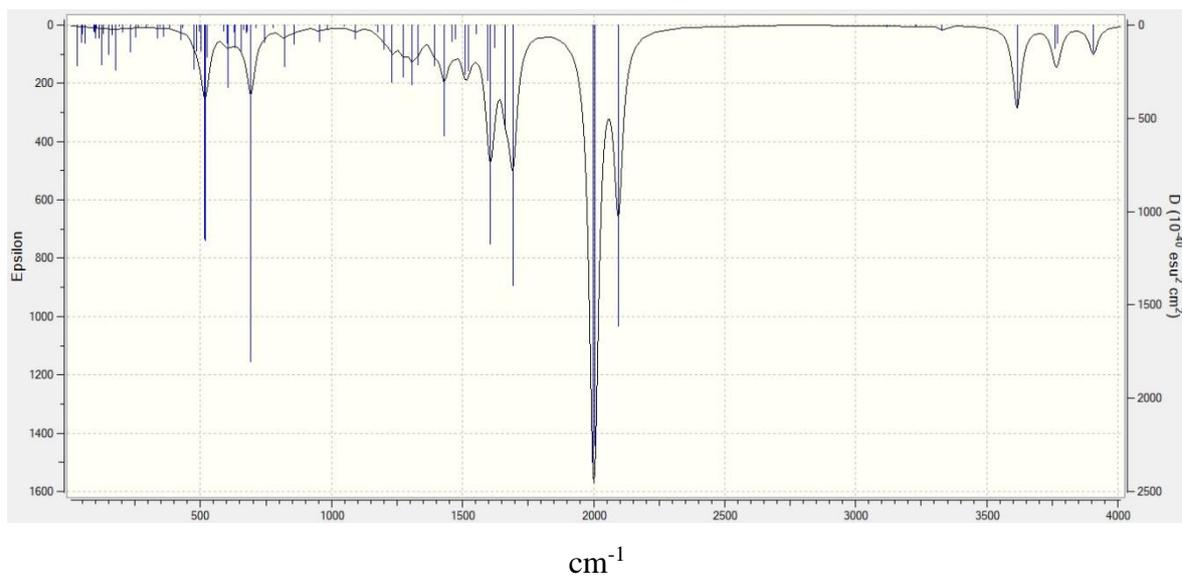
APÊNDICE

Figura D3 - Espectro de IV calculado para $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{Smega})]^+$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

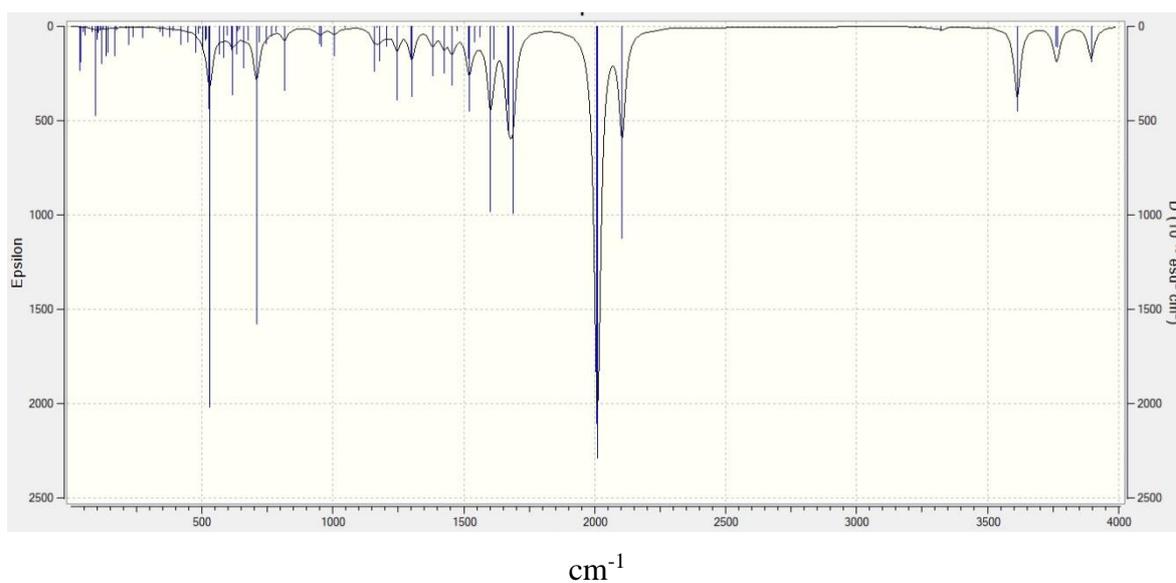
Figura D4 - Espectro de IV calculado para $[\text{Re}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{Nmega})]^+$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

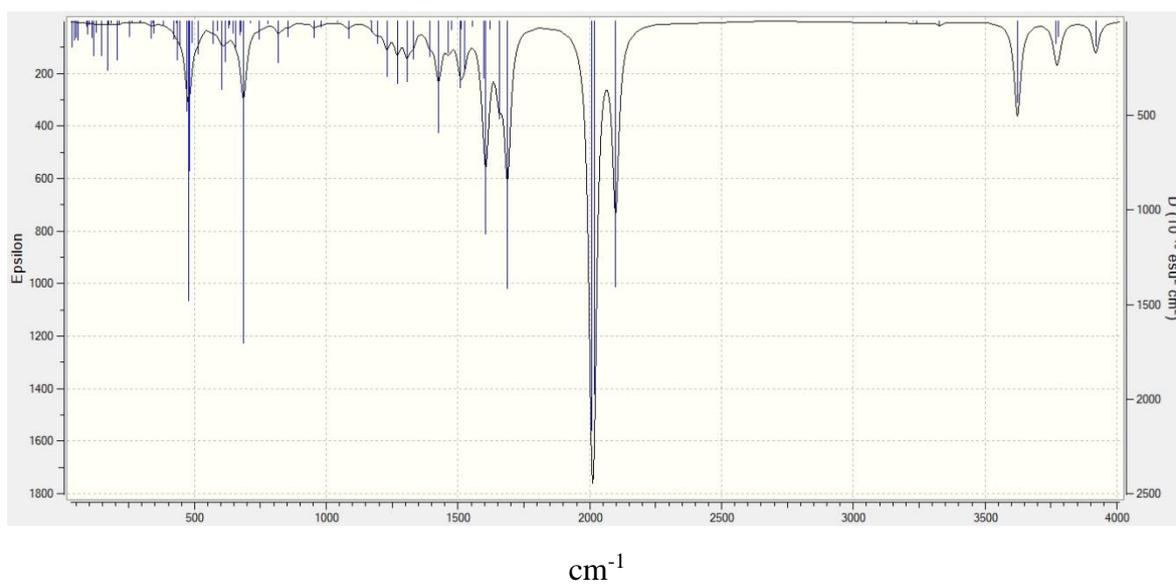
APÊNDICE

Figura D5 - Espectro de IV calculado para $[\text{Re}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{Smega})]^+$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

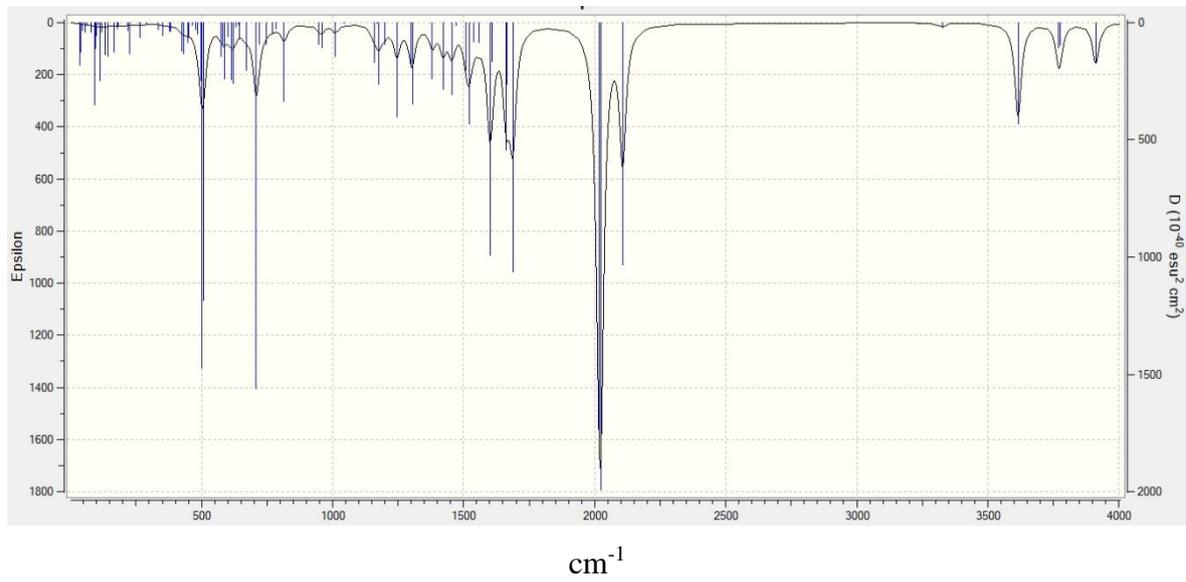
Figura D6 - Espectro de IV calculado para $[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{Nmega})]^+$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

APÊNDICE

Figura D7 - Espectro de IV calculado para $[\text{Tc}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{Smega})]^+$.



Fonte: Dados da Pesquisa.

APÊNDICE

Tabela D1. Comparação dos comprimentos e ângulos de ligação selecionados para $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$, $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$, $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ e $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$.

Comprimentos de ligação (Å)	$[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$	$[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$	$[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$	$[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$
Re-O	2,24946	2,22391	2,25612	2,22874
Re-C11	1,92538	1,92662	1,93422	1,93949
Re-C12	1,91973	1,88851	1,92790	1,89238
Re-C13	1,89927	1,90645	1,90440	1,91605
Re-N3	2,18835	2,20600	2,20794	2,21996
Re-N4	2,18932	—	2,20189	—
Re-S	—	2,77588	—	2,79479
Ângulos de ligação (°)				
C13-Re-O	174,98538	172,99051	175,25786	173,79747
C12-Re-N4/ C12-Re-S	172,15083	170,25491	172,36606	169,62596
C11-Re-N3	169,27234	173,45575	169,79347	174,62019
N3-Re-N4/ N3-Re-S	73,60026	75,74493	73,89709	75,81689
O-Re-N4/O-Re-S	81,86260	79,77854	82,60363	80,85287
O-Re-N3	82,69548	81,67610	83,98337	82,99401

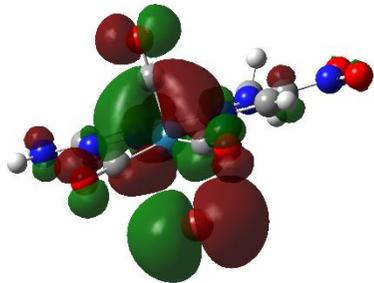
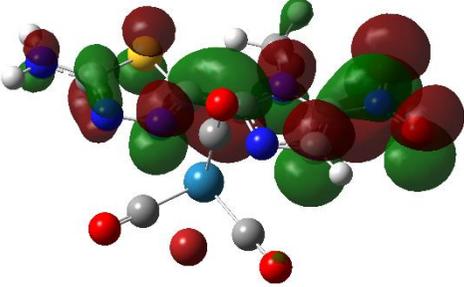
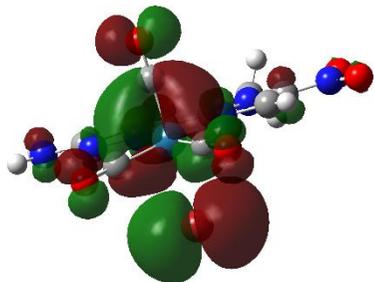
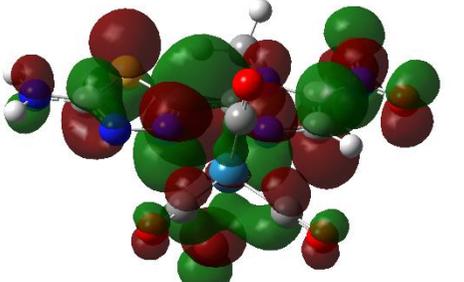
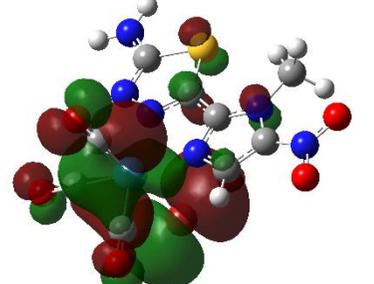
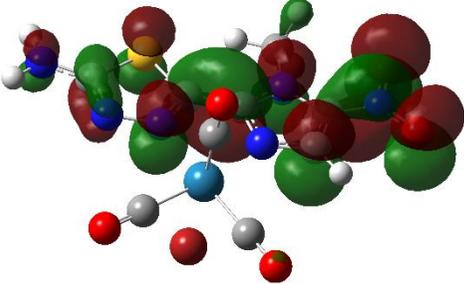
APÊNDICE

Tabela D2 - Dados vibracionais (cm^{-1}) para $[\text{M}(\text{H}_2\text{O})(\text{CO})_3(\text{Nmega})]^+$ ($\text{M} = \text{Re}$ ou Tc).

vibração	$[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$	$[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$	$[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$	$[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{S-mega})]^+$
$\nu(\text{O-H})$	3905	3895	3922	3909
$\nu(\text{N-H})$	3769, 3618	3767, 3614	3771, 3620	3773, 3613
$\nu(\text{C}\equiv\text{O})$	2094, 2006, 1997	2105, 2012, 2007	2098, 2016, 2007	2106, 2025, 2017
$\delta(\text{C-N}) + \nu(\text{C-NH}_2)$	1623	1687	1687	1687
$\nu(\text{C}=\text{N}) + (\text{C}=\text{C})$	1607	1615	1621	1609
$\nu(\text{N-O})_{\text{as}}$	1508	1522	1524	1520
$\nu(\text{N-O})_{\text{s}}$	1391	1381	1392, 1306	1380, 1300
$\nu(\text{N-N})$	1232	1246	1230	1245
$\nu(\text{MC})$	486, 477	528	469	507

APÊNDICE

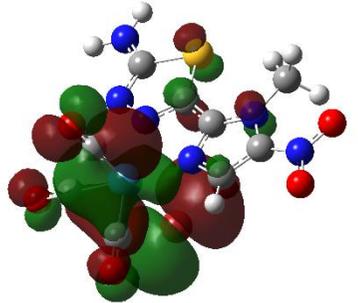
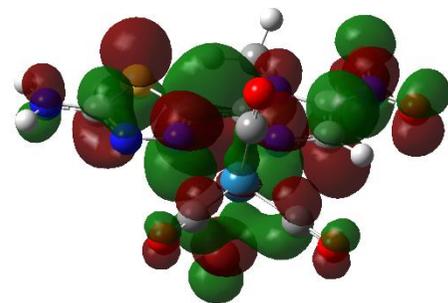
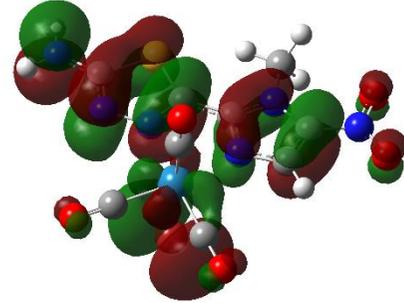
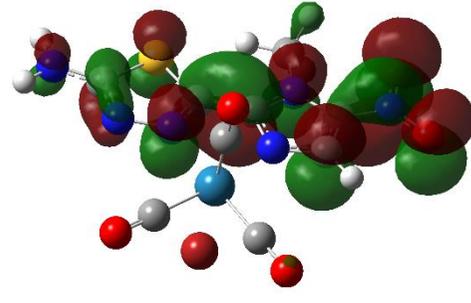
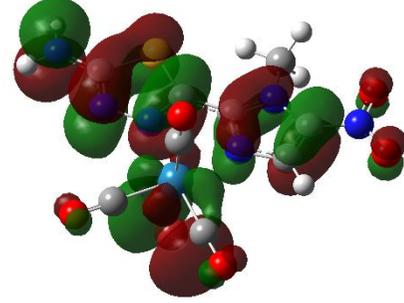
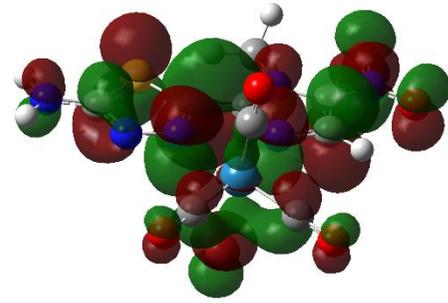
Tabela D3.1 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		f	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S1	H→L			0.0425	3.0456 (407)
	H→L+1				
S2	H-1→L			0.0800	3.1769 (390)

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

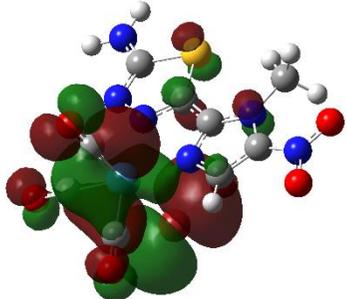
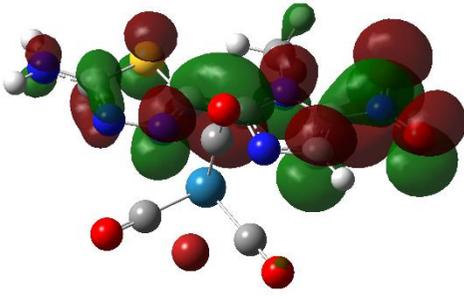
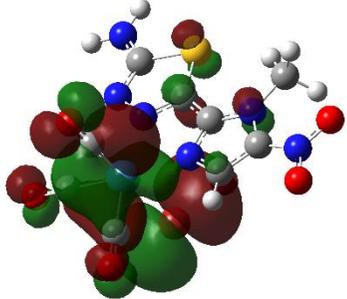
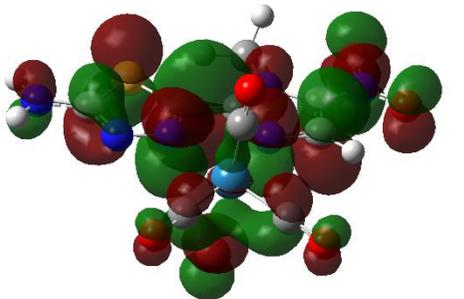
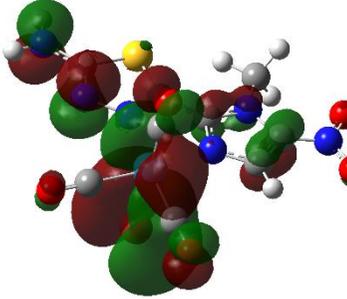
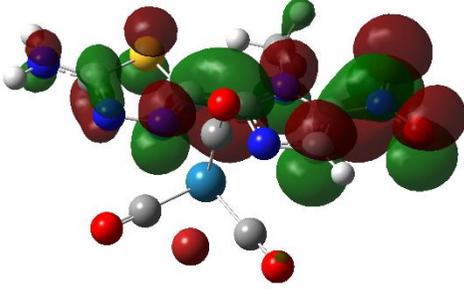
Tabela D3.2 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		<i>f</i>	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S2	H-1 \rightarrow L+1				
S5	H-3 \rightarrow L			0.4701	3.6387 (341)
	H-3 \rightarrow L+1				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

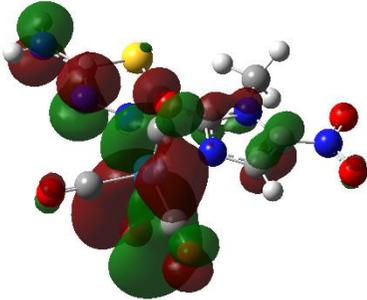
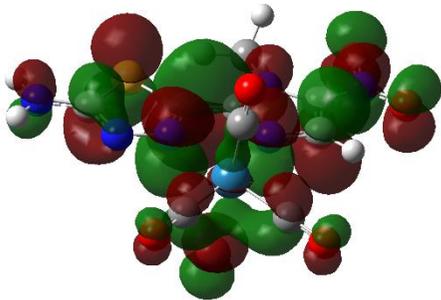
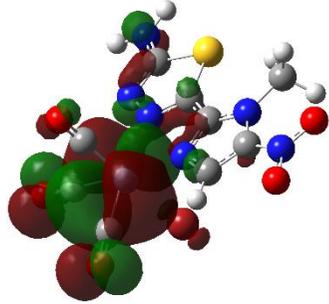
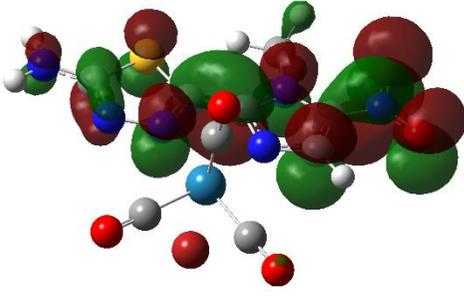
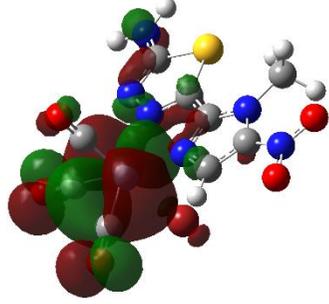
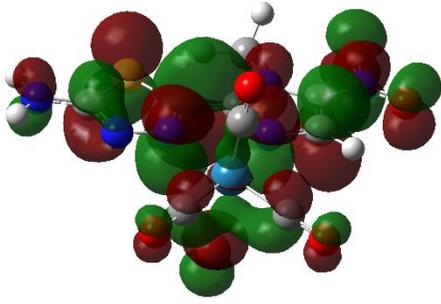
Tabela D3.3 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		f	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S7	H-1 \rightarrow L			0.0601	3.9590 (313)
	H-1 \rightarrow L+1				
S11	H-5 \rightarrow L			0.0646	4.2977 (288)

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

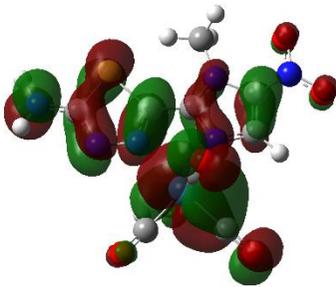
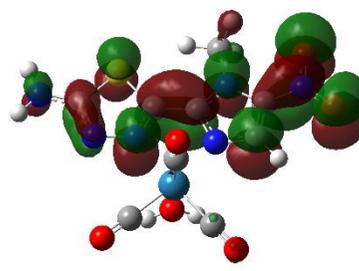
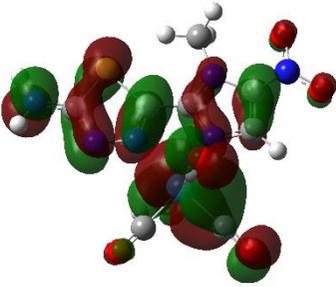
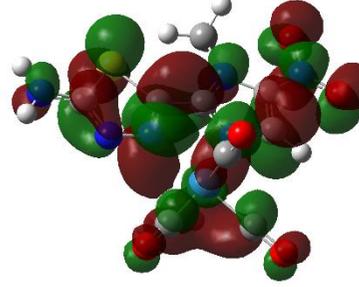
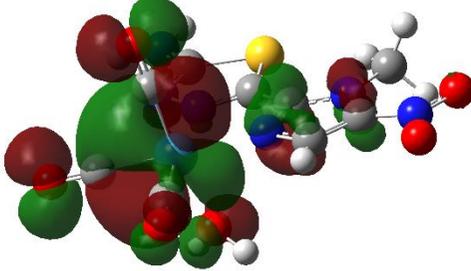
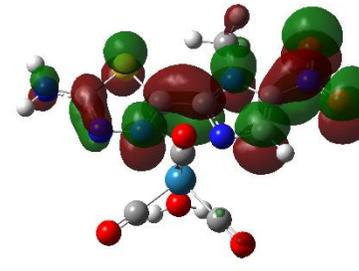
Tabela D3.4 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{ReBr}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		f	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S11	H-5 \rightarrow L+1				
	H-2 \rightarrow L				
	H-2 \rightarrow L+1				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

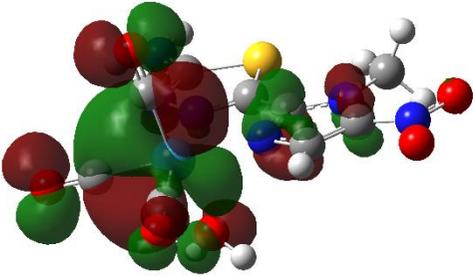
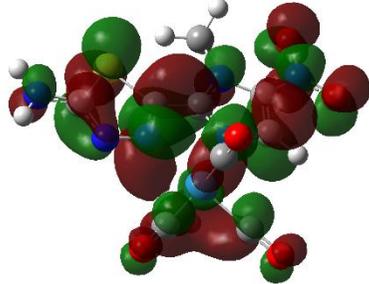
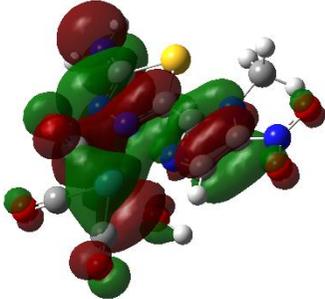
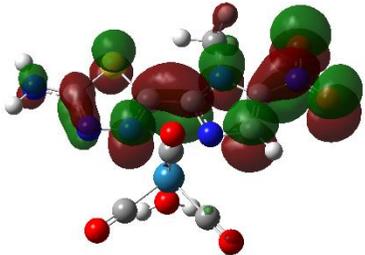
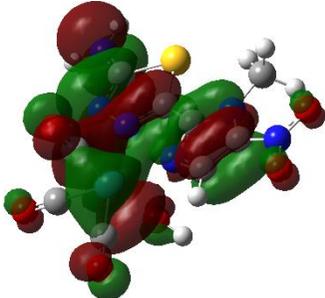
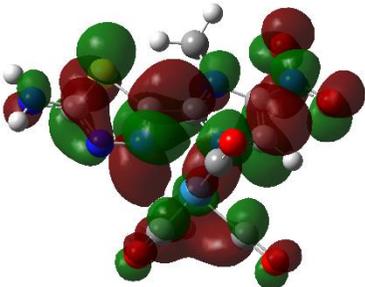
Tabela D4.1 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		f	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S1	H→L			0.1925	3.311 (374)
	H→L+1				
S3	H-1→L			0.1005	3.489 (355)

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

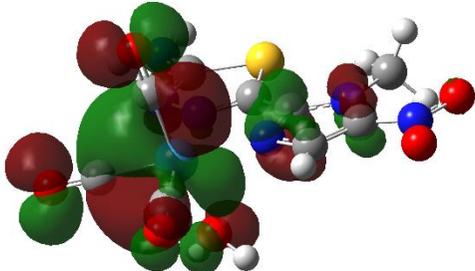
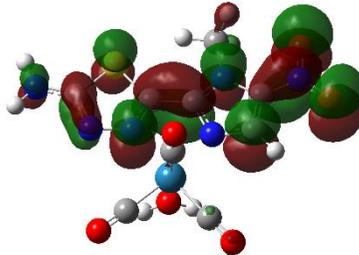
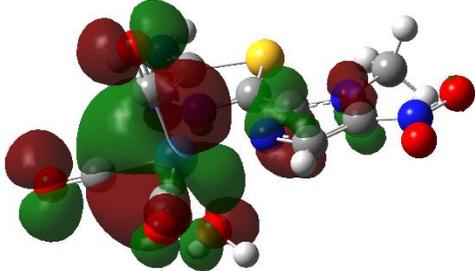
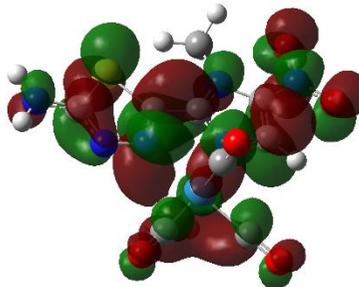
Tabela D4.2 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		<i>f</i>	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S3	H-1→L+1				
S5	H-3→L			0.4635	3.8531 (322)
	H-3→L+1				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

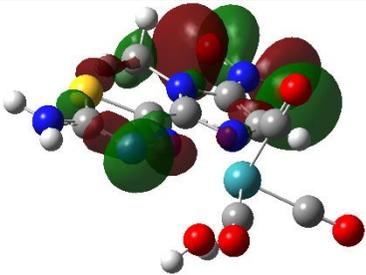
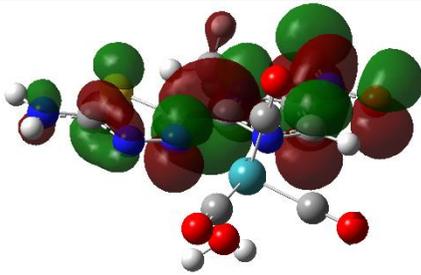
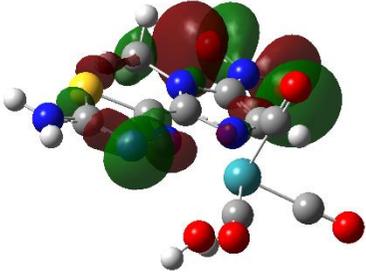
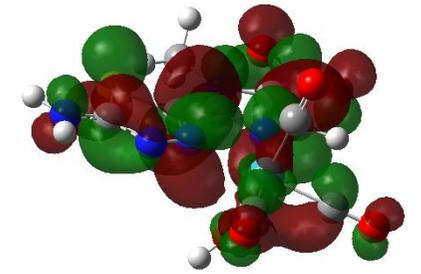
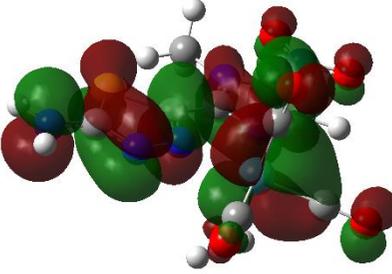
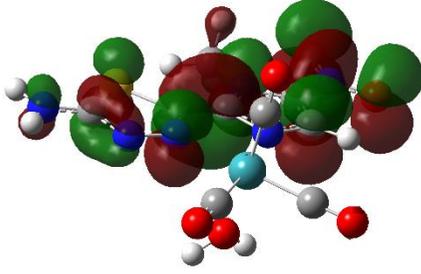
Tabela D4.3 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{ReH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		<i>f</i>	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S8	H-1 \rightarrow L				4.2245 (293)
	H-1 \rightarrow L+1				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

Tabela D5.1 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		f	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S1	H-6→L			0.0641	3.4288 (362)
	H-6→L+1				
	H→L				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

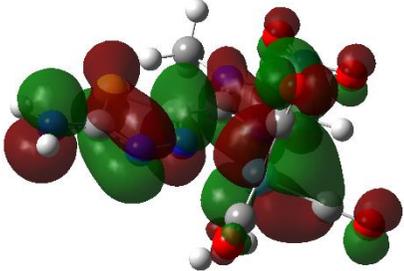
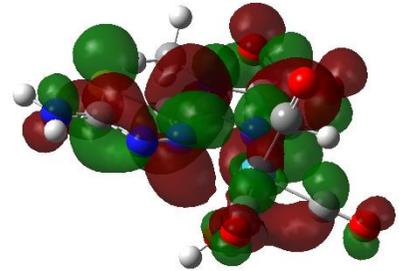
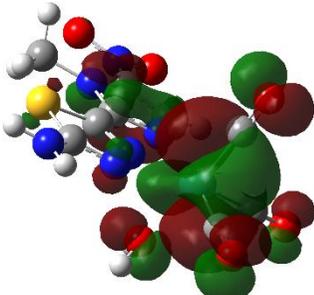
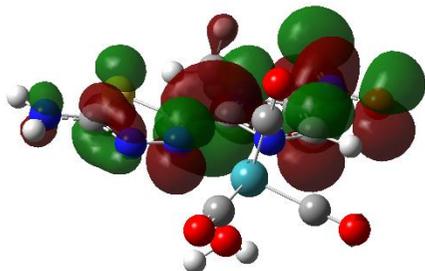
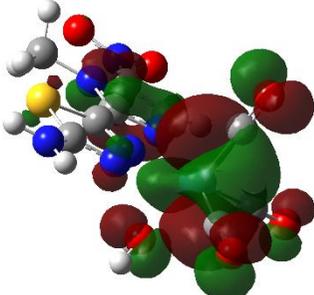
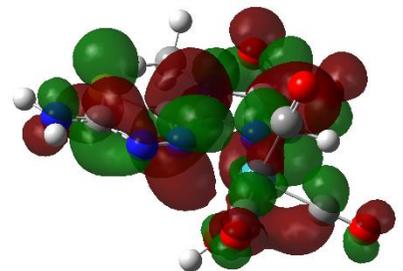
Tabela D5.2 Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		<i>f</i>	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S2	H-6→L			0.2735	3.4541 (359)
	H-6→L+1				
	H→L				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

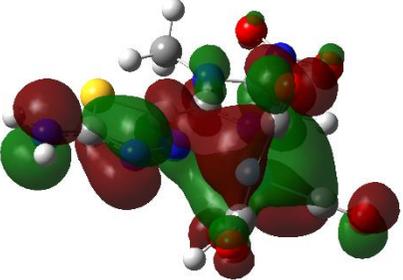
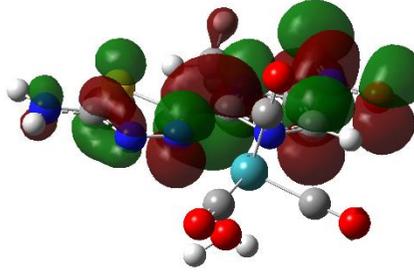
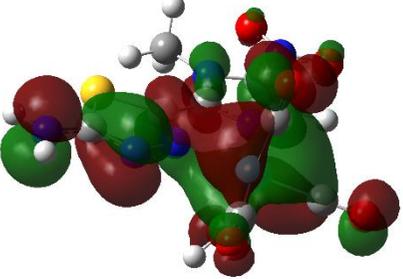
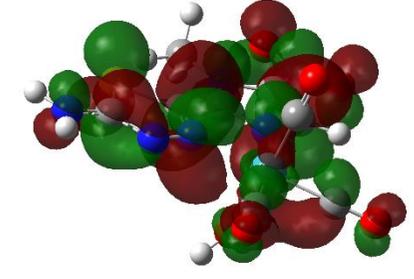
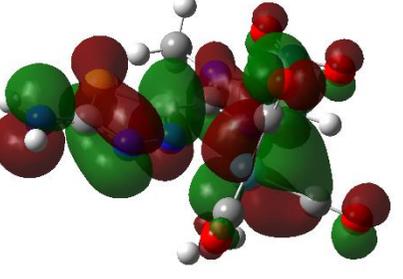
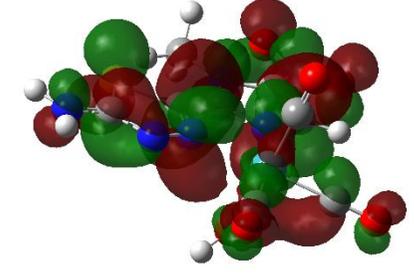
Tabela D5.3. Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		<i>f</i>	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S2	H→L+1				
S3	H-1→L			0.0791	3.7000 (335)
	H-1→L+1				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

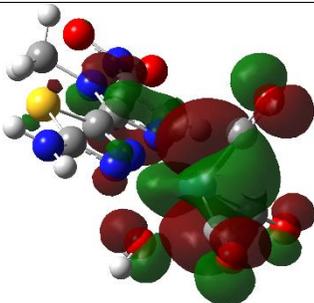
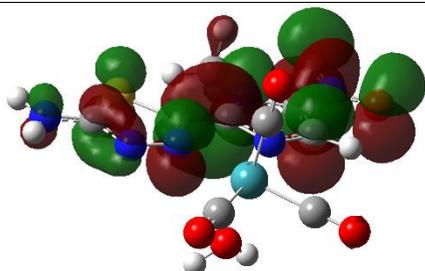
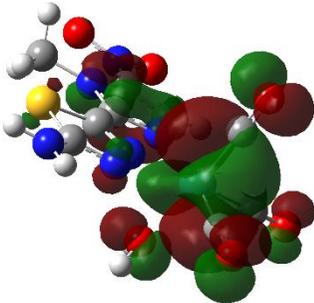
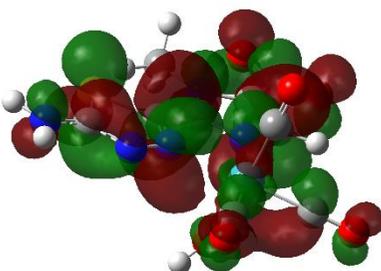
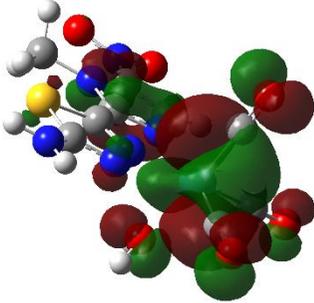
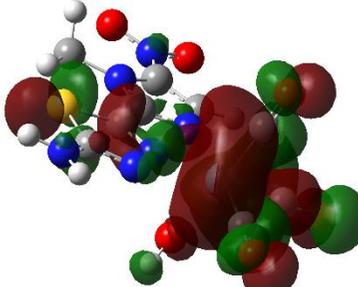
Tabela D5.4 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		f	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S5	H-3→L			0.3365	3.9266 (316)
	H-3→L+1				
	H→L+1				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

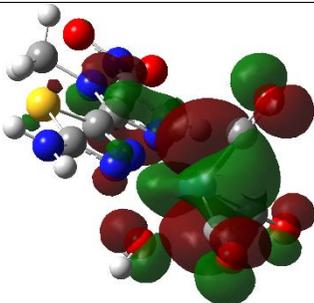
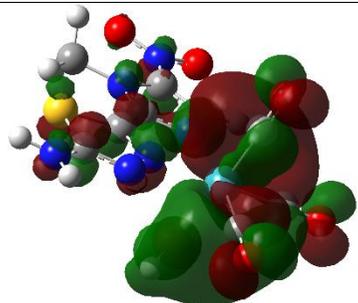
Tabela D5.5 - Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		f	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S8	H-1 \rightarrow L			0.0573	4.3177 (287)
	H-1 \rightarrow L+1				
	H-1 \rightarrow L+2				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

APÊNDICE

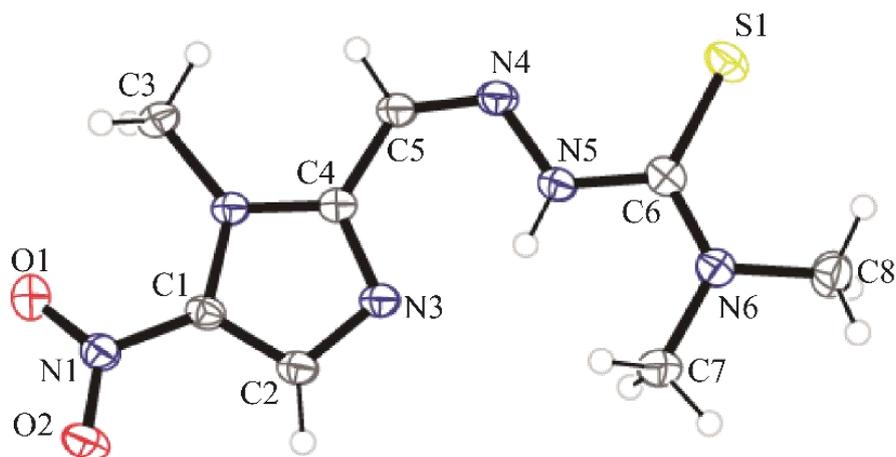
Tabela D5.6- Orbitais participantes nas principais transições observadas na espécie $[\text{TcH}_2\text{O}(\text{CO})_3(\text{N-mega})]^+$ em DMSO.

Estado	Orbitais moleculares ^a	Orbitais participantes ($\text{O}_i \rightarrow \text{O}_f$) ^b		<i>f</i>	Energia /eV (nm)
		O_i	O_f		
S8	H-1 \rightarrow L+3				

^aH: HOMO, L: LUMO; ^b O_i : orbital inicial, O_f : orbital final.

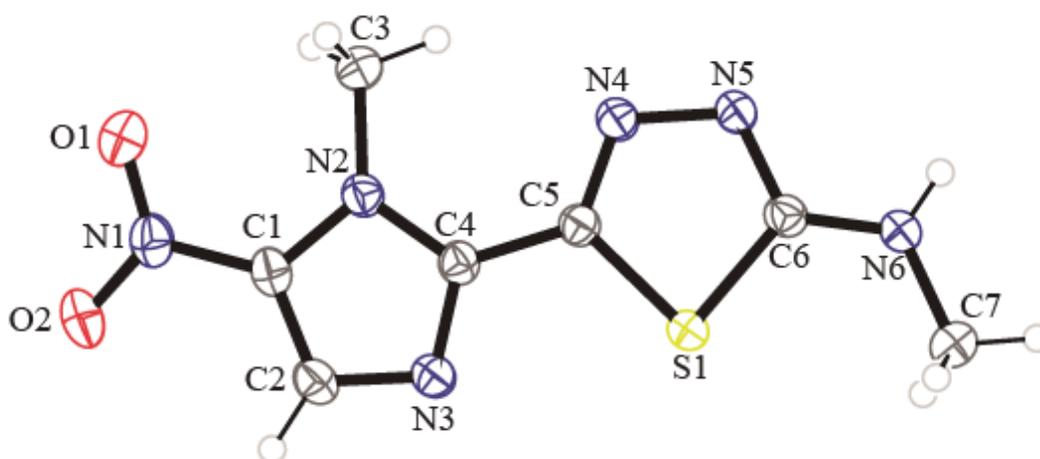
APÊNDICE E – DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Figura E1 – Estrutura Molecular do composto tsc^{Me,Me}.



Fonte: Dados da Pesquisa.

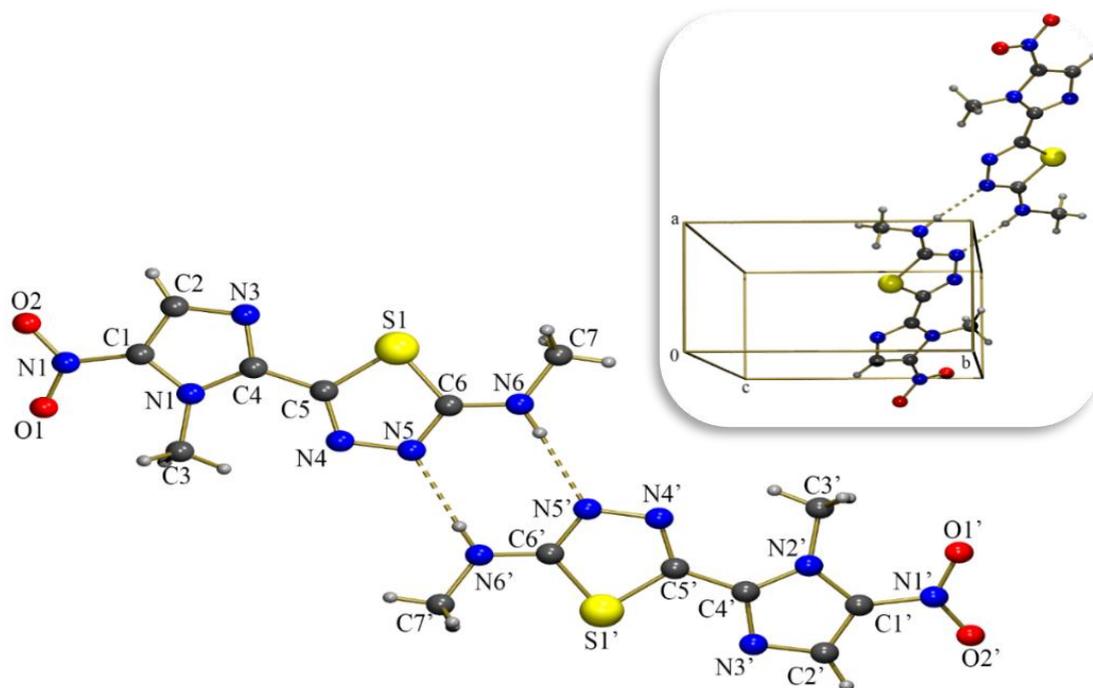
Figura E2 – Representação ORTEP da estrutura cristalina do composto L^{H,Me}.



Fonte: Dados da Pesquisa.

APÊNDICE

Figura E3 – Ligações de hidrogênio intermoleculares envolvidas na estrutura cristalina do composto $L^{H,Me}$. [N(6)·····N(5) = 2,938(3) Å, N(6)–H(6)·····N(5) = 164,0°]. Operação de simetria: 3-x, 1-y, 1-z.



Fonte Dados da Pesquisa.

APÊNDICE

Tabela E1 – Dados da coleta e parâmetros de refinamento das moléculas **N12CA**, **tsc^{H,Me}** e **tsc^{Me,Me}**.

	N12CA	tsc^{H,Me}	tsc^{Me,Me}
formula Empirica	C ₅ H ₅ N ₃ O ₃	C ₇ H ₁₀ N ₆ O ₂ S	C ₈ H ₁₂ N ₆ O ₂ S
Massa Molecular	155,12	242,27	256,30
Temperatura/K	160(1)	160(1)	160(1)
Sistema Cristalino	monoclínico	monoclínico	monoclínico
Grupo Espacial	<i>P2₁/m</i>	<i>P2₁/c</i>	<i>P2₁/c</i>
a/Å	6,9303(2)	7,83761(15)	6,7222(3)
b/Å	6,2964(2)	10,32677(19)	28,6428(14)
c/Å	7,7634(2)	13,6972(2)	6,0461(3)
α/°	90	90	90
β/°	106,650(3)	99,9473(17)	106,054(5)
γ/°	90	90	90
Volume/Å ³	324,560(17)	1091,95(4)	1118,73(10)
Z	2	4	4
ρ _{calc} /g/cm ³	1,587	1,474	1,522
μ/mm ⁻¹	1,161	2,656	0,291
F(000)	160,0	504,0	536,0
Tamanho do cristal/mm ³	0,11×0,07×0,02	0,28×0,16×0,12	0,39×0,16×0,07
Radiação	CuKα (λ = 1,54184)	CuKα (λ = 1,54184)	MoKα (λ = 0,71073)
Alcance de Θ p/ coleta de dados (°)	11,898 à 148,786	11,462 à 148,954	5,69 à 52,726
Índices <i>hkl</i>	-8 ≤ h ≤ 7 -7 ≤ k ≤ 7 -9 ≤ l ≤ 9	-9 ≤ h ≤ 9 -11 ≤ k ≤ 12 -16 ≤ l ≤ 17	-8 ≤ h ≤ 8 -35 ≤ k ≤ 35 -7 ≤ l ≤ 7
Reflexões coletadas	3796	8233	20845
Reflexões Independentes	727 [<i>R</i> _{int} = 0,0280, <i>R</i> _{sigma} = 0,0192]	2225 [<i>R</i> _{int} = 0,0165, <i>R</i> _{sigma} = 0,0129]	2288 [<i>R</i> _{int} = 0,0335, <i>R</i> _{sigma} = 0,0170]
Dados/restrições/parâm	727/0/80	2225/0/155	2288/0/161
GOF em F ²	1,074	1,059	1,061
Índice <i>R</i> Final [<i>I</i> >2σ(<i>I</i>)]	<i>R</i> ₁ = 0,0345 <i>wR</i> ₂ = 0,0896	<i>R</i> ₁ = 0,0289 <i>wR</i> ₂ = 0,0780	<i>R</i> ₁ = 0,0299 <i>wR</i> ₂ = 0,0749
Índice <i>R</i> Final [todos os dados]	<i>R</i> ₁ = 0,0373 <i>wR</i> ₂ = 0,0925	<i>R</i> ₁ = 0,0309 <i>wR</i> ₂ = 0,0792	<i>R</i> ₁ = 0,0361 <i>wR</i> ₂ = 0,0785

Fonte: Dados da Pesquisa.

APÊNDICE

Tabela E2 – Dados da coleta e parâmetros de refinamento dos compostos $L^{H,H}$ e $L^{H,Me}$.

	$L^{H,H}$	$L^{H,Me}$
formula Empirica	$C_6H_6N_6O_2S$	$C_7H_8N_6O_2S$
Massa Molecular	226,23	240,25
Temperatura/K	160(1)	159,99(10)
Sistema Cristalino	monoclínico	monoclínico
Grupo Espacial	$P2_1/c$	$P2_1/n$
a/Å	11,6955(10)	5,67495(16)
b/Å	5,6150(5)	9,4303(2)
c/Å	14,3386(14)	18,9778(5)
$\alpha/^\circ$	90	90
$\beta/^\circ$	95,919(9)	95,371(3)
$\gamma/^\circ$	90	90
Volume/Å ³	936,60(15)	1011,17(5)
Z	4	4
ρ_{calc}/cm^3	1,604	1,578
μ/mm^{-1}	3,058	2,868
F(000)	464,0	496,0
Tamanho do cristal/mm ³	0,12 × 0,06 × 0,015	0,29 × 0,05 × 0,04
Radiação	$CuK\alpha$ ($\lambda = 1,54184$)	$CuK\alpha$ ($\lambda = 1,54184$)
Alcance de Θ p/ coleta de dados ($^\circ$)	7,6 a 148,884	9,362 a 148,968
Índices hkl	$-11 \leq h \leq 14$	$-6 \leq h \leq 7$
	$-5 \leq k \leq 7$	$-10 \leq k \leq 11$
	$-17 \leq l \leq 17$	$-23 \leq l \leq 23$
Reflexões coletadas	6459	9328
Reflexões Independentes	1882	2026
	[$R_{int} = 0,0820$, $R_{sigma} = 0,0822$]	[$R_{int} = 0,0344$, $R_{sigma} = 0,0246$]
Dados/restrições/parâm	1882/0/145	2026/0/151
GOF em F^2	1,016	1,075
Índice R Final [$I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0475$	$R_1 = 0,0415$
	$wR_2 = 0,1097$	$wR_2 = 0,1146$
Índice R Final [todos os dados]	$R_1 = 0,0775$	$R_1 = 0,0439$
	$wR_2 = 0,1215$	$wR_2 = 0,1160$

Fonte: Dados da Pesquisa.

APÊNDICE

Tabela E3 - Dados da coleta e parâmetros de refinamento dos compostos $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$ e $[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$.

	$[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{H,H}}]$	$[\text{ReBr}(\text{CO})_3\text{L}^{\text{Me,Me}}]$
formula Empirica	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{BrN}_6\text{O}_6\text{ReS}$	$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{BrN}_6\text{O}_5\text{ReS}$
Massa Molecular	634,5	604,42
Temperatura/K	160(1)	160(1)
Sistema Cristalino	Ortorrômico	Ortorrômico
Grupo Espacial	$Pca2_1$	$Pbca$
a/Å	14,84927(20)	12,8669(5)
b/Å	11,36267(14)	8,9140(3)
c/Å	11,34831(14)	29,5706(12)
$\alpha/^\circ$	90	90
$\beta/^\circ$	90	90
$\gamma/^\circ$	90	90
Volume/Å ³	1914,77(4)	3391,6(2)
Z	4	8
$\rho_{\text{calc}}/\text{cm}^3$	2,201	2,367
μ/mm^{-1}	16,277	9,681
F(000)	1200,0	2272,0
Tamanho do cristal/mm ³	0,13 × 0,06 × 0,02	0,23 × 0,17 × 0,08
Radiação	$\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54184$)	$\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0,71073$)
Alcance de Θ p/ coleta de dados (°)	9.802 à 136.484	5,51 à 61,032
Índices hkl	-17 ≤ h ≤ 15, -13 ≤ k ≤ 13, -13 ≤ l ≤ 13	-16 ≤ h ≤ 18, -11 ≤ k ≤ 12, -42 ≤ l ≤ 42
Reflexões coletadas	17726	26767
Reflexões Independentes	3301 [$R_{\text{int}} = 0,0326$, $R_{\text{sigma}} = 0,0209$]	5186 [$R_{\text{int}} = 0,0538$, $R_{\text{sigma}} = 0,0410$]
Dados/restrições/parâm.	3301/13/255	5186/3/239
GOF em F^2	1,083	1,230
Índice R Final [$I > 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0,0211$, $wR_2 = 0,0555$	$R_1 = 0,0387$, $wR_2 = 0,0641$
Índice R Final [todos os dados]	$R_1 = 0,0220$, $wR_2 = 0,0559$	$R_1 = 0,0509$, $wR_2 = 0,0675$

Fonte: Dados da Pesquisa.

checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) N12CA

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format **test-name_ALERT_alert-type_alert-level**. Click on the hyperlinks for more details of the test.

 **Alert level C**
 PLAT088_ALERT_3_C Poor Data / Parameter Ratio 9.07
 Note

 **Alert level G**
 PLAT066_ALERT_1_G Predicted and Reported Tmin&Tmax Range Identical ?
 Check
 PLAT380_ALERT_4_G Incorrectly? Oriented X(sp2)-Methyl Moiety C5
 Check

- 0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain
- 0 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully
- 1 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
- 2 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected

- 1 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
- 0 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
- 1 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
- 1 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
- 0 ALERT type 5 Informative message, check

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

APÊNDICE

Publication of your CIF in IUCr journals

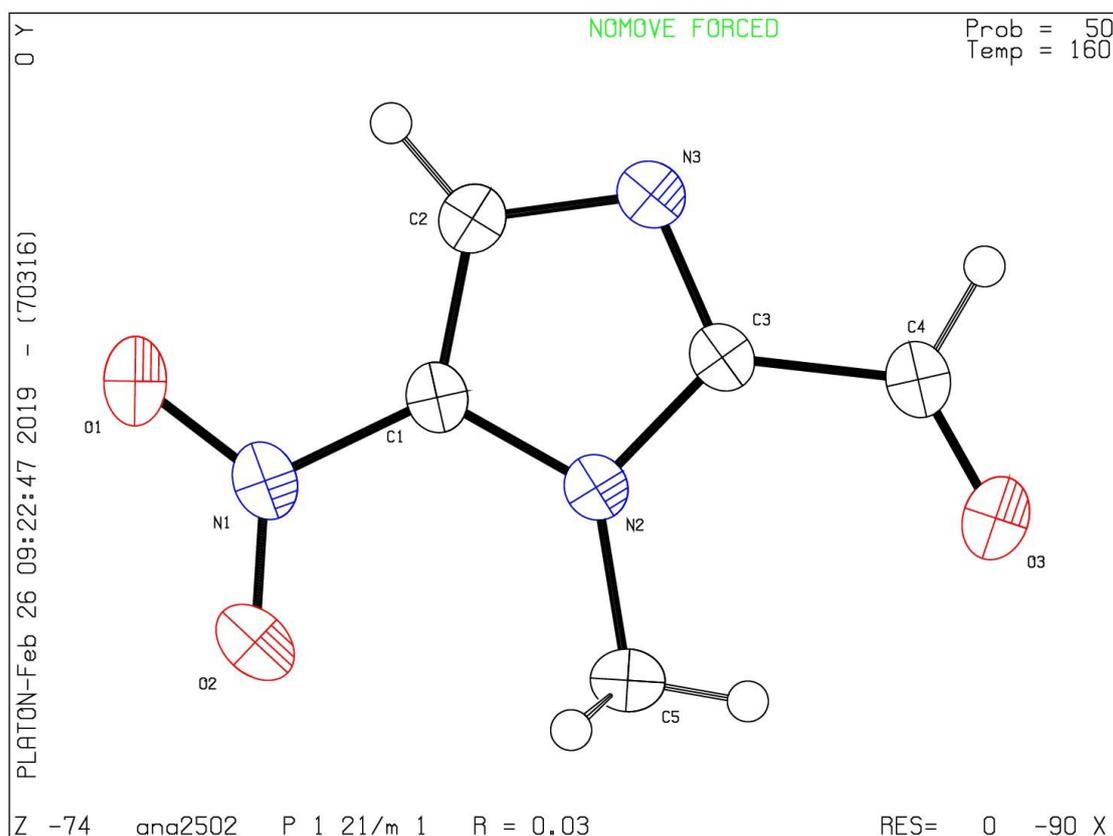
A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

Publication of your CIF in other journals

Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 18/02/2019; check.def file version of 18/02/2019

Datablock N12CA - ellipsoid plot



checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) tsc^{H,Me}

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format **test-name_ALERT_alert-type_alert-level**. Click on the hyperlinks for more details of the test.

 **Alert level B**
 PLAT230_ALERT_2_B Hirshfeld Test Diff for S1 --C6 . 7.3
 s.u.

- 0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain
- 1 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully
- 0 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
- 0 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected

- 0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
- 1 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
- 0 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
- 0 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
- 0 ALERT type 5 Informative message, check

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

Publication of your CIF in IUCr journals

A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

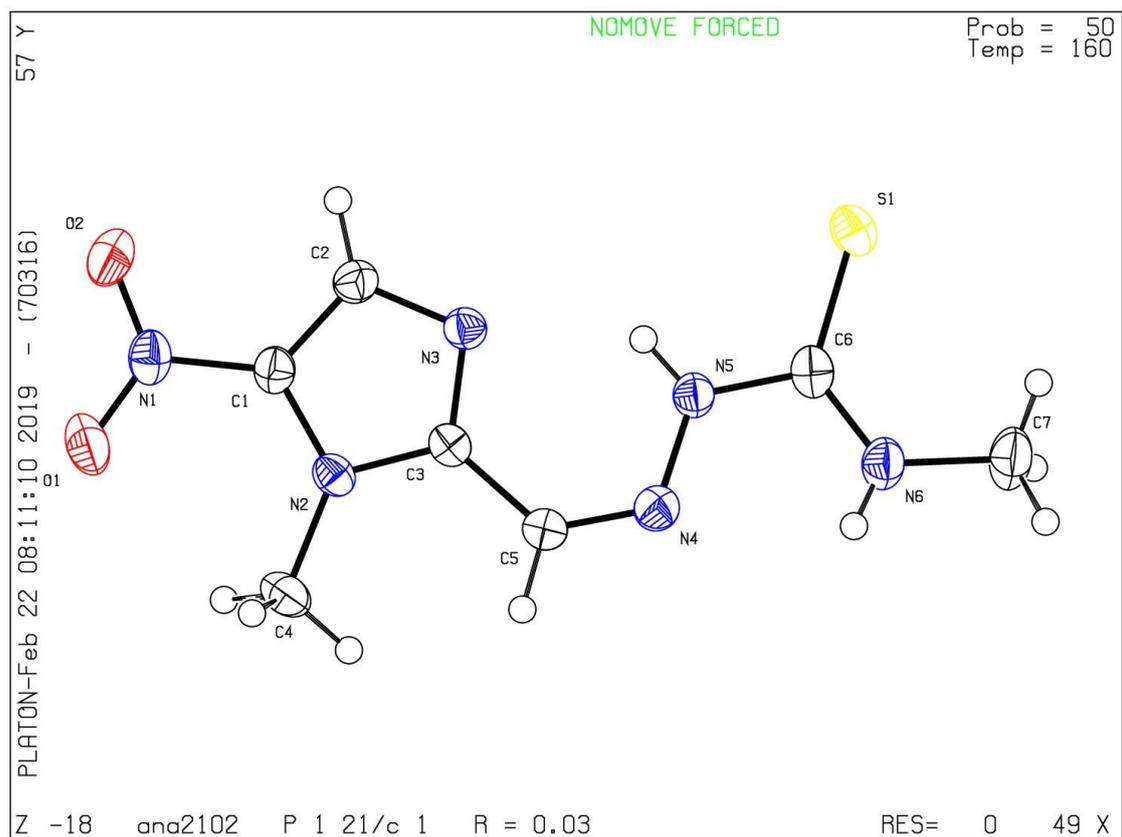
APÊNDICE

Publication of your CIF in other journals

Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 18/02/2019; check.def file version of 18/02/2019

Datablock L^{HMc} - ellipsoid plot



checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) tsc^{Me,Me}

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format **test-name_ALERT_alert-type_alert-level**. Click on the hyperlinks for more details of the test.



Alert level C

PLAT230_ALERT_2_C	Hirshfeld Test Diff for	S1	--C6	.	5.7
s.u. PLAT414_ALERT_2_C	Short Intra D-H..H-X	H5	..H7C		1.96
Ang.			x, y, z	=	1_555
Check					



Alert level G

PLAT910_ALERT_3_G	Missing # of FCF Reflection(s) Below Theta (Min).	1
Note		
PLAT978_ALERT_2_G	Number C-C Bonds with Positive Residual Density.	2
Info		

- 0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain
- 0 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully
- 2 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
- 2 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected

- 0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
- 3 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
- 1 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
- 0 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
- 0 ALERT type 5 Informative message, check

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

Publication of your CIF in IUCr journals

A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied*

APÊNDICE

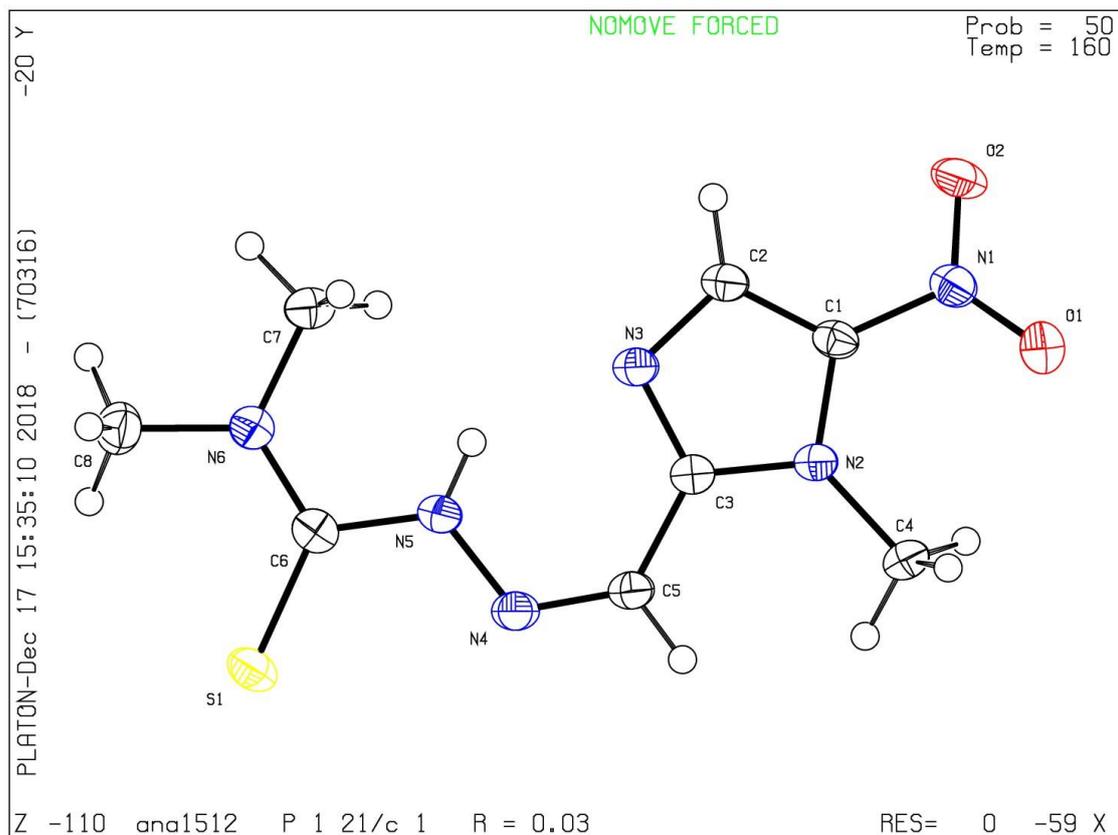
Crystallography, Journal of Synchrotron Radiation); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

Publication of your CIF in other journals

Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 13/12/2018; check.def file version of 11/12/2018

Datablock tsc^{MeMe} - ellipsoid plot



checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) L^{H,H}

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format **test-**
name_ALERT_alert-type_alert-level.

Click on the hyperlinks for more details of the test.

 **Alert level B**
 PLAT430_ALERT_2_B Short Inter D...A Contact O2 ..N1 . 2.85
 Ang. $2-x, 1/2+y, 3/2-z = 2_756$
 Check

 **Alert level C**
 PLAT340_ALERT_3_C Low Bond Precision on C-C Bonds 0.0045
 Ang.
 PLAT906_ALERT_3_C Large K Value in the Analysis of Variance 2.933
 Check
 PLAT911_ALERT_3_C Missing FCF Refl Between Thmin & STh/L= 0.600 6
 Report

 **Alert level G**
 PLAT432_ALERT_2_G Short Inter X...Y Contact O2 ..C1 3.00
 Ang. $2-x, 1/2+y, 3/2-z = 2_756$
 Check
 PLAT912_ALERT_4_G Missing # of FCF Reflections Above STh/L= 0.600 17
 Note
 PLAT933_ALERT_2_G Number of OMIT Records in Embedded .res File ... 2
 Note
 PLAT978_ALERT_2_G Number C-C Bonds with Positive Residual Density. 1
 Info

- 0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain
 1 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully
 3 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
 4 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected
- 0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
 4 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
 3 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
 1 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
 0 ALERT type 5 Informative message, check

APÊNDICE

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

Publication of your CIF in IUCr journals

A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

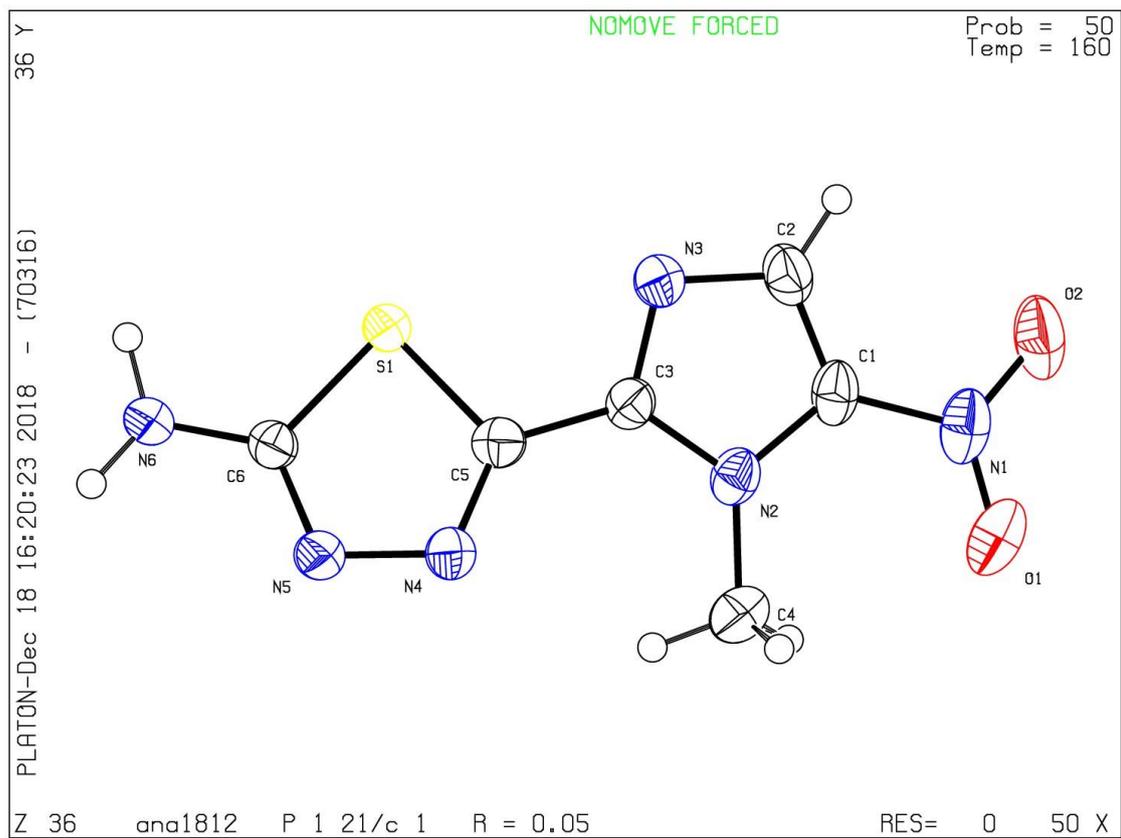
Publication of your CIF in other journals

Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 13/12/2018; check.def file version of 11/12/2018

APÊNDICE

Datablock L^{HL} - ellipsoid plot



checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) L^{H,Me}

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format **test-**
name_ALERT_alert-type_alert-level.

Click on the hyperlinks for more details of the test.



Alert level C

PLAT911_ALERT_3_C Missing FCF Refl Between Thmin & STh/L= 0.600 23
Report



Alert level G

PLAT912_ALERT_4_G Missing # of FCF Reflections Above STh/L= 0.600 16
Note
PLAT933_ALERT_2_G Number of OMIT Records in Embedded .res File ... 2
Note
PLAT978_ALERT_2_G Number C-C Bonds with Positive Residual Density. 2
Info

- 0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain
- 0 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully
- 1 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
- 3 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected

- 0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
- 2 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
- 1 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
- 1 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
- 0 ALERT type 5 Informative message, check

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

APÊNDICE

Publication of your CIF in IUCr journals

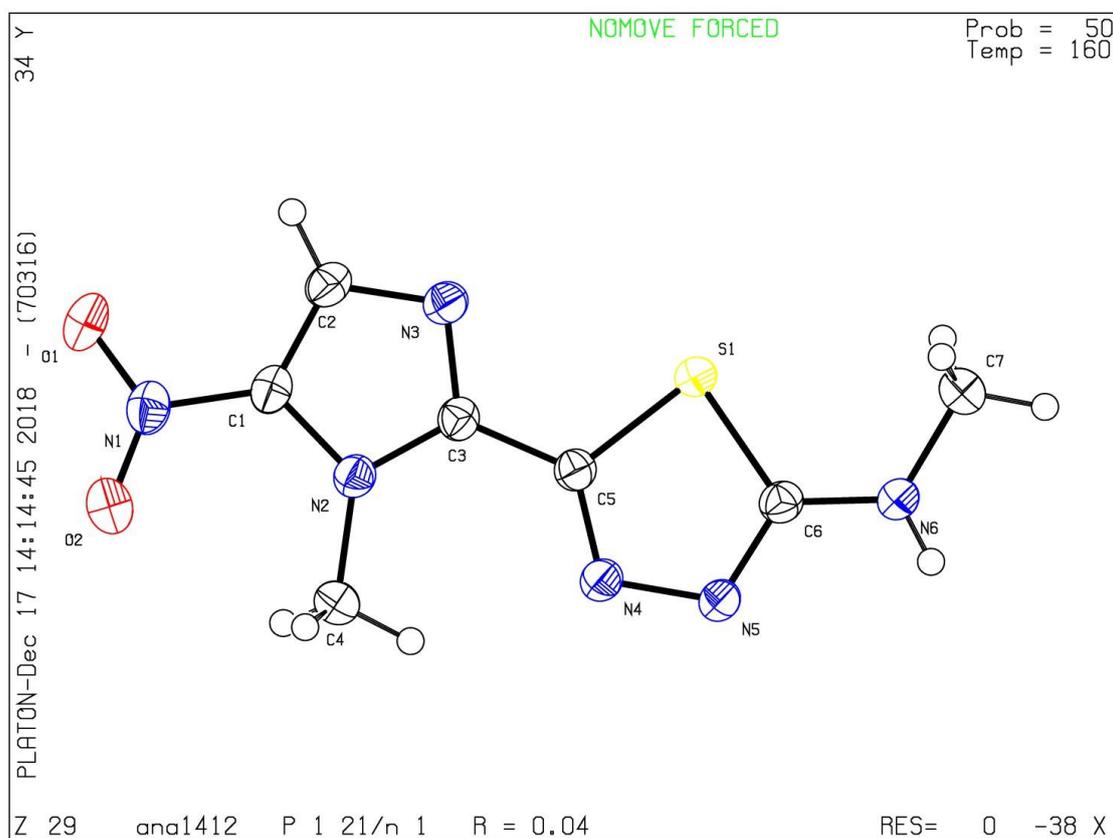
A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

Publication of your CIF in other journals

Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 13/12/2018; check.def file version of 11/12/2018

Datablock L^{HME} - ellipsoid plot



APÊNDICE

checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) [ReBr(CO)₃L^{H,H}]-C₃H₆O

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format **test-name_ALERT_alert-type_alert-level**.
Click on the hyperlinks for more details of the test.

Alert level C	
PLAT090_ALERT_3_C Poor Data / Parameter Ratio (Zmax > 18)	7.22
Note	
PLAT244_ALERT_4_C Low 'Solvent' Ueq as Compared to Neighbors of C10	
Check PLAT342_ALERT_3_C Low Bond Precision on C-C Bonds	
0.01175 Ang. PLAT430_ALERT_2_C Short Inter D...A Contact O6 ..N6 .	
2.89 Ang. x,1+y,z =	
1_565 Check PLAT431_ALERT_2_C Short Inter HL..A Contact Br1 ..S2 .	
3.51 Ang. -1/2+x,-y,z = 4_455	
Check PLAT480_ALERT_4_C Long H...A H-Bond Reported H12A ..05 .	
2.73 Ang.	
PLAT911_ALERT_3_C Missing FCF Refl Between Thmin & STh/L= 0.600	14
Report	
PLAT915_ALERT_3_C No Flack x Check Done: Low Friedel Pair Coverage	88
%	
PLAT971_ALERT_2_C Check Calcd Resid. Dens. 0.82A From Re1	1.56
eA-3	
PLAT978_ALERT_2_C Number C-C Bonds with Positive Residual Density.	0
Info	

Alert level G	
PLAT003_ALERT_2_G Number of Uiso or Uij Restrained non-H Atoms ...	3
Report	
PLAT178_ALERT_4_G The CIF-Embedded .res File Contains SIMU Records	1
Report PLAT232_ALERT_2_G Hirshfeld Test Diff (M-X) Rel --Br1 .	
5.3 s.u.	
PLAT790_ALERT_4_G Centre of Gravity not Within Unit Cell: Resd. #	2
Note	
C3 H6 O	
PLAT860_ALERT_3_G Number of Least-Squares Restraints	13
Note	
PLAT910_ALERT_3_G Missing # of FCF Reflection(s) Below Theta(Min).	1
Note	
PLAT933_ALERT_2_G Number of OMIT Records in Embedded .res File ...	5
Note	

0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain
0 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully
10 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
7 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected
0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data

APÊNDICE

7 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient
6 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
4 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
0 ALERT type 5 Informative message, check

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

Publication of your CIF in IUCr journals

A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

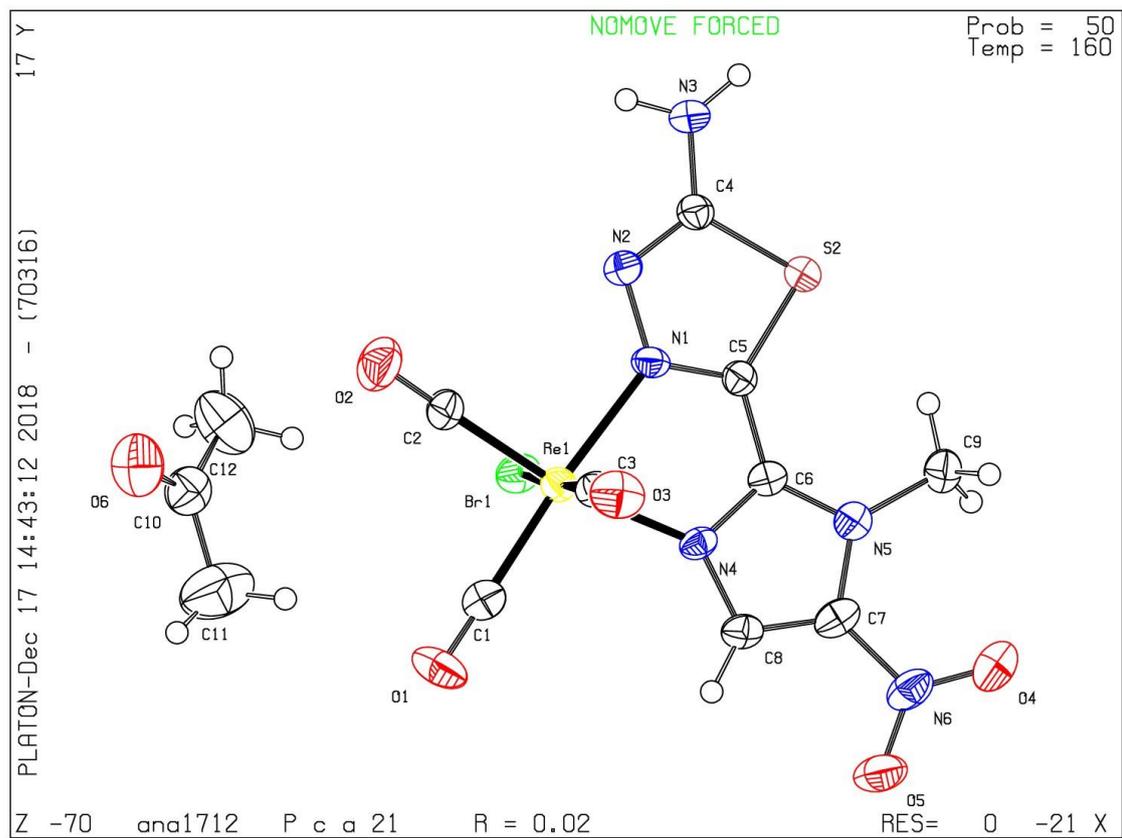
Publication of your CIF in other journals

Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 13/12/2018; check.def file version of 11/12/2018

APÊNDICE

Datablock [ReBr(CO)₃L¹²³]₂C₆H₆O - ellipsoid plot



APÊNDICE

checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) [ReBr(CO)₃L^{Me,Me}]

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found. CIF dictionary Interpreting this report

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format **test-name_ALERT_alert-type_alert-level.**
Click on the hyperlinks for more details of the test.

Alert level C	
PLAT906_ALERT_3_C Large K Value in the Analysis of Variance Check	4.657
PLAT911_ALERT_3_C Missing FCF Refl Between Thmin & STh/L= Report	0.600 4
PLAT972_ALERT_2_C Check Calcd Resid. Dens. 1.61A From C2 eA-3	-1.89
PLAT975_ALERT_2_C Check Calcd Resid. Dens. 1.05A From O5 eA-3	0.60
PLAT978_ALERT_2_C Number C-C Bonds with Positive Residual Density. Info	0

Alert level G	
PLAT002_ALERT_2_G Number of Distance or Angle Restraints on AtSite Note PLAT083_ALERT_2_G SHELXL Second Parameter in WGHT Unusually Large 12.44 Why ?	7
PLAT171_ALERT_4_G The CIF-Embedded .res File Contains EADP Records Report	3
PLAT176_ALERT_4_G The CIF-Embedded .res File Contains SADI Records Report	3
PLAT301_ALERT_3_G Main Residue Disorder(Resd 1) Note PLAT432_ALERT_2_G Short Inter X...Y Contact O4 ..C11 2.83 Ang.	12%
Check PLAT432_ALERT_2_G Short Inter X...Y Contact O5 ..C6 2.96 Ang.	$1/2+x,y,1/2-z = 6_656$
Check	$1-x,-1/2+y,1/2-z = 3_645$
PLAT860_ALERT_3_G Number of Least-Squares Restraints Note	3
PLAT910_ALERT_3_G Missing # of FCF Reflection(s) Below Theta(Min). Note	2
PLAT912_ALERT_4_G Missing # of FCF Reflections Above STh/L= 0.600 Note	2
PLAT933_ALERT_2_G Number of OMIT Records in Embedded .res File ... Note	3

- 0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain
0 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully
5 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight
11 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected
- 0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data
8 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient

APÊNDICE

5 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low
3 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion
0 ALERT type 5 Informative message, check

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

Publication of your CIF in IUCr journals

A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

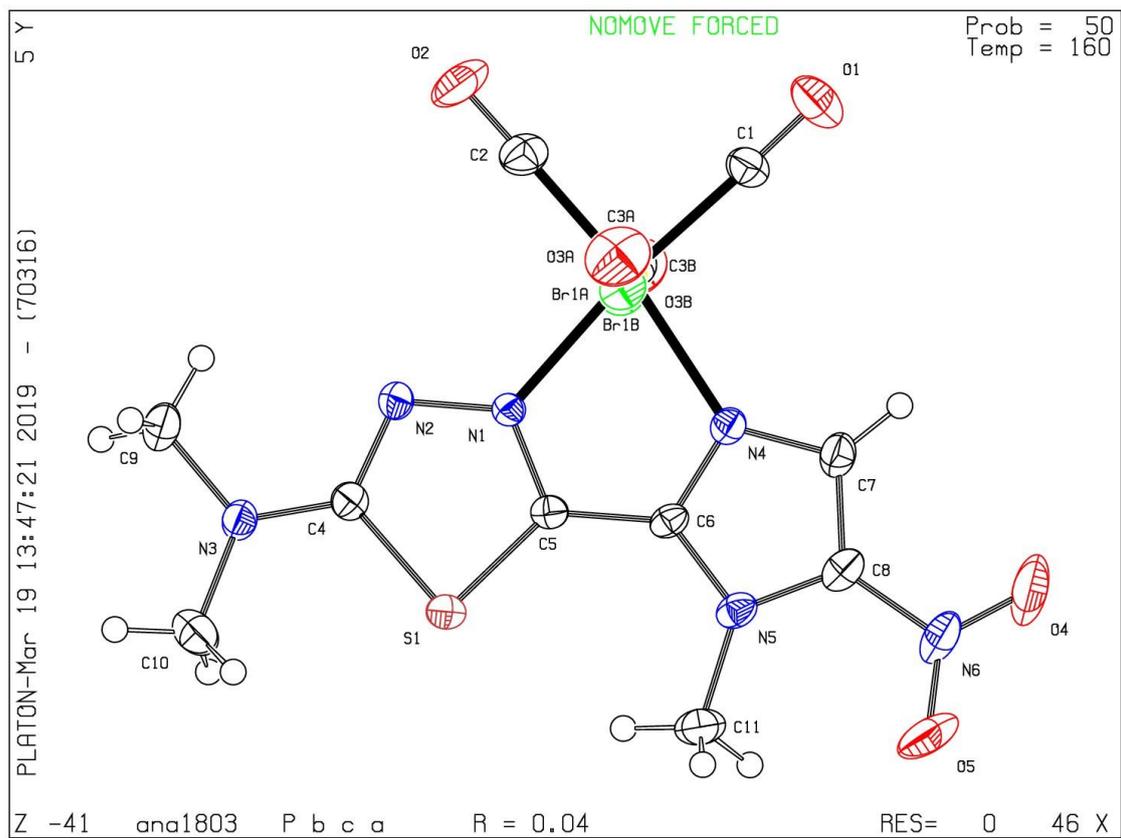
Publication of your CIF in other journals

Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

PLATON version of 17/03/2019; check.def file version of 04/03/2019

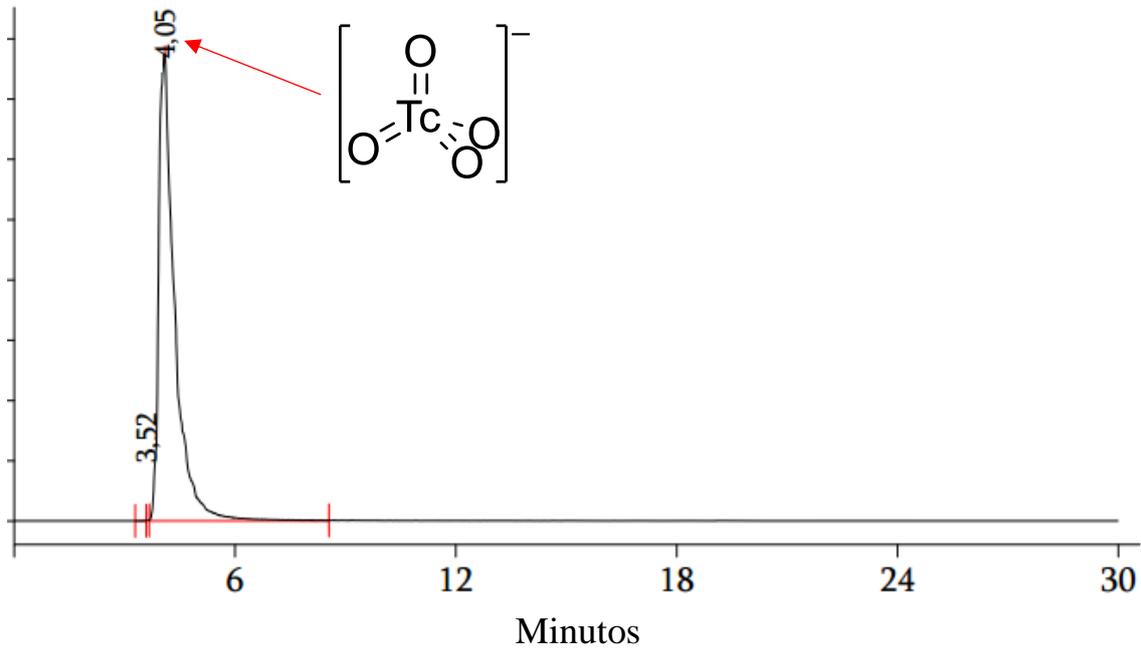
APÊNDICE

Datablock [ReBr(CO)₃L^{Me₃N}] - ellipsoid plot



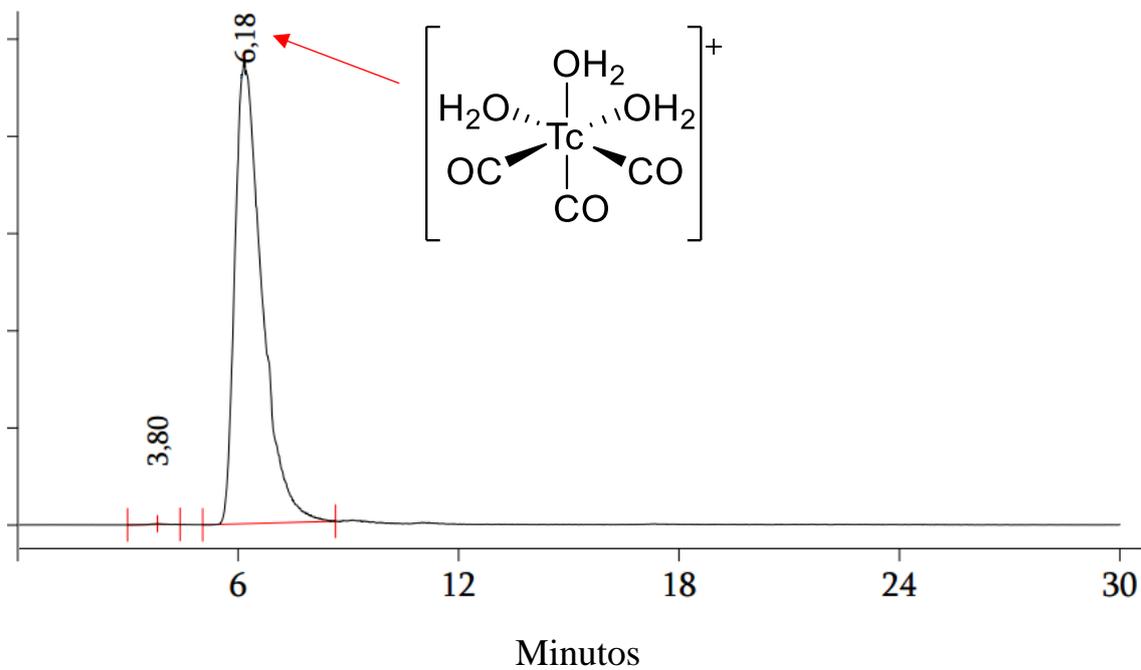
APÊNDICE F – CROMATOGRAMAS de radio-HPLC de ^{99m}Tc

Figura 1F – Cromatograma do complexo $[\text{}^{99m}\text{TcO}_4]^+$ no radio-HPLC. Detector: γ .



Fonte: Dados da Pesquisa.

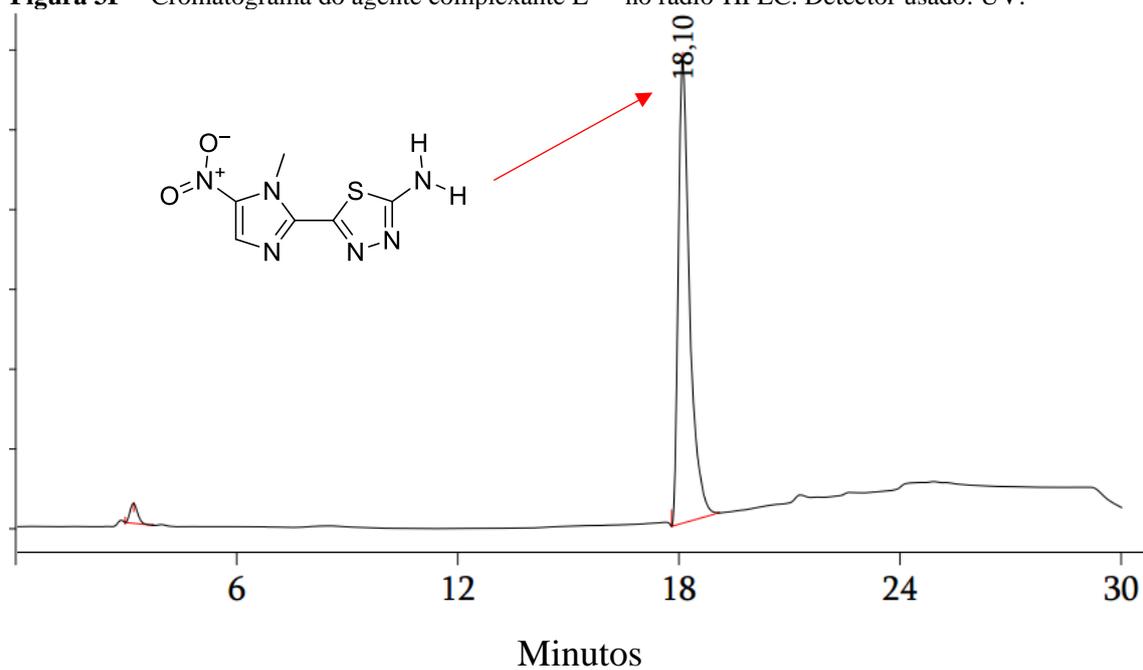
Figura 2F – Cromatograma do complexo $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{OH}_2)_3(\text{CO})_3]^+$ no radio-HPLC. Detector usado: γ .



Fonte: Dados da Pesquisa.

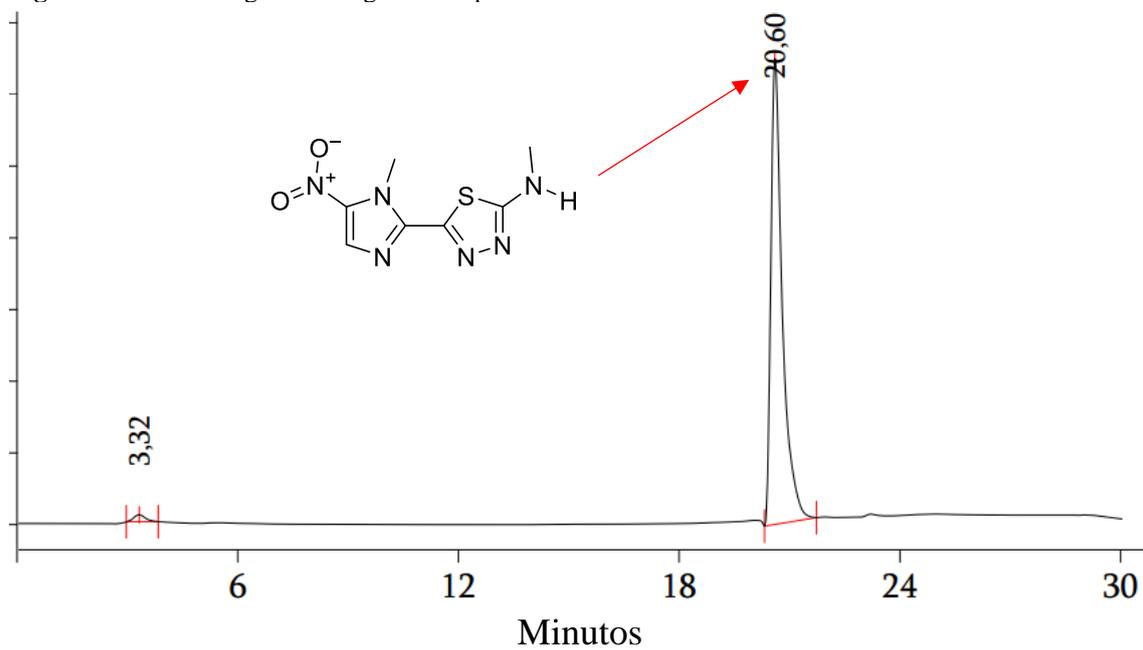
APÊNDICE

Figura 3F – Cromatograma do agente complexante L^{H,H} no radio-HPLC. Detector usado: UV.



Fonte: Dados da Pesquisa.

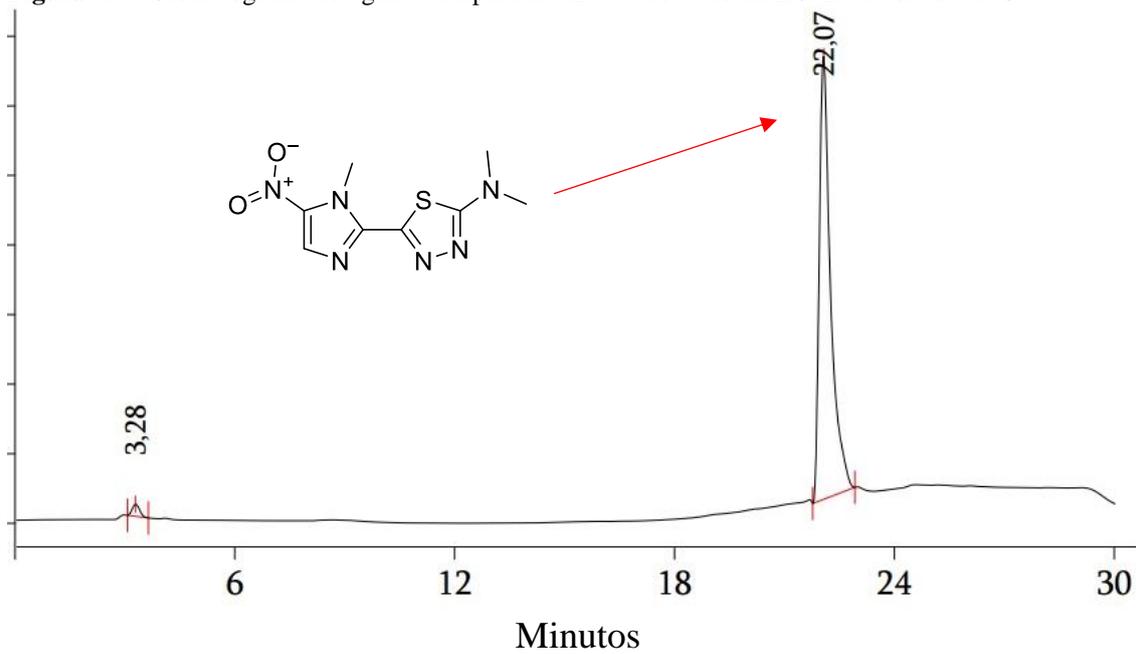
Figura 4F – Cromatograma do agente complexante L^{H,Me} no radio-HPLC. Detector usado: UV.



Fonte: Dados da Pesquisa.

APÊNDICE

Figura 5F – Cromatograma do agente complexante L^{Me,Me} no radio-HPLC. Detector usado: UV.



Fonte: Dados da Pesquisa.