UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E INVESTIGAÇÃO DA POTENCIALIDADE BIOLÓGICA DE CARBOXILATOS DINUCLEARES DE Ru, Rh E Cu COM NITROIMIDAZÓIS

ANA CECILIA VALDERRAMA NEGRÓN

TESE DE DOUTORADO

ÁREA: QUÍMICA INORGÂNICA

ORIENTADORA: Prof. Dra. DENISE DE OLIVEIRA SILVA

SÃO PAULO

29/04/2005

"Síntese, caracterização e investigação da potencialidade biológica de carboxilatos dinucleares de Ru, Rh e Cu com nitroimidazóis"

ANA CECILIA VALDERRAMA NEGRÓN

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química - Área: Química Inorgânica.

Aprovado(a) por:

Profa. Dra. DENISE DE OLIVEIRA SILVA
IQ – USP
(Orientadora e Presidente)

Profa. Dra. ANA MARIA DA COSTA FERREIRA
IQ – USP

Profa. Dra. PAOLA CORIO
IQ – USP

Prof. Dr. ROBERTO SANTANA DA SILVA
FCFRP – USP

Profa. Dra. REGINA CÉLIA GALVÃO FREM DI NARDO
IQ – UNESP - Araraquara

SÃO PAULO
29 DE ABRIL 2005

Dedico este trabalho aos 50 anos de casamento dos meus pais, Dora e Jaime, ao seu amor, dedicação e exemplo.

SUMÁRIO

Página

AGRADECIMENTOS 1

RESUMO 3

ABSTRACT 5

ABREVIATURAS 7

Capítulo I.- INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

I.1 Introdução 10

1. Complexos Metálicos em Medicina 10
2. Os nitroimidazóis 15
   - A. Mecanismo de ação antimicrobiana dos 5-nitroimidazóis 16
   - B. Nitroimidazóis como radiossensibilizadores de tumores no tratamento do câncer 18
3. Carboxilatos Dimetálicos 19

I.2 Objetivos 21

I.3 Referências Bibliográficas 22

Capítulo II.- SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS TETRACARBOXILATOS DE Ru_2(II,III), Cu_2(II,II) E Rh_2(II,II)

II.1 PARTE EXPERIMENTAL 27

1. Reagentes e Solventes 28
2. Sínteses 29

2.1Sínteses dos complexos de Ru_2(II,III) 30

2.1.1 RuACET, Clorotetrakis(acetato) de Ru_2(II,III) : $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$ 30

2.1.2 RuAQUO, Hexafluorfosfato de bis(aquo)tetrakis(acetato) de Ru_2(II,III) dihidratado : $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]PF_6.2\ H_2O$ 30

2.1.3 Derivados nitroimidazólicos de tetrakis(acetato) de $Ru_2(II,III)$ dihidratado: $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$: RuMETRO (L=METRO), RuNIMO (L=NIMO), RuSECNI (L=SECNI) e RuTINI (L = TINI) 30

2.2 Sínteses dos complexos de $Rh_2(II,II)$ 31

2.2.1 RhACET, Tetrakis(acetato) de $Rh_2(II,II)$: $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ 31

2.2.2 Derivados nitroimidazólicos de tetrakis(acetato) de $Rh_2(II,II)$:$[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$: RhMETRO (L=METRO), RhNIMO (L=NIMO), RhSECNI (L=SECNI) e RhTINI (L = TINI) 31

2.3 Sínteses dos complexos de $Cu_2(II,II)$ 32

2.3.1 Derivados nitroimidazólicos de tetrakis(acetato) de $Cu_2(II,II)$: $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$: CuMETRO (L=METRO), CuNIMO (L=NIMO, CuSECNI (L=SECNI) e CuTINI (L = TINI) 32

3. Técnicas de Caracterização dos Complexos 33

3.1 Análises Elementares 33

3.2 Testes de Solubilidade dos Complexos 33

3.3 Espectroscopia Eletrônica 34

A. Em solução 34

B. Em estado sólido 35

3.4 Medidas de Susceptibilidade Magnética 35

3.5 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (4000 – 400 cm^{-1}) 38

3.6 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho afastado (500 – 190 cm^{-1}) 38

3.7 Espectroscopia Raman 38

3.8 Análises Termogravimétricas 39

3.9 Medidas de Condutividade Molar 39

3.10 Estudos Eletroquímicos dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ 39

3.11 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica 40

3.12 Medidas de Susceptibilidade Magnética em Função da Temperatura dos Derivados Nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ 40
3.13 Acompanhamento Espectroscópico da Estabilidade dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ 41
3.14 Ensaio de Partição dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ 41

4. Referências Bibliográficas 42

I.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO 45

I.2.1 COMPLEXOS DE $Ru_2(II,III)$ 46

1. Sínteses 46
2. Testes de Solubilidade dos Complexos 48
3. Espectroscopia Eletrônica 50
   A. Estrutura Eletrônica e Espectros de Absorção dos Tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ 50
   B. Espectros de Absorção dos Derivados Substituídos de $Ru_2(II,III)$ com Nitroimidazóis 56
   B.1 Espectros dos complexos em solução 56
   B.2 Espectros dos complexos no estado Sólido 63
   B.3 Atribuição das bandas 65

4. Medidas de Susceptibilidade Magnética 68
5. Espectroscopia Vibracional 69
   A. Espectroscopia na região do Infravermelho (4000 – 400 cm^{-1}) 69

   A.1 Vibrações associadas ao carboxilato 70
   A.2 Vibrações associadas aos ligantes nitroimidazólicos 71
   A.3 Espectros vibracionais na região de 4000 – 400 cm^{-1} dos ligantes nitroimidazólicos e dos complexos de $Ru_2(II,III)$ 71

B. Espectroscopia na Região do Infravermelho Afastado ($500 - 190\ cm^{-1}$) 82
B.1 Vibrações mais importantes 82
B.2 Espectros vibracionais IR dos complexos de $Ru_2(II,III)$ ($500 - 190\ cm^{-1}$) 83

B. Espectroscopia RAMAN 90
C.1 Espectros vibracionais RAMAN dos complexos de $Ru_2(II,III)$ 91

6. Análises Termogravimétricas 96
7. Medidas de Condutividade Molar 107
8. Estudos Eletroquímicos dos complexos de $Ru_2(II,III)$ 109
   A. Dados observados na Literatura 109
   B. Resultados obtidos nesse trabalho 112

9. Acompanhamento Espectroscópico da Estabilidade dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ 119
10. Ensaios de Partição dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ 122
11. Referências Bibliográficas 124

II.2.2 COMPLEXOS DE $Rh_2(II,II)$ 128

1. Sínteses 129
2. Testes de Solubilidade dos Complexos 131
3. Espectroscopia Eletrônica 132
   A. Estrutura Eletrônica e Espectros de Absorção dos Tetracarboxilatos de $Rh_2(II,II)$ 132
   B. Espectros de Absorção dos Derivados Substituídos de $Rh_2(II,II)$ com Nitroimidazóis 137
   B.1 Espectros dos complexos em solução 137
   B.2 Espectros dos complexos no estado Sólido 141
   B.3 Atribuição das bandas 143

4. Medidas de Susceptibilidade Magnética 144

5. Espectroscopia Vibracional 145
A. Espectroscopia na região do Infravermelho (4000 – 400 cm^{-1}) 145

A.1 Espectros vibracionais na região de 4000 – 400 cm^{-1} dos complexos de $Rh_2(II,II)$ 145

B. Espectroscopia na Região do Infravermelho Afastado (500 – 190 cm^{-1}) 153
B.1 Vibrações mais importantes 153
B.2 Espectros vibracionais IR dos complexos de $Rh_2(II,II)$ (500 – 190 cm^{-1}) 154

C. Espectroscopia RAMAN 157
C.1 Espectros vibracionais RAMAN dos complexos de $Rh_2(II,II)$ 158

6. Análises Termogravimétricas 163
7. Referências Bibliográficas 169

II.2.3 COMPLEXOS DE $Cu_2(II,II)$ 173

1. Sínteses 174
2. Testes de Solubilidade dos Complexos 175
3. Espectroscopia Eletrônica 176
A. Estrutura Eletrônica e Espectros de Absorção dos Tetracarboxilatos de $Cu_2(II,II)$ 176
B. Espectros de Absorção dos Derivados Substituídos de $Cu_2(II,II)$ com Nitroimidazóis 180
B.1 Espectros dos complexos em solução 180
B.2 Espectros dos complexos CuACET e CuMETRO no estado sólido 186
B.3 Atribuição das bandas 187

4. Medidas de Susceptibilidade Magnética 187
5. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica, EPR 189
6. Medidas de Susceptibilidade Magnética em Função da Temperatura 198

7. Espectroscopia Vibracional 204
A. Espectroscopia na região do Infravermelho (4000 – 400 cm^{-1}) 204

A.1 Espectros vibracionais na região de 4000 – 400 cm^{-1} dos complexos de $Cu_2(II,II)$ 205

B. Espectroscopia na Região do Infravermelho Afastado (500 – 190 cm^{-1}) 211
B.1 Vibrações mais importantes 211
B.2 Espectros vibracionais IR dos complexos de $Cu_2(II,II)$ (500 – 190 cm^{-1}) 213

8. Análises Termogravimétricas 217
9. Ensaio de Partição dos Derivados Nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ 222
10. Referências Bibliográficas 223

Capítulo III.- ENSAIOS BIOLÓGICOS *IN VITRO* DOS COMPLEXOS DE $Ru_2(II,III)$ E DE $Cu_2(II,II)$

III.1 INTRODUÇÃO 227

III.1.1 Atividade Antitumoral dos Tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ 227
III.1.2 Efeito Radiossensibilizador 229
A. Interação da radiação com tecidos biológicos 229
B. Princípios de radiossensibilização 230
C. Nitroimidazóis como radiossensibiizadores 231
D. Complexos de rutênio e cobre como radiossensibilizadores 233
E. Curvas de sobrevivência celular e doses de radiação 234
III.1.3 Bactérias e Fungos 237
A. Bactérias 237
B. Fungos 240

III.2 PARTE EXPERIMENTAL 243

III.2.1 Determinação da Citotoxicidade, Atividade Antitumoral
e Efeito Radiossensibilizador 243
A. Materiais 243

B. Determinação da Citotoxicidade dos Compostos pelo
Método de Incorporação do Vermelho Neutro 244
B.1 Preparo da suspensão Celular 244
B.2 Preparo das amostras 245
B.3 Teste propriamente dito 246
B.4 Determinação do Índice de Citotoxicidade 50% (IC_{50}) 246

C. Determinação da Atividade Antitumoral dos Compostos 247

D. Determinação do Efeito Radiossensibilizador dos Compostos 247
D.1 Determinação da Dose de Radiação que mata 50% das células
(DRL_{50}) 248
D.2 Determinação do Efeito Radiossensibilizador dos complexos de
Ru_2(II,III) e de Cu_2(II,II) 253

III.2.2 Determinação da Susceptibilidade Antimicrobiana (Atividade
Bactericida e Fungicida) dos Complexos de Ru_2(II,III) e de Cu_2(II,II) 254

A. Materiais 254
B. Preparação dos Inóculos 255

C. Método de Diluição em agar 257
C.1 Preparação das placas 257
C.2 Teste de Susceptibilidade Antimicrobiana 257
C.2.1 Bactérias Anaeróbicas (*Bacteróides fragilis ATCC 25283*) 258
C.2.2 Bactérias Aeróbicas (*Escherichia coli* ATCC 35218 e 25922,
Pseudomona aeruginosa ATCC 27853, *Staphylococcus
aureus* ATCC 25923) 258
C.2.3 Microaerófilos (*Campylobacter*) 259

D. Método de Macrodiluição em Caldo 259
D.1 Leveduras (*Cândida albicans* ATCC 90028) 259

III.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 260

III.3.1 Determinação do Índice de Citotoxicidade 50% (IC_{50}) dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ 260
III.3.2 Determinação da Atividade Antitumoral dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ 270

III.3.3 Determinação do Efeito Radiossensibilizador dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ 277
A. Determinação da Dose de Radiação que mata 50% das células (DRL_{50}) 277
B. Determinação do Efeito Radiossensibilizador dos complexos de $Ru_2(II,III)$, $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos 278

III.3.4 Determinação da Susceptibilidade Antimicrobiana (Atividade Bactericida e Fungicida) dos Complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ 289
A. Atividade Bactericida e Fungicida dos complexos de $Ru_2(II,III)$, $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos 289

III.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 294

Capítulo IV.- CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS 297

ANEXO 308

CURRICULUM VITAE 309

AGRADECIMENTOS

Eu quero expressar a minha maior gratidão, em primeiro lugar ao Brasil, país que me acolheu e me deu a oportunidade de alcançar os meus objetivos pessoais e profissionais com este trabalho.

Gostaria de agradecer também a todas as pessoas que contribuíram com a realização desta Tese de Doutorado, começando pela Prof[a]. Dra. Denise de Oliveira Silva, a minha orientadora e amiga que, com os seus conhecimentos deu o melhor rumo para este trabalho e, com a sua amizade e compreensão, me deu o ânimo necessário para seguir sempre adiante.

Aos professores do IQ, Dalva L. Araújo de Faria pelos espectros Raman e Elizabeth de Oliveira pelas medidas das concentrações de Ru e Cu por emissão atômica. À Dra. Anamaria D.P. Alexiou pelos espectros de reflectância e à Dra. Izilda Bagatin pelos estudos eletroquímicos. Ao Prof. do Instituto de Física, Armando Paduan Filho e ao meu amigo Wendel A. Alves pelas medidas de susceptibilidade magnética. À Prof[a]. Dra. Elsa Masae Mamizuka e ao Dr. Nilton Lincopan da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP pelos ensaios de atividade antimicrobiana e à minha sempre colaboradora e amiga, Sizue O. Rogero do IPEN que junto com Elizabeth Somessari (IPEN) e a equipe do Laboratório de Culturas Celulares do Instituto Adolfo Lutz, comandado pela Dra. Áurea S. Cruz, contribuíram com muito entusiasmo nos ensaios de citotoxicidade, atividade antitumoral e atividade radiossensibilizadora dos complexos abordados neste trabalho.

Aos docentes do IQ, Prof. Dr. Renato Najjar, Prof[a]. Dra. Vera R.L. Constantino, Prof[a]. Dra Ana Maria da Costa Ferreira, Prof. Dr. Breno P. Espósito e Prof[a]. Dra. Ana Maria Passos Felicíssimo.

Aos meus amigos do IQ, Renata, Claúdia, Leila, Filippo, Carlos, Ana Lúcia, Patrícia, Marcos, César, Danilo, Vanessa, Giselle, Neide, Dona Ivone e Cida, pela amizade e carinho ao longo destes anos. E, muito especialmente à minha querida amiga Geise, pela sua amizade e apoio quando, com muito carinho, aceitou ficar com minha filha nos momentos em que eu mais precisei.

Aos funcionários do IQ, pessoal da Central Analítica, da Biblioteca e aos meus amigos do xerox, os sempre prestativos Chico e Jailton.

Um agradecimento muito especial quero dedicar ao meu esposo Erich e à minha pequena Maria Alejandra por todo o amor, amizade, compreensão, apoio e força que me ajudaram a chegar até aqui. Aos meus pais e a toda a minha família que me alentou e aguardou muito por este momento.

Finalmente, um grande agradecimento ao CNPq pela bolsa concedida e à FAPESP pelo financiamento da pesquisa.

RESUMO

Este trabalho de Tese trata do estudo da interação de complexos dimetálicos contendo unidades do tipo $[M_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ (M = Ru, Rh ou Cu) com os ligantes 5-nitroimidazólicos (L): metronidazol, nimorazol, secnidazol e tinidazol. Novos compostos inéditos foram sintetizados e caracterizados principalmente por meio de análises elementares, técnicas espectroscópicas (espectroscopia eletrônica UV-VIS-IR, vibracional (FTIR, Raman) e EPR, medidas magnéticas e termogravimetria (TGA).

Os complexos de dirutênio, de fórmula $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$, apresentam bandas de absorção eletrônica em ~310 nm (IL), ~420 nm ($\pi(RuO, Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$) e ~1000 nm ($\delta(Ru_2) \rightarrow \delta^*(Ru_2)$), que são típicas de tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ que possuem dois centros metálicos unidos por ligação metal-metal múltipla de ordem 2,5. Os valores de μ_{ef} (3,80 – 4,40 M.B.) indicam a configuração eletrônica $\sigma^2\ \pi^4\ \delta^2\ \pi^{*2}\ \delta^{*1}$, em que há três elétrons desemparelhados para cada unidade Ru_2. Os valores de $\Delta\nu(CO_2) = \nu_{as} - \nu_s$ (~ 50 cm^{-1}), sendo $\nu_{as}(CO_2)$ = 1443 – 1450 cm^{-1} e $\nu_s(CO_2)$ = 1397 - 1409 cm^{-1}, confirmam a coordenação dos carboxilatos em ponte. O deslocamento das bandas ν(C=N) para maior freqüência em comparação com os nitroimidazóis livres evidencia a coordenação desses ligantes ao rutênio por meio do N3 do anel. Bandas atribuídas aos estiramentos ν(Ru-O) [IR, ~405 cm^{-1} (ν_{eu}) e ~345 cm^{-1} (ν_{a2u})], ν(Ru-N) [IR, 465 – 478 cm^{-1}] e ν(Ru-Ru) [Raman, ~ 326 – 334 cm^{-1}] comprovam a formação das ligações envolvendo os íons rutênio. Os compostos são estáveis termicamente até ~ 200°C, temperatura acima da qual começam a se decompor com a saída dos ligantes axiais, seguida de quebra do núcleo dimetálico. Todos os complexos comportam-se como eletrólitos 1:1 em solução, comprovando a presença do contra-íon PF_6^-. Os valores de potencial de meia-onda $E_{1/2}$ (~ 0,25 V) são similares para todos os derivados contendo nitroimidazóis e são um pouco menores do que o do aquo-complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]PF_6$ (0,31 V). Ensaios de partição em n-octanol-água indicam uma alta hidrofilicidade para os complexos.

Os compostos de ródio, $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$, apresentam uma banda típica da transição $\pi(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$ em ~555 nm (solução) e ~525 nm (estado sólido). O valor de μ_{ef} igual a zero confirma que as espécies são diamagnéticas. Nestes casos os centros metálicos são unidos por ligação simples. Os valores de $\Delta\nu$ (~ 110 cm^{-1}) [$\nu_{as}(CO_2)$, ~1590 cm^{-1}; $\nu_s(CO_2)$, 1423 - 1436 cm^{-1}] confirmam a coordenação dos carboxilatos em ponte. A coordenação dos ligantes nitroimidazóis pelo N3 também é evidenciada pelo deslocamento das freqüências ν(C=N). Bandas atribuídas aos estiramentos ν(Rh-O) [IR, ~385 cm^{-1} (ν_{eu}) e ~340 cm^{-1} (ν_{a2u})], ν(Rh-N) [IR, 475 – 490 cm^{-1}] e ν(Rh-Rh) [Raman, ~ 170 e 230 – 240 cm^{-1}] comprovam a formação das ligações envolvendo os íons ródio. Estes

compostos também se decompõem termicamente acima de 200°C, mas neste caso a saída dos ligantes nitroimidazólicos ocorre juntamente com a quebra do núcleo dimetálico.

Os complexos de cobre, $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$, apresentam uma banda em ~700 nm, denominada banda I, que é atribuída à transição $d_{xz,yz} \rightarrow d_{x^2-y^2}$. A banda II característica de dímero foi observada em ~370 nm no espectro no estado sólido do complexo com metronidazol. Os valores de μ_{ef} (1,40 – 1,55 M.B.) e dos parâmetros EPR [$g_{//}$ (2,160 – 2,180), $g_{\perp}$ (2,010 – 2,050) e D (0,287 – 0,296 cm^{-1})] são característicos de estrutura dinuclear com carboxilatos em ponte e indicam a ocorrência de acoplamento antiferromagnético e existência de algum tipo de interação entre os centros metálicos. Os valores de $\Delta\nu$ (~ 180 cm^{-1}), [$\nu_{as}(CO_2)$, 1619 – 1629 cm^{-1}; $\nu_s(CO_2)$, 1425 - 1433 cm^{-1}] confirmam a coordenação dos carboxilatos em ponte. O deslocamento das bandas ν(C=N) para maior freqüência em relação aos nitroimidazóis evidencia a coordenação ao cobre também via N3 do anel. A banda ν(Cu-O) é observada em ~350 cm^{-1}. Estes compostos começam a se decompor também acima de 200°C, no caso, com a saída de um dos ligantes nitroimidazólicos, sendo que a perda do segundo deve ocorrer juntamente com a quebra do núcleo dimetálico. Os compostos são hidrofílicos.

Todos os complexos de fórmula $[M_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]^n$ (M = Ru, Rh, Cu; L = 5-nitroimidazol) investigados neste trabalho apresentam, portanto, estruturas constituídas por unidades diméricas. Dois núcleos metálicos são unidos por quatro ligantes acetato, em ponte equatorial, coordenados a eles pelos átomos de oxigênio, gerando um arcabouço do tipo gaiola. Os nitroimidazóis ocupam as posições axiais nestas unidades, coordenando-se aos íons metálicos pelo N3 do anel imidazólico.

Como tetracarboxilatos diméricos, em geral, apresentam potencial na área de metalofármacos e os 5-nitroimidazóis pertencem a uma importante classe de fármacos de amplo uso clínico, ensaios foram realizados *in vitro* para verificar a possível atividade biológica dos novos complexos metálicos de rutênio e de cobre como: agentes antitumorais, radiossensibilizadores e agentes antimicrobianos (bactericida e fungicida). Os complexos de Ru_2(II,III) apresentam maior atividade contra células cancerígenas (HeLa) do que contra células normais (NCTC-clone L929), enquanto que os complexos de Cu_2(II,II), já em concentrações menores comparadas às dos análogos de Ru_2(II,III), promovem a morte de células tumorais. Os complexos de cobre Cu_2(II,II) exibem melhor atividade radiossensibilizadora no caso de baixas doses de radiação e 80% de sobrevivência celular. Os compostos são inativos contra bactérias aeróbicas, mas apresentam atividade no caso de bactérias anaeróbicas, sendo o complexo de cobre-metronidazol o mais eficaz. Este trabalho é o primeiro a relatar um estudo sobre atividade antifúngica para complexos de Ru_2(II,III). Estes apresentam atividade contra fungos, embora em concentrações mais altas em comparação com alguns fármacos usuais. Os complexos de ródio não foram submetidos a estes ensaios devido à baixa solubilidade apresentada.

ABSTRACT

The interaction of dinuclear metal moieties $[M_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ (M = Ru, Rh or Cu) with 5-nitroimidazolic ligands (L = metronidazole, nimorazole, secnidazole, tinidazole) were investigated. New compounds were synthesized and characterized by elemental analysis, spectroscopic (UV-VIS-NIR, FTIR, Raman, EPR) methods, magnetic measurements and thermogravimetry.

Diruthenium complexes of general formula $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$ show absorption bands at *ca.* 310 nm (IL), 420 nm ($\pi(RuO,Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$) and 1000 nm ($\delta(Ru_2) \rightarrow \delta^*(Ru_2)$). These bands are typical of Ru_2(II,III) tetracarboxylates where the metal centers are bonded by a metal-metal multiple bond of order 2.5. Values of μ_{eff} (3.80 – 4.40 MB) indicate an electronic configuration $\sigma^2\ \pi^4\ \delta^2\ \pi^{*2}\ \delta^{*1}$, where three electrons are unpaired on each Ru_2 unit. The differences $\Delta\nu(CO_2) = \nu_{as} - \nu_s$ (~ 50 cm^{-1}), where $\nu_{as}(CO_2)$ = 1443 – 1450 cm^{-1} and $\nu_s(CO_2)$ = 1397 - 1409 cm^{-1}, confirm the coordination through bridging carboxylates. The shifting of ν(C=N) bands to higher energies compared to the free nitroimidazoles is an evidence of the coordination of these ligands through the N3 ring atoms. Bands that may be attributed to ν(Ru-O) [IR, ~405 cm^{-1} (ν_{eu}) and ~345 cm^{-1} (ν_{a2u})], ν(Ru-N) [IR, 465 – 478 cm^{-1}] and ν(Ru-Ru) [Raman, ~ 326 – 334 cm^{-1}] stretchings give evidence of the formation of bonds involving the ruthenium ions. The compounds are thermically stable up to ~200°C; above this temperature they start to decompose with loss of axial ligands followed by disruption of the dinuclear core. All complexes exhibit behavior of 1:1 electrolytes in solution, confirming the presence of the PF_6^- counter-ion. The values of half-wave potentials ($E_{1/2}$, ~0,25 V) are similar for all the nitroimidazole derivatives but somewhat lower than that for the aqua-complex $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]PF_6$ (0,31 V). Partition assays in n-octanol/water system show the high hydrophylicity of the compounds.

The rhodium complexes $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$ exhibit a typical $\pi(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$ transition at ~555 nm (solution) and ~525 nm (solid). The zero-values of μ_{eff} confirm that the species are diamagnetic. In this case the metal centers are linked by a single bond. The differences $\Delta\nu$ (~ 110 cm^{-1}), [$\nu_{as}(CO_2)$, ~1590 cm^{-1}; $\nu_s(CO_2)$, 1423 - 1436 cm^{-1}], confirm the coordination through bridging carboxylates. Axial ligand coordination through the N3 nitroimidazole atom is also confirmed by the shifting of ν(C=N) frequencies. Bands that may be attributed to ν(Rh-O) [IR, ~385 cm^{-1} (ν_{eu}) and ~340 cm^{-1} (ν_{a2u})], ν(Rh-N) [IR, 475 – 490 cm^{-1}] and ν(Rh-Rh) [Raman, ~ 170 and 230 – 240 cm^{-1}] stretchings agree with the formation of bonds involving the rhodium ions. These compounds also undergo decomposition above 200°C, but in this case the loss of nitroimidazole ligands occurs along with the disruption of the dimetal core.

The copper complexes $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$ display the so-called Band I at ~700 nm, which is attributed to the $d_{xz,yz} \rightarrow d_{x2-y2}$ transition. The characteristic dimmer band (Band II) was observed at ~370 nm for the metronidazole derivative in the solid state. The values of μ_{eff} (1.40 – 1.55 MB) and of EPR parameters ($g_{//}$ = 2.160 – 2.180; $g_{\perp}$ = 2.010 – 2.050; D = 0.287 – 0.296) are in agreement with a carboxylate-bridged dinuclear structure and with antiferromagnetic coupling that indicates the presence of some type of interaction between the metal centers. The differences $\Delta\nu$ (*ca.* 180 cm^{-1}), [$\nu_{as}(CO_2)$, 1619 – 1629 cm^{-1}; $\nu_s(CO_2)$, 1425 - 1433 cm^{-1}], confirm the coordination through bridging carboxylates Axial ligand coordination through the N3 nitroimidazole atom is also confirmed by the shifting of ν(C=N) frequencies. The band ν(Cu-O) is observed at ~350 cm^{-1}. These compounds also start to decompose above 200°C, initially with the loss of one of the nitroimidazole ligands, followed by loss of the second and disruption of the dimetal core, simultaneously. The compounds are hydrophilic.

Therefore, all the studied complexes of general formula $[M_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$ (M = Ru, Rh, Cu; L = 5-nitroimidazole) exhibit structures with dimeric units. Two metal centers are bonded by four equatorial bridging carboxylate ligands through oxygen atoms in a cage-like motif. Nitroimidazole molecules occupy the axial positions coordinating the metal through the N3 imidazole ring atom.

Since dimeric tetracarboxylates are potential metal drugs and 5-nitromidazoles belong to an important class of broad clinical spectrum, *in vitro* assays were performed to assess the antitumoral, radiosensitizer and antimicrobial (bactericide and fungicide) activities of the new ruthenium and copper complexes. The Ru_2(II,III) complexes are more active against tumor (HeLa) than normal (NCTC clone L929) cells, while the Cu_2(II,II) analogous promote tumor cell death at lower concentrations. Copper complexes also displayed the best radiosensitizer activity at low radiation doses and 80% of cell survival. The compounds are inactive against aerobic bacteria, but are active against the anaerobic, being the copper-metronidazole complex the most efficient. This is the first report of the antifungal activity of Ru_2(II,III) complexes. They exhibit activity at concentrations somewhat higher than current used drugs. The rhodium complexes were not submitted to biological assays due to their low aqueous solubility.

ABREVIATURAS

ACN : Acetonitrila

CFM : Concentração Fungicida Mínima

CLM : Concentração Letal Mínima

3-CNPy : 3-cianopiridina

4-CNPy : 4-cianopiridina

CuACET : Tetrakis(acetato) de Cu_2(II,II)

CuMETRO : Bis(metronidazol)tetrakis(acetato) de dicobre (II,II)

CuNIMO : Bis(nimorazol)tetrakis(acetato) de dicobre (II,II)

CuSECNI : Bis(secnidazol)tetrakis(acetato) de dicobre (II,II)

CuTINI : Bis(tinidazol)tetrakis(acetato) de dicobre (II,II)

DICL : Diclorometano

DL_{50} : Dose Letal 50%. Concentração de complexo que mata 50% das células tumorais

DMSO : Dimetilsulfóxido

DMF : Dimetilformamida

DPPH : α, α'-difenil-β-picrilhidrazil

DRL_{50} : Dose de radiação que mata 50% da população celular

EtOH : Etanol

ER = DMF : *Enhacement Ratio = Dose Modification Ratio*, Fator de Modificação da Dose

IC_{50} : Índice de Citotoxicidade 50%. Concentração de complexo que mata 50% das células normais

MEM : *Minimal Eagle Medium*

METRO : metronidazol, 2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol

MeOH : Metanol

NIMO : nimorazol, 4-[2-(5-nitro-1H-imidazol-1-il)etil]

4-NO_2Im : 4-nitroimidazol

OER : *Oxygen Enhacement Ratio*, Fator de Contribuição do Oxigênio

RhACET : Tetrakis(acetato) de Rh_2(II,II)

RhMETRO : Bis(metronidazol)tetrakis(acetato) de dirródio (II,II)

RhNIMO : Bis(nimorazol)tetrakis(acetato) de dirródio (II,II)

RhSECNI : Bis(secnidazol)tetrakis(acetato) de dirródio (II,II)

RhTINI : Bis(tinidazol)tetrakis(acetato) de dirródio (II,II)

RuACET : Clorotetrakis(acetato) de Ru_2(II,III)

RuAQUO : Hexafluorfosfato de bis(aquo)tetrakis(acetato) de Ru_2(II,III) dihidratado

RuMETRO : Bis(metronidazol)tetrakis(acetato) de dirutênio (II,III)

RuNIMO : Bis(nimorazol)tetrakis(acetato) de dirutênio (II,III)

RuSECNI : Bis(secnidazol)tetrakis(acetato) de dirutênio (II,III)

RuTINI : Bis(tinidazol)tetrakis(acetato) de dirutênio (II,III)

SECNI : secnidazol, α,2-dimetil-5-nitro-1H-imidazol-1-etanol

$TEAClO_4$: Perclorato de tetraetilamônio

THF : Tetrahidrofurano

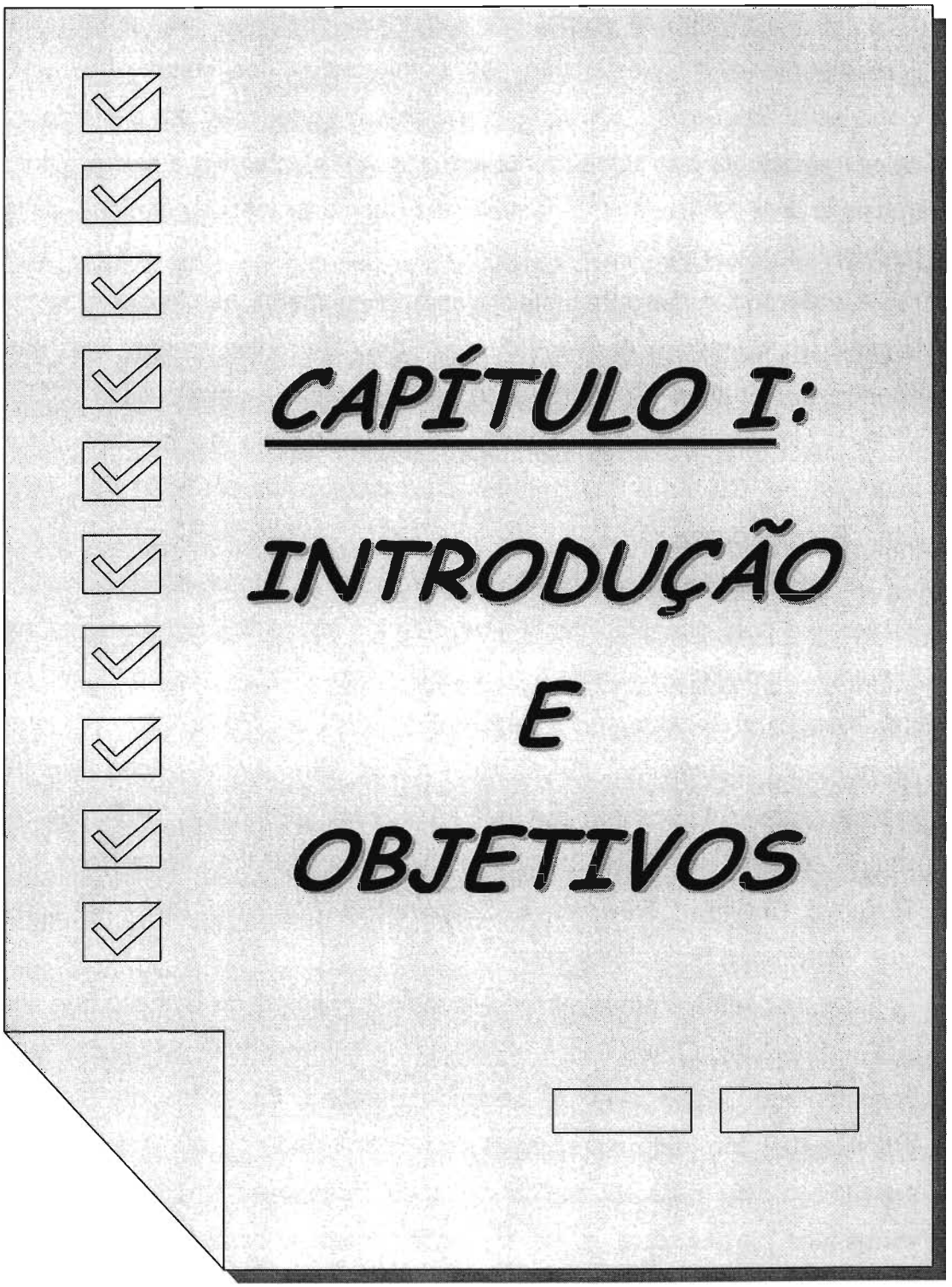
THT : Tetrahidrotiofeno

TMU : 1,1,3-tetrametiluréia

TMTU : 1,1,3,3-tetrametil-2-tiouréia

TOL : Tolueno

UFC : Unidades Formadoras de Colônias



CAPÍTULO I:

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

I.1 INTRODUÇÃO

1. Complexos Metálicos em Medicina

A bioinorgânica ocupa um lugar de destaque no campo da Química contemporânea. A investigação das propriedades dos complexos metálicos com vistas às aplicações biológicas é uma das áreas que mais tem crescido, conduzindo os pesquisadores a relacionarem a química polivalente, rica e colorida dos metais de transição aos intrincados e fascinantes mecanismos bioquímicos de controle e manutenção da vida.

Um certo número de metais e complexos metálicos utilizados na área médica ilustra bem o impacto destes estudos. Como exemplos, podem ser mencionados: agentes terapêuticos (Li, Pt, Au e Bi); radiofármacos de diagnóstico (^{99m}Tc) e terapia (^{186}Re); inibidores enzimáticos; agentes para terapia de quelação; suplementos minerais (Fe, Cu, Zn e Se), agentes para diagnóstico em RMN (Gd, Mn) e raios-X (Ba e I), entre outros[1].

Após o êxito da *cis*-platina e dos agentes antitumorais relacionados à platina, o interesse pelo uso e aplicações da química inorgânica em medicina expandiu-se bastante. Importantes conferências internacionais tais como *"The International Conference on Bioinorganic Chemistry"* (ICBIC) e *"The European Conference on Bioinorganic Chemistry"* (EUROBIC), hoje têm uma fração significativa de apresentações dedicadas aos METAIS EM MEDICINA. Volumes ou seções dedicados especialmente a este tema nos periódicos: *Metal Ions in Biological Systems*, *Chemical Reviews* e *Coordination Chemical Reviews*, comprovam a crescente importância desta área[2].

A *cis*-platina é provavelmente o melhor exemplo de fármaco que tem metal na sua composição. O seu uso e eficiência na quimioterapia do câncer está bastante documentado. Compostos de segunda geração, baseados na estrutura do *cis*-$[Pt(NH_3)_2Cl_2]$, têm sido sintetizados com a finalidade de diminuir a toxicidade e/ou expandir o uso para diferentes tipos de tumores. Entretanto, até o momento, somente a carboplatina, e em menor extensão a oxaliplatina, chegaram ao uso clínico[2].

Devido às limitações de análogos estruturais à *cis*-platina, que raramente apresentam as suas excepcionais propriedades, pensou-se na possibilidade de

desenvolver compostos estruturalmente diferentes destes, com o objetivo de se obter novos agentes antitumorais com ampla atividade clinica e que supram as restrições que a *cis*-platina apresenta para vários tipos comuns de tumores. Esta nova perspectiva foi fundamental para estimular as pesquisas sobre complexos de outros metais de transição, abrindo novas possibilidades também para a investigação de outros tipos de atividade biológica.

Citaremos aqui alguns estudos relatados para os três metais de interesse no nosso trabalho: rutênio, ródio e cobre.

A investigação de complexos de rutênio como inibidores de tumores tem levado a resultados interessantes, sendo as classes dos sulfóxidos[3,4] (ex. *cis*-[$RuCl_2$ $DMSO)_4$] e derivados), das aminas (ex. *cis*-[$RuCl_2(NH_3)_4$]Cl e derivados) e dos clorocomplexos contendo ligantes N-heterocíclicos (ex. Hind[$RuCl_4(Ind)_2$], Ind = Indazol) as mais promissoras. O Hind[$RuCl_4(Ind)_2$], inclusive, já foi selecionado para ensaios clínicos[3].

Os complexos de Ru(III) são mais ativos contra metastases do que contra tumores primários e acredita-se que o íon rutênio é distribuído às células tumorais através da transferrina[1]. Srivastava *et al.*[5], basearam-se no conceito de que células tumorais requerem maior quantidade de Fe, e portanto um grande número de receptores transferrina, do que as células normais. A ligação do rutênio à transferrina pode ser favorecida pela sua semelhança com o Fe pois ambos pertencem ao grupo 8 da Tabela Periódica. Uma vez que o rutênio chega ao plasma, liga-se à transferrina sendo transportado para os tecidos na forma de um complexo de Ru-transferrina[6]. O íon complexo $[RuCl_4(imidazol)_2]^-$, que é especialmente ativo contra tumores colo-retais, liga-se reversivelmente à His253 da apolactoferrina. Um outro candidato promissor para ensaios clínicos como agente antimetástico é o íon complexo $[RuCl_4(imidazol)(DMSO)]^-$ (NAMI-A). Tanto o complexo de Ru(II) quanto o de Ru(III) são conhecidos por ligarem-se preferecialmente ao N7 da guanina no DNA, mas também podem se ligar aos resíduos de adenina e citosina. Embora a maior parte dos agentes antitumorais de Ru apresentem dois sítios de coordenação, o *crosslink intrastrand* no DNA, parece ser estericamente desfavorável. O único exemplo deste caso é o *trans* –[$RuCl_2(DMSO)_4$], estruturalmente caracterizado por espectroscopia de RMN[1].

A atividade antimicrobiana de complexos monoméricos de Ru tem sido relatada na literatura especialmente para compostos do tipo : [$Ru^{III}X_2(EPh_3)_2(L)$] (X =

Cl, Br; E = P, As; L = ligantes base de Schiff bidentados monobásicos)[7], $[Ru^{III}X(EPh_3)_2(LL')]$ (X = Cl, Br; E = P, As; L = ligantes base de Schiff tetradentados)[8], $[Ru^{II}(CO)(LL')(B)]$ (LL' = bases de Schiff tetradentadas, B = PPh_3, piridina, piperidina, morfolina)[9], etc.

Embora a atividade biológica dos complexos mononucleares de Ru esteja sendo bastante explorada, o estudo de espécies dimetálicas tem recebido pouca atenção. Nos últimos anos pouquíssimos trabalhos foram publicados nesta linha. Um exemplo envolve a síntese e a investigação da atividade antiinflamatória do complexo $[Ru_2(ibp)_4Cl]$[10] em que ibp = ibuprofenato (α-metil-4-(2-metilpropil)benzoacetato), o ânion correspondente do ácido carboxílico ibuprofeno que é um analgésico/anti-inflamatório não-esteróide de amplo uso clínico. Um outro trata do relato sobre a atividade dos complexos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCR)_4Cl]$ (R = CH_3, CH_3CH_2), contra Leucemia P388, possivelmente devido à sua ligação ao DNA de forma semelhante aos análogos de ródio[11].

Ensaios sobre atividade antitumoral *in vitro,* em células cancerígenas humanas HeLa e Colo 320DM, de uma série de tetracarboxilatos de Ru2(II,III) de fórmula $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CR_3)_4(L)_2]PF_6$, L = imidazol, 1-metilimidazol e H_2O quando R = CH_3; L = etanol, quando R = Ferrocenil ou Fc-CH=CH-, foram realizados, sendo as células Colo 320DM mais susceptíveis às drogas do que as células HeLa[10].

Quanto a estudos de reatividade visando elucidar a atuação biológica, os trabalhos são ainda muito insipientes. O complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCF_3)_4(\mu\text{-}O_2CCF_3)_2]$ reage com a 9-etilguanina para formar o derivado $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_{2-x}(\mu\text{-}O_2CCF_3)_x(9\text{-}EtGH)_2(MeOH)_2][O_2CCF_3]_2.2MeOH.0{,}5Et_2O$, x = 0,18[12,13]. Derivados de $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^+$ com adenina e adenosina foram livres e caracterizados, sendo o primeiro um polímero, $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(adenina)]$, e o segundo um monômero, $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(adenosina)_2]$. Ambos mostraram-se menos tóxicos em relação a outros complexos de Ru e poderiam formar complexos potencialmente estáveis quando ligados na região poly-A do DNA através do N7 da adenosina[14].

No caso dos complexos de ródio, destacam-se os tetracarboxilatos de fórmula geral $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CR)_4L_2]$, em que L são ligantes doadores contendo átomos de N, O, P ou S. A literatura sobre esta classe de complexos é muito vasta e diversos exemplos já foram relatados[4]. Porém, pesquisas em relação à ligação deste tipo de complexos ao DNA ainda continuam sendo publicadas[15].

Esta classe promissora de compostos surgiu em 1972, quando Hughes *et al.*[16] reportaram que os tetracarboxilatos de $Rh_2(II,II)$, misturados com arabinosilcitosina, aumentavam o tempo de sobrevida de camudongos que apresentavam tumor ascites L1210. Estudos posteriores demonstraram que estes tetracarboxilatos eram também inibidores efetivos dos tumores ascíticos de Erlich e P388, em camudongos[17,18].

Vários mecanismos de ação biológica dos tetracarboxilatos de $Rh_2(II,II)$ têm sido propostos. Um deles consiste no possível bloqueio de enzimas que possuam grupos SH livres, no sítio ativo, as quais são responsáveis pelos processos de replicação do DNA, como por exemplo, as DNA's e RNA's polimerases[18,19,20].

Uma outra possibilidade é a interação direta com o DNA, desde que o acetato de $Rh_2(II,II)$ reage com adenosina formando derivados do tipo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(adenosina)_2]$[21].

Foi observado também que a atividade antitumoral do acetato, propionato e butirato de $Rh_2(II,II)$ cresce na medida em que se aumenta o comprimento da cadeia R do ligante equatorial, de acordo com a ordem:

butirato > propionato > acetato

Provavelmente este efeito deva-se ao fato do butirato penetrar com maior facilidade na célula por apresentar uma cadeia R mais lipofílica[22].

O cobre tem um importante papel biológico como elemento essencial nos organismos vivos. Ele também está envolvido na oxidação de vários substratos via reações de radicais livres, sendo os mais agressivos: o $OH^{\bullet}$ e o ânion superóxido O_2^{-}. O sistema Cu(II)-Cu(I) é um excelente *scavenger* de $OH^{\bullet}$ com uma velocidade de redução deste radical da ordem de 10^{10} $mol^{-1}s^{-1}$ ($OH^{\bullet} \rightarrow OH^{-}$)[23].

É bastante conhecido que complexos de cobre contendo fármacos biologicamente ativos como ligantes são mais efetivos do que as drogas orgânicas isoladas. Nos últimos 35 anos, muitas publicações têm aparecido comentando sobre os benefícios que apresentam os compostos de cobre no tratamento da inflamação. Diversos complexos têm sido estudados como agentes antiinflamatórios, indo desde simples sais de cobre até complexos monoméricos e diméricos de Cu(II). Geralmente, os fármacos escolhidos como ligantes são da família dos antiinflamatórios não-esteróides (AINES). Os complexos em geral são mais potentes do que o fármaco não complexado e o Cu pode ter um papel muito importante na

prevenção do dano gastrointestinal associado com o uso dos AINES[24]. Exemplos são os tetracarboxilatos do tipo $[Cu_2(L)_4]$, em que L = aspirina[25] (analgésico, antipirético e anti-inflamatório), tolmetin[26] (anti-inflamatório), ibuprofeno[26] (anti-inflamatório), naproxeno[26] (anti-inflamatório), suprofeno[27] (analgésico, antipirético e anti-inflamatório), indometacin[25] (anti-inflamatório), cumarinas[24] (antibiótico, anticoagulante, anticancerígeno e anti-inflamatório), valproato[28] (anticonvulsante).

Complexos monoméricos de Cu com carboxilatos e ligantes N-doadores como os imidazóis têm recebido particular atenção devido aos ambientes de ligação encontrados nas proteínas e em muitos complexos que ocorrem naturalmente. Compostos deste tipo também apresentam uma grande variedade de efeitos farmacológicos, como por exemplo: o complexo $[Cu(acetato)_2(imidazol)_2]$ que inibe o crescimento do melanoma B16 (tumor de camundongo) e apresenta citoxicidade (20 ng cm^{-3}) semelhante à da *cis*-platina (8 ng cm^{-3}) e superior à do mitomicina C (100 ng cm^{-3})[29].

Os complexos $[Cu_2(fármaco)_4(L)_2]$, fármaco = aspirinato[30], valproato[31,32], ibuprofenato[33] e L = imidazol, N-metilimidazol, 2-metilimidazol e 1,2-metilimidazol, metronidazol, 2-metilbenzimidazol, 2-metil-5-nitrobenzinidazol, apresentam propriedades miméticas da cathecolase, catalisando a reação de oxidação do cathecol a o-quinona.

Os monômeros de fórmula: $[Cu(aspirinato)_2(L)_2]$, L = piridina, nicotinamida, 3-picolina, 4-picolina, imidazol, dietilamina e DMSO, também são miméticos da SOD (Superóxido Dismutase)[34]. Exemplos de complexos de Cu que apresentam ação antitumoral são[35,36] : thiosemicarbazonas e bis(thiosemicarbazonas) em que a atividade é atribuída às propriedades redox dos complexos; quelatos formados por 1,10-phenantrolina e ligantes macrocíclicos que ligam-se ao DNA produzindo quebras nesta molécula; complexos com salicilatos, que comportam-se de forma similar à SOD.

A atividade fungicida foi pesquisada para compostos do tipo $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(nicotinamida)]$ e $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(nicotinamida)_2]$, mostrando que estes são ativos contra *Trametes versicolor*[37]. O monômero $[Cu(METRO)_4Cl_2]$, METRO = metronidazol, mostrou-se menos ativo do que o metronidazol livre contra *Bacillus subtilis*[38].

Não há dúvidas de que nos últimos anos um grande esforço tem sido dispendido para o desenvolvimento de novos metalofármacos. Além dos exemplos

citados anteriormente, observa-se também um crescente interesse pelo estudo de complexos metálicos que possam atuar em radioterapia. Denominam-se radiossensibilizadores os agentes químicos capazes de aumentar a sensibilidade das células hipóxicas à radiação, visando o aumento da eficácia da radioterapia no tratamento do câncer.

Recentemente tem havido um apreciável interesse em preparar derivados nitroimidazólicos que apresentem boa solubilidade, propriedades de transporte *in vivo* e baixa neurotoxicidade. Como alternativa, muitos pesquisadores têm explorado a possibilidade de aumentar a eficiência de nitroimidazóis como radiossensibilizadores por meio da sua coordenação a íons metálicos tais como Pt, Ru, Rh e outros[39,40], visando distribuir melhor a droga nas biomoléculas alvo (geralmente o DNA) e/ou intensificar o processo de radiossensibilização[39,41,42].

Como exemplos de complexos de Ru citam-se os sulfóxidos de Ru(II) com 4-nitroimidazóis do tipo $[RuCl_2(DMSO)_2(4\text{-}NO_2Im)_2]$[43], que exibem atividade radiossensibilizadora maior do que o imidazol livre, além de mostrarem-se não-citotóxicos em testes realizados *in vitro*. Diversos derivados de Rh(II) com nitroimidazóis de fórmula $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CR)_4L_2]$ já foram investigados e testados quanto à ação radiossensibilizadora[44,45]. Complexos de Cu do tipo $[Cu_2(\mu\text{-}L)_4]$, L = 3-[1-4-nitroimidazolil]propionato, também podem atuar como radiossensibilizadores com atividades similares à do misonidazol (α-(metoximetil)-2-nitroimidazol-1H-imidazol-1-etanol) e significativamente maior do que a de 4-nitroimidazóis não-complexados[39].

Tendo em vista as conhecidas propriedades farmacológicas dos complexos de Ru, Rh e Cu, torna-se interessante investigar o comportamento químico e biológico de complexos destes íons com ligantes que exibam atividade própria, com a finalidade de tentar modificar a potencialidade de ação.

2. Os nitroimidazóis

As drogas do grupo dos nitroimidazóis são importantes particularmente devido a dois aspectos: primeiro, pela sua atividade contra bactérias Gram positivo e Gram Negativo, protozoários e também tumores hipóxicos (deficientes em oxigênio), e segundo porque, apesar de seu uso há 30 anos, a incidência à resistência por microorganismos anaeróbios é ainda bastante baixa. Não existe um outro grupo de

drogas que apresente uma faixa de ação tão ampla tanto para medicina humana quanto para veterinária. Estas características explicam porque a pesquisa se mantém devota a estas moléculas tão interessantes[46].

O primeiro nitroimidazol que mostrou atividade clínica foi o metronidazol, que até hoje é utilizado para o tratamento de *vaginitis trichomonal*. Desde a sua introdução em 1960, outros nitroimidazóis semelhantes (2-metil, 5-nitroimidazóis) têm sido também investigados. Dos novos nitroimidazóis, o tinidazol e o ornidazol [α-(clorometil)-2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-etanol] estão em uso clínico bastante amplo assim como o secnidazol e o nimorazol. Estas drogas apresentam atividade clínica adicional contra microorganimos anaeróbicos incluindo o protozoário *Entamoeba histolytica, Giardia intestinalis (G. Lamblia), Balantidum sp.* e também contra infecções por bactérias mistas como as que são encontradas na *estomatitis de Vincent* e *gangrena de Melaney*. Elas também são rotineiramente utilizadas para prevenir infecção pós-cirurgia usualmente envolvendo *Bacteroides spp.* e para tratamento de úlcera gastroduodenal onde está envolvido o *Helicobacter pylori*. O benzinidazol (N-benzil-2-nitro-1-imidazolacetamida) é comumente utilizado para o tratamento de infecções por *Trypanosoma cruzi* (doença de Chagas) e, juntamente com o misonidazol e nimorazol, para o tratamento de tumores hipóxicos radioresistentes[46].

Nos últimos anos, os nitroimidazóis ainda se tornaram drogas especiais para o tratamento de *vaginosis* anaeróbicas ou *vaginitis*. Neste caso a infecção é originada pela bactéria *Gardnerella vaginalis* e é facilmente erradicada com uma única dose. A terapia também serve para normalizar o pH vaginal permitindo a recolonização dos lactobacilos[46].

Os 5-nitroimidazóis, ligantes que nos interessam nesse trabalho, apresentam estrutura heterocíclica que consiste de um núcleo imidazólico com um grupo nitro na posição 5 do anel. O N(1) e o C(2) podem apresentar variados grupos substituintes R_1 e R_2, respectivamente (figura 1), dando origem a diferentes moléculas nitroimidazólicas.

A. Mecanismo de ação antimicrobiana dos 5-nitroimidazóis[47]

Os nitroimidazóis são seletivamente tóxicos contra microorganismos anaeróbicos ou microaerófilos e contra células anaeróbicas ou hipóxicas.

Uma vez que a droga entra na célula, o grupo nitro do imidazol heterocíclico pode aceitar elétrons das proteínas transportadoras de elétrons tais como as flavoproteínas, incluindo a xantina oxidase, NADPH cyt P_{450} reductase e NADPH cyt C reductase em células mamíferas, e ferredoxina ou seu equivalente piruvato dehidrogenase ferredoxina oxidoreductase em protozoários ou bactérias.

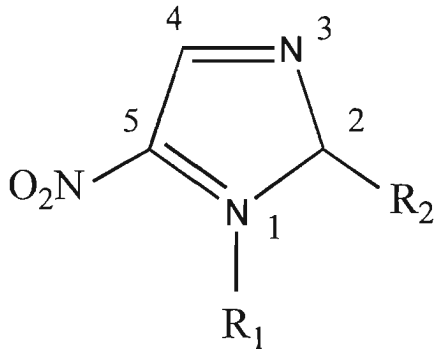


***Figura I.1*.- Estrutura genérica dos 5-nitroimidazóis**

A velocidade do processo de redução é importante porque determina a velocidade de absorção da droga pela célula. Esse processo é catalisado pela nitroreductase em células mamíferas e por complexos de Fe-S em outros casos. O processo de redução simplificado dos nitroimidazóis é mostrado na figura I.2 :

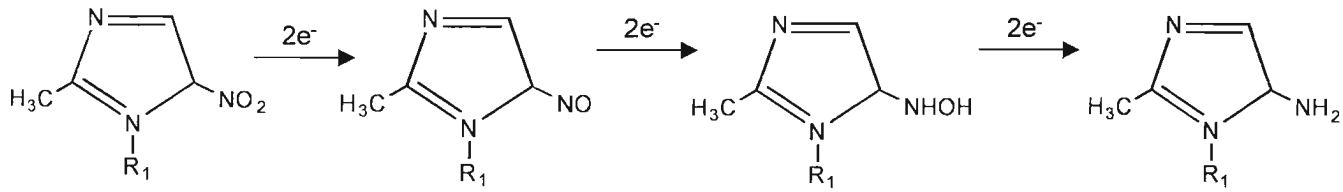


***Figura I.2*.- Processo de redução dos 5-nitroimidazóis[48]**

Os intermediários quimicamente reativos, formados durante a redução do grupo nitro até a correspondente hidroxilamina podem ser os responsáveis pela atividade antimicrobiana dos nitroimidazóis. O mecanismo através do qual os intermediários destróem as células ainda não foi elucidado, mas tem se sugerido que esses reagem com macromoléculas celulares, tais como o DNA, proteínas e membranas. As espécies que são citotóxicas e causam danos ao DNA são o ânion

nitro radical protonado ($R\text{-}NO_2H$) e o ânion superóxido, assim como todos os produtos de redução do grupo nitro como o R-NO e mesmo a hidroxilamina (R-NHOH). Em resumo, um produto de redução de vida curta, muito provavelmente o ânion nitro radical protonado, oxida o DNA, originando a quebra das fitas e consequentemente a morte celular[47]. A figura I.3 mostra o mecanismo de ação dos nitroimidazóis.

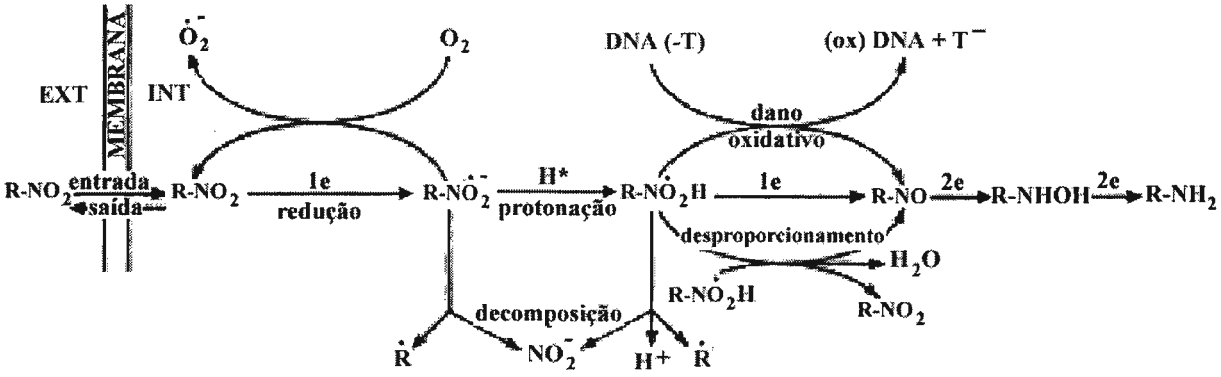


***Figura I.3*.- Mecanismo de ação dos nitroimidazóis[46]**

B. Nitroimidazóis como radiossensibilizadores de tumores no tratamento do câncer[47].

As células hipóxicas presentes na maioria dos tumores sólidos limitam o uso da radioterapia para o controle local do crescimento de tumores. No caso daqueles que estão situados longe do sistema vascular, ocorre uma redução dos nutrientes essenciais, particularmente do oxigênio. A concentração do oxigênio diminui conforme aumenta a distância em relação aos capilares e essa queda gradual da concentração torna-se insuficiente para a divisão celular, as células morrem e isto origina uma necrose local, que é observada na maioria dos tumores sólidos. As células hipóxicas, as quais se encontram na região de interface entre as células bem oxigenadas e as necróticas, são resistentes à radiação e esta é a razão pela qual é difícil o controle do tumor por esta técnica[46].

Na década de 70 foi descoberto que os nitrofuranos e os nitroimidazóis comportavam-se como radiossensibilizadores de células hipóxicas. A resposta celular à radiação ionizante é fortemente influenciada pela concentração de oxigênio. As células hipóxicas são muito mais resistentes ao dano da radiação do

que as células normalmente oxigenadas. O efeito sensibilizador do oxigênio molecular é provavelmente uma consequência de reações químicas rápidas entre o oxigênio e radicais livres de vida curta gerados pela absorção da radiação. Tem sido sugerido que compostos eletroreceptores (ou fáceis de se reduzir) podem mimetizar o oxigênio e diminuir ou até anular a radiorresistência das células hipóxicas. Desse modo, o descobrimento das propriedades radiossensibilizadoras dos nitro-heterocíclicos, aumentou o interesse na aplicação médica deste tipo de espécies[47].

O primeiro composto a ser testado clinicamente foi o metronidazol. Uma melhor atividade foi mostrada pelo misonidazol (2 – nitroimidazol) que foi bastante pesquisado como radiossensibilizador, porém a neurotoxicidade limitou a sua aplicação. Durante o desenvolvimento dos radiossensibilizadores, numerosos compostos foram sintetizados, os quais mostraram-se mais eficientes *in vitro* do que tinha sido suposto com base na afinidade eletrônica[47].

3. Carboxilatos Dimetálicos

Metais como Cr, Mo, W, Tc, Re, Ru, Os, Co, Rh, Ir, Ni e Cu podem formar tetracarboxilatos dimetálicos do tipo $[M_2(O_2CR)_4]^n$ com n na faixa de –2 a +4, sendo os valores mais comuns de 0 a +2. O grupo R, na maioria dos casos, é um grupo alquílico, um grupo alquílico substituído, um alcóxido ou um derivado arílico.

A figura I.4 mostra a estrutura típica dos carboxilatos dimetálicos, denominada estrutura em "gaiola". Esta consiste de dois íons metálicos unidos por quatro ligantes carboxilatos em ponte equatorial. Entre os metais pode existir desde algum tipo de interação como no caso do Cu, até uma ligação efetiva cuja ordem pode variar de uma ligação simples (Rh) até uma ligação quádrupla (Mo). As posições axiais podem ser ocupadas por ligantes diversos. Em geral, estes complexos apresentam simetria D_{4h}.

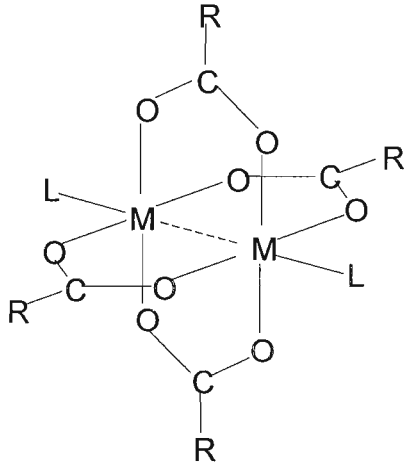


***Figura I.4*.- Estrutura em "gaiola" dos tetracarboxilatos de M_2, em que L = ligante axial.**

Esta classe de compostos tem recebido muita atenção na literatura[49] devido à importância teórica e potencialidade de aplicação nas áreas de catálise, cristais líquidos, materiais microporosos (absorvedores de gases) e em química bio-inorgânica, como miméticos de proteínas, como é o caso dos tetracarboxilatos de cobre, ou como agentes antitumorais, como é o caso dos tetracarboxilatos de rutênio e de ródio.

Nesse trabalho nos interessam particularmente os tetracarboxilatos de rutênio de valência mista que apresentam núcleos $Ru_2(II,III)$ e os tetracarboxilatos de ródio e de cobre homovalentes, cujos núcleos dimetálicos são do tipo $Rh_2(II,II)$ ou $Cu_2(II,II)$.

Os tetracarboxilatos de dirutênio de valência mista consistem de espécies $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CR)_4]^+$ em que os elétrons são geralmente deslocalizados entre os dois átomos metálicos, podendo os núcleos ser representados alternativamente por $Ru_2(II½, II½)$[14]. A ordem da ligação metal-metal é de 2,5. As posições axiais (L) da gaiola podem ser ocupadas por Cl^-, como é o caso do complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$, que origina polímeros no estado sólido, ou por outros ligantes como H_2O[50,51], DMSO[51], DMF[51], piridina[52,53] e derivados de piridina[53], pirazina[50], imidazóis[54] e derivados de imidazóis[54,55], adenina e adenosina[56], uréia[57], tiouréia[57] e tetraidrotiofeno (THT)[58], que propiciam a formação de unidades diméricas. Os contra-íons que acompanham comumente os tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ e seus derivados relatados na literatura são: $[SO_4^{2-}]$[59], $[PF_6^-]$[51,53,60], $[BPh_4^-]$[50,60], $[BF_4^-]$[52,57,61,62], $[ClO_4^-]$[55] e o $[Cl^-]$[56], que além de ligante axial, pode também apresentar-se como contra-íon.

No caso dos tetracarboxilatos de $Rh_2(II,II)$, as espécies dimetálicas $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CR)_4]$ são neutras, As posições axiais podem ser ocupadas por moléculas de solvente ou por outros ligantes L, coordenados através de átomos de N, O, S, etc, gerando derivados do tipo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CR)_4L_2]$[45].

Os tetracarboxilatos de $Cu_2(II,II)$, $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CR)_4]$ também apresentam-se como espécies neutras. Nestes complexos, os ligantes axiais são em sua maior parte N-doadores, porém ligantes O-doadores como DMSO[26,63], já foram reportados. Dentre os ligantes N-doadores podemos citar: anilina e piridina[28], nicotinamida[64], cafeína[33], metronidazol[32,65], N,N-dimetilformamida (DMF); N,N-dimetilacetamida (DMA) e N-metilpirrolidona (NMP)[24].

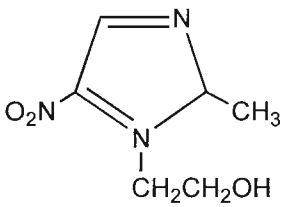
I.2 OBJETIVOS DESSE TRABALHO

Apesar da importância dos complexos de rutênio, ródio e cobre na bioinorgânica e na área de metalofármacos, muita pesquisa ainda é necessária para tentar elucidar as propriedades de compostos que já foram isolados e também para descobrir novos complexos que sejam interessantes.

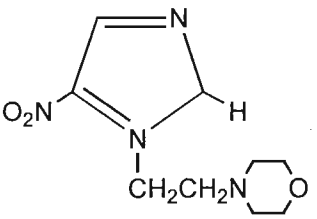
Nosso principal objetivo é contribuir para ampliar os estudos sobre complexos dimetálicos, com ênfase em espécies que possam apresentar potencialidade como agentes farmacológicos.

No caso particular dos carboxilatos diméricos, podemos introduzir, nas posições axiais das gaiolas $[M_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^n$, ligantes que apresentem ação farmacológica.

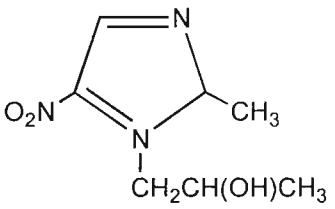
Este trabalho visa, ao estudo da interação de núcleos dimetálicos, do tipo $[M_2]^{n+}$ (M = Ru, Rh ou Cu) unidos por ligantes acetatos, com 5-nitroimidazóis que exibem propriedades bactericidas e radiossensibilizadoras. As estruturas dos ligantes utilizados: metronidazol, nimorazol, secnidazol e tinidazol, são apresentadas na Figura I.5



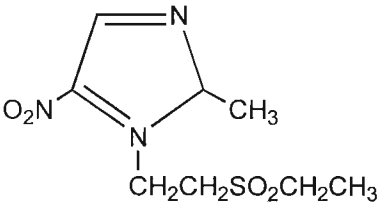
metronidazol



nimorazol



secnidazol



tinidazol

***Figura I.5*.- Estruturas dos 5-nitroimidazóis**

O trabalho engloba a síntese e a caracterização por técnicas espectroscópicas, termoanalíticas e eletroquímicas de derivados $[M_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]^n$. Inclui também testes biológicos com a finalidade de investigar a potencialidade dos complexos, especificamente as atividades antitumoral, radiossensibilizadora e antimicrobiana (bactericida e fungicida).

I.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Guo, Z. e Sadler, P.J., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1999, 38, 1512.

[2] Farrell, N., *Coord. Chem. Rev.*, 2002, 232, 1.

[3] (a) Keppler, B.K., Metal Complexes in Cancer Chemotherapy", 1993, 1ª Edição, VCH, New York. (b) Keppler, B.K., *New. J. Chem.*, 1990, 14, 389.

[4] Silva, D.O. e Toma, H.E., *Química Nova*, 1993, 16, 40.

[5] Srivastava, S.C., Mausner, L.F., Clarke, M.J., *Prog. Clin. Biochem. Med.*, 1989, 112.

[6] Sava, G., Pacor, S., Bregant, F., Ceschia, V. e Mestroni, G., *Anti-Cancer Drugs*, 1990, 1, 99.

[7] Thangadurai, T.D., Gowri, M. e Natarajan, K., *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 2002, 32(2), 329.

[8] Thangadurai, T.D. e Natarajan, K, *Indian J. Chem. Section A-Inorganic Bio-Inorganic Physical Theoretical and Analytical Chemistry*, 2002, 41(4), 741.

[9] Thangadurai, T.D. e Natarajan, K, *Trans. Metal Chem.*, 2002, 27(5), 485.

[10] Aquino, M.A.S., *Coord. Chem. Rev.*, 2004, 248, 1025.

[11] Clarcke, M.J., Fuchun Zhu e Frasca, D.R., *Chem. Rev.*, 1999, 2511.

[12] Dunbar, K.R., Matonic, J.H., Saharan, V.P., Crawford, C.A. e Christou, G., *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 2201.

[13] Crawford, C.A., Day, E.F., Saharan, V.P., Folting, K., Huffman, J.C., Dunbar, K.R. e Christou G., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1996, 1113.

[14] Aquino, M.A.S., Coord. Chem. Rev., 1998, 170, 141.

[15] Chifotides, H.T., Koomen, J.M., Kang, M., Tichy, S.E., Dunbar, K.R. e Russell, D.H., *Inorg. Chem.*, 2004, 43, 6177.

[16] Hughes, R.G., Bear, J.L. e Kimball, A.P., *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, 1972, 13, 120.

[17] Felthouse, T.R., *Prog. Inorg. Chem.*, 1982, 29, 73.

[18] Boyar, E.B. e Robinson, S.D., *Coord. Chem. Rev.*, 1983, 30 109.

[19] Schelokov, R.N., Miorova, A.G., Kuznetsova, G.N., Golovaneva, I.F. e Evstaf'eva, O.N., *Russ. J. Inorg. Chem. Rev.*, 1984, 30, 109.

[20] Pruchnik, F., Dus, D., *J. Inorg. Biochem.*, 1996, 61,55.

[21] Waysburt, D., Tarien, E. e Eicchorn, G.L., *Inorg. Chem.*, 1993, 32(22), 4774.

[22] Howard, R.A., Sherwood, E., Erck, A., Kimball, A.P. e Bear, J.L., *J. Med. Chem.*, 1977, 20, 943.

[23] Karaliota, A., Kretsi, O. e Tzougraki, C., *J.Inorg. Bioch.,* 2001, 84, 33.

[24] Weder, J.E., Hambley, T.W., Kennedy, B.J., Lay, P.A., MacLachlan, D., Bramley, R., *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 1736.

[25] Latif Abuhijleh, A., *Polyhedron*, 1989, 8(23), 2777

[26] Dendrinou-Samara, C., Jannakoudakis, P.D., Kessissoglou, D.P., Manoussakis, G.E., Mentzafos, D. e Terzis,A., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1992, 3259.

[27] Kögerler, P., Williams, P.A.M, Parajón-Costa, B.S., Baran, E.J., Lezama, L.T. Rojo e A. Müller, *Inorg. Chim. Acta*, 1998, 268, 239.

[28] Hadjikostas, C.C., Katsoulos, G.A., Sigalas, M.P., Tsipis, C.A. e Mrozinski, J., *Inorg. Chim. Acta*, 1990, 167, 165.

[29] Tamura, H., Imai, H., Juwahara, J. e Sugiura, Y., J. *Am. Chem. Soc.*, 1987, 109, 6870.

[30] Latif Abuhijleh, A., Woods, C., Bogas, E., e G. Le Guenniou, *Inorg. Chim. Acta*, 1992, 195, 67.

[31] Latif Abuhijleh, A. e Woods, C., *Inorg. Chim. Acta*, 1993, 209, 187.

[32] Latif Abuhijleh, A., e Woods, C., *J. Inorg. Biochem.,* 1996, 64, 55.

[33] Latif Abuhijleh, A., *J. Inorg. Biochem.,* 1994, 55, 255.

[34] Bhirud, R.G. e Srivastava, T.S., *Inorg. Chim. Acta*, 1990, 173, 121

[35] Farrell, N., Transition Metal Complexes as Drugs and Chemoterapeutic Agents, 1989, 1ª Edição, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda.

[36] Farrell, N., Uses of Inorganic Chemistry in Medicine, 1999, 1ª Edição, Editado por Nicholas Farrell, Cambridge, UK.

[37] Kozlevcar, B., Leban, I., Turel, I., Segedin, P., Petric, M. e Pohleven, F., *Polyhedron*, 1999, 18, 755.

[38] Kesharwani, R. e Singh, P., *Asian J. Chem.*, 2000, 12(1), 23.

[39] Goodgame, D.M.L, Page, C.J., Williams, D.J. e Stratford, I.J., *Polyhedron*, 1992, 11(19), 2507.

[40] Skov, K.A., *Radiation Research*, 1987, 112, 217.

[41] Ratajczak-Sitarz, M., Katrusiak, A., Wojakowska, H., Januszczyk, M., Krzyminiewsky, R. e Pietrzak, J., *Inorg. Chim. Acta*, 1998, 269(2), 326.

[42] Roy, M.B., Mandal, P.C. e Bhattacharyya, S.N., *Int. J. Radiat. Biol.*, 1996, 69(4), 471.

[43] (a) Chan, P.K.L., Chan, P.K.H., Frost, D.C., James, B.R., e Skov, K.A., *Can. J. Chem.*, 1988, 66. (b) Chan, P.K.L., Chan, P.K.H., Skov, K.A., James, B.R., e Farrell, N.P., *Intern. J. Rad. Onc., Biol., Physics*, 1986, 12, 1059.

[44] Goodgame, D., Lawrence A., Slawin, A., Williams, D., *Inorg. Chim. Acta*, 1986, 125, 143.

[45] Valderrama, N.A.C., Síntese e Caracterização de Carboxilatos de Rh (II) e seus adutos com metronidazol: Ensaios Biológicos com Vistas à Atividade Radiossensibilizadora de Tumores, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP, 2000.

[46] Edwards, D.I., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 1993, 31, 9.

[47] Kapoor, V.K., Chadha, R., Venissety, P.K. e Prasanth, S., *J. Sci. Ind. Res.*, 2003, 62, 659.

[48] La-Scalea, M.A., Serrano, S.H.P. e Gutz, I.R., *J. Braz. Chem. Soc.*, 1999, 10(2), 127.

[49] Cotton, F. A. e Wilkinson, G., Química Inorgânica Avanzada, 1990, Editora Limusa, 4ª Edição, México, D.F..

[50] Cukiernik, F. D., Giroud-Godquin, A., Pascale, M. e Marchon, J., *Inorg. Chim. Acta*, 1994, 215, 203.

[51] Drysdale, K.D., Beck, E.J., Stanley Cameron, T., Robertson, K.N. e Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta*, 1997, 256, 243.

[52] Barral, M.C., Jimenez-Aparicio, R., Rial, C., Royer E., Saucedo, M.J., e Urbanos, F.A., *Polyhedron*, 1990, 9(14), 1723.

[53] Vamvounis, G., Caplan, J.F., Stanley-Cameron, T., Robertson, K.N., Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta*, 2000, 304, 87.

[54] Van Rensburg, C.E.J., Kreft, E., Swarts, J.C., Dalrymple, S.R., Mac Donald, D.M., Cooke, M.W. e Aquino, M.A.S., *Anticancer Res.*, 2002, 22, 889.

[55] Chellama, S. e Chakravarty,A., *Indian J. Chem.*, 1998, 37A, 1.

[56] Gangopadbyay, S. e Gangopadbyay, P., *J. Inorg. Bioch.*, 1997, 66, 175.

[57] Cooke, M.W., Murphy, C.A., Cameron, T.S., Beck, E.J., Vamvounis, G. e Aquino, M.A.S., *Polyhedron*, 2002, 21, 1235.

[58] Gilfoy, H.J., Robertson, K.N., Cameron, T.S. e Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta,* 2002, 331, 330.

[59] Mc. Cann, M. e Carrill, A., *Polyhedron*, 1993, 12(10), 1163.

[60] Beck, E.J., Drysdale, K.D., Thompson, L.K., Li, L., Murphy, C.A. e Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta*, 1998, 279, 121.

[61] Clark, R. e Ferris, L., *Inorg. Chem.*, 1981, 20, 2759.

[62] Cotton, F.A. e Yokochi, J.L.A., *Inorg. Chim. Acta*, 1998, 275, 447.

[63] Dendrinou-Samara, C., Kessissoglou, D.P., Manoussakis, G.E., Mentzafos, D. e Terzis, A., *J. Chem. Soc. Dalton. Trans*, 1990, 959.

[64] Valko, M.R.F., Bilton, H.M., e Melnik, M., *J. Coord. Chem.*, 1993(29), 257.

[65] Galván-Tejada, N., Bernès, S., Castillo-Blum, S.E., Nöth, H., Vicente, R. e Barba-Behrens, N., *J. Inorg. Biochem.*, 2002, 91, 339.

CAPÍTULO II:

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS TETRA-CARBOXILATOS DE $Ru_2(II,III)$, $Rh_2(II,II)$ E $Cu_2(II,II)$

II.1 PARTE EXPERIMENTAL

1. REAGENTES E SOLVENTES

A. Reagentes

Acetato de cobre (II), $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4].2H_2O$, Mallinckrodt

Acetato de sódio, CH_3COONa, Merck

Ácido acético, CH_3COOH, Merck

Anidrido acético, $C_4H_6O_3$, Merck

Cloreto de lítio, LiCl, Aldrich

Cloreto de ródio, $RhCl_3$, Aldrich

Cloreto de rutênio, $RuCl_3.nH_2O$, Aldrich

Hexafluorfosfato de amônio, NH_4PF_6, Aldrich

Metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, Sigma

Nimorazol, $C_9H_{14}N_4O_3$, Abbot

Secnidazol, $C_7H_{11}N_3O_3$, Rhodia

Sulfato de prata, Ag_2SO_4, Merck

Tinidazol, $C_8H_{13}N_3SO_4$, Pfizer

B. Solventes

Acetona, Merck

Água desionizada (Desionizador Maxima Analytical MK3, Analítica)

Acetonitrila, Merck

Ciclohexano, Merck

Clorofórmio, Merck

Diclorometano, Merck

Dimetilformamida, Merck

Dimetilsulfóxido, Merck

1,4-Dioxano, Merck

Etanol, Merck

Metanol, Merck

n-Hexano, Merck

n-Octanol, Merck

2-Propanol, Merck

Tetracloreto de carbono, Merck

Tetraidrofurano, Merck

Tolueno, Merck

2. SÍNTESES

2.1 Sínteses dos complexos de $Ru_2(II,III)$

2.1.1 *RuACET,* Clorotetrakis(acetato) de $Ru_2(II,III)$: $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$[1]

Em um balão de 2 bocas foram colocados 10 cm^3 de anidrido acético, 40 cm^3 de ácido acético e 0,5045 g de LiCl e a solução foi agitada por 10min. Em seguida, adicionou-se 4,9862 g de $RuCl_3.nH_2O$ e a mistura foi refluxada por 24h sob atmosfera de oxigênio e agitação magnética. A mistura resultante foi filtrada a vácuo e o produto sólido lavado com acetona e secado sob vácuo durante 24h em dessecador contendo cloreto de cálcio e sílica gel. Obteve-se um sólido marrom com um rendimento de aproximadamente 75%.

2.1.2 *RuAQUO*, Hexafluorfosfato de bis(aquo)tetrakis(acetato) de $Ru_2(II,III)$ dihidratado : $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]\ PF_6\ .\ 2H_2O$,[2]

Adicionou-se o precursor $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$ (0,2542 g; 5,37 x 10^{-4} mol) à 300 cm^3 de água desionizada sob atmosfera de N_2 e agitação magnética. Após 1h, a mistura foi filtrada utilizando filtração simples e ao filtrado foi adicionada uma quantidade estequiométrica de Ag_2SO_4 (0,0836g; 2,68 x 10^{-4} mol) dissolvido em 30 cm^3 de água desionizada. Observou-se a formação de um precipitado branco, AgCl, o qual foi filtrado através de uma filtração simples após 1h de reação sob atmosfera de N_2. Um excesso de Ag_2SO_4 (0,0418g; 1,34 x 10^{-4} mol) dissolvido em 15 cm^3 de água, foi adicionado para assegurar a remoção de todos os Cl^- e deixou-se reagir por mais 30min. A mistura foi filtrada e ao filtrado foi adicionado NH_4PF_6 (0,4755 g; 2,90 x 10^{-3} mol). Após 30 min sob atmosfera de N_2 e agitação magnética, a solução foi mantida em geladeira por 24h e depois concentrada reduzindo-se o volume de água por rotoevaporação a 38 °C, até aproximadamente 25 cm^3. A solução final foi mantida na geladeira e após 48h de resfriamento, observou-se que o excesso de NH_4PF_6 havia precipitado. O sólido foi separado por decantação da solução sobrenadante e esta foi novamente resfriada na geladeira. Após 5 dias, um precipitado de cor laranja tinha-se formado. A mistura foi filtrada sob vácuo e o sólido

secado sob vácuo durante 12h em dessecador contendo cloreto de cálcio e sílica gel. O produto foi obtido com um rendimento de aproximadamente 70%.

2.1.3 Derivados nitroimidazólicos de tetrakis(acetato) de $Ru_2(II,III)$: $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]PF_6$: RuMETRO (L = METRO); RuNIMO (L = NIMO); RuSECNI (L = SECNI) e RuTINI (L = TINI)[3]

A síntese desta série de complexos foi efetuada com base na mesma metodologia para todos os casos. As quantidades dos reagentes de partida são mostradas na Tabela II.1.1.

Metodologia.- Adicionou-se o $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]PF_6.2H_2O$ à 40 cm^3 de 2-propanol, sob atmosfera de N_2 e agitação magnética. Ocorrida a dissolução total do aquo-complexo, adicionou-se o nitroimidazol dissolvido em 20 cm^3 de 2-propanol. Deixou-se reagir por algumas horas sob atmosfera de N_2 e com agitação magnética. O borbulhamento de N_2 permitiu não só manter a atmosfera inerte, mas também ajudar a eliminar os vapores de 2-propanol, de modo tal que a reação foi finalizada quando o volume do solvente atingiu aproximadamente a metade do volume inicial. Observou-se a precipitação de um produto amarelo para os quatro casos, que foi filtrado a vácuo, lavado com 2-propanol e secado sob vácuo durante 10h em dessecador contendo cloreto de cálcio e sílica gel.

***TABELA II.1.1.*- Quantidades e razões molares dos reagentes de partida utilizados nas sínteses dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ e rendimento das mesmas.**

COMPLEXO	RuAQUO (massa, g)	Ligante (massa, g)	Razão Molar Ru_2 : L	Rendimento da Síntese (%)
RuMETRO	0,1000	0,0606	1 : 2,3	68
RuNIMO	0,0498	0,0365	1 : 2,1	74
RuSECNI	0,0501	0,0302	1 : 2,1	60
RuTINI*	0,0508	0,0398 **	1 : 2,1	87

* O complexo RuTINI foi dissolvido em 40 mL de 2-propanol e mantido sob atmosfera de N_2 e com agitação magnética até redução à metade do volume inicial. O complexo foi filtrado, lavado com 2-propanol e secado a vácuo durante 10 horas em dessecador contendo cloreto de cálcio e sílica gel.
** Para o tinidazol que é menos solúvel em 2-propanol do que os outros ligantes nitroimidazólicos utilizou-se 30 cm^3 de solvente.

2.2 Sínteses dos complexos de $Rh_2(II,II)$

2.2.1. *RhACET*, Tetrakis(acetato) de $Rh_2(II,II)$, $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$[4]

Dissolveu-se $RhCl_3.3H_2O$ (0,5000 g; 1,90 x 10^{-3} mol) em 10 cm^3 de EtOH e, separadamente, acetato de sódio (0,6250 g; 7,62 x 10^{-3} mol), em 10 cm^3 de ácido acético glacial. Ambas as soluções foram misturadas e mantidas sob atmosfera de N_2 durante 45min a uma temperatura de aproximadamente 65 °C. A mistura foi filtrada em funil de placa porosa. O sólido isolado foi dissolvido em MeOH (100 cm^3) e esta solução refluxada durante 3h. A mistura resultante foi filtrada a quente em papel de filtro e o MeOH removido por rotoevaporação até a metade do volume inicial. Esta solução foi mantida na geladeira durante 24h e o produto formado foi filtrado e lavado com MeOH gelado e secado sob vácuo durante 10h em dessecador contendo cloreto de cálcio e sílica gel. O produto é um sólido de cor verde clara e foi obtido com um rendimento de aproximadamente 65%.

2.2.2 Derivados nitroimidazólicos de tetrakis(acetato) de $Rh_2(II,II)$: $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]$: RhMETRO (L = METRO); RhNIMO (L = NIMO); RhSECNI (L = SECNI) e RhTINI (L = TINI) [5,6].

A síntese desta série de complexos foi efetuada com base na mesma metodologia para todos os casos. As quantidades dos reagentes de partida são mostradas na Tabela II.1.2.

Metodologia.- Dissolveu-se o $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ em 25 cm^3 de MeOH. A esta solução, adicionou-se o nitroimidazol dissolvido em 20 cm^3 de MeOH, obtendo-se uma solução de cor vermelha. A mistura foi mantida sob agitação magnética durante 3h. Após agitação, a solução foi concentrada por rotoevaporação até aproximadamente ¼ do volume inicial. Depois foi mantida em geladeira por 48h e transcorrido esse período, o produto vermelho (para os quatro casos) foi filtrado a vácuo, lavado várias vezes com MeOH gelado e uma porção de MeOH a temperatura ambiente e, em seguida, secado sob vácuo por 10h em dessecador contendo cloreto de cálcio e sílica gel.

***TABELA II.1.2.*- Quantidades (em gramas) e razões molares dos reagentes de partida utilizados nas sínteses dos derivados nitroimidazólicos de Rh_2 (II,II) e rendimento das mesmas.**

COMPLEXO	RhACET (massa, g)	Ligante (massa, g)	Razão Molar Rh_2:L	Rendimento da síntese (%)
RhMETRO	0,0505	0,1162	1 : 6	77
RhNIMO	0,0500	0,1540	1 : 6	85
RhSECNI	0,0504	0,1267	1 : 6	87
RhTINI	0,0506	0,1700	1 : 6	85

2.3 Sínteses dos complexos de Cu_2 (II,II)

2.3.1. Derivados nitroimidazólicos de tetrakis(acetato) de Cu_2(II,II): $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]$: CuMETRO (L = METRO); CuNIMO (L = NIMO); CuSECNI (L = SECNI) e CuTINI (L = TINI)[7].

A síntese desta série de complexos foi efetuada com base na mesma metodologia para todos os casos. As quantidades dos reagentes de partida são mostradas na Tabela II.1.3.

Metodologia.- Dissolveu-se o $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4].2H_2O$, *CuACET*, em 30 cm^3 de EtOH pré-aquecido (até ebulição). Ocorrida a dissolução total do precursor, foi adicionado o nitroimidazol dissolvido também em 20 cm^3 do EtOH pré-aquecido. Esta solução foi mantida sob agitação magnética e concentrada por evaporação lenta até aproximadamente 10 cm^3. O sólido verde obtido para os quatro casos foi filtrado sob vácuo, lavado com EtOH a temperatura ambiente e secado sob vácuo durante aproximadamente 10h em dessecador contendo cloreto de cálcio e sílica gel.

***TABELA II.1.3.*- Quantidades (em gramas) e razões molares dos reagentes de partida utilizados nas sínteses dos derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II) e rendimento das mesmas.**

COMPLEXO	CuACET (massa, g)	Ligante (massa, g)	Razão Molar Cu_2:L	Rendimento da Síntese (%)
CuMETRO	0,4062	0,6021	1 : 3,5	60
CuNIMO*	0,2487	0,4254	1 : 3	60
CuSECNI	0,2491	0,3469	1 : 3	57
CuTINI	0,2495	0,4644	1 : 3	70

* A redução do volume da solução deste complexo foi feita por aquecimento a 60 °C e obtendo um volume final de aproximadamente 5 cm^3. Após 12h em geladeira, o sólido foi filtrado e lavado de forma similar aos outros derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II).

3. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

3.1 Análises Elementares

Os complexos sintetizados foram analisados quanto ao conteúdo de carbono, hidrogênio e nitrogênio, utilizando-se um aparelho Perkin Elmer, modelo 2400 CHN. As medidas foram realizadas no Laboratório de Análise Elementar da Central Analítica do Instituto de Química-USP.

3.2 Testes de Solubilidade dos Complexos

A solubilidade dos complexos e dos ligantes nitroimidazólicos foi determinada qualitativamente utilizando-se os seguintes solventes: água, metanol, etanol, acetona, tetraidrofurano, dimetilsulfóxido, acetonitrila, dimetilformamida, n-hexano, tolueno, diclorometano, clorofórmio e 1,4 dioxano.

3.3 Espectroscopia Eletrônica

A. Em solução:

Os espectros eletrônicos dos complexos em solução na região do UV-VIS foram obtidos na região de 190 – 700 nm num espectrofotômetro Hitachi U-3000, com lâmpadas de tungstênio (VIS) e deutério (UV), utilizando cubetas de quartzo de caminho óptico igual a 1,0 cm.

Para o caso dos derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II): CuNIMO, CuSECNI e CuTINI utilizou-se um espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-1650PC.

B. Em estado sólido:

Os espectros eletrônicos em estado sólido foram obtidos num espectrofotômetro Guided Wave, modelo 260, equipado com fibra óptica, na região de 350 – 1700 nm. Estes espectros foram obtidos no Laboratório de Química Supramolecular do IQ –USP, com a colaboração da Dra. Anamaria D.P. Alexiou.

Para o complexo CuMETRO, o espectro foi registrado em um espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-2401PC, adaptado com esfera integradora, na região de 200 a 800 nm, misturando o complexo com $BaSO_4$ e compactando numa porta-amostra. O espectro de reflectância foi convertido para o modo de absorbância por meio do algoritmo de Kubelka-Munk, utilizando o software do próprio instrumento.

3.4 Medidas de Susceptibilidade Magnética

As medidas de susceptibilidade magnética foram realizadas utilizando o Método de Faraday, numa balança CAHN modelo DTL 7500 com campo magnético de 1 Tesla. O padrão usado foi o $Hg[Co(SCN)_4]$, $\kappa = 16{,}44 \times 10^{-6}$ unid. CGS $Gauss^{-1}$ a 20 °C e θ=+10°. As leituras de massa, da barquinha vazia, do padrão e da amostra, na ausência e presença de campo magnético, foram feitas em triplicata e suas médias aritméticas utilizadas para os cálculos.

Os valores das massas obtidas na balança de CAHN na ausência e presença de campo magnético dos complexos de Ru_2(II,III) são apresentados na Tabela II.1.4.

***TABELA II.1.4.*- Massas do padrão e dos complexos de Ru_2(II,III), de Rh_2(II,II) e de Cu_2(II,II) na ausência e presença de campo magnético.**

COMPLEXOS	MASSAS DOS COMPLEXOS			
	AUSÊNCIA DE CAMPO		PRESENÇA DE CAMPO	
	$m_{padrão}$ (mg)	$m_{complexo}$ (mg)	$m_{padrão}$ (mg)	$m_{complexo}$ (mg)
RuACET	42,6	38,6	44,8	40,6
RuAQUO	37,3	41,9	39,5	43,7
RuMETRO	42,6	41,4	44,8	42,8
RuNIMO	42,6	35,4	44,8	36,9
RuSECNI	42,6	41,2	44,8	42,7
RuTINI	42,6	40,6	44,8	42,0
RhACET	33,2	37,7	35,0	38,7
RhMETRO	33,2	36,5	35,0	37,5
RhNIMO	42,6	42,6	44,9	44,0
RhSECNI	33,2	36,8	35,0	37,8
RhTINI	43,0	42,4	43,3	43,6
CuACET	49,6	48,4	52,9	50,1
CuMETRO	49,6	44,1	52,9	45,6
CuNIMO	49,6	49,6	52,9	51,0
CuSECNI	49,6	50,4	52,9	51,8
CuTINI	49,6	39,9	52,9	41,3

Os cálculos dos valores de susceptibilidade magnética foram efetuados pelo método de Faraday[4,8] utilizando-se a expressão:

$$\kappa_{amostra} = \kappa_{padrão} \frac{(\Delta_{amostra} - \delta)}{(\Delta_{padrão} - \delta)} \frac{m_{padrão}}{m_{amostra}} \quad .....(II.1)$$

Onde:

$\kappa_{amostra}$: susceptibilidade magnética por unidade de massa;

$\kappa_{padrão}$: 16, 44 x 10^{-6} unidades CGS $Gauss^{-1}$, a 20°C e θ = +10°, correspondente ao complexo utilizado como padrão: $Hg[Co(CSN)_4]$;

$m_{padrão}$: massa da barquinha contendo o composto padrão na ausência de campo, subtraindo-se a massa da barquinha na ausência de campo;

$m_{amostra}$: massa da barquinha contendo o composto amostra na ausência de campo, subtraindo-se a massa da barquinha na ausência de campo;

$\Delta_{padrão}$: massa da barquinha contendo o composto padrão na presença de campo, subtraindo-se a massa da barquinha contendo o composto padrão na ausência de campo;

$\Delta_{amostra}$: massa da barquinha contendo o composto amostra na presença de campo, subtraindo-se a massa da barquinha contendo o composto amostra na ausência de campo;

δ : massa da barquinha na presença de campo subtraindo-se a massa da barquinha na ausência de campo.

Uma vez determinado o valor da susceptibilidade magnética por unidade de massa (κ_M), calculou-se a susceptibilidade magnética molar de acordo com a seguinte equação:

$$\kappa_M = \kappa_{amostra} \times MM \qquad .....(II.2)$$

onde MM é a massa molar da amostra.

Em seguida determinou-se o valor da susceptibilidade magnética corrigida, isto é, levando em consideração a contribuição diamagnética de íons e ligantes presentes na amostra. Essas correções foram estimadas pelas constantes de Pascal[9] e na Tabela II.1.5 mostram-se os valores atribuídos para os íons e ligantes em unidades CGS.

$$\kappa'_M = \kappa_M + \text{Correções diamagnéticas} \qquad .....(II.3)$$

***TABELA II.1.5*.- Contribuição diamagnética de átomos neutros, íons e ligantes nitroimidazólicos**

ÁTOMOS NEUTROS, ÍONS E LIGANTES	CONTRIBUIÇÃO DIAMAGNÉTICA (x 10^{-6} unidades CGS)
Ru^{2+}	-23
Cu^{2+}	-11
CH_3COO^-	-30
Cl^-	-23
F^-	-9
P	-26,3
H_2O	-13
Metronidazol	-53,4
Nimorazol	-95,3
Secnidazol	-69,9
Tinidazol	-76,4

O momento magnético efetivo μ_{eff}, em Magnetons Bohr foi calculado pela expressão:

$$\mu_{eff} = 2{,}84\sqrt{\kappa'_M \times T} \qquad .....(II.1.4)$$

onde T é a temperatura em Kelvin.

A partir do momento magnético efetivo calculou-se o número de elétrons desemparelhados :

$$\mu_{eff} = \sqrt{n(n+2)} \qquad .....(II.1.5)$$

3.5 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})

Os espectros nesta região do infravermelho foram obtidos na Central Analítica do Instituto de Química da USP. Um espectrofotômetro BOMEM MB-100 foi usado para o caso dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus derivados com nitroimidazóis. Para o caso do acetato de $Rh_2(II,II)$ foi utilizado um espectrofotômetro Perkin Elmer modelo 1750. Em todos os casos, as amostras dos complexos foram diluídas em pastilhas de KBr.

3.6 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho Afastado (500 – 190 cm^{-1})

Estes espectros foram obtidos em um aparelho ABB Bomen, modelo MB 102, utilizando-se suspensão dos compostos em Nujol colocadas entre placas de CsI.

Para registrar os espectros tanto dos complexos quanto dos ligantes, as amostras foram preparadas de acordo com o seguinte procedimento:

1. Uma pequena quantidade de amostra foi colocada num almofariz de ágata.
2. A amostra foi moída por aproximadamente 3 a 5 min com a finalidade de uniformizar o tamanho dos grãos.
3. Colocou-se uma gota de Nujol e continuou-se moendo até que o sólido estivesse uniformemente misturado com o óleo mineral.
4. As placas de CsI foram tiradas do dessecador e limpas com um papel umedecido em acetona.
5. Com a ajuda de uma espátula plana, transferiu-se uma pequena quantidade da suspensão para uma das placas de CsI , tomando cuidado de não riscar a placa com a espátula. A segunda placa foi colocada acima da primeira e ambas acomodadas num suporte de placas próprio do aparelho.

3.7 Espectroscopia RAMAN

Os espectros Raman foram obtidos em um equipamento Raman Renishaw (modelo 3000), com sistema de detector CCD refrigerado (wright 600 x 400 pixels) e microscópio metalúrgico (Olympus). A linha de laser empregada foi de 632 nm e a potência de 0,5 mW. Em todos os casos, os espectros foram obtidos para os

compostos no estado sólido. Os espectros RAMAN foram obtidos no Laboratório de Espectroscopia Molecular do IQ-USP, com colaboração da Profa. Dra. Dalva L. Araújo de Faria

3.8 Análises Térmogravimétricas

As curvas termogravimétricas (TGA) foram registradas em um equipamento Shimadzu TGA-50. As amostras foram aquecidas em cadinho de platina a razão de 10°C min^{-1} na faixa de Tamb – 900 °C sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL min^{-1}), para o caso dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Rh_2(II,II)$ e atmosfera de ar para o caso dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e $Cu_2(II,II)$. Os ligantes nitroimidazólicos foram submetidos a esta análise utilizando-se tanto atmosfera de nitrogênio quanto atmosfera de ar.

3.9 Medidas de Condutividade Molar

As medidas de condutividade foram realizadas com auxílio de um condutivímetro Digimed, modelo DM-31, utilizando-se soluções de KCl como padrão de referência. Uma solução padrão de KCl com condutância específica de 1412,0 μScm^{-1} e uma célula de constante k = 1,0 cm^{-1} foram utilizada para medir a condutividade de soluções aquosas. Para soluções não-aquosas, foram utilizadas uma solução padrão de KCl de condutância específica de 146,9 $\mu S\ cm^{-1}$ e uma célula de constante k = 0,1cm^{-1}. As concentrações das soluções aquosas e não-aquosas dos complexos em estudo foram de aproximadamente 1 x 10^{-3} mol dm^{-3}.

3.10 Estudos Eletroquímicos dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$

Os estudos de voltametria cíclica foram feitos com um sistema da PARC, instrumento da EG&G, que consiste de um potenciostato modelo 283 e uma cela eletroquímica com um arranjo de três eletrodos. Foram preparadas soluções de concentração 5,0 mmol dm^{-3} dos complexos em acetonitrila (grau HPLC), contendo perclorato de tetraetilamônio ($TEACIO_4$) 0,1 mol dm^{-3}. Para as medidas foi empregado o seguinte conjunto de eletrodos: platina como eletrodo de trabalho, fio de Pt como eletrodo auxiliar e eletrodo de Ag/Ag+ como eletrodo de referência (E^0 = -

0,503V *vs* EPH). Todas as medidas foram feitas sob atmosfera de argônio. Os dados foram processados através do *software* ECHEM, versão 4.30. O comportamento espectroeletroquímico foi monitorado combinando-se um espectrofotômetro diode-array Hewlett-Packard modelo 8452A com um potenciostato da PARC modelo 173. Um eletrodo de trabalho (minigrid de ouro) e um microeletrodo auxiliar de platina *vs* um microeletrodo de referência de Ag-$AgNO_3$ foram empregados para realizar estas medidas. A cubeta de quartzo utilizada possuía caminho óptico de 0,025 cm. Neste caso, os complexos de rutênio estudados foram dissolvidos em CH_3CN (2,0 mmol dm^{-3}) contendo 0,10 mmol dm^{-3} de $TEAClO_4$. Os estudos eletroquímicos foram feitos no Laboratório de Química Supramolecular do IQ – USP, com a colaboração da Dra. Izilda Bagatin

3.11 Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica, EPR.

Os espectros de EPR foram registrados em um espectrofotômetro EPR da BRUKER, modelo EMX, operando na banda X (ν = 9,33 GHz) com potência de 20 mW. As medidas foram feitas com amostras no estado sólido e a temperatura ambiente. Como porta-amostras utilizou-se um tubo de polietileno de 2 mm de largura e aproximadamente 4 cm de comprimento, selado de ambos os lados e colocado num suporte de vidro. DPPH (α,α'-difenil-β-picrilhidrazil) foi usado como calibrador de frequência (g = 2.0036). Os espectros de EPR foram obtidos em colaboração com o Dr. Wendel A. Alves e a Prof. Dra. Ana Maria Da Costa Ferreira.

3.12 Medida da Susceptibilidade Magnética em Função da Temperatura dos Derivados Nitroimidazólicos de Cu_2(II,II).

As medidas da susceptibilidade magnética a temperatura varíavel das amostras em estado sólido (policristalinas) foram feitas com um magnetômetro SQUID, trabalhando numa faixa de 30 - 300 K e um campo de 500 Oe. As correções diamagnéticas foram estimadas utilizando as constantes de Pascal. Estas medidas foram efetuadas em colaboração com o Dr. Armando Paduan Filho do Instituto de Física da USP.

3.13 Acompanhamento Espectroscópico da Estabilidade dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$.

A estabilidade dos complexos em soluções aquosas, mantidas a 37°C em banho-maria durante 12h, foi monitorada através dos espectros eletrônicos (350 – 700 nm) registrados num espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-1650PC.
As concentrações das soluções dos complexos para as quais foi medida a estabilidade, correspondem às concentrações citotóxicas (IC_{50}) obtidas nos ensaios de citotoxicidade destes compostos e são mostradas na Tabela II.1.6.

***TABELA II.1.6.*- Concentrações das soluções aquosas dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ utilizadas no teste de estabilidade a 37 °C.**

COMPLEXO	CONCENTRAÇÃO (mol dm^{-3})
RuAQUO	$0,76 \times 10^{-3}$
RuMETRO	$1,20 \times 10^{-3}$
RuNIMO	$4,30 \times 10^{-4}$
RuSECNI	$4,20 \times 10^{-4}$
RuTINI	$2,50 \times 10^{-4}$

3.14 Ensaios de Partição dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ e $Cu_2(II,II)$ em n-octanol / água[10].

1. Foram preparadas soluções dos complexos que correspondem à concentração do IC_{50} (concentração citotóxica) determinada nos ensaios de citotoxicidade (Tabela II.1.6).

2. Foram obtidos os espectros eletrônicos destas soluções iniciais, com a finalidade de se estabelecer o comprimento de onda para leitura das absorbâncias iniciais e finais utilizando um espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-1650PC e cubetas de quartzo de caminho óptico igual a 1,0 cm.

3. Foram colocados 1,5 cm^3 de cada solução em tubos de vidro de base plana de 50 cm^3 de capacidade. Este ensaio foi feito em duplicata para cada solução.

4. A cada tubo foram adicionados 20 cm^3 de octanol preparado para o ensaio* e os tubos foram imediatamente selados.

* O octanol foi misturado com água desionizada numa relação 1:1 (v/v) e deixado em banho-maria a 23 °C sob agitação magnética durante 12h, de forma que este solvente ficasse saturado com água, mantendo dessa forma um equilíbrio água-octanol.

5. As frações aquosa e orgânica foram misturadas utilizando agitação magnética, durante 1h em banho-maria a 23 °C.

6. As misturas foram então deixadas em repouso por 30 min para a separação das fases.

7. Após esse tempo, o extrato orgânico foi extraído quase totalmente com auxílio de pipeta automática de 5 cm^3, e logo depois o extrato aquoso foi extraído com uma pipeta Pasteur e colocado num *eppendorf* de 1,5 cm^3.

8. O extrato aquoso foi centrifugado durante 5 min a 15000 rpm em centrífuga Hitachi CF 15D2. Com esta centrifugação os resíduos de extrato orgânico podem ser muito bem separados do extrato aquoso.

9. Registrou-se então os espectros eletrônicos de cada um dos extratos aquosos e orgânicos, sendo as absorbâncias medidas nos comprimentos de onda estabelecidos inicialmente.

10. Os resultados finais ($\%C_{FO}$) são expressos como a porcentagem de composto que passou para a fase orgânica, calculada com base na diferença entre as absorbâncias inicias e finais medidas num mesmo comprimento de onda:

$$\%C_{FA} = \%\text{composto em fase aquosa} = \frac{Abs_{\lambda}\text{inicial} - Abs_{\lambda}\text{final}}{Abs_{\lambda}\text{inicial}} x100 \quad .....(II.6)$$

$$\%C_{FO} = \%\text{ composto em fase orgânica} = 100 - \%C_{FA} \quad .....(II.7)$$

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Mitchell, R.W., Spencer, A. e Wilkinson, G., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1973, 846.

[2] Drysdale, K.D., Beck, E.J., Stanley Cameron, T., Robertson, K.N. e Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta*, 1997, 256, 243.

[3] Vamvounis, G., Caplan, J.F., Stanley-Cameron, T., Robertson, K.N., Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta*, 2000, 304, 87.

[4] Souza, A.R., Cicloalcano Carboxilatos de Ródio (II). Síntese, Estudos Espectroscópicos e Avaliação do Potencial Antitumor. Tese de Doutoramento, Instituto de Química, USP, 1985.

[5] Valderrama, N.A.C., Síntese e Caracterização de Carboxilatos de Rh (II) e seus adutos com metronidazol: Ensaios Biológicos com Vistas à Atividade Radiossensibilizadora de Tumores, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP, 2000.

[6] Dale, L.D., Tyson, T.M., Tocher, D.A., Tocher, J.H., e Edwards, D.I., *Anticancer Drug Design*, 1989, 4, 295.

[7] Norman Jr., J.G. e Kolari, H.J., *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100(3), 791.

[8] Roteiro de Prática de Laboratório da Disciplina: Química de Coordenação, 1998 : Propriedades Magnéticas de Compostos de Coordenação.

[9] Figgis, B.N. e Lewis, *J., Technique of Inorganic Chemistry (Interscience)*, 1965, 4, 137.

[10] Malvezzi, Alberto; Estudo comparativo de parâmetros hidrofóbicos e relacionados à ionização, de uma série de derivados da procaína com atividade bloqueadora neuromuscular. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP, 2003.

II.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

II.2.1 COMPLEXOS DE $Ru_2(II,III)$

1. Sínteses

O primeiro relato de síntese de um tetracarboxilato de dirutênio foi feito em 1966 por Stephenson e Wilkinson[1], que obtiveram espécies de valência mista de fórmula $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CR)_4Cl]$, R = CH_3, C_2H_5, C_3H_7, refluxando $RuCl_3.3H_2O$ numa mistura do ácido carboxílico e do anidrido correspondente. A síntese foi melhorada em 1973 pelo grupo de Wilkinson[2], adicionando LiCl e borbulhando $O_{2(g)}$ na mistura de reação, o que resultou num aumento do rendimento .

Para a síntese do precursor $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$ utilizamos esse último método com o qual obtivemos bons resultados em relação ao rendimento (75%) e pureza do complexo (Calculado para $Ru_2C_8O_8H_{12}Cl$; C:20,28%; H: 2,55%. Experimental; C:20,27%; H: 2,60%).

O aquo-complexo contendo PF_6^- como contra-íon foi preparado de acordo com a metodologia descrita na literatura[3]. A espécie $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]^+$, foi obtida a partir do composto $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$. Por remoção dos íons Cl^- com Ag^+ em meio aquoso, as posições axiais ficam livres para a coordenação das moléculas de água, de acordo com a equação abaixo:

$$[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]_{(aq)} + Ag^+_{(aq)} + 2H_2O_{(l)} \longrightarrow [Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]^+_{(aq)} + AgCl_{(s)} \quad ...(II.2.1.1)$$

Pela adição de NH_4PF_6, o composto $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]PF_6$ foi isolado.

Os resultados de análise elementar são coerentes com a presença de duas moléculas de água de hidratação: $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]PF_6.2H_2O$ (Calculado para $Ru_2C_8O_{12}H_{20}PF_6$; C: 14,66%; H: 3,08%; Experimental; C:14,68%; H: 2,85%). O rendimento foi de 70%.

Na síntese do aquo-complexo, tentamos utilizar também o contra-íon BPh_4^-, seguindo os procedimentos mais utilizados na literatura[3,4,5,6], mas o sólido obtido sofreu algum tipo de decomposição, mudando de cor após a secagem sob vácuo.

Para a síntese dos derivados de tetrakis(acetato) de dirutênio (II,III) com ligantes nitroimidazólicos, empregamos metodologias semelhantes às que foram reportadas por Vamvounis *et al.*[6], para derivados com outros ligantes N-doadores, que também foi usada por Cooke *et al.*[7], na síntese de derivados de uréia e tiouréia, e por Gilfoy *et al.*[8] para derivados com ligantes S-doadores.

O primeiro derivado que sintetizamos foi o complexo com metronidazol, de fórmula $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]PF_6.H_2O$, cujas análises elementares são mostradas na Tabela II.2.1.1.

A síntese desse derivado foi efetuada utilizando também o contra-íon BPh_4^-, mas o complexo isolado apresentou-se instável. Uma outra tentativa foi realizada utilizando o contra-íon Cl^-, com base nos trabalhos de Barral[9] e Gangopadbyay[10] que sintetizaram derivados com piridina e adenina respectivamente, mas parece que o Cl^- é um contra-íon muito pequeno para precipitar o complexo. A última tentativa foi utilizar o contra-íon SO_4^{2-}, em que primeiramente trocou-se o ânion, obtendo-se o complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]SO_4$ dissolvido em solução aquosa[4] e posteriormente fez-se a reação com o metronidazol, mas os resultados não foram satisfatórios.

Com base nesses experimentos o contra-íon PF_6^- foi então selecionado para a síntese de todos os derivados nitroimidazólicos de fórmula: $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$ em que L é um ligante nitroimidazólico.

Os dados das análises elementares são coerentes com uma série de tetra(acetatos) não-poliméricos de $Ru_2(II,III)$ com ligantes axiais N-doadores contendo PF_6^- como contra-íon. Estes primeiros resultados, obtidos no inicio do trabalho foram muito bons já que na literatura tinha sido reportado que ligantes N- e P- doadores enfraquecem a ligação múltipla Ru-Ru tornando a gaiola susceptível à conversão, na presença de ligantes como imidazol e 1-metilimidazol, em espécies μ-oxo do tipo $[Ru_2(\mu\text{-}O)(\mu\text{-}O_2CR)_2]^{2+}$[11,12,13]. A manutenção das estruturas dimetálicas no nosso caso foi confirmada empregando-se diversas técnicas, cujos resultados são descritos adiante.

***TABELA II.2.1.1*.- Análises elementares dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$.**

COMPLEXOS DE $Ru_2(II,III)$	CALCULADO			EXPERIMENTAL		
	C(%)	H(%)	N(%)	C(%)	H(%)	N(%)
$[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]PF_6.H_2O$	25,46	3,42	8,91	25,66	3,18	8,88
$[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(NIMO)_2]PF_6$	30,15	3,89	10,82	30,08	3,79	10,97
$[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(SECNI)_2]PF_6$	27,71	3,59	8,81	27,44	3,46	8,81
$[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(TINI)_2]PF_6$	26,75	3,55	7,80	26,66	3,52	7,63

2. Testes de Solubilidade dos Complexos

As solubilidades dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus derivados nitroimidazólicos foram testadas qualitativamente, a temperatura ambiente, em diferentes solventes e comparadas com as solubilidades dos ligantes nitroimidazólicos isolados (Tabelas II.2.1.2 e II.2.1.3).

***TABELA II.2.1.2*.- Solubilidade dos ligantes nitroimidazólicos**

SOLVENTES	METRO	NIMO	SECNI	TINI
Água	s	s	s	s
MeOH	s	s	s	s
EtOH	s	s	p.s.	s
Acetona	s	s	s	s
THF	s	s	s	s
DMSO	s	s	s	s
Acetonitrila	s	s	s	s
DMF	s	s	s	s
Hexano	i	i	i	i
Tolueno	i	s	p.s.	i
Diclorometano	p.s.	s	s	s
Clorofórmio	p.s.	s	s	s
1,4 dioxano	p.s.	s	s	s

s = solúvel, p.s. = pouco solúvel, i = insolúvel

TABELA II.2.1.3.- Solubilidade dos complexos de $Ru_2(II,III)$

SOLVENTES	RuACET	RuAQUO	RuMETRO	RuNIMO	RuSECNI	RuTINI
Água	p.s.	s	s	s	s	p.s.
MeOH	p.s.	s	s	s	s	s
EtOH	i	s	s	s	s	s
Acetona	i	s	s	s	s	s
THF	i	s	s	s	s	s
DMSO	i	s	s	s	s	s
Acetonitrila	p.s.	s	s	s	s	s
DMF	i	s	s	s	s	s
Hexano	i	i	i	i	i	i
Tolueno	i	p.s.	i	i	i	i
Diclorometano	i	p.s.	s	s	s	s
Clorofórmio	i	s	s	s	p.s.	p.s.
1,4 dioxano	i	p.s	s	s	s	p.s.

s = solúvel; p.s. = pouco solúvel; i = insolúvel

Pelos resultados mostrados nestas tabelas podemos observar que os derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ são solúveis na maioria dos solventes testados apresentando certa semelhança com as solubilidades dos nitroimidazóis livres. A entrada destes ligantes nas posições axiais do centro $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^+$ contribui para aumentar a solubilidade dos complexos em solventes menos polares, em relação ao aquo-complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]PF_6.2H_2O$ e ao precursor $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$. Como a baixa solubilidade desse último pode ser atribuída à sua estrutura polimérica, é possível dizer que os derivados nitroimidazólicos que apresentam maior solubilidade, não devem exibir estruturas poliméricas, mas sim diméricas do tipo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$.

3. Espectroscopia Eletrônica

A. Estrutura Eletrônica e Espectros de Absorção dos Tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$.

Os carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ pertencem à uma importante classe de complexos dimetálicos de fórmula geral M_2L_4 (simetria D_{4h}), onde as ligações M-M podem variar desde simples até quádruplas. Estas ligações ocorrem somente com metais de transição e são resultado do recobrimento dos orbitais *d*. Na figura II.2.1.1 são mostrados os possíveis recobrimentos entre os conjuntos de orbitais *d* (dz^2, dxz, dyz e dxy) de dois átomos metálicos. Os orbitais dx^2-y^2 interagem principalmente com os orbitais dos ligantes tendo pouco efeito sobre a ligação M-M[14].

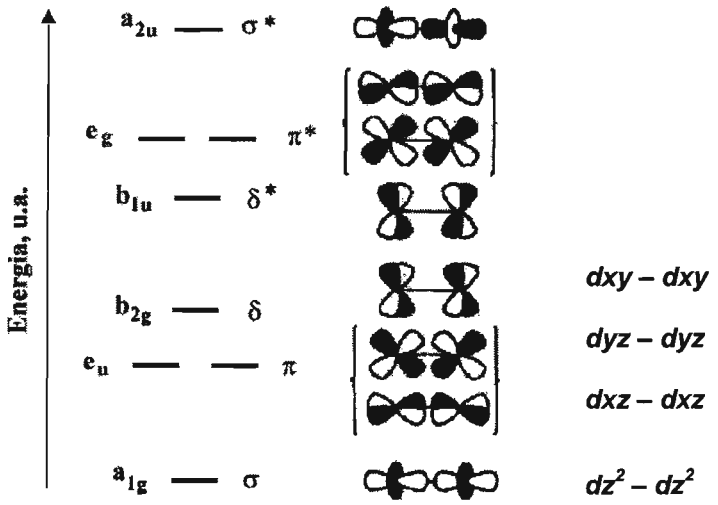


***FIGURA II.2.1.1*.- Esquema simplificado dos orbitais moleculares σ, π e δ para dois conjuntos de orbitais *d* em átomos metálicos adjacentes para sistemas $L_4M – ML_4$, considerando o eixo z como eixo internuclear[15].**

Essas interações dos orbitais *d* permitem que dois átomos metálicos formem um orbital molecular σ, dois orbitais moleculares π e um orbital molecular δ ligantes. Em geral as energias dos orbitais aumentam na seguinte ordem:

$$\sigma < \pi < \delta < \delta^* < \pi^* < \sigma^*$$

Esta descrição simplificada, embora seja pedagogicamente aceitável, não leva em consideração as interações com os orbitais dos ligantes. Os valores de energia dos orbitais σ, π, δ, δ*, π* e σ*, podem depender do comprimento da ligação

M-M e também podem ser influenciados pelo tipo de metal, seu estado de oxidação e pela natureza dos ligantes equatoriais e axiais[16].

Para sistemas d^4-d^4 do tipo M_2L_8 (D_{4h})[17], oito elétrons preenchem o conjunto de orbitais ligantes σ, π e δ, mostrado na figura II.2.1.1, resultando numa ligação de ordem 4,0. Se houver mais de oito elétrons, será necessário colocar os excedentes nos orbitais antiligantes, o que abaixa a ordem da ligação[14].

No caso dos compostos de $Ru_2(II,III)$ com ponte carboxilato, o número de elétrons com os quais serão preenchidos os orbitais ligantes e antiligantes é onze. Portanto, com oito elétrons ligantes e 3 antiligantes, a ordem de ligação deve ser de 5/2 = 2,5. Isto está de acordo com as distâncias Ru-Ru, de aproximadamente 2,28 Å, observada para esse tipo de complexos. Logo, de acordo com a ordem dos orbitais moleculares da figura II.2.1.1, seria esperada uma configuração: $\sigma^2\ \pi^4\ \delta^2\ \delta^{*2}\ \pi^{*1}$, com um elétron não-emparelhado para esse sistema. Entretanto, dados experimentais mostram que há três elétrons não-emparelhados[14].

Estudos feitos por Norman *et al.*[18] utilizando cálculos SCF-Xα-SW para as espécies $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CH)_4]$, $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CH)_4]^+$ e $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CH)_4Cl_2]^-$ (figura II.2.1.2) permitiram postular a seguinte configuração eletrônica para os carboxilatos de $Ru_2(II,III)$: $\sigma^2\ \pi^4\ \delta^2\ \pi^{*2}\ \delta^{*1}$.

A ordem de energia $\delta^* < \pi^*$ que seria esperada se a ligação M-M fosse de natureza totalmente metálica não é observada neste caso. Como há um deslocamento de energia dos níveis 4d em relação aos níveis dos ligantes e também uma influência dos ligantes equatoriais, e em menor extensão dos ligantes axiais, ocorre uma inversão na ordem, ficando: $\pi^* < \delta^*$. Norman[18] enfatiza que a principal contribuição para inversão é o fato dos orbitais δ^* interagirem significativamente com os orbitais dos ligantes carboxilatos, o que não acontece com os orbitais π^*. A influência dos ligantes axiais é oposta àquela dos carboxilatos, mas o efeito é menor. Pode-se observar na figura II.2.1.2 que com a introdução dos ligantes axiais Cl^-, diminui a separação $\delta^* - \pi^*$, porém não é possível prever se a ordem inverte novamente, pois essas mudanças são energeticamente bastante pequenas.

A configuração eletrônica $\sigma^2\ \pi^4\ \delta^2\ \pi^{*2}\ \delta^{*1}$ é, portanto, favorecida devido à proximidade de energia dos orbitais π^* e δ^* (que são aproximadamente degenerados) e é coerente com o fato dos carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ apresentarem

três elétrons desemparelhados. Estiú *et al.*[19], utilizando cálculos ZINDOS/MRCI confirmaram esses resultados quando estudaram as mesmas espécies.

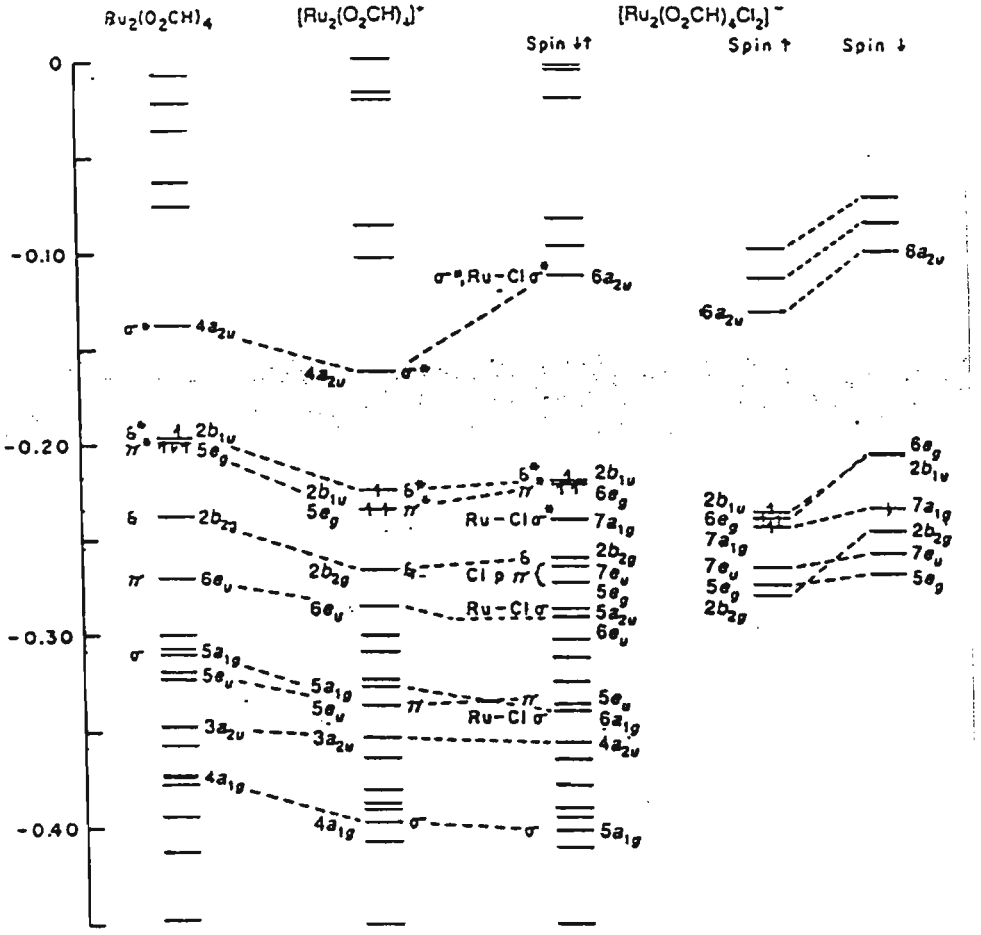


***FIGURA II.2.1.2.*.- Diagrama de Energias dos Orbitais Moleculares, calculadas pelo método SCF-Xα-SW, para os complexos $[Ru_2(O_2CH)_4]$, $[Ru_2(O_2CH)_4]^+$ e $[Ru_2(O_2CH)_4Cl_2]^-$ [19,20].**

A degenerescência presente nestes complexos de valência mista pode ser afetada, contudo, pela substituição dos quatro ligantes-ponte acetato no $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$ pelo ligante 2-amino-4,6-dimetilpiridina[6]. Nesse caso resulta numa configuração eletrônica $\sigma^2\ \pi^4\ \delta^2\ \pi^{*3}$, onde o orbital δ^* é agora desestabilizado em relação ao π^*, havendo um único elétron desemparelhado.

O espectro de reflectância difusa do $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$, primeiramente estudado por Clarck e Franks[21], mostrou duas bandas: uma de maior intensidade em 460 nm e outra de menor intensidade em 560 nm. Esse mesmo composto em solução, só apresenta a banda mais intensa, em 425 nm. Essas bandas foram

originalmente atribuídas a transições $\delta(Ru_2) \rightarrow \delta^*(Ru_2)$, mas posteriormente, com base em cálculos feitos por Norman[18], atribuiu-se a banda mais intensa a uma transição π (Ru-O, Ru_2) $\rightarrow \pi^*(Ru_2)$, atribuição essa que é aceita até hoje (Tabela II.2.1.4).

***TABELA II.2.1.4.*- Transições Eletrônicas observadas para o $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$[20]**

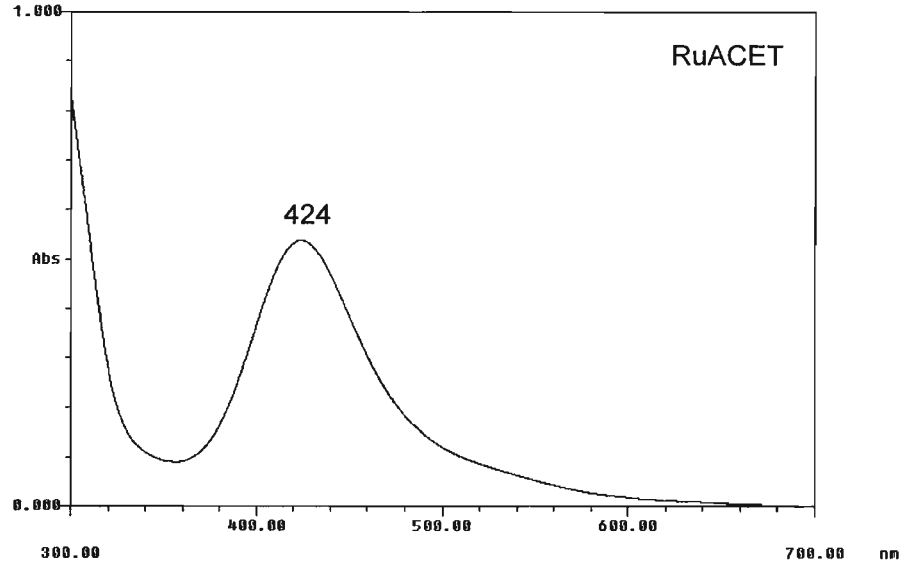
Comprimento de Onda observado (λ / nm)	Calculado por Norman [19] (λ / nm)	Atribuição	Regra de seleção	Referência
323	--	π (Cl) $\rightarrow \pi^*$ (Ru_2)	--	25
445	435	n(O) $\rightarrow \pi^*$ (Ru_2)	x, y	19, 22
	405	n(O) $\rightarrow \delta^*$ (Ru_2)		
450	--	π(Ru-O,Ru_2) $\rightarrow \sigma^*$(Ru-O)	x, y	25
475 – 460	503	π(Ru-O,Ru_2) $\rightarrow \pi^*$(Ru_2)	z	19, 21-24
425 (solução)				
568 – 562	535	σ(Ru-Cl) $\rightarrow \pi^*$(Ru_2)	x, y	19, 21, 22
571	--	$\delta^*(Ru_2) \rightarrow \sigma^*$(Ru-O)		25
		$\pi^*(Ru_2) \rightarrow \sigma^*$(Ru-O)		
629	--	δ (Ru_2) $\rightarrow \pi^*$(Ru_2)		
1110 – 962	1163 – 1136	δ (Ru_2) $\rightarrow \delta^*$(Ru_2)	z	19, 24, 26
1000 (solução)				
1450	--	$\pi^*(Ru_2) \rightarrow \delta^*(Ru_2)$	x, y	24

Duas bandas observadas para esse complexo em solução, no infravermelho próximo, em 960 e 1110 nm, foram tentativamente atribuídas por Norman[22] às transições $\delta(Ru_2) \rightarrow \delta^*(Ru_2)$ ($b_{2g} \rightarrow b_{1u}$) e $\delta(Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$ ($b_{2g} \rightarrow e_g$) respectivamente. Um ano mais tarde, Martin *et al.*[23], estudaram o espectro de monocristal polarizado do composto $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$, confirmando algumas das bandas previstas por Norman *et al.* para o complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl_2]^-$. Em particular, eles observaram a banda polarizada em z (permitida por dipolo) ao redor de 476 nm e uma outra banda fraca em 562 nm, polarizada em x,y (permitida por dipolo), a qual foi atribuída a uma transição σ(Ru-Cl) $\rightarrow \pi^*$(Ru_2) ($a_{2u} \rightarrow e_g$) (Tabela II.2.1.4).

Estudos posteriores de Clarck e Ferris[24], utilizando a técnica de Raman Ressonante, confirmaram que a banda em 476 nm polarizada em z (permitida por dipolo), era devida à transição π (Ru-O, Ru_2) $\rightarrow \pi^*$ (Ru_2).

Estudos feitos por Miskowski *et al.*[25] confirmaram a atribuição da banda em 1110 nm à transição $\delta(Ru_2) \rightarrow \delta^*(Ru_2)$. Uma nova banda em 1450 nm polarizada no eixo x,y (proibida por spin), foi atribuída à transição π (Ru_2)$\rightarrow \delta^*(Ru_2)$. Estes mesmos autores, fazendo estudos do espectro de monocristal dos complexos [$Ru_2(\mu$-$O_2CCH_3)_4Cl$], [$Ru_2(\mu$-$O_2CC_2H_5)_4Cl$] e [$Ru_2(\mu$-$O_2CC_2H_5)_4Br$] em baixas temperaturas (8 – 15 K) atribuíram a banda intensa em ~ 560 nm à transição $\pi^*(Ru_2) \rightarrow \sigma^*$ (Ru-O)[26].

A figura II.2.1.3 mostra os espectros eletrônicos UV-VIS do cloro-complexo RuACET e do aquo-complexo RuAQUO em soluções aquosas obtidos no nosso trabalho. O espectro do primeiro apresenta a banda característica da transição π(Ru-O, Ru_2) $\rightarrow \pi^*(Ru_2)$[18] em 424 nm. O espectro do aquo complexo é similar ao do RuACET apresentando a banda correspondente à transição π(Ru-O, Ru_2) $\rightarrow \pi^*(Ru_2)$ no mesmo comprimento de onda. Estes resultados estão de acordo com os apresentados por Drysdale[3], onde essa banda aparece em 430 nm no espectro do aquo-complexo. A semelhança entre esses espectros indica que a espécie presente em solução é a mesma em ambos os casos, ou seja, o íon complexo [$Ru_2(\mu$-$O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]^+$ no qual duas moléculas de água estão axialmente coordenadas ao núcleo $Ru_2(II,III)$[26].



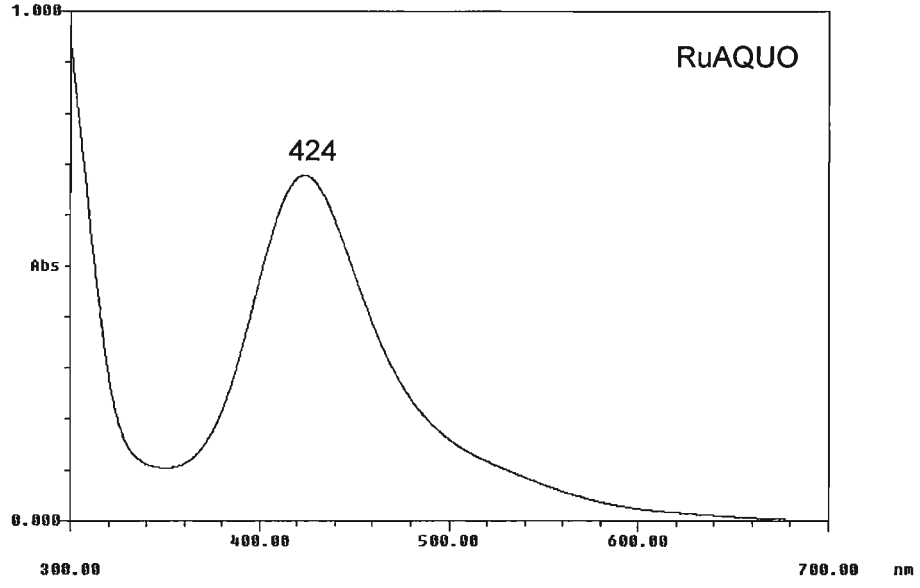


FIGURA II.2.1.3.- **Espectros eletrônicos em solução aquosa 1,0 x 10^{-3} mol dm^{-3} dos complexos RuACET e RuAQUO.**

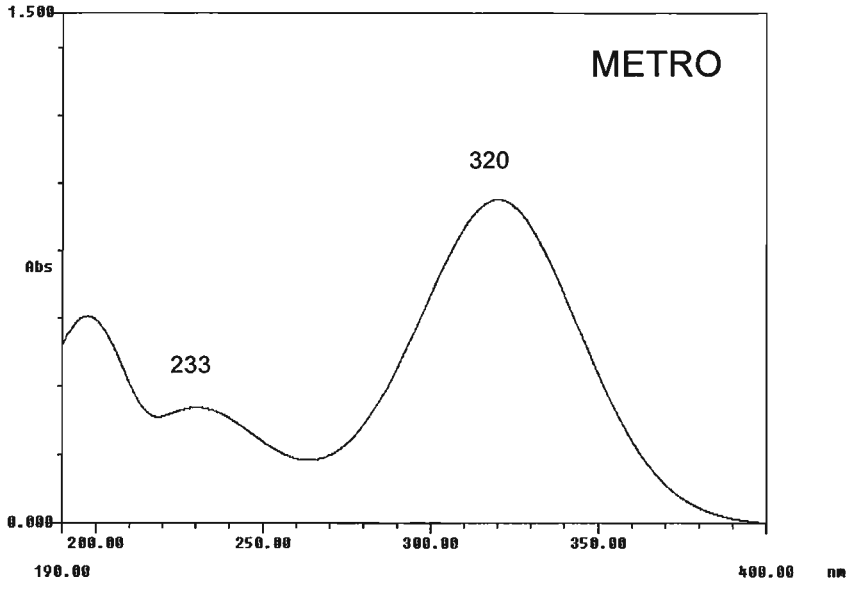
B. Espectros de Absorção dos Derivados Substituídos de $Ru_2(II,III)$ com Nitroimidazóis.

Nesta tese nós trabalhamos com ligantes axiais 5-nitroimidazólicos que são espécies N-doadoras, onde as diferenças nas suas estruturas apresentam-se principalmente na ausência ou presença do grupo 2-metil e no grupo substituinte R1 no N1 do anel imidazólico (figura I.5).

Os espectros eletrônicos dos derivados substituídos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$ são apresentados a seguir.

B.1. Espectros dos complexos em solução :

Os espectros eletrônicos dos ligantes nitroimidazólicos em solução são apresentados nas figuras *II.2.1.4* e *II.2.1.5*. Os espectros dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus respectivos derivados nitroimidazólicos são mostrados nas figuras *II.2.1.6* - *II.2.1.9*. A Tabela *II.2.1.5* apresenta os comprimentos de onda máximos e as absortividades molares estimadas a partir destes espectros.



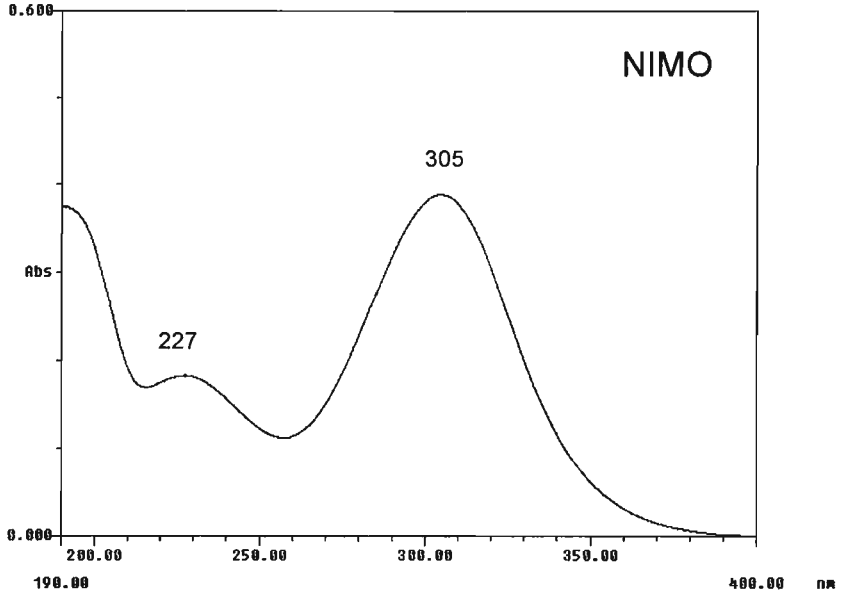


***FIGURA II.2.1.4.*- Espectros eletrônicos em solução aquosa dos ligantes : metronidazol (1,0 x 10^{-4} mol dm^{-3}) e nimorazol (0,5 x 10^{-4} mol dm^{-3}).**

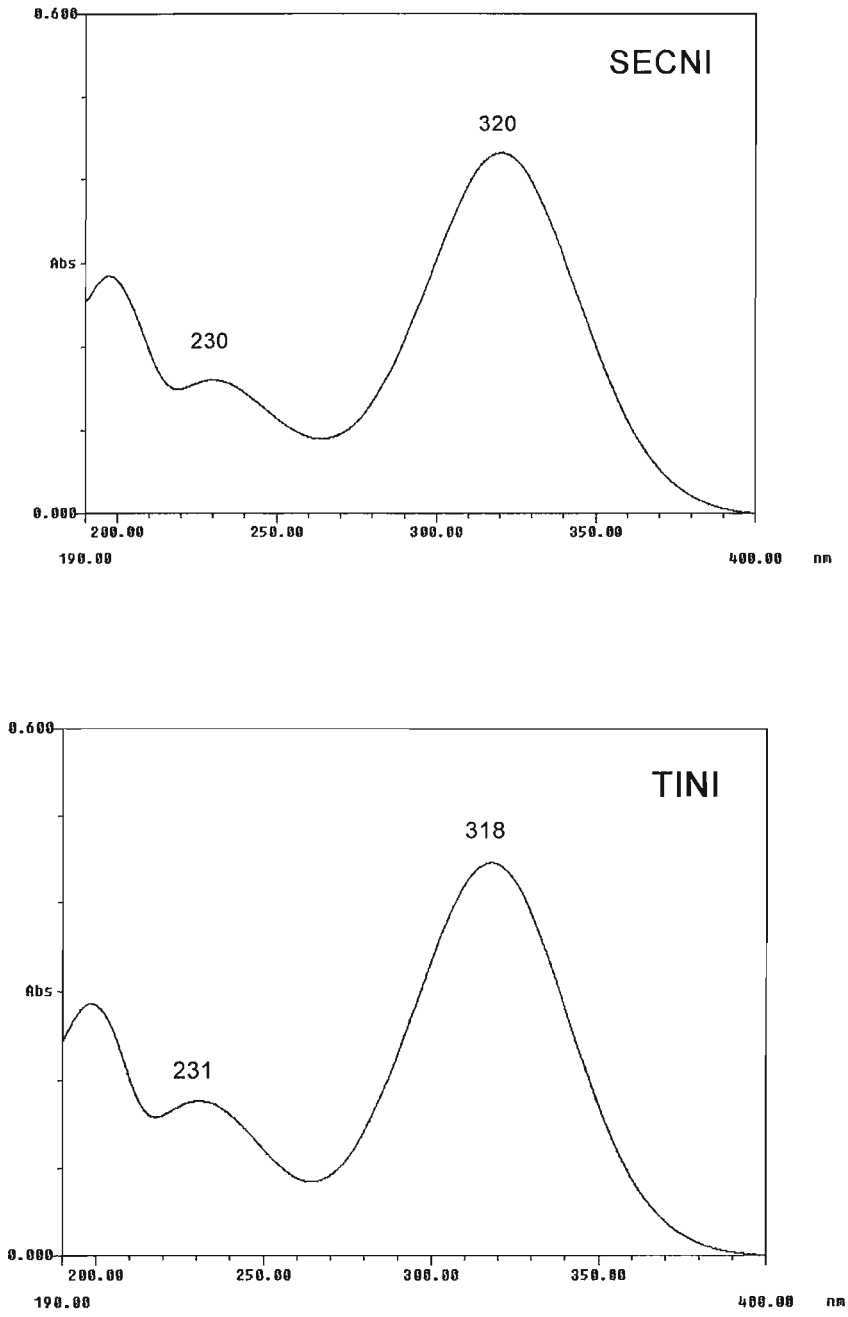


***FIGURA II.2.1.5.*- Espectros eletrônicos em solução aquosa dos ligantes secnidazol (0,5 x 10^{-4} mol dm^{-3}) e tinidazol (0,5 x 10^{-4} mol.dm^{-3}).**

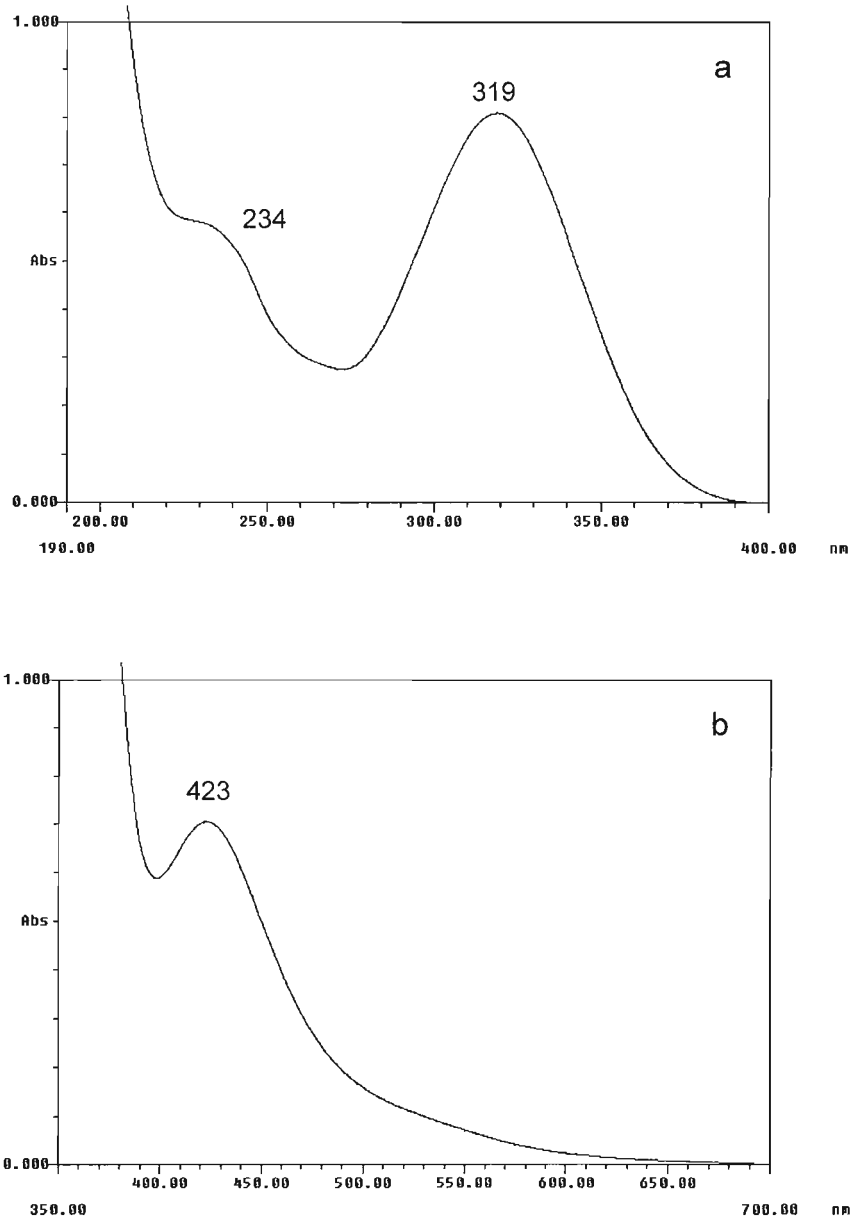


FIGURA II.2.1.6.- **Espectros eletrônicos do complexo RuMETRO em solução aquosa : (a) 0,5 x 10^{-4} mol dm^{-3}; (b) 1,0 x 10^{-3} mol dm^{-3}.**

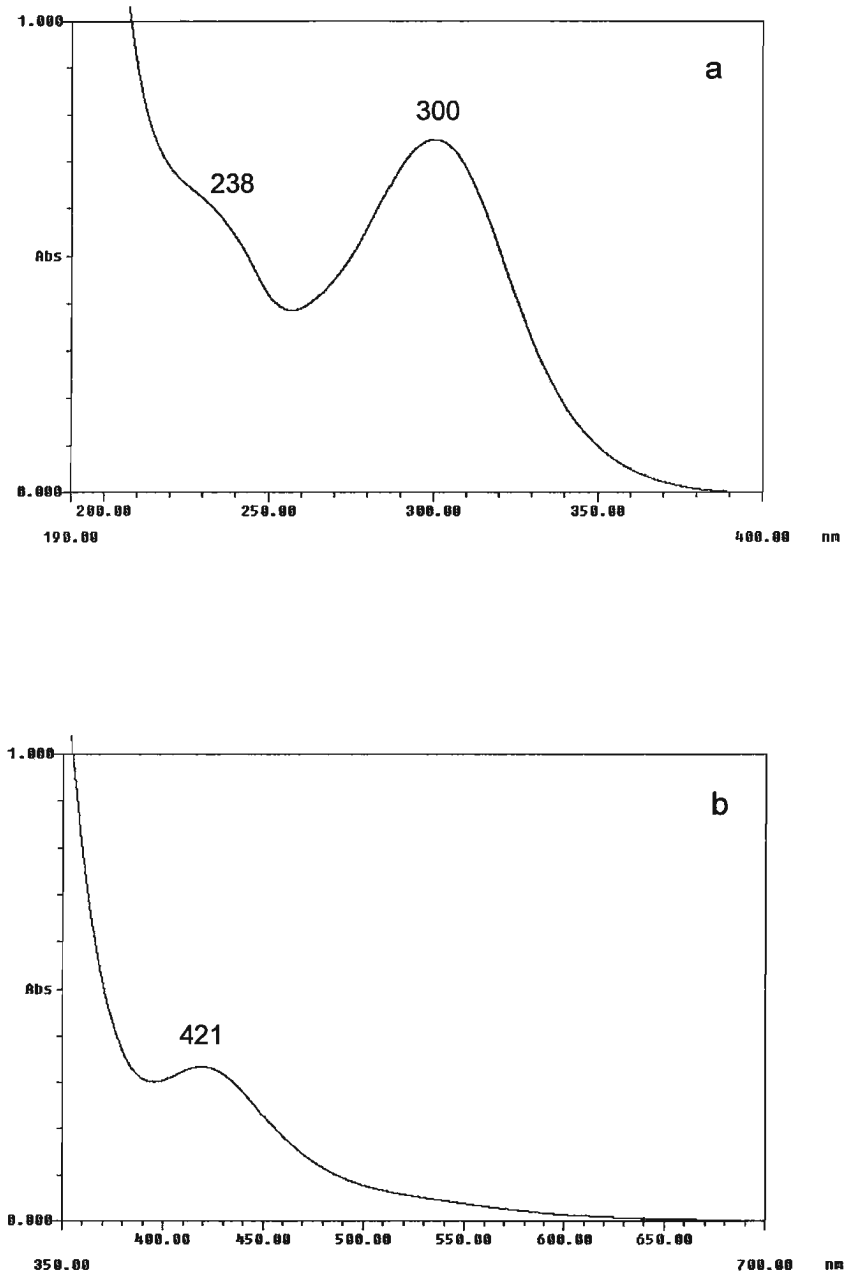
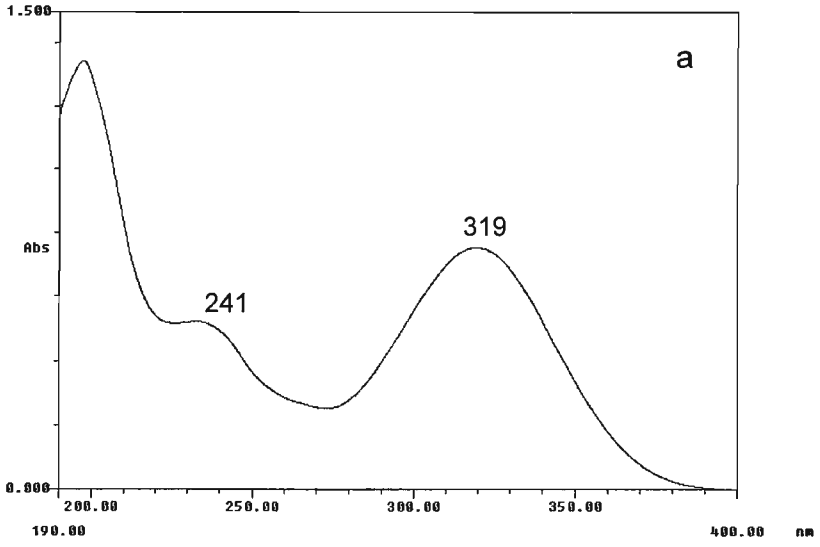


FIGURA II.2.1.7.- **Espectros eletrônicos do complexo RuNIMO em solução aquosa : (a) 0,5 x 10^{-4} mol dm^{-3} ; (b) 0,5 x 10^{-3} mol dm^{-3}.**



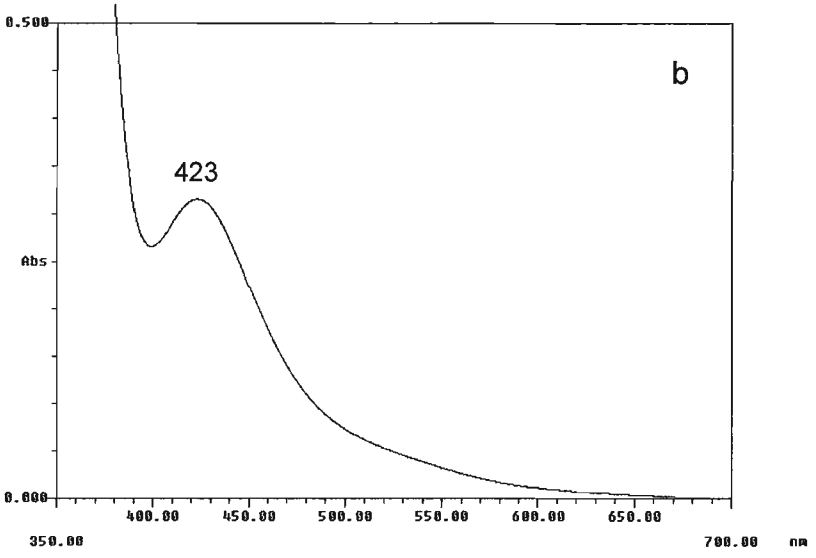


***FIGURA II.2.1.8.*- Espectros eletrônicos do complexo RuSECNI em solução aquosa : (a) 0,5 x 10^{-4} mol dm^{-3}; (b) 0,5 x 10^{-3} mol dm^{-3}.**

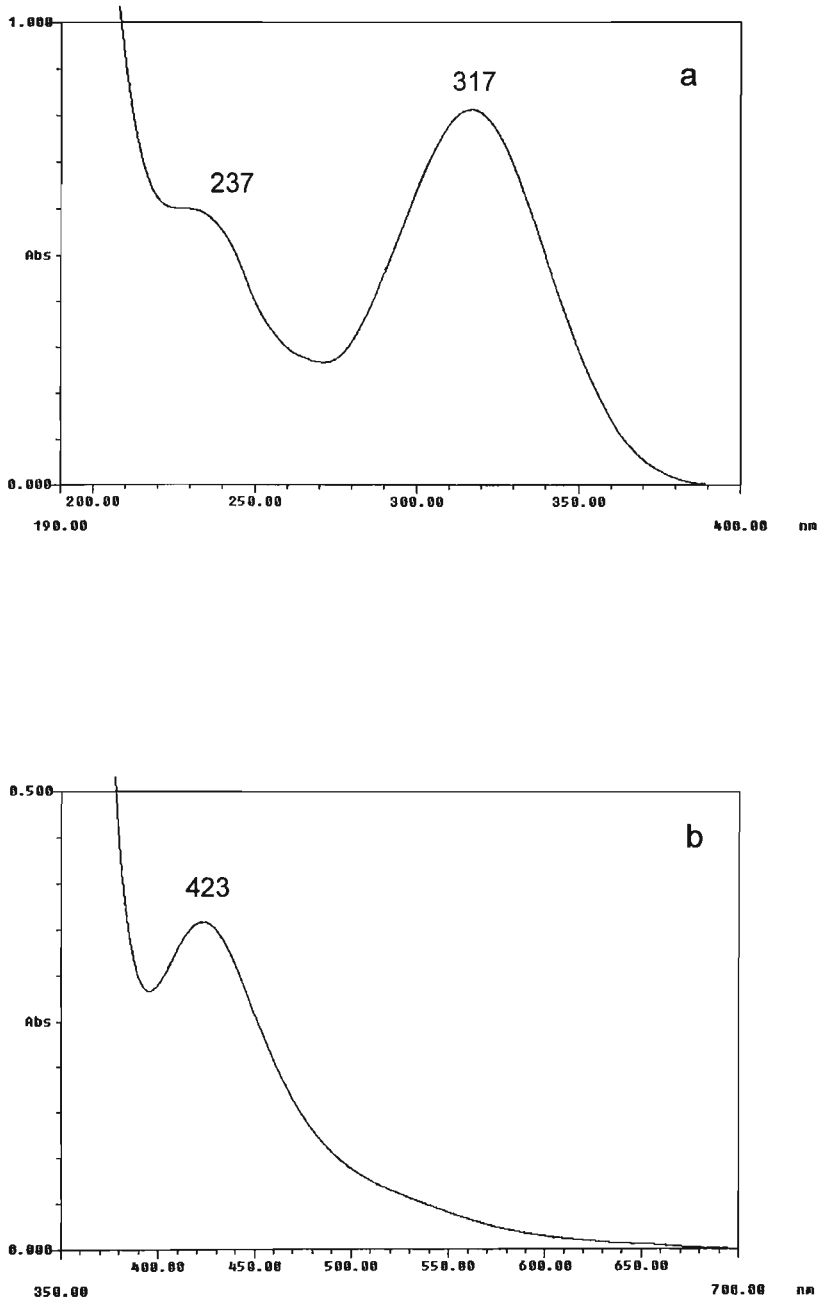


FIGURA II.2.1.9.- **Espectros eletrônicos do complexo RuTINI em solução aquosa : (a) 0,5 x 10^{-4} mol dm^{-3}; (b) 0,5 x 10^{-3} mol dm^{-3}.**

TABELA II.2.1.5.- Comprimentos de onda na região UV-VIS dos ligantes e dos complexos de $Ru_2(II,III)$.

Compostos	Solvente	Conc.x10^{-4} mol dm^{-3}	Ultravioleta* λ/nm (ε/$cm^{-1}mol^{-1}dm^3$ x 10^3)	Conc. x10^{-3} mol.dm^{-3}	Visível λ/nm (ε/$cm^{-1}mol^{-1}dm^3$ x 10^3)
METRO	Água	1,0	320(9,06), 233 ^{sh}		
	MeOH	0,5	311(8,95), 230 ^{sh}		
NIMO	Água	0,5	305(7,75), 227 ^{sh}		
	MeOH	0,5	297(6,97), 228 ^{sh}		
SECNI	Água	0,5	320(8,62), 230 ^{sh}		
	MeOH	0,5	312(8,65), 225 ^{sh}		
TINI	Água	0,5	318(8,93), 231 ^{sh}		
	MeOH	0,5	310(9,07), 227 ^{sh}		
RuACET	Água			1,0	424 (0,54)
	ACN			0,5	456 (1,18)
RuAQUO	Água			1,0	424 (0,63)
	MeOH	0,1	296^{sh}, 267^{sh}, 240 ^{sh}	1,0	426 (0,42)
	ACN			0,5	438 (1,15)
RuMETRO	Água	0,5	319(16,15), 234 ^{sh}	1,0	423 (0,70)
	MeOH	0,5	318(19,31), 238 ^{sh}	1,0	427 (0,83)
	ACN			0,5	437 (1,11)
	DICL			1,0	434 (1,11)
	TOL	suspensão		--	427 ^{sh} (--)
RuNIMO	Água	0,5	300(14,88), 238 ^{sh}	0,5	421 (0,67)
	MeOH	0,5	294(13,67), 238	1,0	426 (0,75)
	ACN			0,5	435 (1,13)
RuSECNI	Água	0,5	319(15,04), 241 ^{sh}	0,5	423 (0,63)
	MeOH	0,5	310(16,93), 238 ^{sh}	1,0	426 (0,77)
	ACN			0,5	438 (1,05)
RuTINI	Água	0,5	317(16,25), 237 ^{sh}	0,5	423 (0,72)
	MeOH	0,5	309(16,51), 238 ^{sh}	1,0	427 (0,77)
	ACN			0,5	439 (1,10)

* todos apresentam uma banda pouco definida ao redor de 200 nm;
^{sh} **ombro**

B.2 Espectros dos complexos no estado sólido :

Os espectros eletrônicos na região do infravermelho próximo dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus derivados nitroimidazólicos no estado sólido são mostrados na

figura II.2.1.10. A Tabela II.2.1.6 mostra os comprimentos de onda obtidos a partir destes espectros.

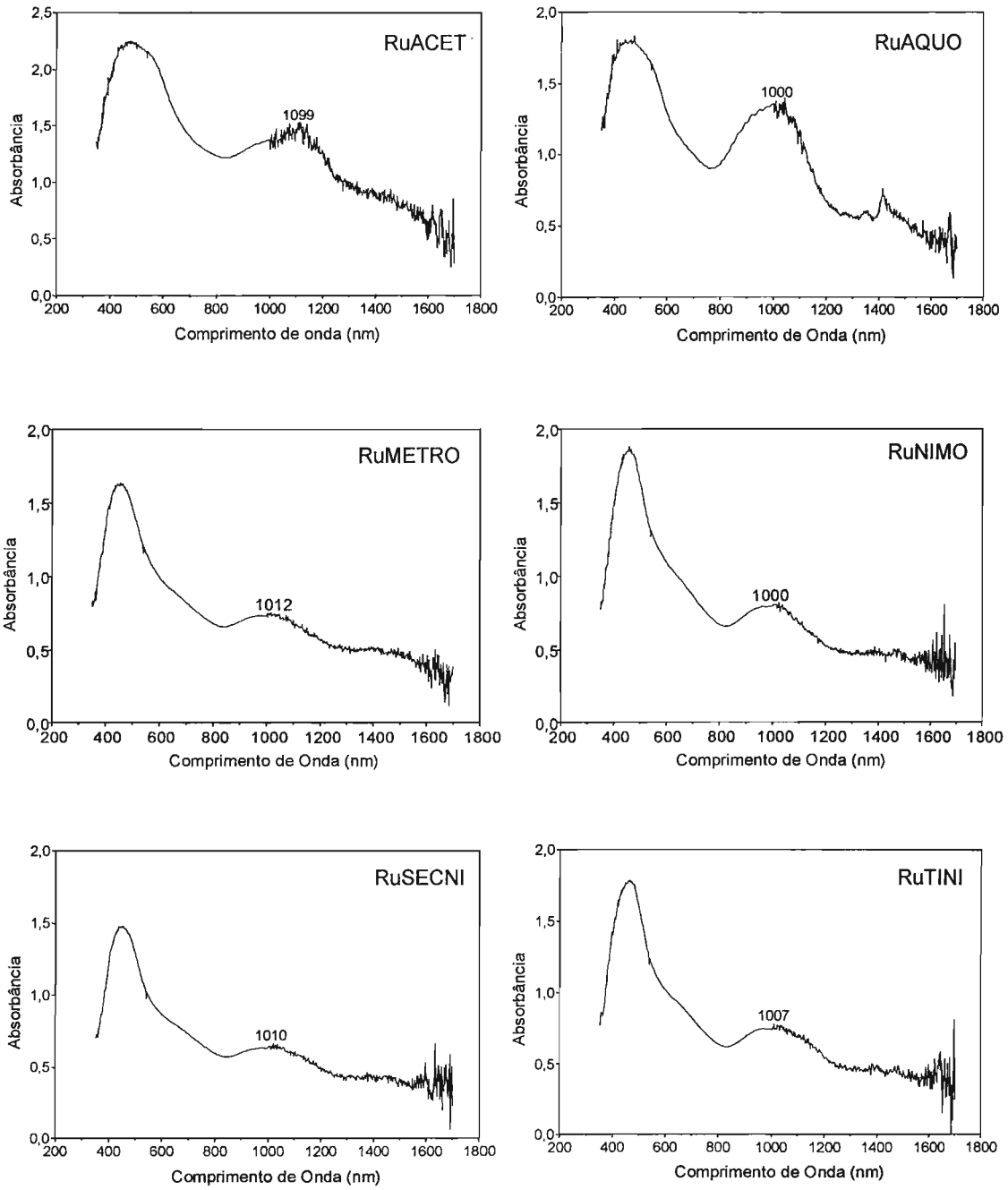


***FIGURA II.2.1.10.*- Espectros eletrônicos na região do infravermelho próximo dos complexos RuACET, RuAQUO, RuMETRO, RuNIMO, RuSECNI e RuTINI, no estado sólido.**

***TABELA II.2.1.6*.- Comprimentos de onda máximos observados na região do infravermelho próximo para os complexos de $Ru_2(II,III)$ no estado sólido.**

COMPLEXOS	λ_2(nm)
RuACET	1099
RuAQUO	1000
RuMETRO	1012
RuNIMO	1000
RuSECNI	1010
RuTINI	1007

B.3 Atribuição das bandas :

A banda observada na região de 290 a 320 nm nos espectros de todos os complexos de $Ru_2(II,III)$ com nitroimidazóis (Tabela II.2.1.5) também aparece para os ligantes livres e pode ser atribuída à uma transição intraligante (IL). Porém, como os valores de absortividade molar desta banda aumentam com a complexação (Tabela II.2.1.5) uma transição de transferência de carga ligante-metal (TCLM) não pode ser totalmente descartada. Miskowski *et al.*[26] observaram a existência de uma transição TCLM para o complexo $[Ru_2(\mu\text{-}(O_2CPr)_4Cl]$, envolvendo, neste caso, o ligante axial cloreto. De qualquer modo, a presença desta banda para os nossos complexos é indicativa de que os nitroimidazóis mantêm-se coordenados quando os derivados substituídos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]$ são dissolvidos em água ou metanol

A partir dos espectros eletrônicos dos complexos em solução e dos resultados apresentados na Tabela II.2.1.5, podemos observar que os carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ apresentam uma banda característica em 424 nm, que pode ser atribuída à transição $\pi(Ru\text{-}O, Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$[18]. Nos derivados substituídos, apesar da presença do nitroimidazol na posição axial, esta banda não mostra grandes mudanças em relação aos comprimentos de onda e as absortividades molares estão na faixa de 420 – 1180 $cm^{-1}mol^{-1}dm^3$. Os ligantes nitroimidazólicos, por tanto, não têm influência

na transição $\pi(Ru\text{-}O, Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$, o que já era esperado desde que o ponto de ligação das moléculas nitroimidazólicas é o nitrogênio que ocupa a posição três do anel imidazólico N(3). Embora haja algumas diferenças nas estruturas dos nitroimidazóis utilizados, o ambiente ao redor dos íons de $Ru^{2,5}$ é muito semelhante para todos os nossos complexos.

Drysdale *et al.*[3] verificaram que a transição $\pi(Ru\text{-}O, Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$ não é sensível à força doadora do ligante axial para derivados do tipo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]PF_6$, em que L = DMSO ($\lambda$ = 421 nm); H_2O e DMF (λ = 430 nm). Embora o DMSO seja o ligante de maior força doadora, os orbitais δ^* e π^* não são perturbados o suficiente para afetar a ordem de suas energias. Comparando a influência dos ligantes axiais Cl^- e H_2O, para os compostos: $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CH)_4Cl_2]^-$ e $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CH)_4(H_2O)_2]^+$, esses autores observaram, em ambos os casos, que a força da ligação M-M depende da interação do par de elétrons livres do ligante com os orbitais σ^* (M-M), sendo o Cl^- um doador mais efetivo do que a H_2O porque enfraquece a ligação $Ru^{2,5}$-$Ru^{2,5}$. Apesar dos orbitais π^* estarem semi-cheios, a interação desses com os ligantes axiais não é muito relevante, diferentemente do que acontece com os carboxilatos de $Rh_2(II,II)$, que, por apresentarem os orbitais π^* cheios, podem gerar uma possível retrodoação para os ligantes axiais (ex: CO e PR_3). Drago *et al.*[27] mediram as entalpias de formação de derivados do $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CC_3H_7)_4Cl]$ com algumas bases de Lewis como acetona, N-metilimidazol, tetraidrotiofeno, DMSO, 4-picolínico N-óxido, acetonitrila e piridina. Eles observaram que para os casos da piridina e acetonitrila, os valores das entalpias obtidos apresentaram-se mais altos do que os valores previstos e atribuíram este fato a uma possível retrodoação π a partir dos orbitais π^* semi-cheios do dímero de Ru aos orbitais π^* vazios dos ligantes, similarmente ao observado para dímeros de Rh. Estudos na região do visível mostraram que a banda devida à transição $\pi(Ru\text{-}O, Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$, é independente do tipo de ligante axial, uma vez que essa transição envolve orbitais que apresentam grande caráter metal-O(carboxilato). Vanvounis *et al.*[6], observaram que para derivados de carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ com bases nitrogenadas como $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CR)_4L_2]PF_6$ (L = ligantes N-heterocíclicos (quinuclidina, 4-metilpiridina, piridina, cianopiridina, 3-cianopiridina e 4-fenilpiridina), a banda atribuída à transição $\pi(Ru\text{-}O, Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$ também aparece em 425 nm (ε = 560 – 1260 $cm^{-1}mol^{-1}dm^3$). Apesar da variação da força da base de Lewis, refletida pelo número doador que varia desde 18 para H_2O até 61 para

quinuclidina, os ligantes axiais não produzem fortes mudanças nos espectros eletrônicos, ou seja, os orbitais π^* e δ^* se mantêm próximos. Com base nas distâncias Ru-N_{axial} obtidas para cada um dos complexos, não se teve nenhuma evidência de retrodoação π nestes casos.

Um aspecto interessante observado nos espectros em estado sólido dos tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ é a banda que aparece em aproximadamente 1000 – 1100 nm (Tabela II.2.1.6) e que pode ser atribuída à transição $\delta(Ru_2) \rightarrow \delta^*(Ru_2)$[25,26]. Esta banda está presente nos espectros do RuACET, RuAQUO e de todos os derivados nitroimidazólicos, comprovando que a estrutura dimetálica é mantida em todos os casos. Na faixa de 1400 – 1500 nm observa-se uma absorção em todos os espectros (figura II.2.1.10). Embora esta se encontre no limite da sensibilidade do aparelho, uma banda seria esperada nesta região devido à transição $\pi^*(Ru_2) \rightarrow \delta^*(Ru_2)$.

Os espectros em estado sólido para esta série de complexos mostra também bandas na região de ~450 nm, bandas estas que poderiam ser atribuídas à transição $\pi(Ru\text{-}O,Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$ e que apresentam-se em comprimentos de onda (λ_1) maiores do que os observados para esses mesmos compostos em solução aquosa. Como estas bandas parecem estar cortadas por se encontrar próximas ao limite da sensibilidade do aparelho, nós não conseguimos estabelecer comparações em relação aos espectros em solução. Em maiores comprimentos de onda, na região de 500 – 600 nm, é observada a presença de um ombro. Uma banda bem definida em 560 nm foi observada por Miskowski *et al.*[26] quando analisou os espectros de monocristal de alguns tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ a baixas temperaturas. Esta banda foi atribuída predominantemente à transição $\pi^*(Ru_2) \rightarrow \sigma^*$ (Ru-O).

Sabe-se que os ligantes axiais π receptores como imidazol e 1-metil-imidazol poderiam enfraquecer a ligação Ru-Ru originando a conversão para espécies μ-oxo, $[Ru_2(\mu\text{-}O)(O_2CR)_2]^{2+}$. Isto já não acontece com ligantes imidazólicos substituídos como o 2-metil-imidazol que formam derivados bastante estáveis[11]. Devido a estes fatos, e desde que os ligantes utilizados neste trabalho são imidazóis substituídos, nós achamos muito pouco provável que os nossos ligantes possam apresentar uma retrodoação π, devendo predominar a doação σ através do nitrogênio imidazólico, mantendo estável a ligação Ru-Ru.

4. Medidas de Susceptibilidade Magnética

Medidas de susceptibilidade magnética foram efetuadas com o objetivo de calcular o número de elétrons desemparelhados para cada complexo de $Ru_2(II,III)$.

A Tabela II.2.1.7 apresenta os valores das susceptibilidades magnéticas molares corrigidas e dos momentos magnéticos efetivos calculados para os acetatos de $Ru_2(II,III)$ e seus respectivos derivados nitroimidazólicos.

***TABELA II.2.1.7*.- Susceptibilidades Magnéticas Molares (χ_M) e Momentos Magnéticos Efetivos (μ_{eff}) dos complexos de $Ru_2(II,III)$.**

COMPLEXOS	T/°C	$\chi_M \times 10^{-3}$ (unidades CGS mol^{-1})	μ_{eff} (M.B.)
RuACET	23	6,5	3,9
RuAQUO	20	8,0	4,4
RuMETRO	23	6,3	4,0
RuNIMO	23	7,7	4,3
RuSECNI	23	7,1	4,1
RuTINI	23	6,3	3,9

Todos os valores de momentos magnéticos efetivos calculados estão na faixa de 3,8 – 4,4 M.B.

Os derivados dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ com ligantes nitroimidazólicos apresentam μ_{eff} semelhantes aos dos compostos de partida RuAQUO e RuACET, indicando que a entrada dos ligantes axiais não deve afetar a distribuição eletrônica.

Os valores dos momentos magnéticos dos derivados $Ru_2(II,III)$ com ligantes nitroimidazólicos obtidos neste trabalho são próximos aos determinados para os compostos: $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CC_6H_4\text{-}p\text{-}X)_4(2\text{-mimH})_2]ClO_4$; X = OMe (3,9 M.B.) e Me(4,2 M.B.)[12], da mesma forma para outros complexos de $Ru_2(II,III)$ que possuem ligantes nitrogenados nas posições axiais como $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]PF_6$, L = ligantes N-heterocíclicos: quinuclidina, 4-metilpiridina, piridina, 4-cianopiridina, 3-cianopiridina e 4-fenilpiridina[6] e ainda para complexos com ligantes doadores de enxofre nas

posições axiais como $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$, L = uréia, tiouréia[7], tetraidrotiofeno[8]. Isso indica que a natureza do ligante axial σ doador não altera a configuração eletrônica deste tipo de compostos.

Os momentos magnéticos calculados para os nossos complexos estão de acordo com a faixa (3,7 – 4,6 M.B.) esperada para espécies que apresentam três elétrons desemparelhados por unidade dinuclear e configuração eletrônica $\sigma^2\ \pi^4\ \delta^2\ \pi^{*2}\ \delta^{*1}$ com spin S = 3/2[18,20,28]

Nossos resultados de medidas magnéticas, por tanto, são coerentes com os dados de espectroscopia eletrônica apresentados anteriormente e com a manutenção das estruturas diméricas contendo ligações múltiplas metal-metal (Ru_2), de ordem 2,5.

5. Espectroscopia Vibracional

A. Espectroscopia na Região do Infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})

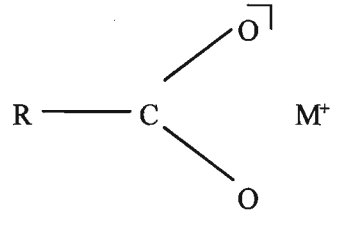
A .1 Vibrações associadas ao carboxilato

Uma série de estudos extensivos sobre espectros no infravermelho de complexos metálicos de carboxilatos de Ru_2 têm sido realizados[29].

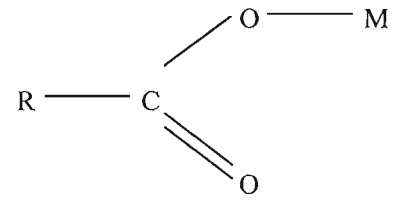
O acetato apresenta como vibrações mais importantes, as vibrações de estiramento ν_{CH} do grupo metila ($-CH_3$) na região de 2870 – 2970 cm^{-1} e as vibrações de estiramento ν_{CO2} do grupo acetato na região de 1700 – 1730 cm^{-1} [*D.L. Pavia, G.M. Lampman e G.S. Kriz, Introduction to Spectroscopy, 1996, 2ª Edição, Saunders College Publishing, USA.*]

O grupo carboxilato pode coordenar-se a um íon metálico dos seguintes modos:

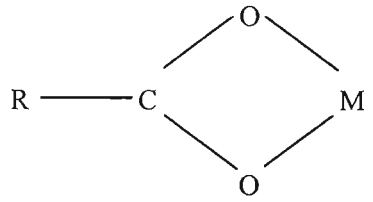
iônico



monodentado

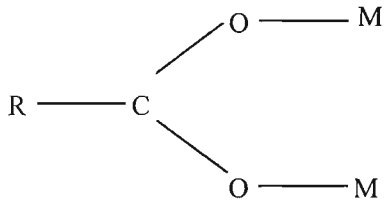


quelato



bidentado :

ponte



Deacon e Phillips[30] analisaram cuidadosamente espectros no infravermelho de vários acetatos e trifluoroacetatos de estrutura cristalina conhecida e chegaram às seguintes conclusões:

1. Complexos com carboxilatos monodentados exibem valores de $\Delta\nu$ [$\nu_a(CO_2)$ - $\nu_s(CO_2)$] maiores do que os complexos iônicos, sendo que as frequências $\nu_a(CO_2)$ e $\nu_s(CO_2)$ correspondem aos estiramentos antissimétricos e simétricos da carboxila.

2. Complexos com carboxilatos bidentados do tipo quelato, exibem valores de $\Delta\nu$ significativamente menores do que os valores observados para os carboxilatos iônicos.

3. Os valores de $\Delta\nu$ para complexos com carboxilatos bidentados do tipo ponte são maiores do que os de carboxilatos bidentados tipo quelato e muito próximos aos valores dos carboxilatos iônicos.

Segundo Deacon *et al.*[30,31], para os carboxilatos metálicos que exibem valores de $\Delta\nu$ [$\nu_a(CO_2)$ - $\nu_s(CO_2)$] > 200 cm^{-1}, os ligantes devem ser monodentados, enquanto valores de $\Delta\nu$ < 200 cm^{-1} sugerem uma coordenação bidentada do tipo ponte ou quelato.

No caso dos tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$, a frequência ν_s (CO_2) usualmente aparece na região de 1330 – 1460 cm^{-1} e a frequência $\nu_a(CO_2)$ entre 1440 e 1650 cm^{-1}. Os valores de $[\nu_a(CO_2) - \nu_s(CO_2)]$ para a maior parte destes compostos que possuem pontes de carboxilatos em coordenação simétrica, são geralmente mais baixos do que 200 cm^{-1}. Para os complexos de acetato e formiato, os valores de $\Delta\nu$ são menores do que os correspondentes valores observados para o CH_3COO^- e $HCOO^-$ iônicos. Para os compostos $[Ru_2(O_2CCH_3)_4Cl]$, $[Ru_2(O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]BPh_4$ e $[Ru_2(O_2CC_2H_5)_4(thf)_2]BF_4$, os valores de $\Delta\nu$ são mais próximos dos observados para os carboxilatos quelato bidentados do que para os carboxilatos tipo ponte[29][31]. Esses valores mais baixos de $\Delta\nu$ para carboxilatos em ponte são uma característica peculiar dos sistemas $[Ru_2(O_2CR)_4X]_n$.

A.2 Vibrações associadas aos ligantes nitroimidazólicos

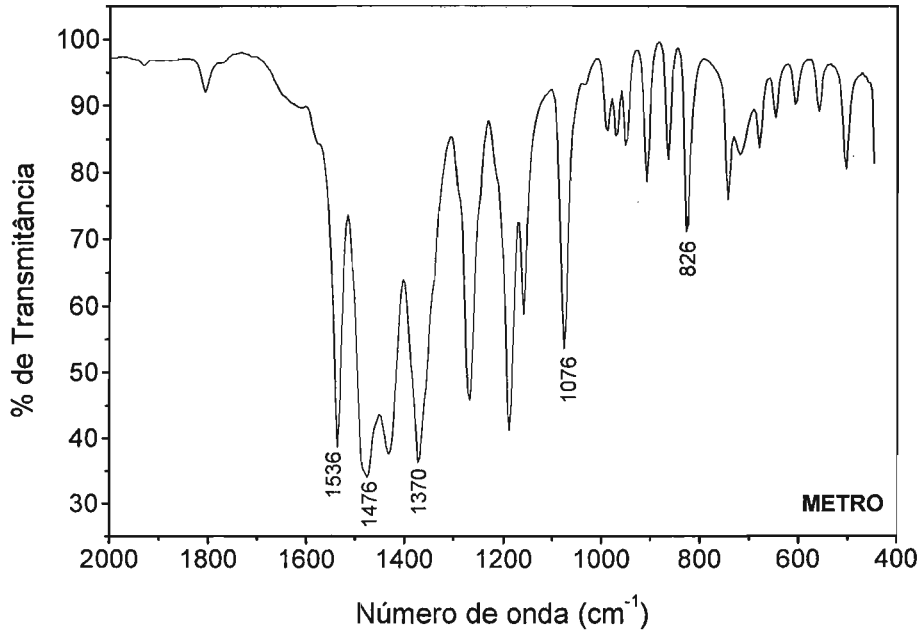
Os ligantes nitroimidazólicos apresentam várias bandas características que podem ser observadas nos espectros FT-IR. Por exemplo, podemos destacar a frequência relativa ao estiramento ν_s(C=N) em 1535 cm^{-1}, as frequências correspondentes ao grupo nitro, ν_a(N-O) e ν_s(N-O) em 1474 e 1370 cm^{-1} respectivamente[32], e a frequência ν(C-N) em 826 cm^{-1} [33], que são as vibrações mais importantes e comuns aos quatro ligantes nitroimidazólicos investigados no nosso trabalho.

As principais frequências específicas são : ν(C-O) em 1076 cm^{-1} e ν(O-H) na região de 3400 – 3300 cm^{-1} para o metronidazol e secnidazol que apresentam estruturas similares (figura I.5); ν(C-N) na faixa de 1130 – 1170 cm^{-1} e ν(C-O-C) em ~ 1115 cm^{-1} para o nimorazol; e ν_a(S=O) e ν_s(S=O) em 1310 e 1123 cm^{-1}, respectivamente, para o tinidazol[34].

A.3 Espectros vibracionais na região de 4000 – 400 cm^{-1} dos ligantes nitroimidazólicos e dos complexos de $Ru_2(II,III)$.

Os espectros dos ligantes nitroimidazólicos, dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus derivados nitroimidazólicos na região do infravermelho, são mostrados nas figuras II.2.1.11 a II.2.1.17.

A Tabela II.2.1.8 apresenta as atribuições tentativas das principais frequências vibracionais observadas nesta região.



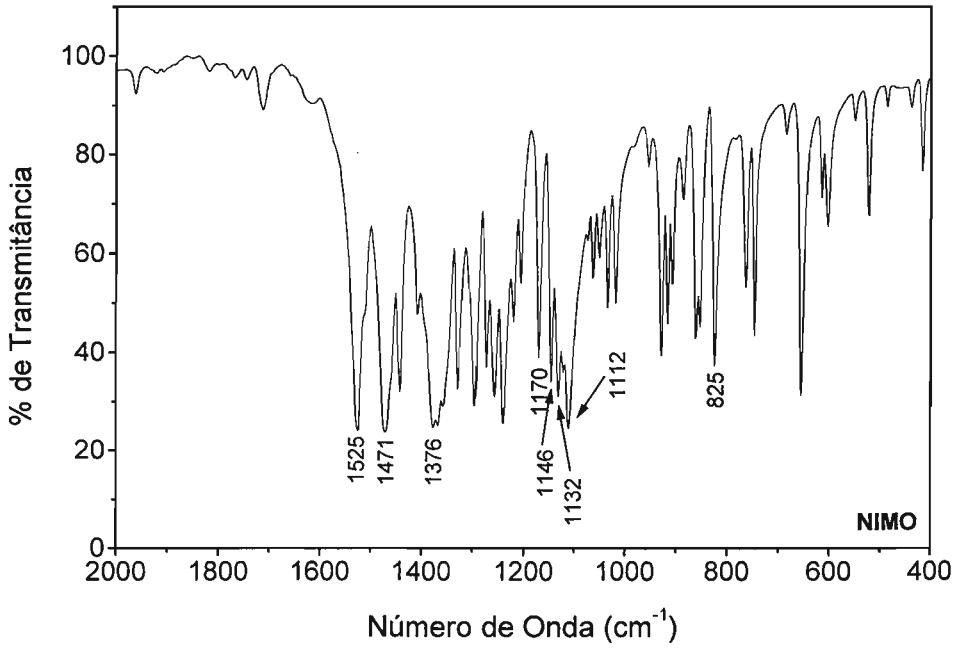
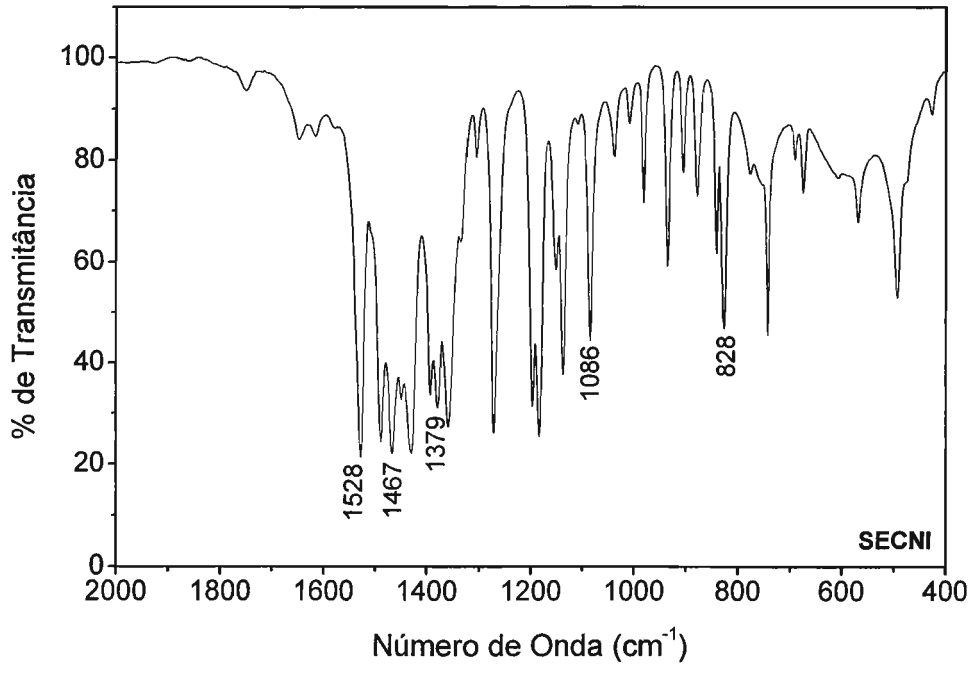


***FIGURA II.2.1.11.*- Espectro dos ligantes METRO e NIMO na região do infravermelho (2000 - 400 cm^{-1}).**



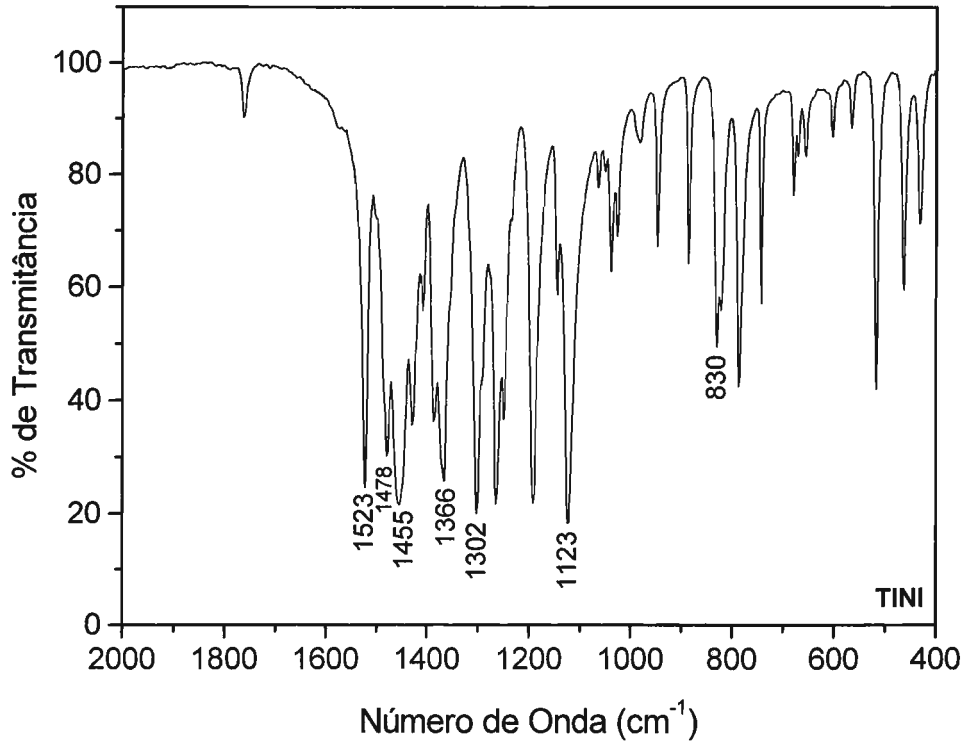


***FIGURA II.2.1.12*- Espectros dos ligantes SECNI e TINI na região do infravermelho (2000 - 400 cm^{-1}).**

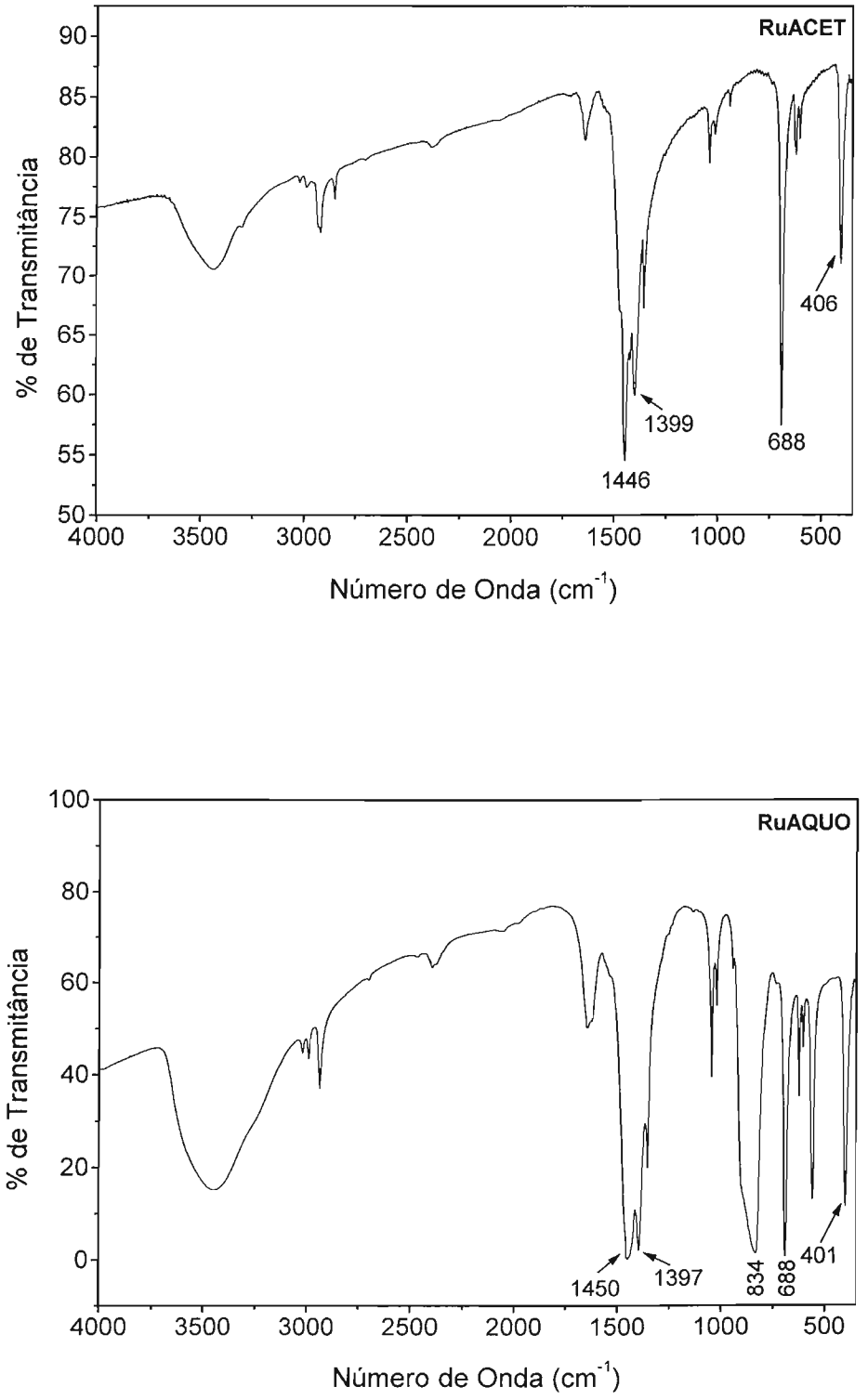


***FIGURA II.2.1.13*.- Espectros dos acetatos de $Ru_2(II,III)$: RuACET e RuAQUO na região do infravermelho (4000 - 400 cm^{-1}).**

***FIGURA II.2.1.14.*- Espectro do RuMETRO na região do infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})**

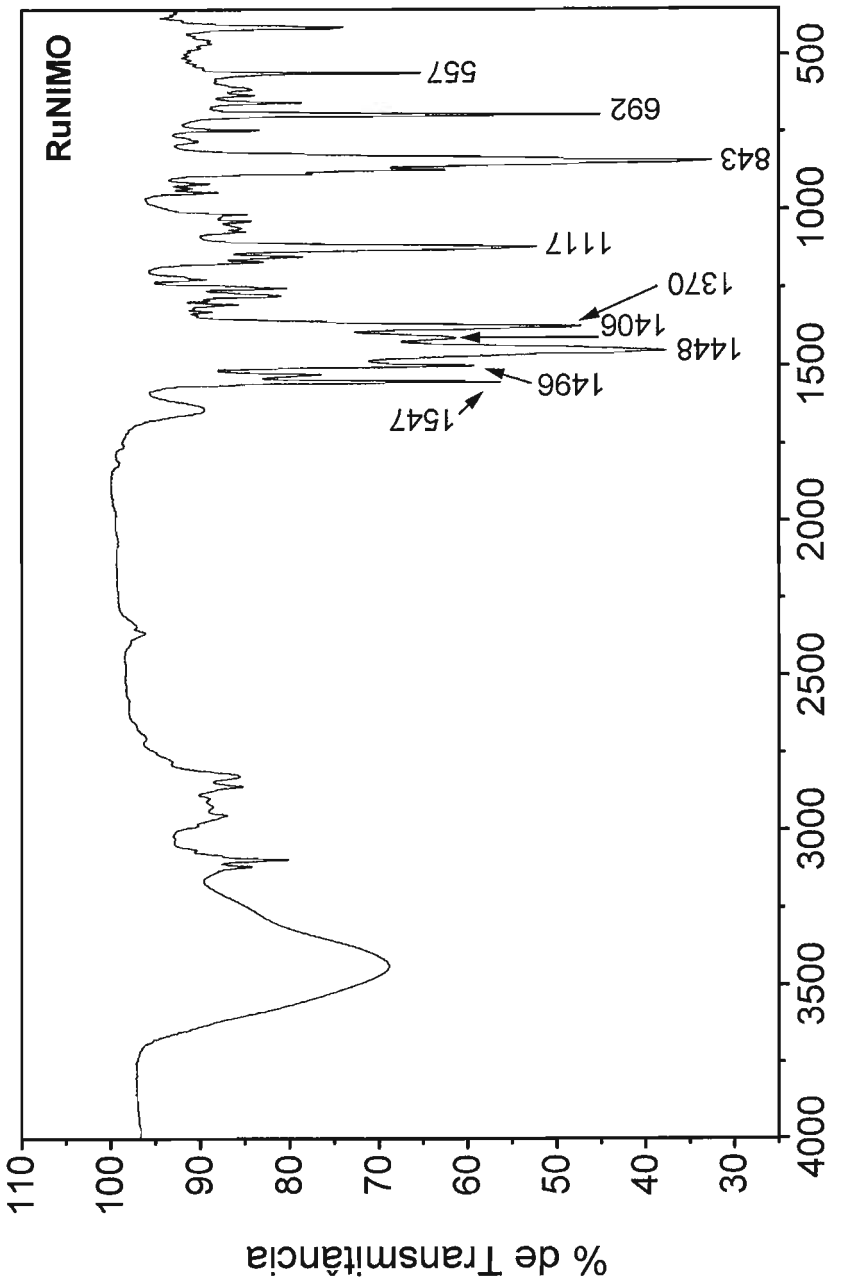


***FIGURA II.2.1.15.*- Espectro do RuNIMO na região do infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})**

***FIGURA II.2.1.16.*- Espectro do RuSECNI na região do infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})**

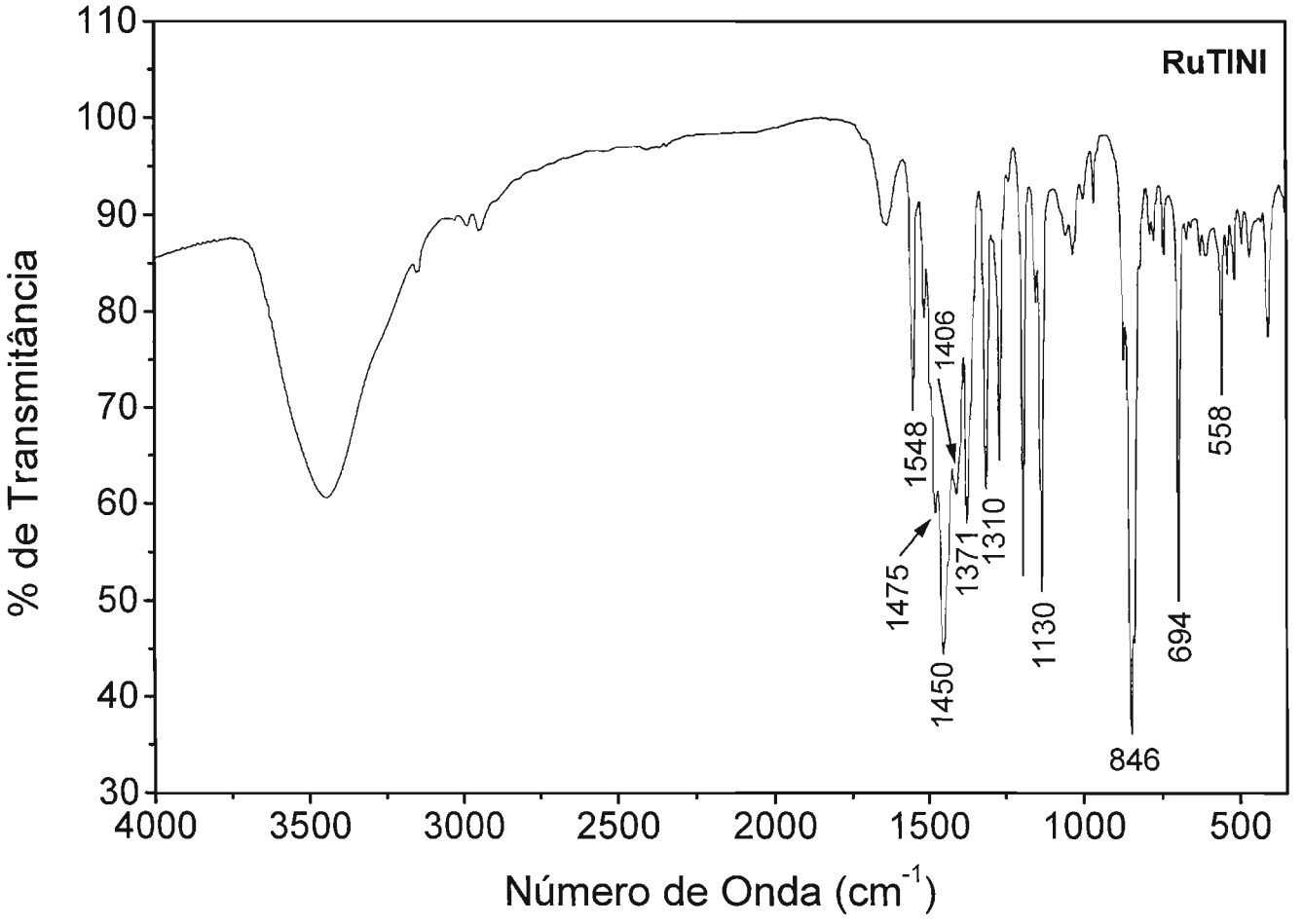


FIGURA II.2.1.17.- **Espectro do RuTINI na região do infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})**

***TABELA II.2.1.8*.- Atribuição tentativa das principais bandas vibracionais no infravermelho (4000 – 400 cm^{-1}) dos ligantes nitroimidazólicos e dos complexos de $Ru_2(II,III)$ (ν / cm^{-1}).**

COMPOSTOS	ACETATO $\nu(cm^{-1})$			NITROIMIDAZÓIS $\nu(cm^{-1})$								PF_6^- [31,37] $\nu(cm^{-1})$	
	$\nu_{a\ COO}$	$\nu_{s\ COO}$	δ_{OCO}	$\nu_{a\ NO2}$	$\nu_{s\ NO2}$	$\nu_{C=N}$	ν_{CO}	$\nu_{CN(NO2)}$	$\nu_{a\ S=O}$	$\nu_{S\ S=O}$	ν_{COC}	$\nu_{3\ (P-F)}$	$\nu_{4\ (FPF)}$
METRO	--	--	--	1476	1370	1536	1076	826	--	--	--	--	--
NIMO	--	--	--	1471	1376	1525	--	825	--	--	1112	--	--
SECNI	--	--	--	1467	1379	1528	1086	828	--	--	--	--	--
TINI	--	--	--	1478	1366	1523	--	830	1302	1123	--	--	--
RuACET	1446	1399	692	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
RuAQUO	1450	1397	693	--	--	--	--	--	--	--	--	834, 865	560
RuMETRO	1443	1400^{sh}	693	1474	1369	1548	1078	[a]	--	--	--	847, 867	559
RuNIMO	1448	1406	692	1496	1370	1547	--	[a]	--	--	1117	843, 869	557
RuSECNI	1444	1409	692	1473	1370	1551	1081	[a]	--	--	--	848, 868	559
RuTINI	1450	1406	694	1475	1371	1548	--	[a]	1310	1130	--	846, 869	558

[sh] ombro

[a] podem estar encobertas pelas bandas mais intensas do grupo PF_6^-.

Para todos os complexos de $Ru_2(II,III)$ foram observadas bandas na região de 3000 – 2800 cm^{-1}, que podem ser atribuídas às vibrações ν_{CH} presentes tanto no ligante acetato ($-CH_3$) quanto nos grupos substituintes dos ligantes nitroimidazólicos[34].

A banda relativa à frequência ν(OH) está bastante definida nos espectros do METRO e SECNI (~ 3500 – 3200 cm^{-1}). No caso dos ligantes NIMO e TINI a absorção nesta região deve ser proveniente principalmente da umidade do KBr.

O RuAQUO e os derivados contendo nitroimidazóis apresentam bandas na região de 830 – 870 e em ~ 560 cm^{-1} que devem-se predominantemente ás vibrações do contra-íon PF_6^- (Tabela II.2.1.8).

As freqüências $\nu_s(CO_2)$ e $\nu_a(CO_2)$ nos acetatos $Ru_2(II,III)$ e seus derivados axialmente substituídos (Tabela II.2.1.8) aparecem nas regiões esperadas de acordo com a literatura. Como é característico desta classe de compostos, os valores de $\Delta\nu$ [$\nu_a(CO_2)$ - $\nu_s(CO_2)$] estão na faixa de 40 – 60 cm^{-1} indicando a ligação em ponte dos ânions carboxilato[20]. Frequências na mesma região também foram observadas por Vamvounis[6] e Beck[35] nos espectros de derivados de $Ru_2(II,III)$ com ligantes axiais que apresentam nitrogênio como átomo doador.

Os valores das freqüências $\nu_a(CO_2)$ e $\nu_s(CO_2)$ dos derivados nitroimidazólicos são muito próximos dos observados para os complexos de partida, RuACET e RuAQUO, evidenciando que o ligante axial não tem influência nessas frequências.

Em ~ 690 cm^{-1} observa-se uma banda que pode ser atribuída à deformação δ_{OCO} que também foi observada por Miskowski no espectro do acetato de cobre (II,II), $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$[25,26] e por Cukiernik[5] para os complexos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]BPh_4$ e seu derivado com pirazina, $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(pz)_2]BPh_4$.

Embora, com base em fatores eletrônicos e estéricos, seja esperado que o N3 no anel imidazólico seja responsável pela ligação dos ligantes nitroimidazólicos ao centro metálico, existem outros pontos possíveis para a coordenação. Neste caso, a caracterização por FT-IR torna-se bastante importante para elucidar qual é o átomo coordenante.

O metronidazol e secnidazol, por exemplo, apresentam três átomos coordenantes: o N3 do anel imidazólico, o O do grupo –OH ligado ao N1 do anel imidazólico e os átomos de oxigênio do grupo nitro, NO_2. Para o nimorazol, além do N3 do anel e do grupo NO_2 uma outra alternativa seria o O do anel presente no grupo substituinte R1 e para o tinidazol, embora as sulfonas sejam ligantes doadores

bastante fracos, existe a possibilidade de ligação ao metal através do O do grupo – SO_2.

Nos espectros dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ observa-se uma banda em ~ 1550 cm^{-1}, correspondente à vibração de estiramento ν(C=N) do anel imidazólico. Esta está deslocada para maiores frequências em comparação com os valores observados para os ligantes livres, provavelmente devido à coordenação do nitrogênio N3 do anel imidazólico aos íons metálicos. Comportamento similar foi observado por Galvan–Tejada[32] para o complexo $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]$.

Estes mesmos autores assinalam que um $\Delta\nu$ $[\nu_a(NO_2) - \nu_s(NO_2)]$ = ~ 105 cm^{-1} indicaria que o grupo NO_2 não participa da coordenação. Segundo os resultados mostrados na Tabela II.2.1.8 todos os derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ com exceção do RuNIMO (Δ=126 cm^{-1}), apresentam um $\Delta\nu$ (NO_2) bastante próximo a 105 cm^{-1}, o que permite descartar a possibilidade de uma ligação através do grupo NO_2. Como o valor de 105 cm^{-1} provavelmente foi obtido de uma média considerando vários complexos que têm o metronidazol como um dos seus ligantes, não podemos afirmar que para o RuNIMO a coordenação está se dando através deste grupo.

Ainda com relação ao grupo nitro, outros autores que sintetizaram complexos mononucleares de Ru(II) com metronidazol[36] relatam que observaram deslocamentos de apenas ~ 5 cm^{-1} para valores de ν_{NO} (simétrico e assimétrico) do NO_2, em relação ao ligante livre; ao contrário, deslocamentos de mais de 20 cm^{-1} já foram observados quando a coordenação é via grupo NO_2.

Para o derivado RuTINI as frequências correspondentes aos estiramentos ν_{SO} antisimétrico e simétrico são observadas com valores bastante próximos das frequências do ligante livre (Tabela II.2.1.8). O deslocamento de aproximadamente 8 cm^{-1}, permite descartar a possibilidade da ligação do tinidazol aos íons de rutênio através dos átomos de oxigênio do grupo sulfônico. Deslocamentos de ~ 20 – 40 cm^{-1} nestas freqüências foram observadas para a coordenação axial de R_2SO_2 (R = CH_3, Ph) via átomo de O no complexo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCF_3)_4(R_2SO_2)_2]$[37] e deslocamentos muito maiores (~100 cm^{-1}) foram relatados para complexos com μ_2-O,O' – dietilsulfona[38].

No caso do RuNIMO, a possibilidade de coordenação via átomo de O do grupo substituinte R1 no anel imidazólico pode ser excluída com base no valor da freqüência ν_{COC} que praticamente não se desloca em relação ao ligante livre (Tabela II.2.1.8).

B. Espectroscopia na Região do Infravermelho Afastado (500 – 190 cm^{-1})

B.1 Vibrações mais importantes

Duas bandas importantes que podem ser observadas na região do infravermelho de baixa frequência para carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ são o estiramento da ligação metal-metal, ν(M-M), e o estiramento da ligação metal-oxigênio, ν(M-O).

Vibrações de estiramento ν(M-M) em geral originam bandas na região de 250 a 100 cm^{-1}, uma vez que as ligações metal - metal são relativamente fracas e as massas dos metais relativamente elevadas[29]. Porém, para alguns complexos, devido ao caráter múltiplo das ligações M-M, observam-se estas vibrações em freqüências mais altas e próximas de 400 cm^{-1}. Se o complexo dinuclear é centro-simétrico em relação à ligação metal - metal, a vibração ν(M-M) é proibida no infravermelho, porém permitida no Raman, como é o caso dos carboxilatos dimetálicos[29].

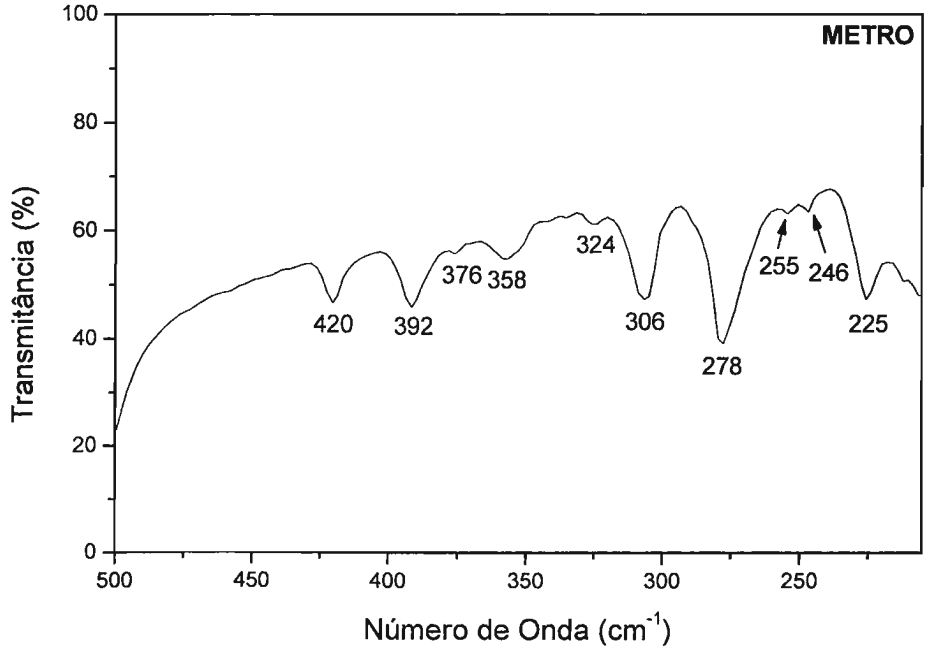
As vibrações ν(M-O) dão origem a bandas intensas na região de baixa frequência[20,21]. Miskowski *et al.*[25] atribuíram bandas em ~400 e ~340 cm^{-1} aos estiramentos ν_{eu}(Ru-O) e ν_{a2u}(Ru-O), respectivamente, para complexos que contêm cadeias de $[Ru_2(O_2CR)_4X]$ ou unidades $[Ru_2(O_2CR)_4X_2]^-$ (O_2CR = acetato, propionato e butirato; X = Cl^- e Br^-). Observaram também que a primeira sofre deslocamentos quando se muda o carboxilato equatorial, enquanto a segunda não depende desse ligante.

O espectro na região do infravermelho afastado permite determinar, também, o átomo envolvido na coordenação dos ligantes axiais ao metal. Na literatura estão reportados os espectros de complexos metálicos de imidazol, 2-metilimidazol, 1-metilimidazol, 4- e 5-bromoimidazol e benzimidazol. O imidazol é uma molécula biologicamente importante já que os nitrogênios imidazólicos dos resíduos histidínicos coordenam-se aos íons metálicos das metaloproteínas. Assim, a identificação das vibrações metal-nitrogênio imidazólico, M-N(Im), em sistemas biológicos fornecem informações valiosas a respeito das estruturas dos sítios ativos das metaloproteínas[29]. Cornilsen e Nakamoto[39] e Hodgson *et al.*[40], utilizando isótopos metálicos, atribuíram bandas na região de 325-210 cm^{-1} às vibrações de estiramento ν(M-N) para 16 complexos imidazólicos de Ni(II), Cu(II), Zn(II) e Co(II). Não encontramos informações sobre frequências de estiramento da ligação Ru-N, ν(Ru-N), para derivados de tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$, porém observamos que

vários complexos imidazólicos de Ru(III) já foram estudados, incluindo o trans-$[RuCl_4Im_2]^-$, que apresenta a banda ν(Ru-N) em 249 cm^{-1} [41]. Complexos mononucleares de metronidazol do tipo $ML_2X_2.2H_2O$ e CuL_4Cl_2 [M = Co(II), Ni(II)], L=metronidazol, X=Cl^- apresentam bandas relativas aos estiramentos das ligações M-N(Im) na região de 460 – 450 cm^{-1} [42].

B.2 Espectros vibracionais IR dos complexos de $Ru_2(II,III)$ (500 – 190 cm^{-1}).

Nas figuras II.2.1.18 e II.2.1.19 são mostrados os espectros dos ligantes nitroimidazólicos na região do infravermelho afastado. Os espectros dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus derivados nitroimidazólicos são mostrados nas figuras II.2.1.20 – II.2.1.22. A Tabela II.2.1.9 traz algumas atribuições tentativas para as principais frequências vibracionais observadas nesta região.



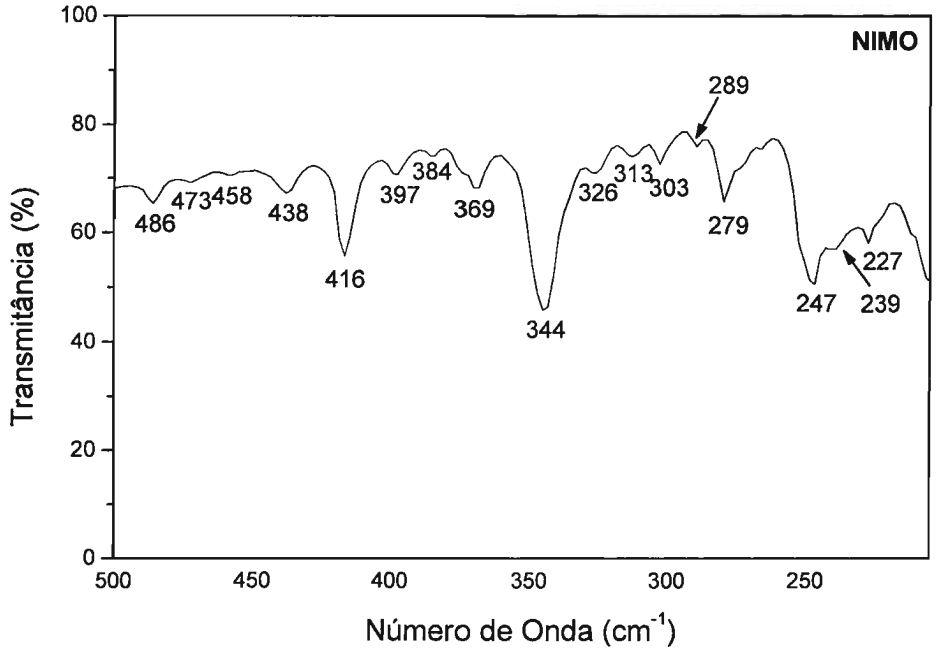
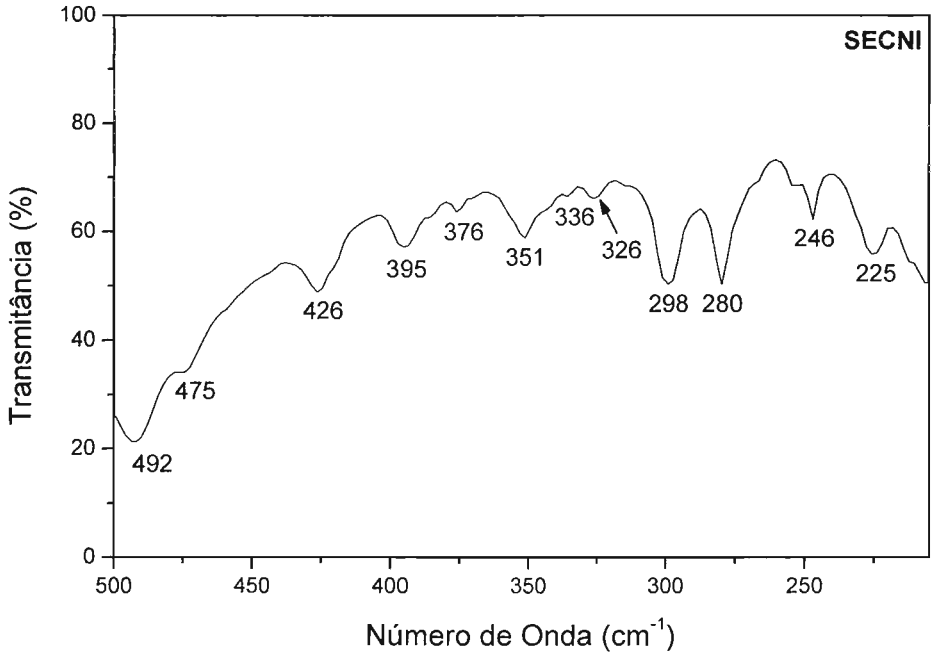


***FIGURA II.2.1.18.*- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos ligantes nitroimidazólicos METRO e NIMO.**



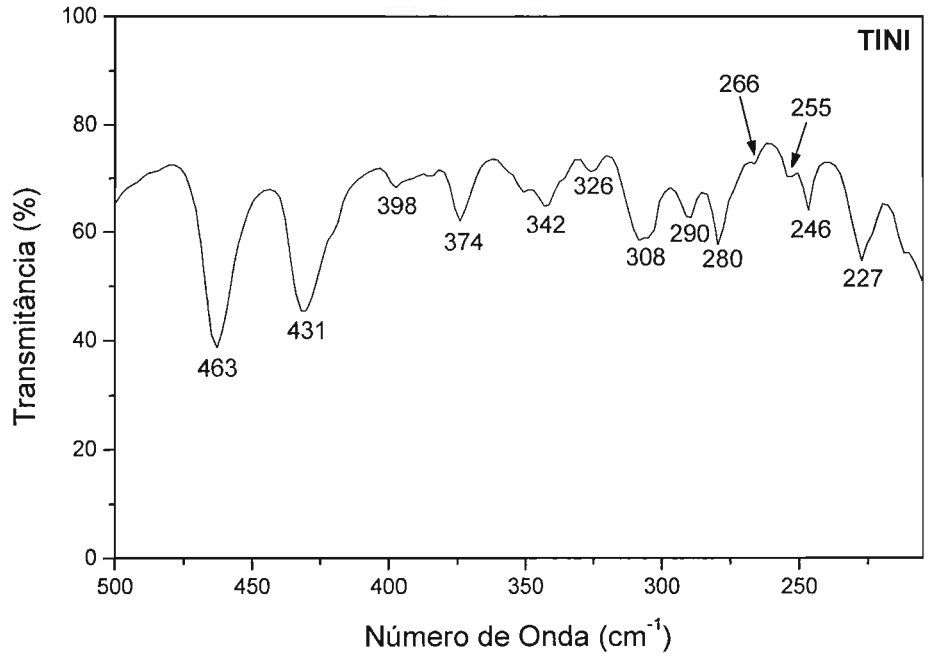


***FIGURA II.2.1.19.*- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos ligantes nitroimidazólicos SECNI e TINI.**

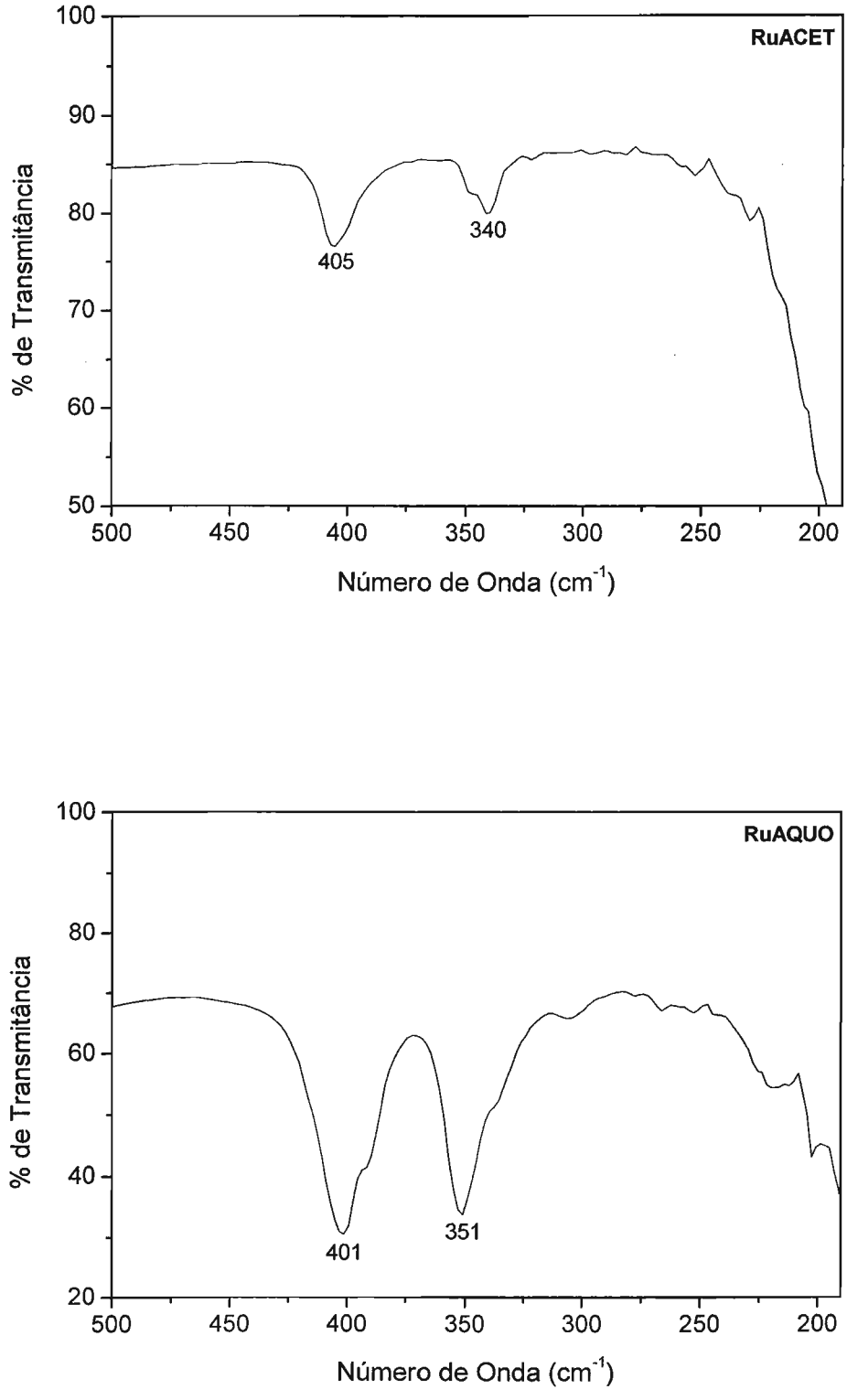
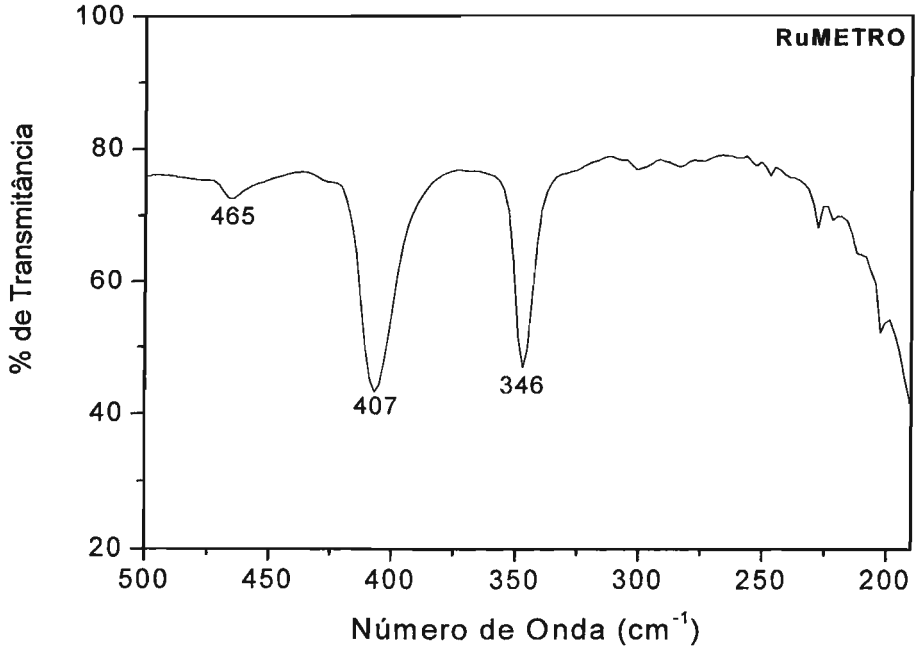


***FIGURA II.2.1.20.*- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos complexos RuACET e RuAQUO.**



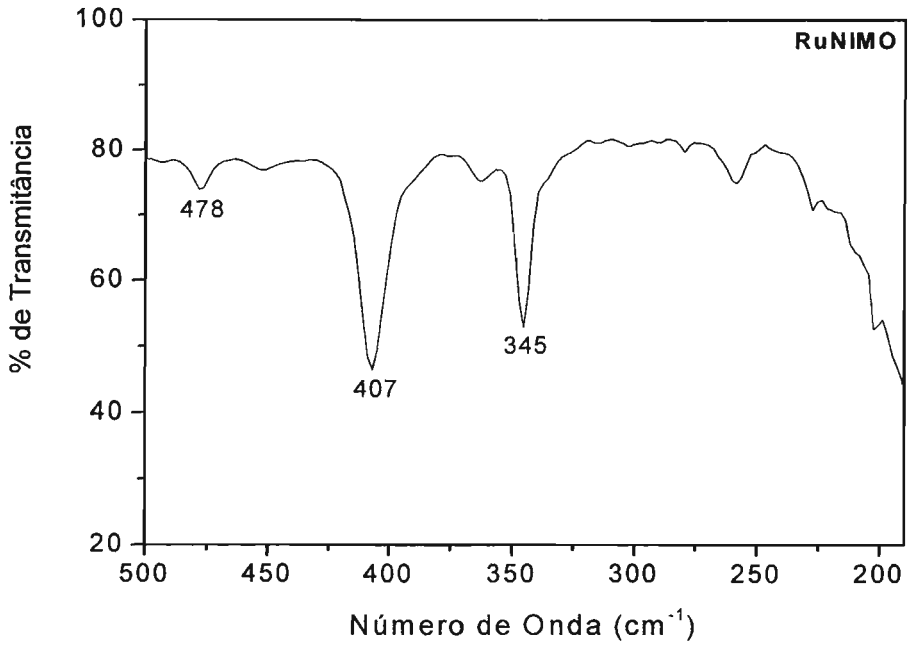
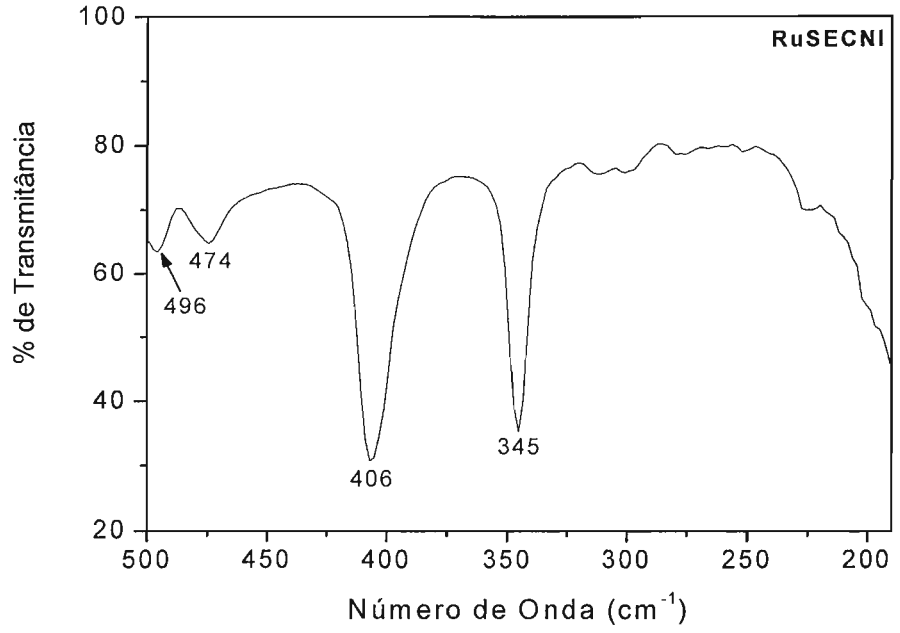


***FIGURA II.2.1.21.*- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos complexos RuMETRO e RuNIMO.**



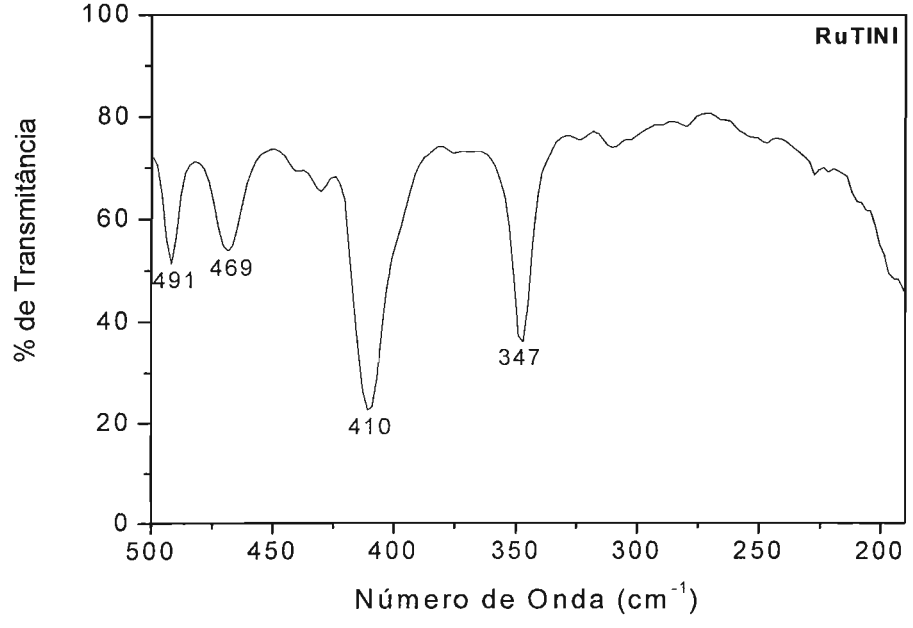


***FIGURA II.2.1.22.*- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos complexos RuSECNI e RuTINI.**

***TABELA II.2.1.9*.- Atribuição tentativa das bandas vibracionais no infravermelho afastado (500 – 190 cm^{-1}) dos complexos de Ru_2(II,III) (ν / cm^{-1}).**

COMPLEXOS	νe_u (Ru-O) (cm^{-1})	νa_{2u} (Ru-O) (cm^{-1})	ν(Ru-N) (cm^{-1})
RuACET	405	340	--
RuAQUO	401	351	--
RuMETRO	407	346	465
RuNIMO	407	345	478
RuSECNI	406	345	474
RuTINI	410	347	469

Com base nos espectros apresentados nas figuras II.2.1.20 – II.2.1.22, observamos que todos os complexos de Ru_2(II,III) exibem bandas relativamente intensas na faixa de 410 – 340 cm^{-1}. Excluindo as bandas características dos respectivos ligantes (figuras II.2.1.18 – II.2.1.19), que são pouco intensas no caso dos complexos, podemos atribuir a banda ao redor de 405 cm^{-1} à frequência de estiramento ν_{eu}(Ru-O) e a banda próxima a 345 cm^{-1} à frequência de estiramento ν_{a2u}(Ru-O) para os acetatos de Ru_2(II,III) e seus derivados nitroimidazólicos (Tabela II.2.1.9).

Nos espectros dos derivados nitroimidazólicos de Ru_2(II,III), verificamos a existência de uma nova banda na região de 450 – 480 cm^{-1} que não aparece nos espectros dos precursores RuACET e RuAQUO. Se esta banda fosse do ligante, já que este apresenta bandas também nessa região, a intensidade deveria ser menor mantendo a proporção em relação às outras bandas apresentadas pelos ligantes livres. Uma atribuição possível para esta banda é a frequência de estiramento da ligação Ru-N_{axial}, ν(Ru-N) (Tabela II.2.1.9). Na literatura[42], bandas na região de 460 – 450 cm^{-1} também foram atribuídas à frequência ν(M-N) para complexos de metronidazol com outros íons metálicos.

C. Espectroscopia RAMAN

Os primeiros estudos de Raman Ressonante (RR) feitos por Clarck *et al.* [21] para os compostos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$ e $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CC_3H_7)_4Cl]$ permitiram atribuir bandas de baixa e média intensidade na região de 340 - 380 cm^{-1} aos modos de vibração ν(Ru-O), uma banda intensa próxima a 330 cm^{-1} ao modo ν(Ru-Ru) e uma banda fraca em 180 cm^{-1} ao modo ν(Ru-Cl). Estes autores demonstraram que espécies do tipo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CC_3H_7)_4]^+$ em solução etanólica, ou seja, apresentando oxigênio do solvente como átomo doador na posição axial, apresentam a frequência ν(Ru-Ru) em ~341 cm^{-1}. Em estudos posteriores[24], utilizando substituição isotópica de ^{18}O no complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$, eles observaram que a freqüência na região de 326 – 340 cm^{-1} não é afetada por tal substituição e portanto é totalmente consistente com a atribuição ν(Ru-Ru). A banda que aparece em 372 cm^{-1} nas espécies de ^{16}O, ao contrário, origina uma série complicada de bandas deslocadas para a região de 359 – 367 cm^{-1} o que é coerente com o esperado para o modo ν(Ru-O), em virtude das espécies isotópicas presentes, ^{16}O e ^{18}O. Esses resultados permitiram atribuir a banda em 327 cm^{-1} ao modo ν(Ru-Ru) e a banda em 369 cm^{-1} ao modo ν(Ru-O). Os mesmos autores atribuíram as bandas em 331 cm^{-1} e 376 cm^{-1} às frequências dos modos ν(Ru-Ru) e ν(Ru-O) respectivamente, para o composto $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CC_3H_7)_4Cl]$. Para o caso do complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]BF_4$ as bandas referentes aos modos ν(Ru-Ru) e ν(Ru-O) foram observadas em 325 e 371 cm^{-1}, respectivamente.

Miskowski *et al.*[25], com a finalidade de complementar os estudos feitos por Clark *et al.*[21,24] atribuíram a frequência do modo ν(Ru-Ru) na região de 321 – 336 cm^{-1} para os complexos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$, $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Br]$, $[Ru_2(propionato)_4Cl]$, $[TBA][Ru_2(propionato)_4Br_2]$, $[Ru_2(butirato)_4Cl]$ e $[Ru_2(butirato)_4Br]$. Atribuíram também a frequência a_{2u} ν(Ru-Cl) com base no deslocamento de uma banda muito intensa, de ~200 cm^{-1} para 140 cm^{-1}, após substituir o Cl^- pelo Br^-. A banda a_{1g} ν(Ru-Cl) desaparece após substituição do Cl^-. Eles atribuíram ainda as frequências correspondentes aos modos ν(Ru-O), na região de 370 – 450 cm^{-1}, e $\delta(Ru_2O)$, na região de 180 – 200 cm^{-1}.

Chisholm *et al.* [17] investigaram a influência dos ligantes axiais em carboxilatos de $Ru_2(II,II)$. Observaram que a frequência ν(Ru-Ru) que aparece em

~347 cm^{-1} para o $[Ru_2(\mu\text{-}O_2C(CH_2)_6CH_3)_4(thf)_2]$, desloca-se para freqüências mais baixas quando o composto é dissolvido em piridina (332 cm^{-1}) ou acetonitrila (335 cm^{-1}). Estes autores salientam que a frequência ν(Ru-Ru) é afetada em maior extensão pelas interações σ do que pelas interações π. Comportamento semelhante foi observado para carboxilatos de $Rh_2(II,II)$ [46], onde a freqüência ν(Rh-Rh) é influenciada pelas interações dos ligantes axiais com o orbital σ^*, deslocando-se para menores freqüências conforme aumenta a força doadora σ do ligante.

Segundo Chisholm *et al.*[15] quando o oxigênio ocupa as posições axiais na espécie $[Ru_2(\mu\text{-}O_2C(CH_2)_6CH_3)_4]$ a freqüência ν(Ru-Ru) aparece em ~348 cm^{-1} deslocando-se para ~335 cm^{-1} na presença de espécies doadoras de nitrogênio. Comportamento similar foi observado para o complexo $[Mo_2(\mu\text{-}O_2C(CH_2)_6CH_3)_4]$ (405 cm^{-1} em THF e 397 cm^{-1} em CH_3CN).

Estiú *et al.*[19] assinalam que o valor da freqüência ν(Ru-Ru) para derivados de $Ru_2(II,III)$ depende da natureza do átomo doador do ligante axial, ocorrendo aumento de ~330 cm^{-1} para 347 – 355 cm^{-1} quando átomos de oxigênio ocupam as posições axiais. Uma banda intensa observada no espectro do composto $[Ru_2(O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]BF_4$ em 362 cm^{-1} foi atribuída ao modo ν(Ru-Ru).

C.1 Espectros vibracionais RAMAN dos complexos de $Ru_2(II,III)$

Os espectros Raman dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus derivados nitroimidazólicos investigados em nosso trabalho são apresentados nas figuras II.2.1.23 – II.2.1.25. A Tabela II.2.1.10 mostra as principais frequências atribuídas aos modos vibracionais Raman dos compostos em estudo.

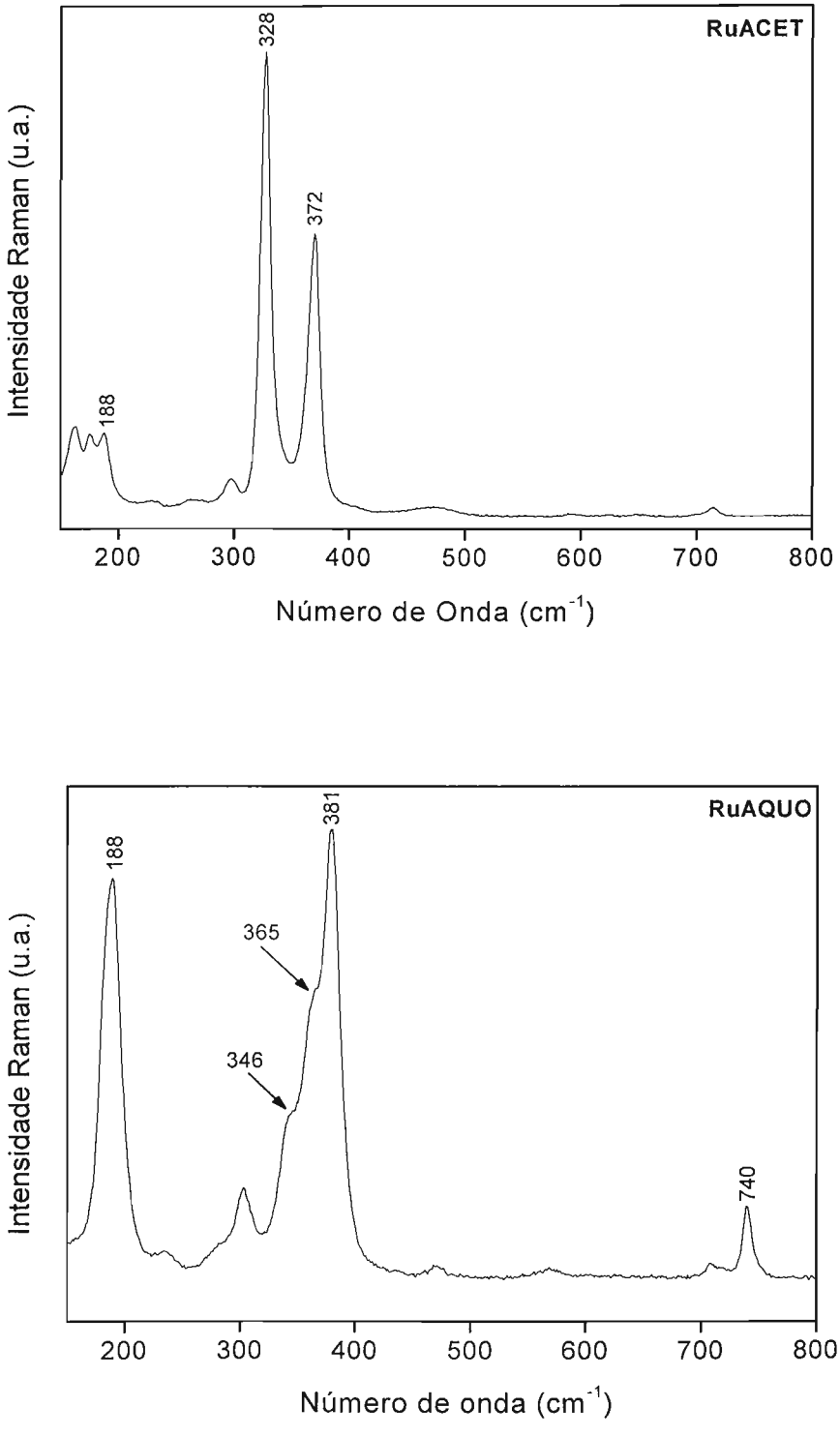
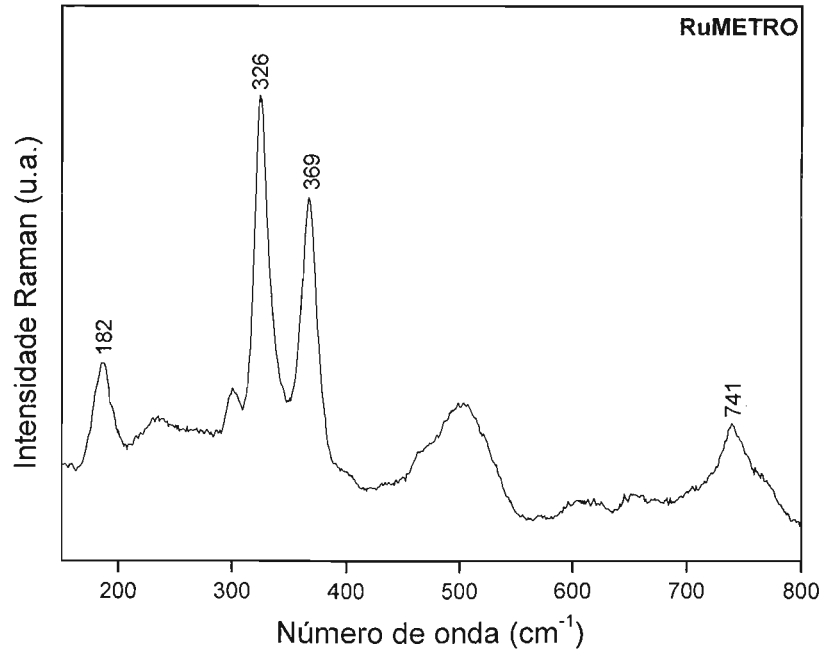


***FIGURA II.2.1.23.*- Espectros RAMAN dos acetatos de $Ru_2(II,III)$: RuACET e RuAQUO.**



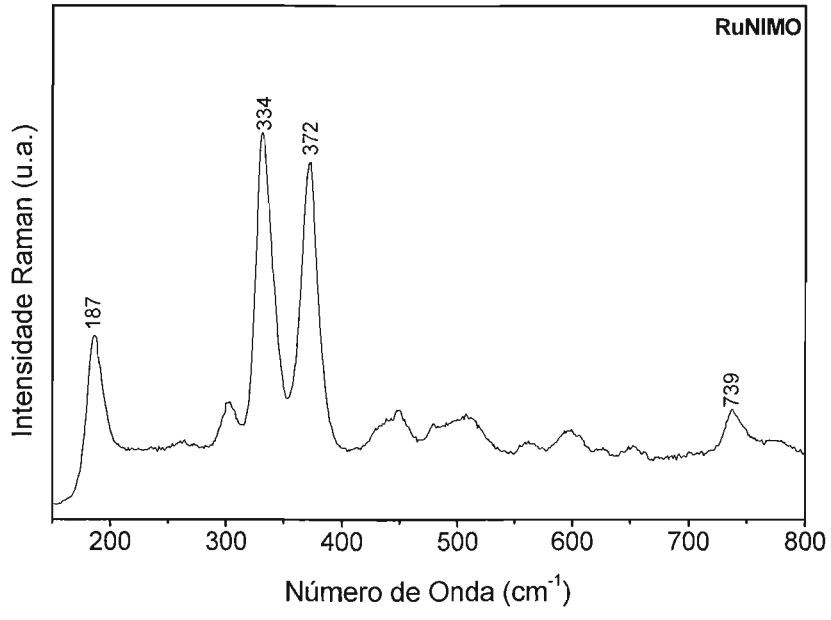
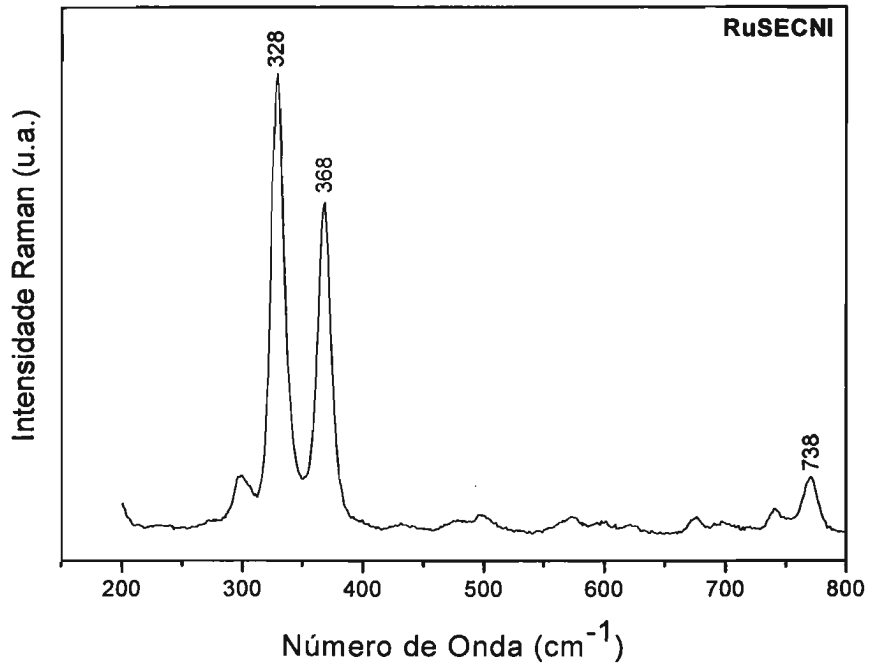


***FIGURA II.2.1.24.*- Espectros RAMAN dos complexos: RuMETRO e RuNIMO.**



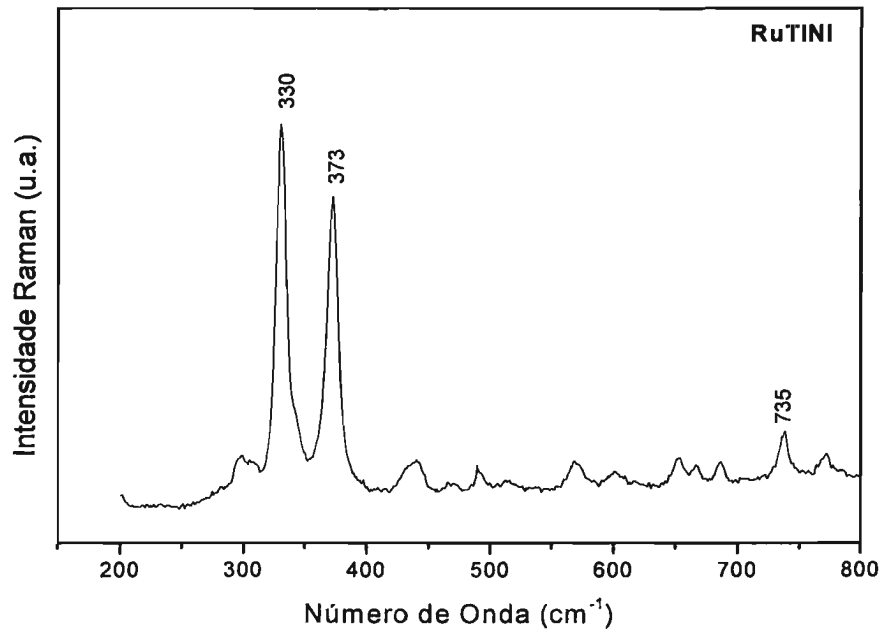


***FIGURA II.2.1.25.*- Espectros RAMAN dos complexos: RuSECNI e RuTINI**

***TABELA II.2.1.10*.- Principais bandas vibracionais Raman atribuídas tentativamente aos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e seus derivados nitroimidazólicos**

COMPLEXOS	ν_{a1g} (Ru-Ru) (cm^{-1})	ν_{a1g} (Ru-O) (cm^{-1})	$\nu_{a1g}(PF_6)$ (cm^{-1})
RuACET	328	372	--
RuAQUO	346^{sh}	365^{sh}	740
RuMETRO	326	369	741
RuNIMO	334	372	739
RuSECNI	328	368	738
RuTINI	330	373	735

^{sh} **ombro**

Com base na Tabela II.2.1.10, verificamos que os valores das frequências ν(Ru-Ru) e ν(Ru-O) observadas para o precursor RuACET estão de acordo com dados apresentados na literatura[20,21]. O complexo RuAQUO apresenta uma banda em 381cm^{-1} com ombros em 365 e 346 cm^{-1}. Neste caso, o ombro em 346 cm^{-1} pode ser atribuído ao ν(Ru-Ru), enquanto a banda em 381 cm^{-1} e o ombro em 365 cm^{-1} podem ser devidos a vibrações ν(Ru-O). Cabe lembrar que este complexo, além dos oxigênios dos ligantes acetato, apresenta água como ligante axial (O-doador). Comparando com o RuACET (ν(Ru-Ru) = 328 cm^{-1}), o complexo RuAQUO apresenta a vibração ν(Ru-Ru) em freqüência um pouco mais alta (346 cm^{-1}), o que é coerente com a presença de ligante axial O-doador[19].

Para os complexos com ligantes nitroimidazólicos, são observadas duas bandas bem definidas: uma em 326 - 334 cm^{-1} e outra em 368 - 373 cm^{-1}, que podem ser atribuídas às frequências dos modos ν(Ru-Ru) e ν(Ru-O) respectivamente.

Os valores das freqüências ν(Ru-Ru) dos derivados contendo 5-nitroimidazóis são um pouco mais baixos que aquele observado para o aquo-precursor (346 cm^{-1}).

Este resultado está de acordo com o esperado para substituição das moléculas de água por ligantes N-doadores nas posições axiais. Estiú *et al.*[19] também observaram um deslocamento de ~10 cm^{-1} na freqüência ν(Ru-Ru) comparando os espectros Raman da espécie de $Ru_2(II,II)$, $[Ru_2(O_2C_{12}H_{23})_4]$ (344 cm^{-1}) e seu derivado $[Ru_2(O_2C_{12}H_{23})_4(pz)]$, pz = pirazina (335 cm^{-1}).

Nos espectros Raman dos derivados de $Ru_2(II,III)$ com METRO e NIMO bem como nos espectros dos precursores pode ser observada também uma banda na região de 182 – 188 cm^{-1} que corresponde ao modo de vibração $\delta(Ru_2O)$.

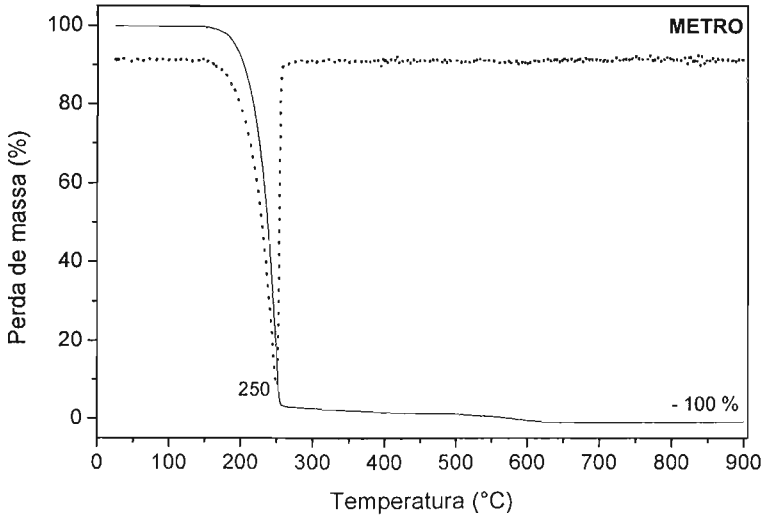
Os estudos de Raman dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ obtidos no nosso trabalho comprovam a manutenção da estrutura de "gaiola" contendo a ligação múltiple Ru-Ru. Conforme relatado na literatura por C. Sudha *et al.*, dependendo do ligante nitrogenado esta estrutura pode ser rompida: a ligação M-M foi quebrada na presença de imidazol[11], mas foi mantida quando 2-metilimidazol foi introduzido como ligante axial em um carboxilato de $Ru_2(II,III)$[12].

6. Análises Termogravimétricas

Os estudos de análise térmica de carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ relatados na literatura são muito poucos e enfocam basicamente a estabilidade dos complexos diméricos em função do tamanho do substituinte R dos grupos carboxílicos que ocupam as posições equatoriais[43,44].

Em nosso trabalho, a unidade central $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^+$ foi mantida em todos os complexos. A substituição deu-se nas posições axiais onde foram introduzidos os ligantes 5-nitroimidazólicos. Com os estudos de TGA procuramos verificar se havia influência desses ligantes sobre a estabilidade térmica dos compostos de $Ru_2(II,III)$ correspondentes.

As curvas termogravimétricas dos compostos investigados são apresentadas nas figuras II.2.1.26 – II.2.1.33 e na Tabela II.2.1.11 são mostrados alguns dados obtidos destas análises.



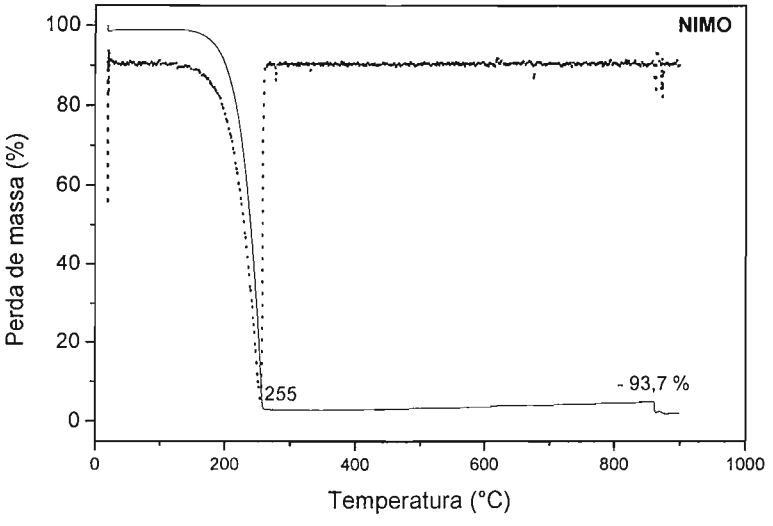


***FIGURA II.2.1.26.*- Curva TGA dos ligantes METRO e NIMO até 900 °C (10 °C/min) em atmosfera de nitrogênio.**

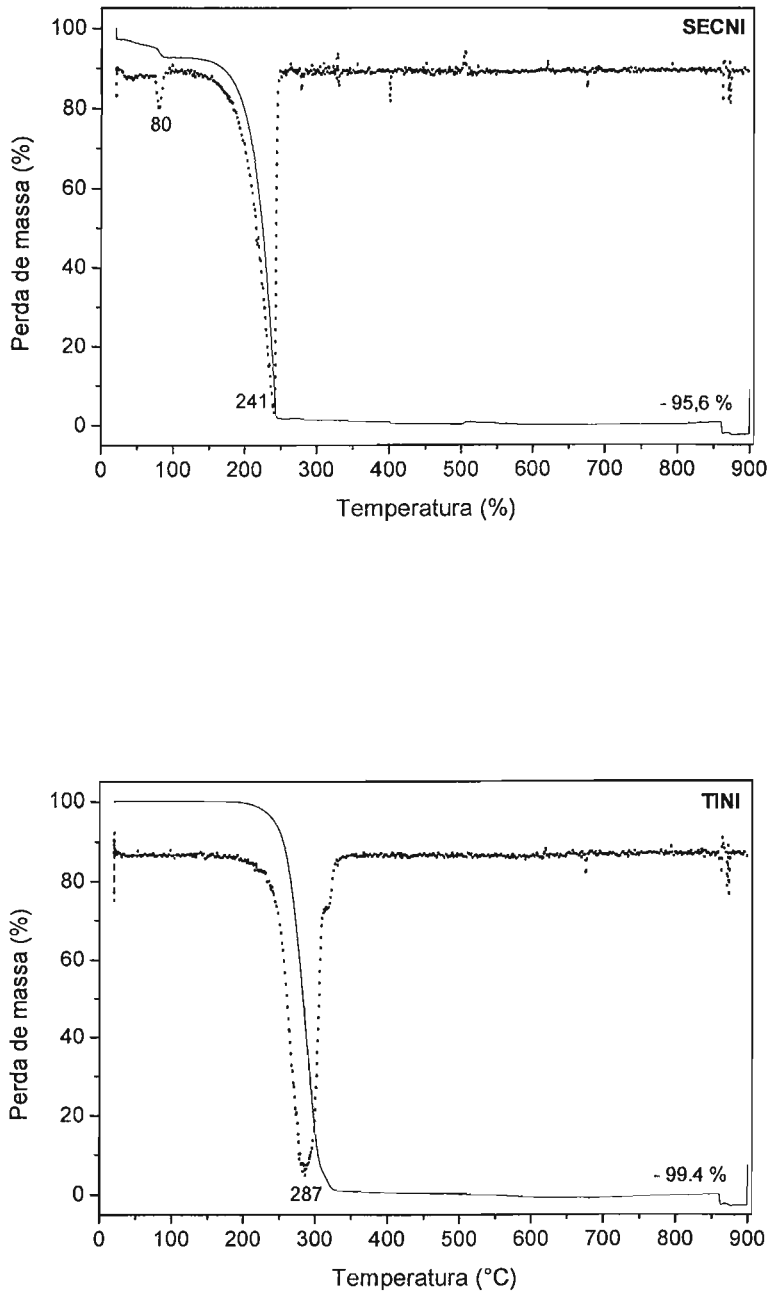


***FIGURA II.2.1.27.*- Curva TGA dos ligantes SECNI e TINI até 900 °C (10 °C/min) em atmosfera de nitrogênio.**

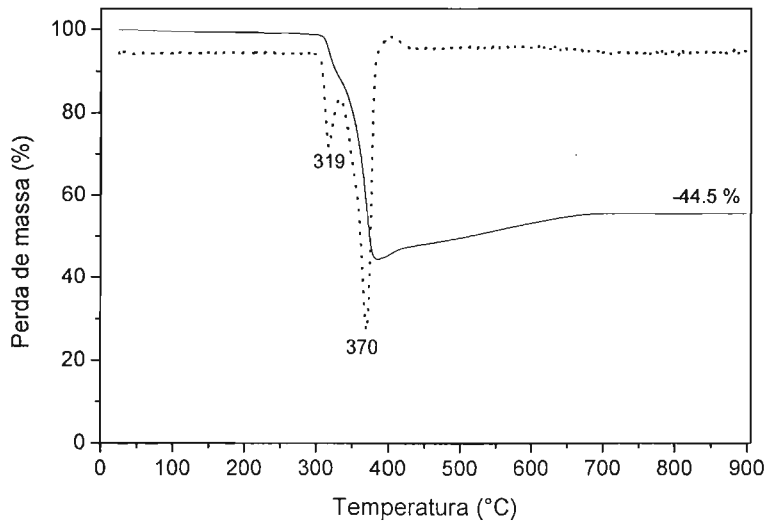


***FIGURA II.2.1.28.*- Curva TGA do complexo RuACET até 900 °C (10°C/min) em atmosfera de nitrogênio (50 mL/min).**

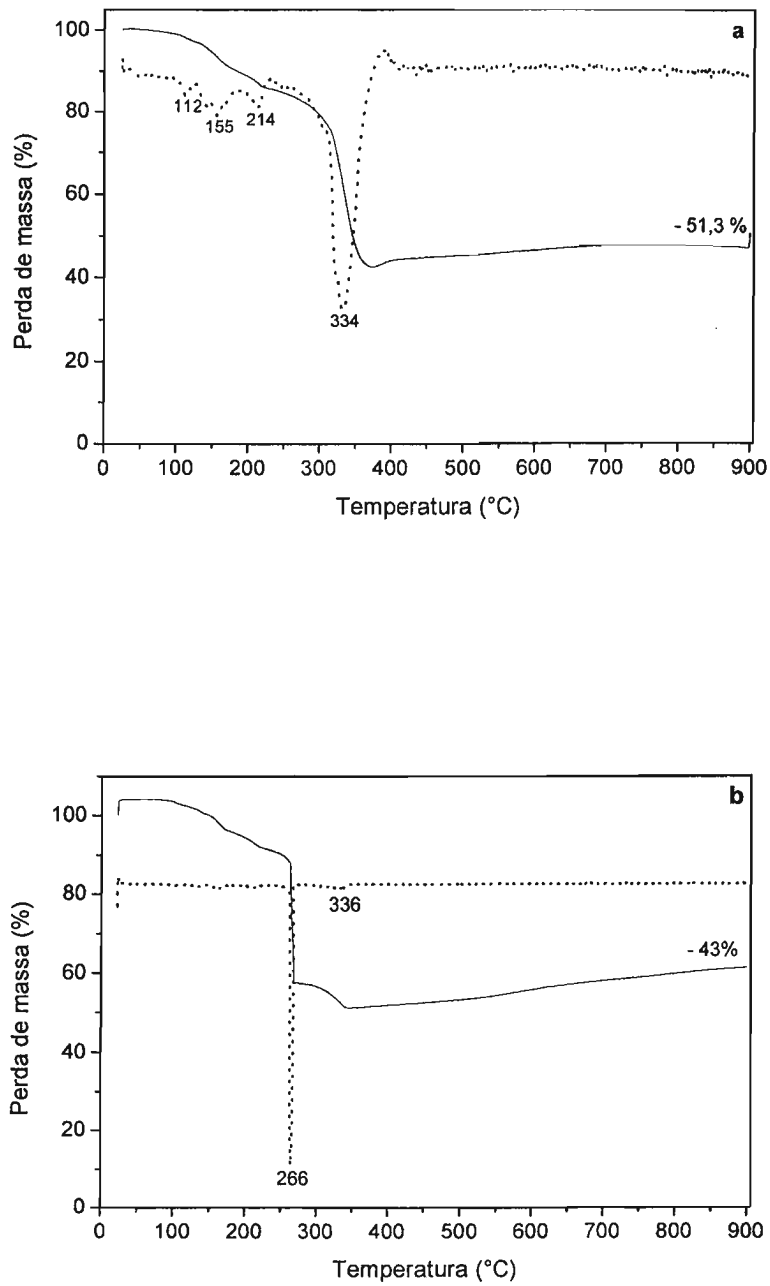


***FIGURA II.2.1.29.*- Curva TGA do complexo RuAQUO até 900 °C (10 °C/min) : (a) atmosfera de nitrogênio e (b) atmosfera de ar (50 mL/min).**

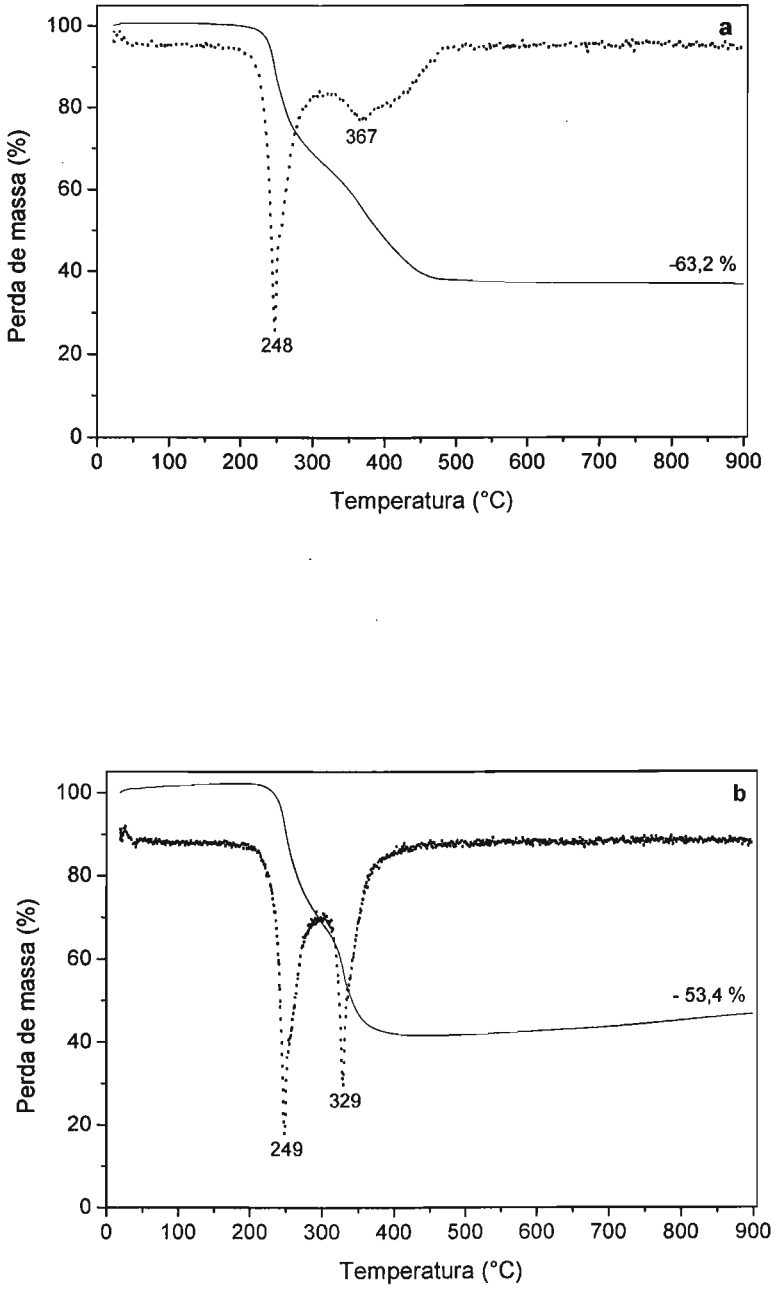


***FIGURA II.2.1.30.*- Curva TGA do complexo RuMETRO 900 °C (10 °C/min) : (a) atmosfera de nitrogênio e (b) atmosfera de ar (50 mL/min).**

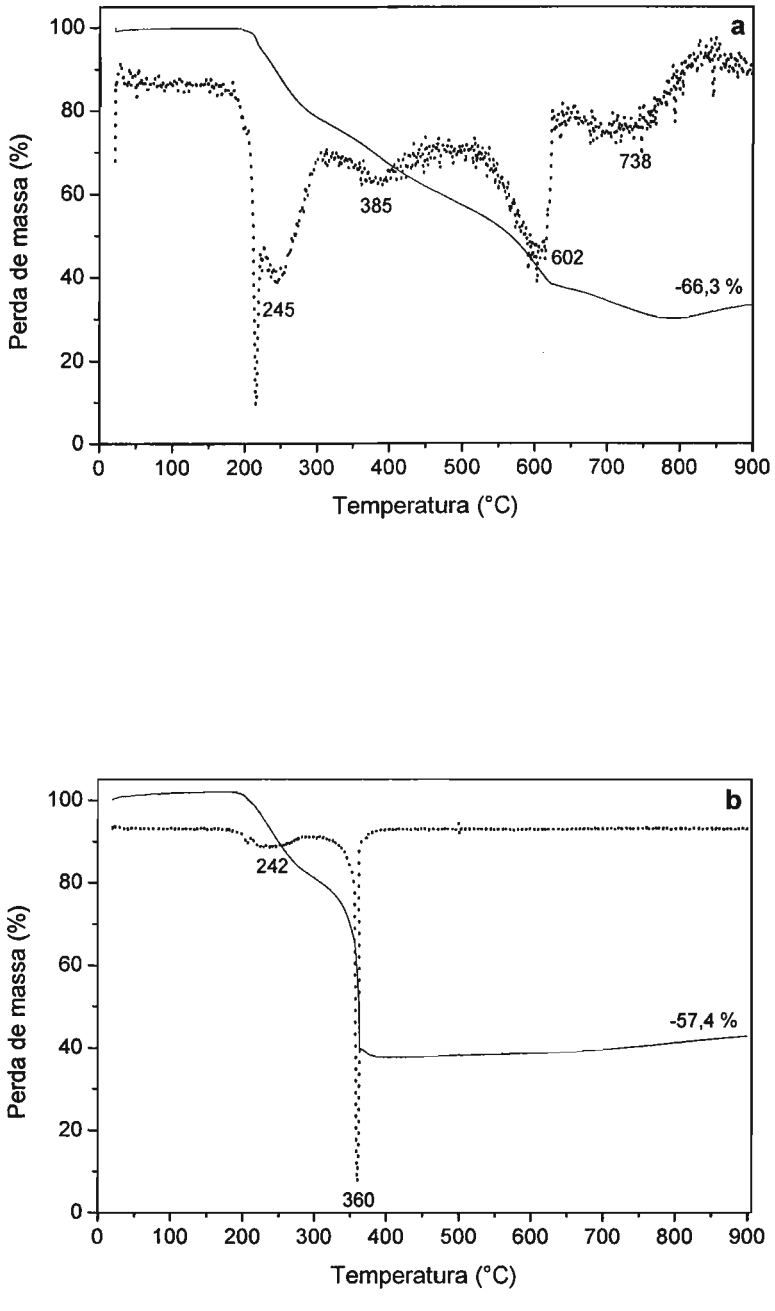


***FIGURA II.2.1.31.*- Curva TGA do complexo RuNIMO até 900 °C (10 °C/min) : (a) atmosfera de nitrogênio e (b) atmosfera de ar (50 mL/min).**

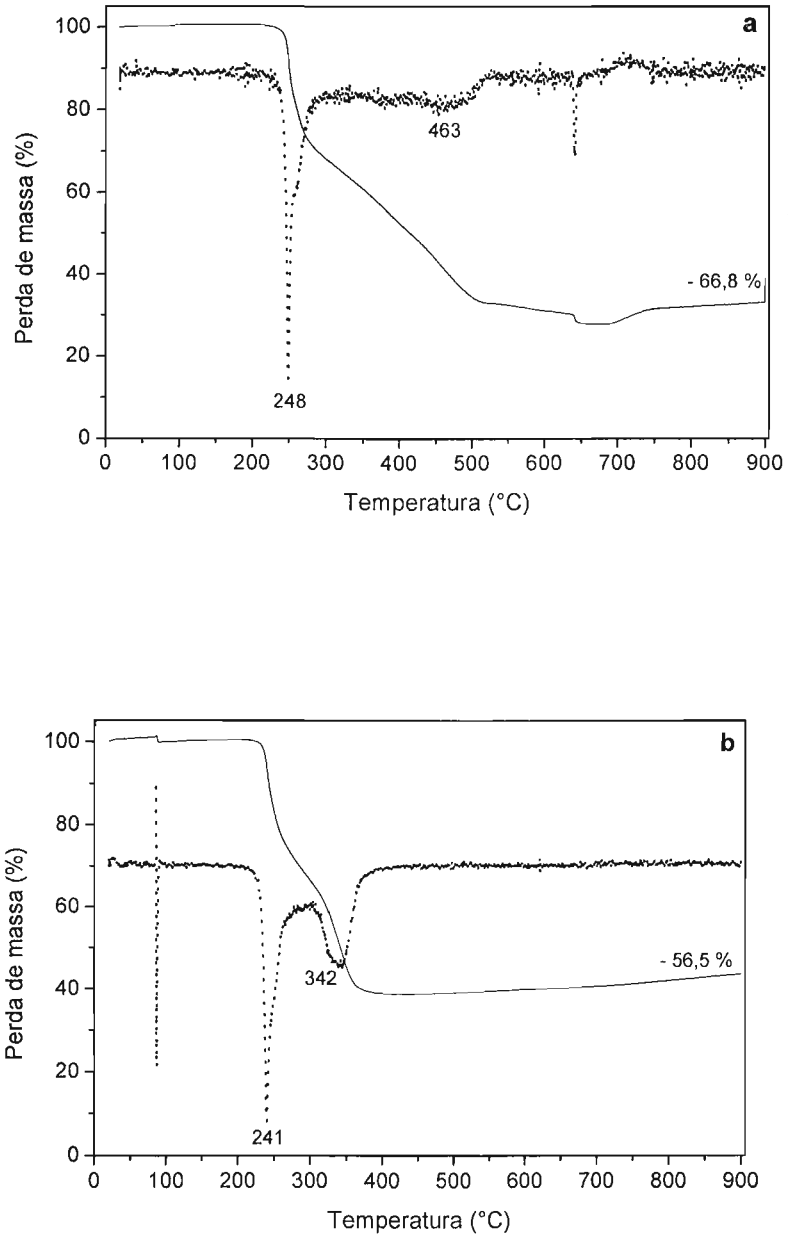


***FIGURA II.2.1.32.*- Curva TGA do complexo RuSECNI até 900 °C (10 °C/min) : (a) atmosfera de nitrogênio e (b) atmosfera de ar (50 mL/min).**

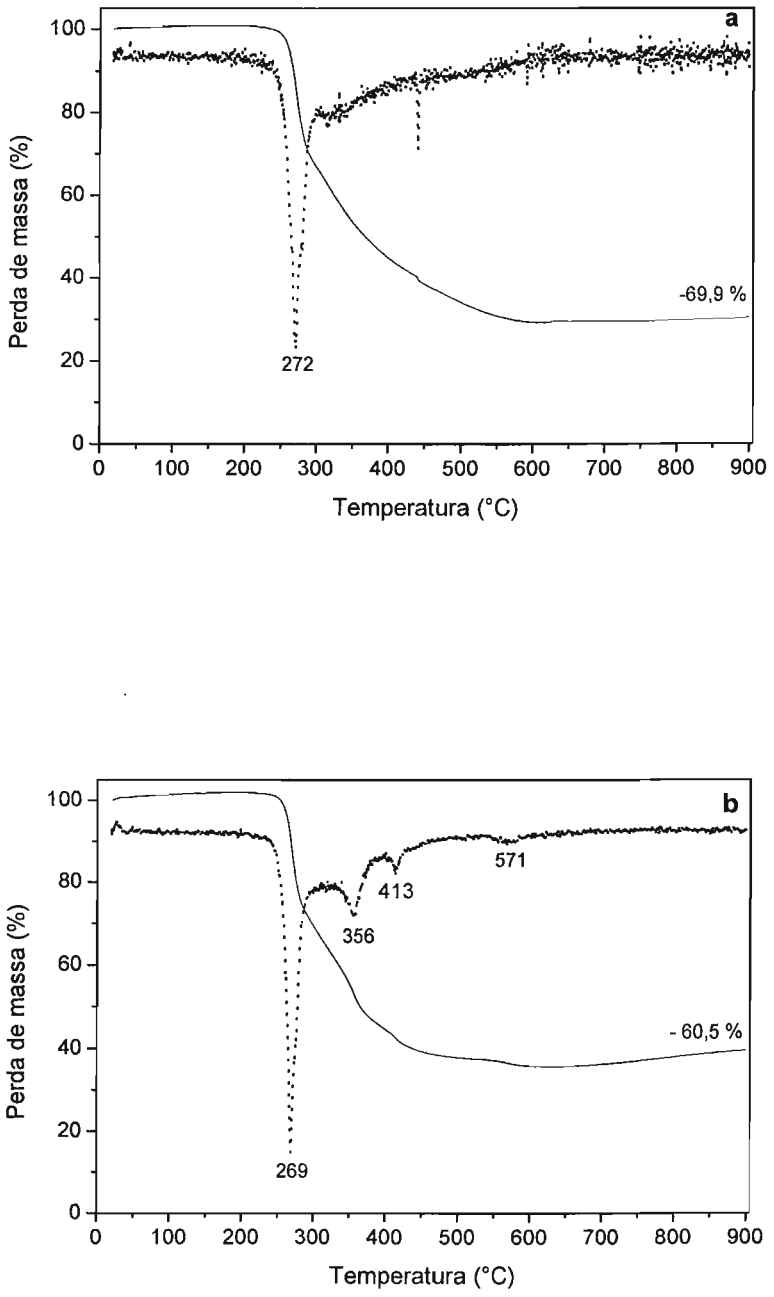


***FIGURA II.2.1.33.*- Curva TGA do complexo RuTINI até 900 °C (10 °C/min) : (a) atmosfera de nitrogênio e (b) atmosfera de ar (50 mL/min).**

TABELA II.2.1.11- Temperaturas de decomposição e porcentagens de perda de massa dos nitroimidazóis, dos acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus derivados nitroimidazólicos em atmosfera de N_2 e Ar quando aquecidos até 900 °C

COMPOSTOS	ATMOSFERA	TEMPERATURAS (° C) REFERENTES AOS PICOS DA DTG	% PERDA DE MASSA TOTAL EXPERIMENTAL	% PERDA DE MASSA TOTAL CALCULADA (Para formação de RuO_2)
METRO	N_2	250	100	--
	Ar	253	100	--
NIMO	N_2	255	100	--
	Ar	258	100	--
SECNI	N_2	80, 241	100	--
	Ar	79, 243	100	--
TINI	N_2	287	100	--
	Ar	287	100	--
RuACET	N_2	319, 370	44,5	43,8
RuAQUO	N_2	112, 155, 214, 334	51,3	57,0
	Ar	266 , 336	43,0	57,0
RuMETRO	N_2	248, 367	63,2	71,8
	Ar	249, 329	53,4	71,8
RuNIMO	N_2	245, 385, 602, 738	66,3	74,3
	Ar	242, 360	57,4	74,3
RuSECNI	N_2	248, 463	66,8	67,2
	Ar	241, 342	56,5	67,2
RuTINI	N_2	272	69,9	75,3
	Ar	269, 356, 413, 571	60,5	75,3

Como podemos observar nas figuras II.2.1.26 – II.2.1.27 os ligantes nitroimidazólicos decompõem-se totalmente (~100% de perda de massa) em temperaturas inferiores a 350 °C. O METRO e o NIMO apresentam um único pico em 250 °C, enquanto que o SECNI começa a perder um pouco de massa em ~80 °C, sendo o pico maior observado em ~240 °C. O TINI é relativamente mais estável termicamente exibindo pico de perda de massa em ~287 °C.

Estudos bastante recentes mostraram que o metronidazol não se decompõe totalmente, deixando um resíduo mineral e apresentando um processo único de perda de massa (97%) em ~270 °C, em condições experimentais diferentes às utilizadas no nosso trabalho[45].

Segundo estes resultados podemos estabelecer uma ordem de estabilidade térmica para os ligantes livres em N_2 e ar:

SECNI ~ METRO ~ NIMO < TINI

$\longrightarrow$

aumento da estabilidade térmica

Comparando a curva TGA do complexo RuACET com as dos complexos RuAQUO e derivados contendo nitroimidazóis, verificamos que a introdução do ligante H_2O e dos ligantes N-doadores nas posições axiais, contribui para diminuir a estabilidade térmica, ou seja, para abaixar a temperatura inicial do processo de decomposição térmica dos complexos. Para o RuAQUO, ocorre uma perda de 11% de massa na faixa de ~100 – 250 °C (atmosfera de ar), que coincide com a perda das duas moléculas de água de hidratação e das duas de coordenação nas posições axiais (calculado: 11 %).

Os picos referentes às maiores porcentagens de perda de massa dos derivados Ru–Nitroimidazol coincidem com aqueles que correspondem às temperaturas de perda de massa observadas para os nitroimidazóis livres. Portanto, é possível dizer que a estabilidade desses ligantes não é afetada de modo significativo após a complexação.

Os resultados obtidos dão evidência de que o processo de decomposição térmica dos complexos de $Ru_2(II,III)$ com nitroimidazóis iniciam-se com a perda dos ligantes axiais, de modo similar ao observado para derivados de $Rh_2(II,II)$[46,47].

No caso do RuMETRO, o pico DTG a 248 °C corresponde a uma perda de 38,2% de massa (atmosfera de N_2), que é muito próxima da porcentagem que

corresponde à perda dos dois ligantes axiais (calculado: 36,3%). Para o RuNIMO a perda de 43,1% de massa a 360 °C (atmosfera de ar), também coincide com a perda dos dois ligantes axiais (calculado: 43,7%). O mesmo acontece com o RuTINI, para o qual a perda de massa de 47,7% a 356 °C (atmosfera de N_2) também corresponde à perda dos dois ligantes axiais (calculado: 46,0%). Para o caso do RuSECNI não houve uma perda de massa que coincida com a saída do primeiro nem dos dois ligantes axiais.

No caso do RuACET, a perda de massa total (44,5%) é coerente com a formação de RuO_2 como resíduo final (calculado: 43,8% perda de massa) conforme já observado anteriormente em nosso laboratório[48]. Já para os demais complexos, os valores de perda de massa experimentais diferem um pouco dos valores calculados considerando a formação de resíduo RuO_2. Na literatura há relatos de produção de Ru^0 para complexos análogos. Rusjan *et al.*[44], pesquisaram a estabilidade térmica dos carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ de fórmula: $[Ru_2(O_2CR)_4]X$ $(X=CH_3(CH_2)_{n-2}CO_2^-)(R=CH_3(CH_2)_{n-2})$ mostrando que após aquecimento a ~400 °C forma-se rutênio metálico.

Calculamos também os valores de perda de massa para os derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ supondo formação de Ru^0. As diferenças em relação aos valores experimentais foram significativas, não permitindo afirmar que o rutênio esteja sendo reduzido mesmo sob N_2 durante o aquecimento. Embora as curvas TGA apresentem algumas diferenças quando se compara a análise efetuada em atmosfera de N_2 com atmosfera de ar para todos os complexos, as perdas de massa totais foram muito próximas, o que não permite saber se em atmosfera contendo oxigênio, a formação de RuO_2 seria favorecida em relação à de Ru^0.

1.7 Medidas de Condutividade Molar

Medidas de condutividade dos compostos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$ foram feitas com a finalidade de verificar o tipo de eletrólito presente em soluções desses complexos.

A Tabela II.2.1.12 apresenta os valores das condutividades molares a 25 °C para os acetatos de $Ru_2(II,III)$ e de seus derivados contendo nitroimidazóis em diferentes solventes.

***TABELA II.2.1.12*.- Condutividades Molares a 25 °C do RuAQUO e dos derivados de $Ru_2(II,III)$ com nitroimidazóis.**

COMPLEXOS	Λ_M (S cm^2 mol^{-1}) em MeOH	Λ_M (S cm^2 mol^{-1}) em CH_3CN
RuAQUO	76,5	107,6
RuMETRO	72,3	106,4
RuNIMO	92,0	100,7
RuSECNI	64,7	94,2
RuTINI	70,2	99,1

As medidas de condutividade foram feitas em metanol, que é um dos solventes indicados devido a sua alta constante dielétrica e sua baixa viscosidade. De acordo com a literatura[49], os valores de condutividade molar, em geral, encontram-se na faixa de 80 – 115 Scm^{2}mol^{-1} para eletrólitos 1:1 neste solvente.

Como podemos observar na Tabela II.2.1.12, os valores encontrados para o RuAQUO e seus derivados contendo nitroimidazóis caem no intervalo de 64 – 92 Scm^{2}mol^{-1}. Embora estejam quase no limite inferior da faixa mencionada, esses valores são consistentes com dados publicados na literatura para carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ que formam eletrólitos 1:1 (Tabela II.2.1.13).

***TABELA II.2.1.13*.- Condutividades Molares a 25 °C de diferentes carboxilatos de $Ru_2(II,III)$**

COMPLEXOS	Λ_M (S cm^2 mol^{-1})	REFERÊNCIA
$[Ru_2(but)_4Cl]$	75	[27]
$[Ru_2(O_2CC_6H_{11})_4Cl]$	79,5	[11]
$[Ru_2(O_2CR)_4(thf)_2]BF_4$	79,8	[55]
$[Ru_2(O_2CR)_4(thf)_2]OH$ ($R=C_6H_4$-*p*-CMe_3)	81,3	[55]
$[Ru_2(O_2CCH_3)_4(HPhPO_2)_2]H$	49	[56]
$[Ru_2(O_2CCH_3)_4(PhPO_3H)_2]H.H_2O$	53	[56]
$[Ru_2(O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]BPh_4$	59	[4]

A presença de eletrólitos 1:1 em solução é coerente com as fórmulas propostas para os compostos que consistem de íons complexos carregados positivamente, do tipo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)L_2]^+$, e contra-íons PF_6^-, carregados negativamente.

As condutividades molares dos compostos em estudo foram também medidas em acetonitrila (Tabela II.2.1.12), com a finalidade de estabelecer comparações com dados que aparecem na literatura para eletrólitos 1:2, como é o caso dos complexos com ponte μ-oxo, do tipo $[Ru_2O(O_2CCH_3)_2(1\text{-MeIm})_6](ClO_4)_2$, que apresentam valores na faixa de 180 – 250 S cm^2 mol^{-1} [11,12,13]. No nosso caso, contudo, os complexos encontram-se dentro da faixa esperada para eletrólitos 1:1 em acetonitrila (92 – 199 S $cm^2 mol^{-1}$)[49], o que permite descartar a possibilidade de formação de espécies μ-oxo.

1.8 Estudos Eletroquímicos dos Complexos de $Ru_2(II,III)$

A. Dados Observados na Literatura

Os primeiros estudos dos processos de oxido-redução dos carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ foram feitos por Mukaida *et al.*[50], mostrando por polarografia que o par redox $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^{+/0}$ apresenta uma onda reversível com um potencial de meia de onda, $E_{1/2}$ = +0,060 V *vs.* ECS (ECS = Eletrodo de Calomelano Saturado) (+0,30 V *vs.* EPH (EPH = Eletrodo Padrão de Hidrogênio)). Posteriormente, Wilson e Taube e Earley *et al.*[51,52] reportaram o mesmo valor de $E_{1/2}$ para este par redox em outras condições. Uma diferença de potenciais entre os picos anódico e catódico (ΔE_p) de 83 mV foi determinada por Taube e de 75 mV por Earley, que classificaram o processo :

$$[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^+ + e^- \rightarrow [Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^0 \quad .....(II.2.1.2)$$

como quase-reversível.

Cotton e Pedersen[53] em estudos mais detalhados sobre os processos redox para o complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CPr^n)_4Cl]$ observaram processos de redução de 1 e 2 etapas, sendo estes independentes do tipo de eletrodo, mas dependentes do meio. Assim, por exemplo, processos de duas etapas foram observados em diclorometano na presença do eletrólito perclorato de tetrabutilamônio. Um valor de $E_{1/2}$ = 0,00 V *vs.* ECS (+0,24 V *vs.* EPH), próximo ao relatado por Mukaida[50] e por Wilson e Taube[54]

para o par $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^{+/0}$, foi encontrado para o par redox $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CPr^n)_4Cl]^{+/0}$.

A influência do solvente foi também observada nos voltamogramas cíclicos dos complexos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CR)_4]$ (R = H, CH_3, CH_2Cl, CH_3CH_2 e C_6H_5) em THF e CH_3CN. Estes indicam um processo quase-reversível para o par $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CR)_4]^{0/+}$, sendo os derivados de THF ligeiramente mais fáceis de oxidar do que os de CH_3CN, devido ao melhor poder doador do THF[55]

Além dos estudos sobre a influência do solvente e do eletrólito nos processos redox dos carboxilatos de Ru_2, foi observado que mudanças no grupo R do carboxilato equatorial (RCO_2^-) também afetam os valores de $E_{1/2}$ tanto em soluções de THF quanto em soluções de CH_3CN. Por exemplo, o complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCF_3)_4(CH_3CN)_2]$ é mais difícil de ser oxidado do que o complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(THF)_2]$, devido ao CF_3 ser um grupo eletroatraente bastante forte, o que deixa os centros de rutênio com uma densidade eletrônica mais baixa, dificultando a oxidação[56].

Várias medidas eletroquímicas têm sido feitas desde o ano de 1988, para a determinação dos potenciais de redução do par redox $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CR)_4(L)_2]^{+/0}$. Para grupos R fortemente eletroatraentes, observou-se que o $E_{1/2}$ encontrava-se na faixa de -0,060 a 0,250 V *vs.* ECS (0,184 a 0,494 V *vs.* EPH) para processos reversíveis ou quase reversíveis[20].

Sudha e Chakravarti[12] observaram que os complexos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CAr)_4(2\text{-metilimidazol})_2]ClO_4$ (Ar = C_6H_4-p-X: X = OCH_3, CH_3) sofrem uma redução irreversível de $1e^-$: $Ru_2(II,III) \rightarrow Ru_2(II,II)$ com $E_{1/2}$ ~ -0,2 V *vs.* ECS (0,04 V *vs.* EPH) em CH_2Cl_2 contendo perclorato de tetrabutilamônio. Como os tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ com haletos axiais lábeis exibem processo de redução quase-reversível em ~0,25 V *vs.* EPH, os autores consideram a possibilidade das espécies reduzidas sofrerem algum tipo de conversão química no caso dos derivados com 2-metilimidazol. A adição de elétron no obital antiligante deve contribuir para reduzir a ordem da ligação metal-metal. As distâncias Ru-Ru e Ru-L_{axial} nas unidades $Ru_2(II,III)$ substituídas axialmente são consideravelmente maiores do que aquelas observadas para os complexos de $Ru_2(II,III)$ contendo haleto axial[20] o que poderia justificar a possibilidade de conversão da espécie reduzida[12].

Vamvounis *et al.*[6] estudaram a influência da força doadora do ligante axial sobre os potenciais de redução dos complexos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$, L= N-

heterocíclicos: quinuclidina (quin), 4-metilpiridina (4-Mepy), piridina (Py), 4-cianopiridina (4-CNPy) e 3-cianopiridina (3-CNPy). Esses potenciais foram medidos em 1,2-dicloroetano e em CH_2Cl_2, utilizando $(t\text{-}Bu)_4NPF_6$ como eletrólito. Em todos os casos foram observados processos de redução monoeletrônicos correspondentes ao par $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)L_2]^{+/0}$. As reduções foram classificadas como quase-reversíveis para todos os complexos, com exceção do $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(DMF)_2]^+$ para o qual foi observada uma única onda catódica e portanto um processo irreversível. Os valores de $E_{1/2}$ do par Ru_2^{5+}/ Ru_2^{4+} variaram de –0,67 V *vs.* Fc/Fc^+ (com ligante quinuclidina, N-doador mais forte) até – 0,379 V *vs.* Fc/Fc^+ (com 3-CNPy, N-doador mais fraco).

Estes mesmos autores analisaram os potenciais redox e o número doador (N.D.) dos ligantes axiais (Tabela II.2.1.14), observando que quando o ligante axial torna-se mais forte (maior N.D.) mais básico fica o complexo e portanto mais fácil de se oxidar (potencial de redução mais negativo). Apesar dos valores de $E_{1/2}$ dependerem do N.D. do ligante axial nestes casos, as propriedades eletrônicas e magnéticas não são afetadas pela mudança destes ligantes. Para explicar esse resultado, Vamvounis *et al.*[6] consideram que a variação do N.D. do L_{axial} não produz qualquer alteração na quase-degenerescência dos orbitais π^* δ^*, mas causa um efeito significativo no nível de energia real do HOMO, o que se reflete na variação dos potenciais redox. Em outras palavras, eles assumem que o elétron, durante o processo de redução, entra no orbital δ^* fazendo que o nível de energia do par π^* δ^* se desloque como um todo, o que não causa mudança de energia para a transição $\pi(RuO,Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$ [22,57]. A perturbação de energia deve ocorrer apenas nos orbitais $\sigma_{Ru\text{-}L}$ e $\sigma^*_{Ru\text{-}L}$ que envolvem o ligante axial.

Estudos eletroquímicos em 1,2-diclorometano foram feitos para o primeiro derivado com um ligante axial S-doador, $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)(THT)_2]PF_6$, THT = tetraidrotiofeno[8], mostrando também um processo de redução de $1e^-$ do par Ru_2^{5+}/ Ru_2^{4+} com $E_{1/2}$ = 0,322 V *vs.* Fc/Fc+ (0,37 *vs.* EPH) (Tabela II.2.1.14).

Complexos com derivados de uréia e tiouréia estudados por Cooke, $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)L_2]PF_6$, L = 1,1,3,-tetrametiluréia (tmu) e 1,1,3,3-tetrametil-2-tiouréia (tmtu)[7], em 1,2-dicloroetano, também exibem variação de $E_{1/2}$ com o ligante axial (Tabela II.2.1.14). O processo de redução é monoeletrônico e quase-reversível. Esses autores analisaram ainda os potenciais de redução dos complexos $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)(THT)_2]PF_6$ ($E_{1/2}$ = 0,37 V) e $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)(tmtu)_2]PF_6$ ($E_{1/2}$ = 0,15 V) em

função dos comprimentos das ligações Ru-Ru : 2,285 e 2,301 Å respectivamente. Segundo esses dados, o complexo com tmtu deve ter ligações axiais mais fortes do que o complexo com THT. No primeiro, maior densidade eletrônica é transferida aos centros metálicos permitindo um incremento da população eletrônica nos orbitais antiligantes, o que produz uma diminuição na ordem da ligação Ru-Ru, aumentando a distância entre estes dois centros metálicos. Como possui maior densidade eletrônica, o processo de redução do complexo será mais difícil ($E_{1/2}$ é menor).

***TABELA II.2.1.14*.- Dados Eletroquímicos para vários pares redox $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)L_2]^{+/0}$ em 1,2-dicloroetano**[7,8,20,58]

LIGANTE (L)	$E_{1/2}$ (V)[a] *vs.* Fc/Fc^+	$E_{1/2}$ (V)[b] *vs.* EPH	N.D.	Referência
Quinuclidina	-0,671	0, 019	61	7
1,1,3,3-tetrametil-2-tiouréia	-0,541	0,149		9
4-metilpiridina	-0,537	0,153	35,1	7
4-fenilpiridina	-0,529	0,161	>33,1	7
piridina	-0,519	0,171	33,1	7
1,1,3,3-tetrametiluréia	-0,487	0,203	31,0	9
DMSO	-0,483	0,207	29,8	7
4-cianopiridina	-0,396	0,294	<33,1	7
3-cianopiridina	-0,379	0,311	<33,1	7
THT	-0,322	0,368		10
DMF	-0,302[c]	0,388[c]	26,6	7

[a] Em diclorometano

[b] Valores convertidos para EPH somando-se +0,69 V aos valores determinados para eletrodo Fc/Fc^+.

[c] Potencial de oxidação

B. Resultados obtidos nesse trabalho

Nesse trabalho procuramos investigar se as características estruturais dos ligantes nitroimidazólicos que ocupam as posições axiais nos complexos de $Ru_2(II,III)$, poderiam influenciar os potenciais de redução do par Ru_2^{5+} / Ru_2^{4+} e, se

esses potenciais deslocariam-se quando comparados ao potencial do aquo-complexo, RuAQUO.

Nas figuras II.2.1.34 – II.2.1.36 são apresentados os voltamogramas dos complexos de Ru_2(II,III) e na Tabela II.2.1.15 os valores de $E_{1/2}$ calculados para os mesmos.

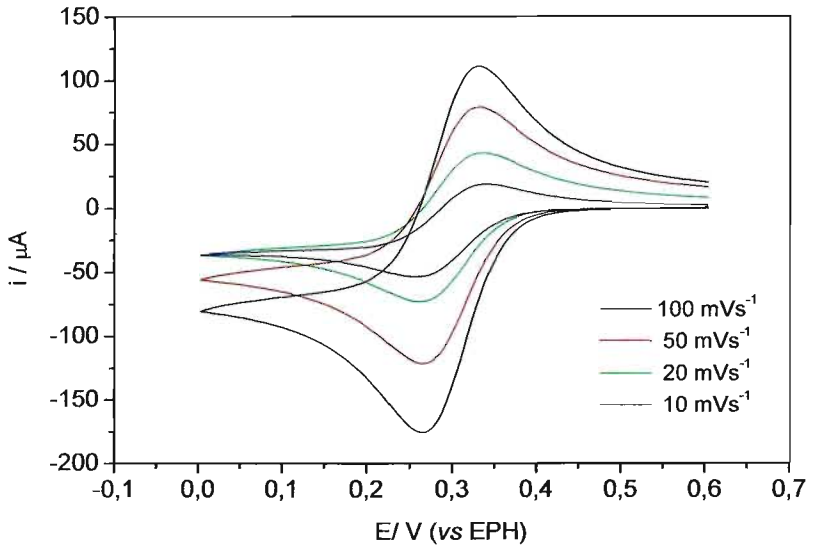


***FIGURA II.2.1.34*. Voltamogramas Cíclicos do RuAQUO em CH_3CN, contendo 0,10 mol dm^{-3} TEAP, na faixa de -0,1 V a 0,7 V *vs.* EPH, com velocidade de varredura de 10 – 100 mVs^{-1}.**

De acordo com o voltamograma da figura II.2.1.34, o complexo RuAQUO apresenta um processo de redução monoeletrônico com $E_{1/2}$, igual a + 0,31 V *vs.* EPH. O valor da razão entre as correntes catódica e anódica (0,95) é próxima de 1,00 e a diferença ΔE é de 60 mV, o que demonstra que este complexo sofre um processo de redução reversível[3].

Quando o ligante nitroimidazólico passa a ocupar as posições axiais substituindo as moléculas de água, ocorre um deslocamento do potencial de redução para valor mais negativo, como pode ser observado na figura II.2.1.35 onde são mostrados os voltamogramas dos complexos RuAQUO e RuMETRO.

Neste caso, a introdução do ligante METRO causa um abaixamento de aproximadamente 60 mV no valor de $E_{1/2}$ (+0,253 V *vs.* EPH), em relação ao RuAQUO. A razão entre correntes catódica e anódica de ~ 0,8 e ΔE = 63 mV, sugere um processo de redução monoeletrônico quase-reversível para o RuMETRO.

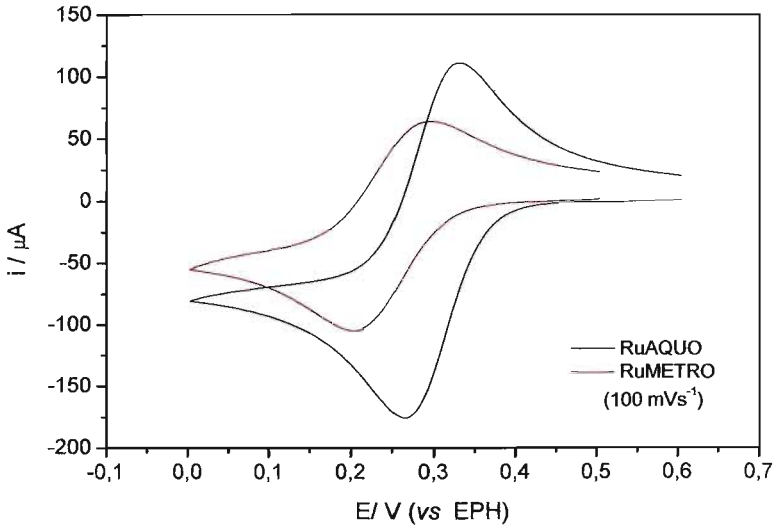


***FIGURA II.2.1.35*. Voltamogramas Cíclicos dos complexos : RuAQUO e RuMETRO em CH_3CN, contendo 0.10 mol dm^{-3} TEAP, na faixa de –0,10 V a +0,70 V *vs.* EPH (velocidade de varredura : 100 mVs^{-1}).**

Para os outros derivados nitroimidazólicos, ocorre um deslocamento de $E_{1/2}$ quantitativamente similar ao do RuMETRO, em relação ao RuAQUO (figura II.2.1.36). Todos apresentam processos de redução monoeletrônicos e quase-reversíveis com razões de corrente na faixa de 0,8 a 1,0 e ΔE na faixa de 60 a 100 mV, semelhantemente ao observado por Vamvounis para derivados com outros ligantes axiais N-doadores[6].

Essa diminuição nos valores de $E_{1/2}$ dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ em relação ao aquo-complexo (Tabela II.2.1.15) pode ser explicada da seguinte forma. Como os nitroimidazóis são ligantes N-doadores, a ligação Ru-L_{axial} deve ser mais forte do que a ligação Ru-H_2O. Com isso a ligação Ru-Ru deve estar mais enfraquecida e, portanto os íons Ru são mais fáceis de serem oxidados, exibindo valores de $E_{1/2}$ mais negativos[6,7] para estes derivados. Comparando estes dados com os dados da Tabela II.2.1.14, os nitroimidazóis poderiam ser considerados como ligantes N-doadores moderados.

O fato de todos os derivados nitroimidazólicos apresentarem potenciais de redução muito similares comprova que a parte da estrutura do ligante comprometida com a coordenação deve ser a mesma em todos os casos. Se ocorrerem alterações nas energias dos orbitais moleculares, devem ser similares para todos os complexos.

As modificações no grupo R do nitrogênio N1 do anel imidazólico (figura I.5), portanto não tem influência nas propriedades eletroquímicas do centro Ru_2^{5+} / Ru_2^{4+}.

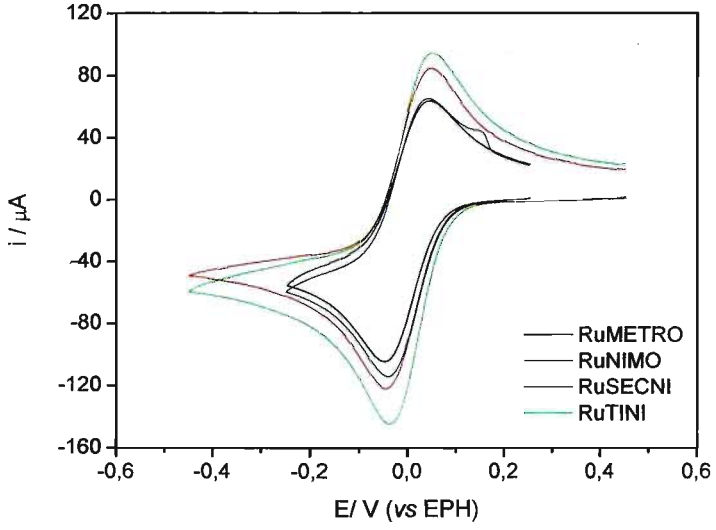


***FIGURA II.2.1.36*.- Voltamogramas Cíclicos dos complexos RuMETRO, RuNIMO, RuSECNI e RuTINI em CH_3CN, contendo 0.10 mol dm^{-3} TEAP, na faixa de – 0,40 V a +0,80 V *vs.* EPH (velocidade de varredura : 100 mVs^{-1}).**

***TABELA II.2.1.15*.- Dados Eletroquímicos para os complexos de Ru_2(II,III)**

COMPLEXO	$E_{1/2}$ (V) *vs.* EPH	i_c/i_a
RuAQUO	0,310	0,95
RuMETRO	0,253	0,82
RuNIMO	0,249	0,96
RuSECNI	0,251	0,86
RuTINI	0,254	0,87

Conforme discutido anteriormente as propriedades eletrônicas e magnéticas em geral não são afetadas pelo ligante axial. Com base na literatura[6], podemos dizer que quase-degenerescência dos orbitais π^* δ^* é mantida com a introdução dos nitroimidazóis nas posições axiais dos complexos investigados. A mudança de

energia nos orbitais $\sigma_{Ru\text{-}Laxial}$ e $\sigma^*_{Ru\text{-}Laxial}$ dos complexos Ru-nitroimidazol em relação ao RuAQUO contudo é refletida pelas diferenças nos valores de $E_{1/2}$ (Tabela II.2.1.15).

Em relação aos ligantes nitroimidazólicos, é sabido que o mecanismo de ação biológica é atribuído à redução do grupo nitro com formação do radical $R\text{-}NO_2^{\cdot-}$, que atuaria como um receptor de elétrons e prótons, oxidando o DNA e induzindo a liberação de fosfato timidina, resultando numa lesão caracterizada pela desestabilização e ruptura da dupla hélice. A redução completa dos nitroimidazóis é um processo complexo, que sob condições anaeróbicas ou baixa pressão de oxigênio, pode formar os derivados: nitroso (R-NO), hidroxilamina (R-NHOH) e amina ($R\text{-}NH_2$) envolvendo um total de seis elétrons[59], conforme mencionado no Capítulo I (figura I.2).

Embora não tenhamos efetuado um estudo eletroquímico detalhado, observamos que os ligantes nitroimidazólicos, em nossas condições de trabalho, apresentam um processo de redução entre -1,0 e -1,5 V (vs EPH) (figura II.2.1.37).

Relacionando as alturas correspondentes às correntes anódicas dos processos de redução do centro Ru_2^{5+} / Ru_2^{4+} no complexo RuMETRO e de redução do metronidazol, que aparece em potenciais mais negativos, podemos sugerir que a redução deste ligante deve envolver 4 elétrons. La-Scalea[59] investigou o processo de redução do metronidazol por voltametria cíclica, observando também um processo de 4 e^-, porém em condições experimentais bastante diferentes inclusive com variações de pH. Segundo esses estudos a redução do metronidazol é compatível com o seguinte mecanismo, onde é formado o derivado de hidroxilamina:

$$R\text{-}NO_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow R\text{-}NHOH + H_2O \quad \text{..... (II.2.1.3)}$$

Como se pode observar na figura II.2.1.37, quando a varredura é iniciada no sentido de potencial negativo (sentido E^-), a redução do ligante nitroimidazólico deve comprometer o processo de oxidação do centro de Ru_2^{4+},mas como já explicamos anteriormente, estudos mais detalhados teriam que ser feitos para confirmar essas observações.

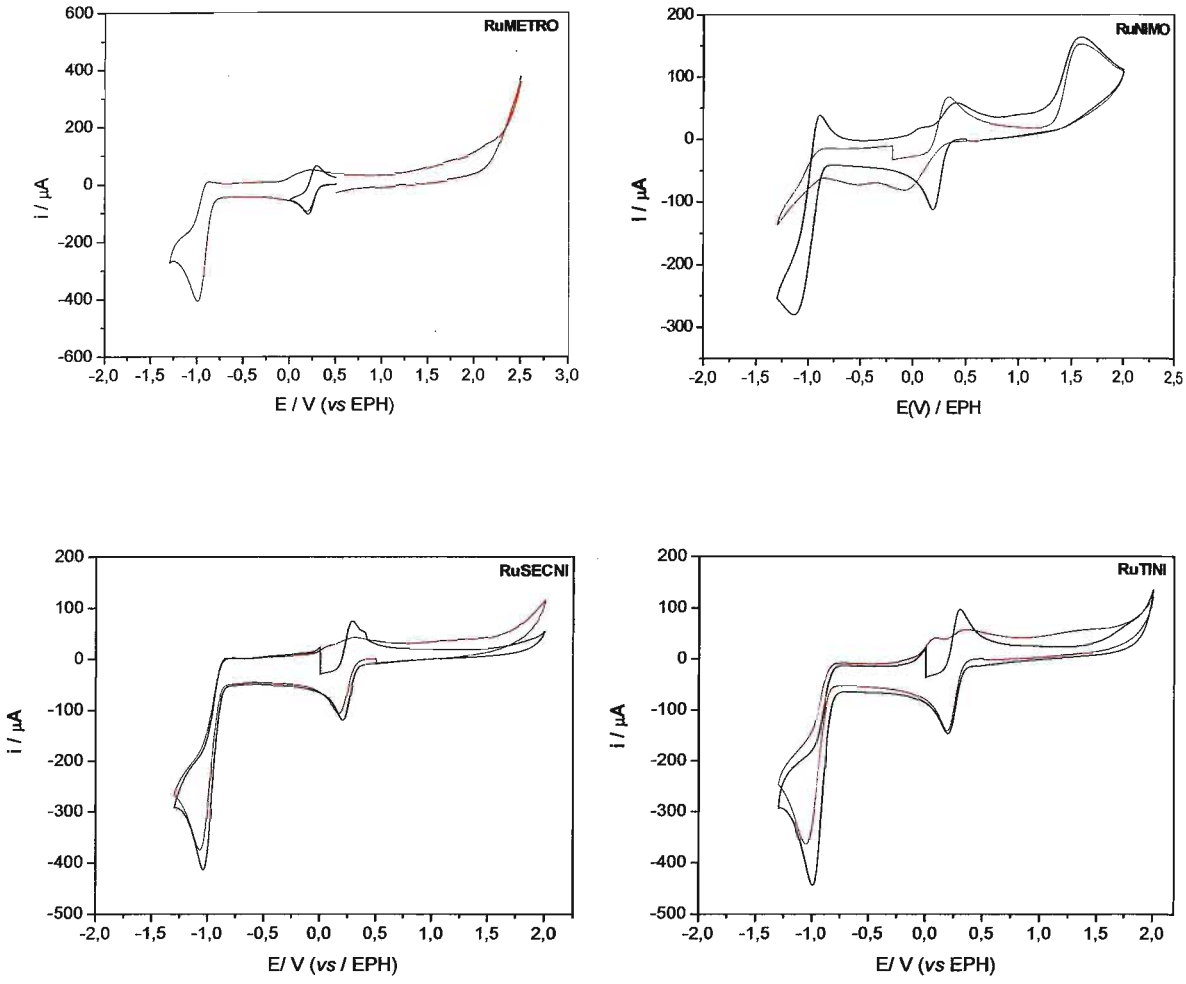
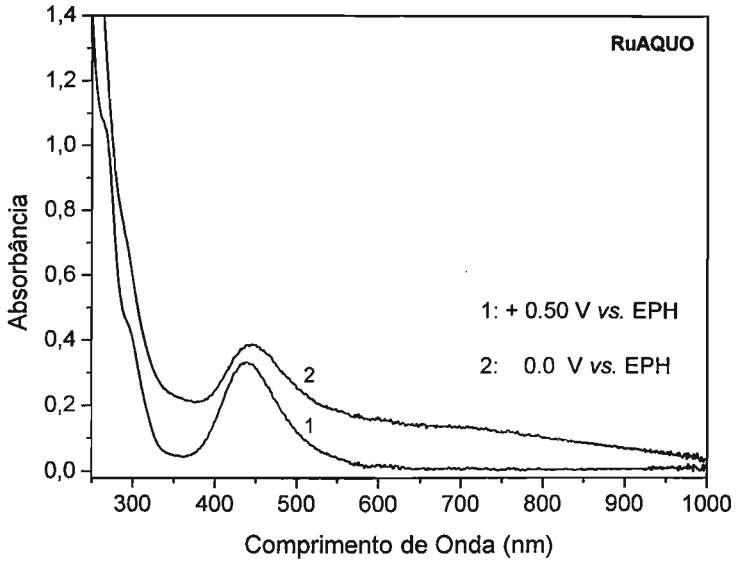


FIGURA II.2.1.37.- Voltamogramas Cíclicos dos complexos RuMETRO, RuNIMO, RuSECNI e RuTINI em CH_3CN contendo 0,10 mol dm^{-3} TEAP, na faixa de -2,0 a +2,5 V *vs.* EPH (velocidade de varredura: 100 mVs^{-1}).

Com a finalidade de investigar se novas espécies estariam se formando quando os complexos são submetidos a potenciais entre 0,0 V e 0,50 V (*vs.* EPH), foi analisado o comportamento espectroeletroquímico do aquo-complexo RuAQUO e do derivado com metronidazol, RuMETRO (figura II.2.1.38).

De acordo com os resultados quando o potencial de 0,50 V *vs.* EPH é abaixado para 0,0 V *vs.* EPH, ou seja, quando o complexo é reduzido por aplicação de potenciais menores do que 0,50 V, não se observa, em nenhum dos casos, a presença de ponto isosbéstico que poderia indicar a existência de espécies em equilíbrio. No processo de redução do RuAQUO, observa-se a intensificação de ombros na região de 500 – 650 nm, além do surgimento de uma nova banda larga com $\lambda_{máx}$ ~750 nm. Para o RuMETRO comportamento similar é observado.



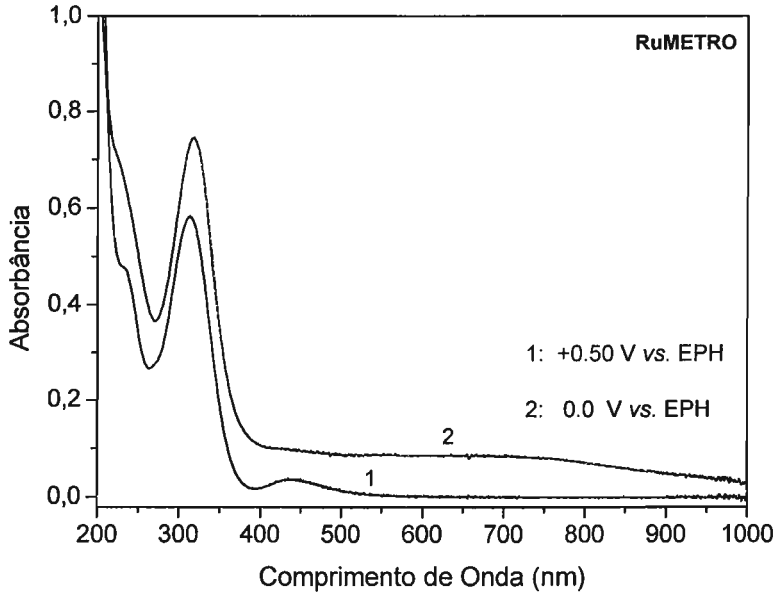


***FIGURA II.2.1.38.*- Espectroeletroquímica dos complexos: RuAQUO e RuMETRO em CH_3CN, contendo 0,10 mol dm^{-3} TEAP, +0,50 V *vs.* EPH.**

9. Acompanhamento Espectroscópico da Estabilidade dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$.

Como um dos objetivos deste trabalho é analisar a potencialidade biológica dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ sintetizados, torna-se importante investigar se eles se mantêm estáveis em solução aquosa a 37 °C, durante um determinado período de tempo.

As figuras II.2.1.39 - II.2.1.43 mostram o acompanhamento dos espectros das soluções aquosas dos complexos em função do tempo. As concentrações das soluções correspondem às concentrações das respectivas IC_{50}, ou seja, concentração do complexo que mata 50% das células (NCTC clone 929).

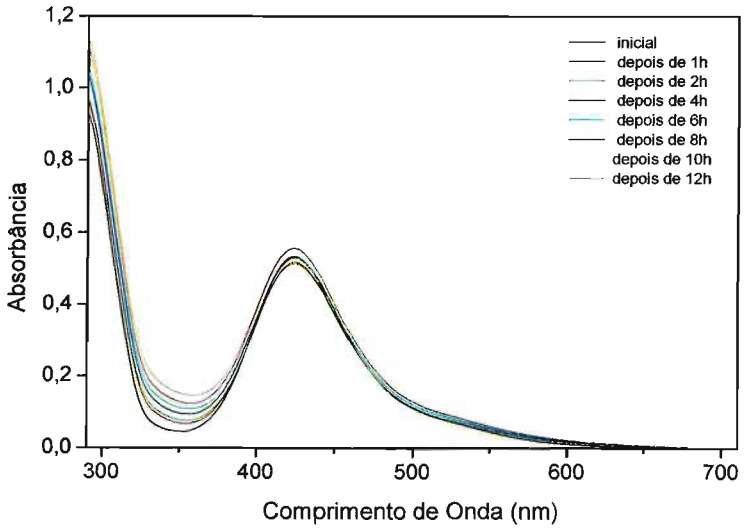


***FIGURA II.2.1.39*.- Acompanhamento do espectro eletrônico do RuAQUO; 0,76 x 10^{-3} mol dm^{-3} a 37 °C**

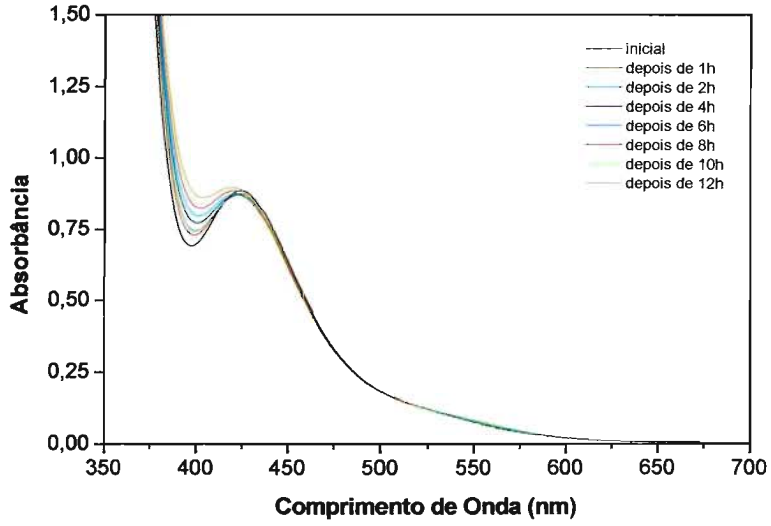


***FIGURA II.2.1.40.*- Acompanhamento do espectro eletrônico do RuMETRO; 1,2 x 10^{-3} mol dm^{-3} a 37 °C**

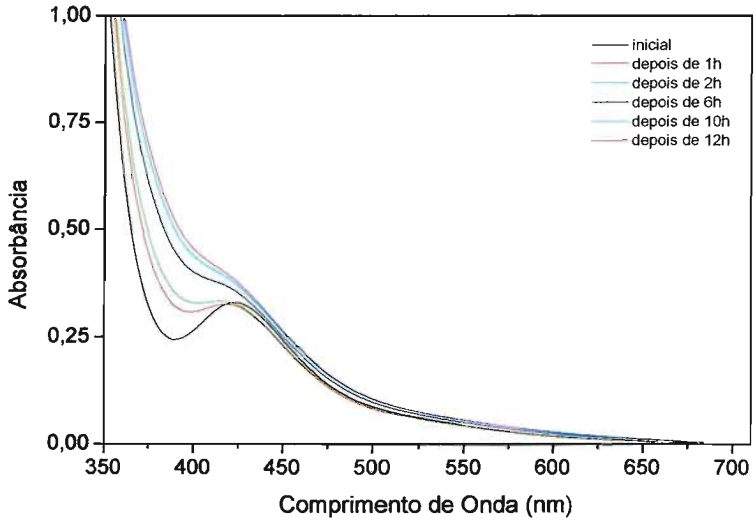


***FIGURA II.2.1.41.*- Acompanhamento do espectro eletrônico do RuNIMO; 4,3 x 10^{-3} mol dm^{-3} a 37 °C**

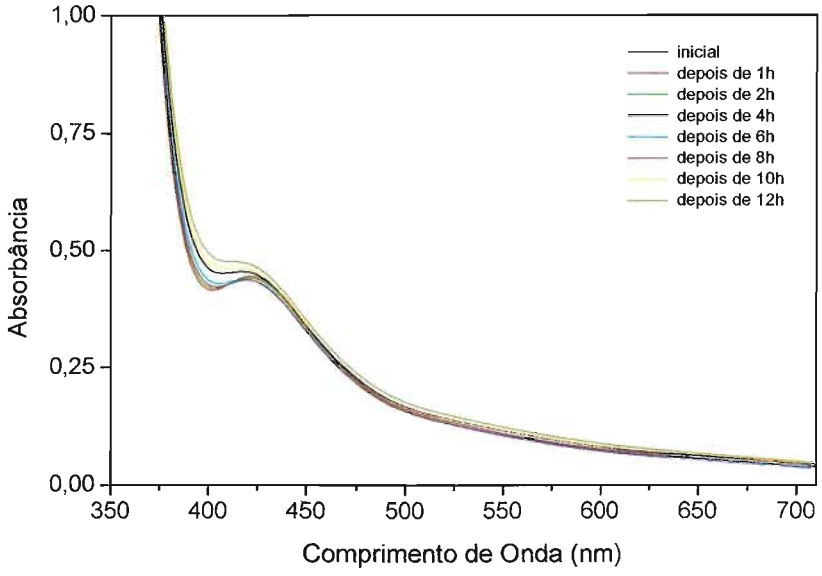


***FIGURA II.2.1.42.*- Acompanhamento do espectro eletrônico do RuSECNI; 2,5 x 10^{-3} mol dm^{-3} a 37 °C**

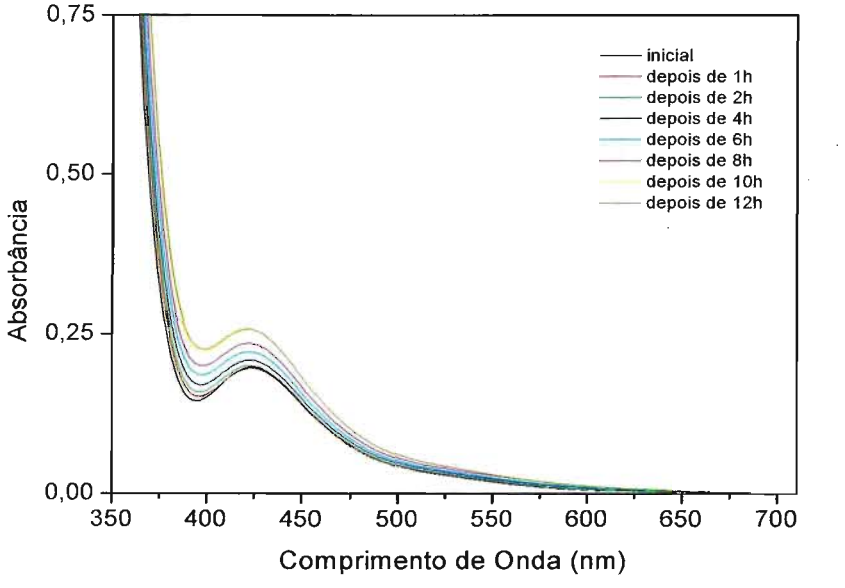


***FIGURA II.2.1.43.*- Acompanhamento do espectro eletrônico do RuTINI; 4,3 x 10^{-3} mol dm^{-3} a 37 °C**

Com base nestes ensaios verificamos que todos os complexos mantém-se relativamente estáveis após 12 horas em meio aquoso a 37 °C. A banda referente à transição $\pi(RuO,Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$ em ~425 nm, continua aparecendo comprovando a manutenção da ligação Ru-Ru.

Para todos os compostos observa-se uma pequena intensificação da absorção na região de 300 – 400 nm, que é mais acentuada no caso do RuNIMO.

10. Ensaios de Partição dos Derivados Nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$

Para verificar qualitativamente a partição dos complexos utilizou-se o método de Shake-Flask, empregando como fases orgânicas n-octanol e ciclohexano, e procedendo de acordo com indicações de Dearden & Bresnem[60].

Inicialmente foram testados os sistemas octanol-H_2O e ciclohexano- H_2O na proporção 100 μL / 4 cm^3, mas não se obteve resultados satisfatórios uma vez que as percentagens extraídas dos complexos foram muito baixas, sendo observado também que esses complexos são muito hidrofílicos. Em função deste fato, optou-se pelo uso de n-octanol invertendo e modificando a relação de volumes dos solventes (20 cm^3 de n-octanol / 1,5 cm^3 de água). O n-octanol misturado com água destilada é deixado durante 12h sob agitação magnética para atingir a saturação uma vez que a presença da água facilita a passagem do complexo para a fase orgânica.

A Tabela II.2.1.16 mostra as absorbâncias iniciais e após a partição obtidas a partir dos espectros das soluções aquosas desses complexos (região do visível) e das soluções em octanol (região do ultravioleta).

TABELA II.2.1.16.- **Absorbâncias iniciais e após partição na região do UV-Vis obtidas a partir dos espectros das soluções aquosas dos complexos de $Ru_2(II,III)$.**

COMPLEXO	Concentração (mol dm^{-3})	Visível (λ = 430 nm)			UV (λ = 320 nm)		
		A inicial	A após partiçaõ	% extraída	A inicial	A após partiçaõ	% extraída
RuAQUO	$7,60 \times 10^{-4}$	0,499	0,420	15,9	--	--	--
RuMETRO	$12,0 \times 10^{-4}$	0,792	0,638	20,3	0,749	0,064	91,5
RuNIMO	$4,30 \times 10^{-4}$	0,299	0,223	25,4	0,452	0,122	73,0
RuSECNI	$2,50 \times 10^{-4}$	0,188	0,138	26,6	0,325	0,063	80,6
RuTINI	$4,20 \times 10^{-4}$	0,320	0,230	28,1	0,307	0,022	92,8

Com base nos dados obtidos verificamos que:

1. Quando monitoramos o espectro em 430 nm, que é o comprimento de onda próximo do $\lambda_{máx}$ da transição $\pi(RuO,Ru_2) \rightarrow \pi^*(Ru_2)$, a diminuição da absorbância não é muito grande, correspondendo a uma extração de complexo para fase orgânica na faixa de 15 – 28%.
2. Ao contrário, quando monitoramos o espectro na região do UV (λ = 320 nm) que é típica de bandas do nitroimidazol, a diminuição da absorbância é bem acentuada, indicando uma extração de 70 – 93% para a fase n-octanol. Ou seja, o ligante nitroimidazólico pode estar saindo das posições axiais da gaiola de $Ru_2(II,III)$ para passar a um ambiente hidrofóbico.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Stephenson, T.A. e Wilkinson, G., *Inorg. Nucl. Chem.*, 1966, 28, 2285.

[2] Mitchell, R.W., Spencer, A. e Wilkinson, G. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1973, 846.

[3] Drysdale, K.D., Beck, E.J., Cameron, S., Robertson, K.N. e Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta*, 1997, 256, 243.

[4] Mc. Cann, M. e Carrill, A., *Polyhedron*, 1993, 12(10), 1163.

[5] Cukiernik, F.D., Giroud-Godquin, A., Maldivi, P. e Marchon, J., *Inorg. Chim. Acta*, 1994, 215, 203.

[6] Vamvounis, G., Caplan, J.F., Stanley-Cameron, T., Robertson, K.N., Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta*, 2000, 304, 87.

[7] Cooke, M.W., Murphy, C.A., Cameron, T.S., Beck, E.J., Vamvounis, G. e Aquino, M.A.S., *Polyhedron*, 2002, 21, 1235.

[8] Gilfoy, H.J., Robertson, K.N., Stanley Cameron, T., Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta,* 2002, 331, 330.

[9] Barral, M.C., Jimenez-Aparicio, R., Rial, C., Royer, E., Saucedo, M.J. e Urbanos, F.A.., *Polyhedron*, 1990, 9(14), 1723.

[10] Gangopadbyay, S. e Gangopadbyay, P., *J. Inorg. Bioch.*, 1997, 66, 175.

[11] Sudha, C., Mandal, S. K. E Chakravarty, A.R., I., *Inorg. Chem.*, 1998, 37, 270.

[12] Sudha, C. e Chakravarty, A., *Indian J. Chem.*, 1998, 37A, 1.

[13] Sudha, C. e Chakravarty, A., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1976, 1825.

[14] Cotton, F.A. e Wilkinson, G., Química Inorgânica Avançada, 4ª Ed., Limusa, Mexico DF, 1990.

[15] Chisholm, M.H., Christou, G., Folting, K., Huffman, J.C., James, C. A., Samuels, J.A., Wesemann, J.L. e Woodruff, W.H., *Inorg. Chem.*, 1996, 35, 3643.

[16] Norman Jr.,J.G. e Kolari, H.J., *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100(3), 791.

[17] Andrade, A., Namora, S.F., Woisky, R.G., Wiezel, G., Najjar, R., Sertié, J.A.A., Oliveira Silva, D., *J. Inorg. Bioch.*, 2000, 81, 23.

[18] Norman Jr.,J.G. e Kolari, H.J., *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101, 5256.

[19] Estiú, G., Cukiernik, F.D., Maldivi, P. E Poizat, O., *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 3030.

[20] Aquino, M.A.S., *Coord. Chem. Rev.*, 1998, 170, 141.

[21] Clarck R.J.H. e Franks, M.L., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1976, 1825.

[22] J.G. Norman Jr., G.E. Renzoni e D.A. Case, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101, 5256.

[23] Martin, D.S., Newman, R.A. e Vlasnik, L.M., *Inorg. Chem.*, 1980, 19, 3404.

[24] Clark, R. e Ferris, L., *Inorg. Chem.*, 1981, 20, 2759.

[25] Miskowski, V.M., Loehr, T.M. e Gray, H.B., *Inorg. Chem.*, 1987, 26, 1098.

[26] Miskowski, V.M. e Gray, H.B., *Inorg. Chem.*, 1988, 27, 2501.

[27] Drago, R.S., Cosmano, R. e Telser, J., *Inorg. Chem.*, 1984, 23, 4514.

[28] Tesler, J. e R.S. Drago, *Inorg. Chem.*, 1984, 23, 3114.

[29] Nakamoto, K., Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, 5ª Ed., John Willey & Sons, New York, 1997.

[30] Deacon, G.B. e Phillips, R.J., *Coor. Chem.*, 1980, 33, 227.

[31] Deacon, G.B. *et al.*, *Inorg. Chim. Acta*, 1985, 104, 41.

[32] Galván-Tejada,N., Bernès, S., Castillo-Blum, S.E., Nöth, H., Vicente, R., Barba-Behrens, N., *J. Inorg. Bioch.*, 2002, 91, 339.

[33] Nothemberg, M.S., Adutos de Carboxilatos de Ródio (II) com Nitroimidazóis. Síntese, Caracterização e Avaliação do Potencial Antichagásico. Tese de Doutoramento, Instituto de Química, USP, 1989.

[34] Silverstein, R.M., Bassler, G.C. e Morrill, J.C., Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos, 5ª Edição, Editora Guanabara Dois, 1994.

[35] Beck, E.J., Drysdale, K.D., Thompson, L.K., Li, L., Murphy, C.A. e Aquino, M.A.S., *Inorg. Chim. Acta*, 1998, 279, 121.

[36] Wu, A., Kennedy, D.C., Patrick, B.O. e James, B.R., *Inorg. Chem.*, 2003, 42(23), 2003.

[37] Dikarev, E.V., Becker, R.Y., Block, E., Shan, Z., Haltiwanger, R.C. e Petrukhina, M.A., *Inorg. Chem.*, 2003, 42, 7098.

[38] Xie, J.F., Hong, M., Kang, B., Cao, R., Wu, D. e Liu, H., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1995, 1447.

[39] Cornilsen, B. e Nakamoto, K., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1974, 36, 2467.

[40] Hodgson, J.B., Percy G.C. e Thornton, D.A., *J. Mol. Struct.*, 1980, 66, 81.

[41] Anderson, C. e Beauchamp, A.L., *Inorg. Chim. Acta*, 1995, 233, 33.

[42] Kesharwani, R. e Singh, P., *Asian Journal of Chemistry*, 12(1), 2000, 23.

[43] Rusjan, M., Sileo, E. e Cukiernik, F.D., *Solid State Ionics*, 1999, 124, 143.

[44] Rusjan, M., Sileo, E. e Cukiernik, F.D.,*Solid State Ionics*, 2003, 159, 389.

[45] De Souza, N.A.B., Medeiros, A.C.D., Santos, A.F.O. e Macedo, R.O.,*Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2003, 72, 535.

[46] Kitchens, J. e Bear, J.L., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1969, 31, 2415.

[47] Kitchens, J. e Bear, J.J., *Termochim. Acta*, 1970, 1, 537.

[48] Ribeiro, G., Síntese e Caracterização de Complexos Contendo Núcleos Dimetálicos de Rutênio e Ligantes Dicarboxilatos, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP, 2001.

[49] Geary, W.J., *Coord. Chem. Rev.*, 1971, 7, 81.

[50] Mukaida, M., Nomura, T. e Ishimori, T., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1972, 45, 2143.

[51] Earley, J.E., Bose, R.N., Berrie, B.H., *Inorg. Chem.*, 1983, 22, 1836.

[52] Oyetunji, A.O.,Olubuyide, O. e Earley, J.F., *Polyhedron*, 1991, 10, 829.

[53] Cotton, F.A. e Pedersen, E., *Inorg. Chem.*, 1975, 14, 388.

[54] Wilson, C.R. e Taube, H., *Inorg. Chem.*, 1975, 14, 2276.

[55] Lindsay, A.J., Wilkinson, G., Motevalli, M. e Hursthouse, M.B., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1985, 2321.

[56] Lindsay, A.J., Wilkinson, G., Motevalli, M. e Hursthouse, M.B., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1987, 2723.

[57] Estiu, G., Cukiernik, F.D., Maldivi, P., Poizat, O., *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 3181.

[58] Sawyer, D.T., Sobkowiak, A. e Roberts, J.L., Electrochemistry for Chemists, 2ª Ed., John Willey & Sons, New York, 1995.

[59] La-Scalea, M.A., Serrano, S.H.P. e Gutz, I.G.R., *J. Braz. Chem. Soc.*, 1999, 10(2), 127.

[60] Dearden, J.C. e Bresnem, G.M., *Quant. Struct. Act. Relat.*, 1988, 7, 153.

II.2.2- COMPLEXOS DE $Rh_2(II,II)$

1. Sínteses

O formiato foi o primeiro carboxilato de $Rh_2(II,II)$ sintetizado através do aquecimento da mistura de $H_3[RhCl_6]$ e ácido fórmico, porém Rh metálico também foi obtido devido à presença do ácido fórmico que é um forte agente redutor[1, 2].

O acetato de $Rh_2(II,II)$ foi preparado por um método análogo[3], e posteriormente, muitas variações do procedimento original foram empregadas para sintetizar diversos carboxilatos de $Rh_2(II,II)$, sendo a escolha do método dependente do valor do pKa do ácido carboxílico. Por exemplo, para a síntese do acetato de $Rh_2(II,II)$ é preciso efetuar refluxo de $RhCl_3$ em uma mistura etanólica de ácido acético e acetato de sódio (pKa CH_3COOH = 4,78)[4,5,6], enquanto que para sínteses com carboxilatos provenientes de ácidos fortes, como o ácido trifluoroacético (pKa = 0,5), o refluxo de uma mistura etanólica de $RhCl_3$ e o sal sódico do ácido carboxílico correspondente é suficiente[7,8].

A síntese do $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ efetuada no nosso trabalho foi baseada no procedimento já estabelecido anteriormente[9]. A cor verde escuro da solução após o refluxo evidencia a formação do carboxilato desejado sendo também observada a presença de um resíduo preto de ródio metálico[10]. O tempo e a temperatura de refluxo têm que ser bem controlados já que estes fatores podem contribuir para a formação de Rh^0 e diminuição do rendimento da reação[11]. O resíduo de Rh^0 foi separado por filtração e o acetato de $Rh_2(II,II)$ obtido a partir da solução com MeOH. (Calculado para $Rh_2O_8C_8H_{12}$: C: 21,74%, H: 2,74%, Experimental : C: 21,57%, H: 2,77%.).

No que se refere à síntese dos derivados de $Rh_2(II,II)$ com ligantes N-doadores, existe na literatura uma grande classe de compostos estudados. Assim por exemplo temos derivados contendo amônia, aminas cíclicas e alifáticas, piridina, N-heterocíclicos, aminas aromáticas, guanidina e derivados, nitrilas, óxido nítrico e vários ligantes aniônicos como NCX^- (X = O, S, Se) e nitrito[12].

Os primeiros estudos com derivados de imidazol foram feitos por Das e Bear[13], incentivados pela descoberta da atividade antitumoral dos carboxilatos $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CR)_4$ (R = OMe, CH_3, C_2H_5 e C_3H_7). Posteriormente, conhecidas as propriedades radiossensibilizadoras de tumores dos nitroimidazóis e antitumorais dos carboxilatos de $Rh_2(II,II)$, foi reportada a síntese de alguns derivados nitroimidazólicos de fórmula $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]$, L = misonidazol, 2-nitroimidazol-1-

etanol, 1-(2-hidroxi 3-metoxipropil)-2-metil-5-nitroimidazol, e também dos correspondentes análogos de butirato de $Rh_2(II,II)$[14]. Estes complexos foram sintetizados refluxando quantidades equimolares do carboxilato de Rh e do nitroimidazol em etanol durante 30 – 60 min, com rendimentos de 60 – 95%. Seis anos mais tarde, foi reportada a síntese do derivado $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2].2EtOH$ com L = ácido 3-[1-(4-nitroimidazolil)]propionato[15].

O primeiro derivado de $Rh_2(II,II)$ com metronidazol, $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]$, foi preparado por Dale *et al.*[16], por agitação de uma mistura de $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ e metronidazol numa proporção molar de 1:10, a 20 °C, em MeOH durante aproximadamente 3h, que gerou um produto vermelho bastante puro. Esta metodologia foi repetida por Dyson *et al.*[17] para a síntese do complexo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_2CH_2CH_2Ph)_4(METRO)_2]$, o qual foi testado como possível radiossensibilizador de tumores.

Tendo em vista as atividades antiparasitárias dos nitroimidazóis, complexos de fórmula $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCR)_4L_2]$ (R = carboxilatos alifáticos ou aromáticos, L = metronidazol e benzinidazol) foram sintetizados por Nothemberg e Najjar[18]. Por reação direta de soluções etanólicas aquecidas do carboxilato metálico e do ligante numa relação molar de 1 : 2,2 seguida de resfriamento, houve precipitação do complexo desejado.

No presente trabalho, os derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$ foram preparados modificando-se um procedimento descrito anteriormente[9,16]. Após a reação, as soluções tiveram que ser deixadas em geladeira por alguns dias para favorecer a precipitação dos produtos. Para o caso do derivado com secnidazol, a precipitação ocorreu após remoção do solvente por rotoevaporação. Proporções molares de carboxilato metálico: nitroimidazol iguais a 1:10, semelhantes à descrita na literatura[16], não geraram produtos puros. Obtivemos os resultados melhores quando a proporção molar usada foi de 1:6.

As análises elementares dos derivados obtidos são apresentadas na Tabela II.2.2.1.

TABELA II.2.2.1.- Análises elementares dos derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$.

COMPLEXOS DE Rh_2 (II,II)	CALCULADO			EXPERIMENTAL		
	C(%)	H(%)	N(%)	C(%)	H(%)	N(%)
$[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]$	30,63	3,86	10,72	30,56	3,76	10,50
$[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(NIMO)_2]$	34,91	4,51	12,53	34,87	4,39	12,17
$[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(SECNI)_2]$	32,53	4,22	10,35	32,62	4,06	10,05
$[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(TINI)_2]$	30,78	4,09	8,97	30,75	4,12	9,08

Todos os derivados de acetato de $Rh_2(II,II)$ com ligantes nitroimidazólicos são de cor vermelha. Esta cor indica que os ligantes nitrogenados ligam-se axialmente ao carboxilato de $Rh_2(II,II)$ através do átomo de nitrogênio imidazólico, semelhantemente ao que já foi observado para o complexo de Rh_2 com metronidazol[16].

2. Testes de Solubilidade dos Complexos

As solubilidades do acetato de $Rh_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos foram testadas em solventes de diferentes polaridades. Os resultados são mostrados na Tabela II.2.2.2.

Os derivados nitroimidazólicos são pouco solúveis nos solventes polares como H_2O e MeOH ao contrário do precursor $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ que, nesse tipo de solvente, pode formar o complexo substituído $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4S_2]$.

Este comportamento pode ser devido à formação de espécies poliméricas que seriam mais solúveis em solventes menos polares como observado para o caso do complexo $\{[Rh(O_2CH)_2H_2O]_2[Rh(O_2CH)_2]_2\}_\infty$[2].

Todos eles são relativamente solúveis na maior parte dos solventes usados, mas em muitos casos a cor observada em solução é diferente da cor do sólido (vermelho). Este fato indica possível substituição dos ligantes axiais por moléculas do solvente.

***TABELA II.2.2.2.*- Solubilidade dos complexos de $Rh_2(II,II)$**

SOLVENTES	RhACET	RhMETRO	RhNIMO	RhSECNI	RhTINI
Água	s	i	i	i	i
MeOH	s	p.s.	i	i	p.s.
EtOH	s	i	i	i	i
Acetona	p.s.	s (s.a.)	s	p.s. (s.a.)	s (s.a.)
THF	p.s.	s (s.a.)	s (s.v.)	p.s. (s.v.)	s (s.v.)
DMSO	s (s.l.)	s	s	p.s.	s
Acetonitrila	s (s.r.)	s (s.r.)	s (s.r.)	p.s. (s.r.)	s (s.r.)
DMF	p.s.	s (s.v.)	s (s.v.)	p.s. (s.v.)	s (s.v.)
Hexano	i	i	i	i	i
Tolueno	i	p.s.	i	i	p.s.
Diclorometano	i	s (s.a.)	s (s.l.)	p.s. (s.l.)	s (s.l.)
Clorofórmio	i	s (s.a.)	s (s.l.)	p.s. (s.l.)	s (s.l.)
1,4 dioxano	p.s.	s (s.v.)	s (s.v.)	i	s (s.v.)

s = solúvel, p.s. = pouco solúvel, i = insolúvel, s.a. = sol. amarela, s.l. = sol. laranja, s.v. = sol. verde, s.r. = sol. roxa

3. Espectroscopia Eletrônica

A. Estrutura Eletrônica e Espectros de Absorção dos Tetracarboxilatos de $Rh_2(II,II)$

A estrutura dos carboxilatos de $Rh_2(II,II)$ é similar à dos carboxilatos de $Ru_2(II,III)$. Portanto os estudos sobre estrutura eletrônica dos carboxilatos de $Ru_2(II,III)$ apresentados anteriormente são válidos também para os de $Rh_2(II,II)$, porém com algumas modificações desde que estes últimos apresentam um maior número de elétrons por se tratarem de sistemas $d^7 - d^7$.

A sequência da ordem dos níveis de energia dos orbitais moleculares devido à interação metal-metal é semelhante à apresentada anteriormente na figura II.2.1.1. As interações permitem que dois átomos metálicos formem um orbital molecular σ,

dois orbitais moleculares π e dois orbitais moleculares δ. As energias dos orbitais aumentam de acordo com a seguinte ordem:

$$\sigma < \pi << \delta < \delta^* << \pi^* < \sigma^*$$

Esta ordem muda com a coordenação de ligantes aos centros metálicos. Como mencionamos anteriormente obteve-se através de cálculos CAC-Xα-OD a configuração eletrônica $\sigma^2\pi^4\delta^2\pi^{*2}\delta^{*1}$ para a molécula de $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CH)_4Cl]$ em que os orbitais π^* e δ^* são quase degenerados. Estudos similares feitos por Norman e Kolari[19] em cálculos SCF-Xα-SW permitiram propor a configuração eletrônica $\sigma^2\pi^4\delta^2\pi^{*4}\delta^{*2}\sigma^*$ para o complexo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$ em que o orbital σ^* se mantém vazio.

Essa configuração indica uma ligação simples entre os dois átomos de Rh e a ordem de energia dos orbitais é consistente com o espectro eletrônico experimental[20] porém, não explica adequadamente a força e a curta distância da ligação. Uma explicação para isso é que os ligantes ponte "forçariam" os dois átomos metálicos a se aproximarem, com mistura extensiva dos orbitais dos ligantes ponte com os orbitais do Rh, aumentando a força da ligação Rh-Rh[21].

Com a finalidade de saber se a natureza dos ligantes equatoriais influenciava na ordem dos orbitais moleculares, Rotov *et al.*[22] estudaram os diagramas de orbitais moleculares dos amidatos de $Rh_2(II,II)$, $[Rh_2(CH_3CONH_3)_4(H_2O)_2]$, mostrando que são similares àqueles dos carboxilatos e, portanto, as configurações eletrônicas também são semelhantes, explicando os dados espectrais observados.

Estudos de Pruchnik *et al.*[23, 24] utilizando cálculos de Fenske – Hall para o formiato de $Rh_2(II,II)$: $[Rh_2(HCOO)_4(H_2O)_2]$, mostraram a seguinte sequência para os orbitais moleculares : $\sigma^2\pi^4\delta^2\delta^{*2}\pi^{*4}\sigma^*$, que é análoga à obtida pelo método de Hückel[25] e *ab initio*[26]. Os valores das energias dos orbitais δ^* e π^* são ligeiramente diferentes, similar ao observado por outros pesquisadores [19, 25, 26]. Neste mesmo trabalho, os autores observaram que a substituição de dois ligantes equatoriais formiato quebra a degenerescência dos orbitais $\pi(Rh_2)$ e $\pi^*(Rh_2)$, contribuindo também para modificar a energia dos outros orbitais do centro Rh_2^{4+} para complexos do tipo $[Rh_2X_2(HCOO)_2(HN{=}CHCH{=}NH)_2]$ (X = Cl, Br, I, H_2O) em relação ao $[Rh_2(HCOO)_4(H_2O)_2]$. Nos complexos substituídos equatorialmente, a diferença de energia entre os orbitais $\sigma^*(Rh_2)$ e $\sigma(Rh_2)$ aumenta em relação à do precursor.

Apesar da considerável contribuição dos ligantes equatoriais nitrogenados para os orbitais do centro Rh_2^{4+} a ligação Rh-Rh não é reforçada.

A cor dos carboxilatos de $Rh_2(II,II)$ varia com a natureza do átomo doador do ligante axial: azul ou verde para ligantes com oxigênio, rosa ou vermelho para o ligante com nitrogênio, e laranja para ligantes com enxofre ou fósforo[2].

O espectro eletrônico do acetato de $Rh_2(II,II)$ em água, consiste de duas bandas na região do visível, banda 1(~ 600 nm) e banda 2 (~ 450 nm), e duas na região do ultravioleta, banda 3 (~ 250 nm (ombro)) e banda 4 (~ 220 nm)[25,27]. Enquanto a posição da banda 2 permanece relativamente constante, alterando-se apenas com a substituição dos ligantes equatoriais, a banda 1 é fortemente influenciada por mudanças no ligante axial. A força doadora crescente do ligante axial altera uniformemente a posição da banda 1 para regiões de maior energia (menor comprimento de onda)[2].

Norman e Kolari[19] atribuíram as bandas 1 e 2 no espectro visível às transições permitidas por dipolo elétrico : $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$ (banda 1) e $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh\text{-}O)$ (banda 2), com base na correspondência entre os valores de energia calculados e experimentais, bem como nas observações de Dubicki e Martin[25], de que a banda 1 é fortemente influenciada pelo ligante axial, enquanto a energia da banda 2 permanece praticamente constante.

Posteriormente, Miskowski *et al.*[28] fazendo estudos do espectro polarizado de monocristal do complexo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$, atribuíram as bandas 1 e 2 às seguintes transições: $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh\text{-}O)$ (banda 1) e $\pi^*(Rh\text{-}O) \rightarrow \sigma^*(Rh\text{-}O)$ (banda 2). Esta proposta foi retomada por Cotton[20], que mostrou que os dados obtidos por Miskowski são consistentes com os seus experimentos, porém são também consistentes com os resultados obtidos por Dubicki[25] e Norman[19].

Norman e Kolari[19] observaram que a banda 3 também sofre influência dos ligantes axiais, mais do que a banda 4, deslocando-se para menores energias, ou seja, maiores comprimentos de onda. Os autores sugeriram que a banda 3 deveria corresponder a transições associadas a orbitais no eixo L-Rh-Rh-L, e que os valores elevados da absortividade molar da banda 4 corresponderiam a transições de transferência de carga Ligante → Metal (TCLM)[19, 29, 30].

As atribuições, compiladas no trabalho de Souza[29] são apresentadas na Tabela II.2.2.3.

***TABELA II.2.2.3*.- Transições Eletrônicas observadas para os carboxilatos de $Rh_2(II,II)$.**

Comprimento de Onda (λ / nm)	Atribuição
Banda 1 (~ 600 nm)	$\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$
Banda 2 (~ 450 nm)	$\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh\text{-}O)$
Banda 3 (~ 250 nm, ombro)	$\sigma(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$
Banda 4 (~ 220 nm)	$\sigma(Rh\text{-}O) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$

No caso dos derivados substituídos axialmente, a entrada do par eletrônico de ligantes axiais doadores fracos no orbital $\sigma^*(Rh_2)$, o desloca para maior energia. Isso favorece a ocorrência de uma influência trans da ligação Rh-Rh sobre a ligação $Rh\text{-}L_{axial}$, enfraquecendo-a. Ao contrário, a entrada de ligantes doadores fortes, estabiliza a energia do orbital $\sigma^*(Rh_2)$ enfraquecendo a ligação Rh-Rh e encurtando a ligação $Rh\text{-}L_{axial}$[19,21].

A figura II.2.2.1 mostra que a interação da água com o $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CH)_4]$ causa mudanças energéticas nos orbitais σ sem alterar significativamente a energia dos orbitais π, π^*, δ e δ^* da ligação Rh-Rh.

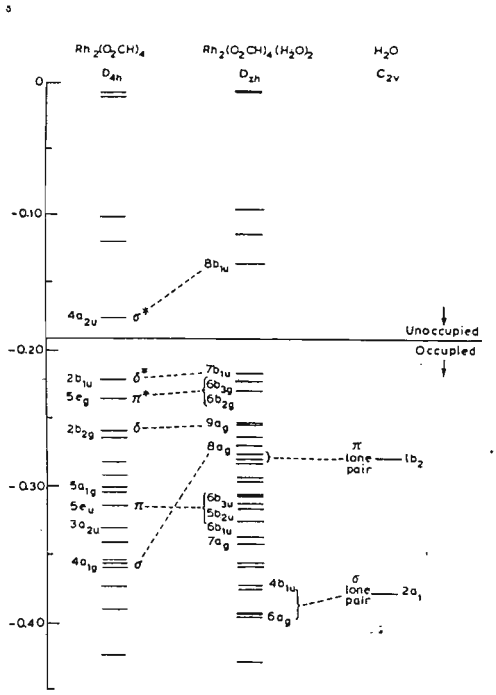


***FIGURA II.2.2.1*.- Níveis de energia calculados por Norman e Kolari para $[Rh_2(OCH)_4]$, $[Rh_2(OCH)_4(H_2O)_2]$ e H_2O[19].**

A desestabilização do orbital σ^* Rh-Rh indica que a sua interação com a água é mais fraca do que o esperado enquanto a ligação Rh-Rh torna-se mais forte[19]. Assim como alguns ligantes axiais fortalecem as ligações Rh-Rh, outros enfraquecem essa ligação como, por exemplo, a trifenilfosfina. O $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(PPh_3)_2]$ apresenta uma distância Rh-Rh aumentada de 0,06Å em relação ao aquo-complexo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$.

Christoph e Koh[21] analisaram a variação das distâncias Rh-Rh na série $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CH)_4L_2]$ (L = H_2O, Py, $NHEt_2$, CO, PF_3, $P(OPh_3)$), propondo um conjunto de orbitais moleculares onde os orbitais π (Rh_2) apresentariam energia mais alta do que os orbitais π^* (Rh_2), de forma tal que uma retrodoação π dos orbitais $\pi(Rh_2)$ ao CO ou PR_3, explicaria o aumento das distâncias metal-metal para esses derivados. Entretanto, em estudos posteriores, usando L = $P(OPh_3)$ e PPh_3, observaram, que a variação nas distâncias da ligação Rh-Rh não poderia ser explicada em termos de retrodoações π[31] mas sim levando em conta a capacidade σ doadora destes ligantes. Norman e Renzoni[32] já tinham proposto anteriormente que a doação $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ($L \rightarrow Rh_2$) era mais forte que a retrodoação π para todo tipo de ligante incluindo CO e PR_3 e que a distância Rh-Rh aumentava com o aumento da força da ligação σ Rh-L.

Por outro lado, alguns estudos mostraram que a estabilidade de derivados contendo nitrogênios aromáticos doadores diminui segundo a ordem de L (ácido iso-nicotínico > pyridina ≈ niacina) sendo paralela à capacidade de ligação π Rh-L destes ácidos[33]. Da mesma forma, Drago *et al.*[34,35,36] também sustentaram que as interações π metal-metal induzem a uma retrodoação π ($L_{axial} \rightarrow Rh$).

Cotton[37] por sua vez, tem sido muito crítico em relação à retrodoação π Rh-L_{axial} proposta por Drago[34]. Cálculos feitos para espécies do tipo: $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CR)_4(PR_3)_2]$, estruturalmente caracterizadas, não admitem a existência de uma retrodoação. Esse autor indicou que os ligantes fosfina axiais não introduzem novas interações, mas aceitou que as magnitudes das ligações Rh-L_{axial} são afetadas.

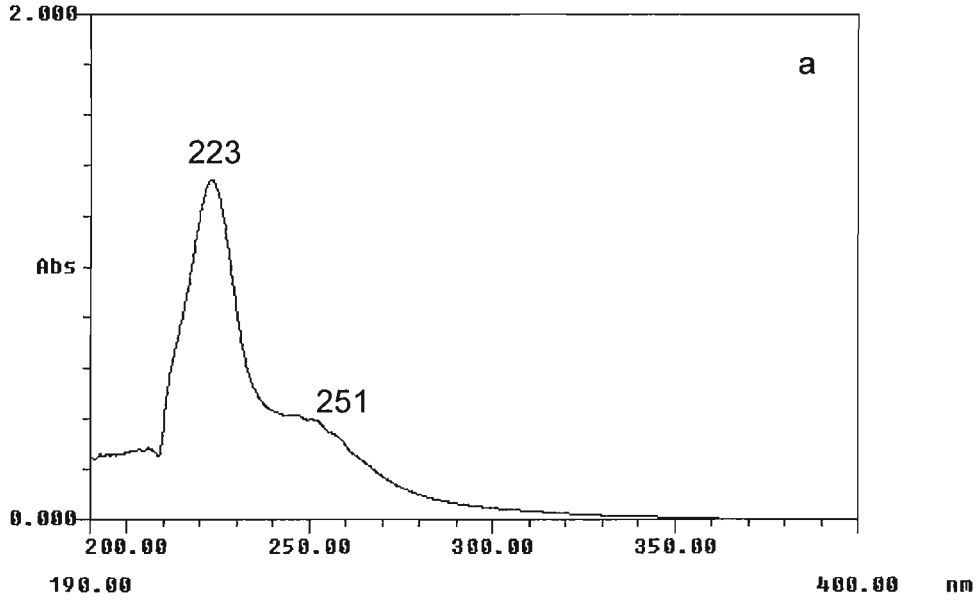
No que se refere à ligação Rh-metronidazol, foi observado na literatura que praticamente não ocorrem mudanças nas distâncias Rh-Rh quando se comparam os complexos $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]$ e $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(py)_2]$, o que evidencia a semelhança entre as forças doadoras desses dois ligantes[17].

B. Espectros de Absorção dos Derivados Substituídos de $Rh_2(II,II)$ com Nitroimidazóis

Os espectros eletrônicos do precursor $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ e de seus derivados substituídos $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(\text{nitroimidazol})_2]$ obtidos no nosso trabalho são apresentados a seguir.

B.1 Espectros dos complexos em solução

Os espectros eletrônicos do acetato de $Rh_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos são mostrados nas figuras II.2.2.2 – II.2.2.4. A Tabela II.2.2.4 apresenta os comprimentos de onda máximos e as absortividades molares estimadas a partir destes espectros. Os espectros eletrônicos foram obtidos para os complexos dissolvidos em acetona que é um solvente não-coordenante.



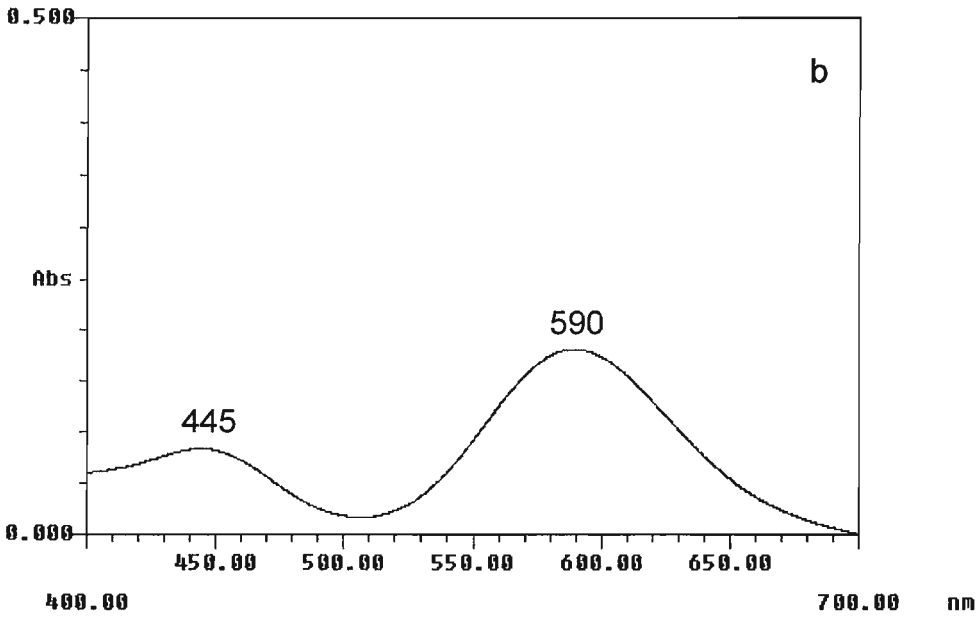
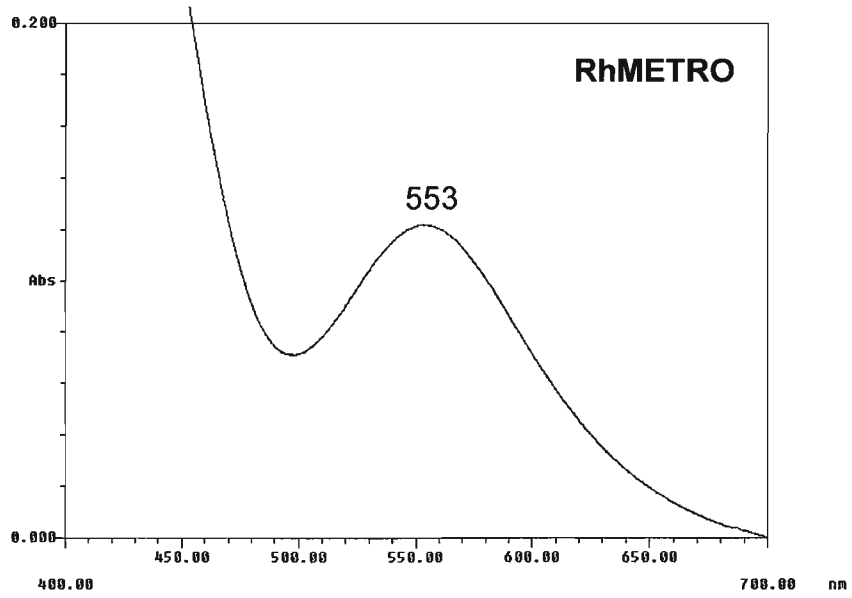


***FIGURA II.2.2.2.*- Espectros eletrônicos do complexo RhACET em etanol : (a) 0,5 x 10^{-3} mol dm^{-3}, (b) 1,0 x 10^{-4} mol dm^{-3}.**



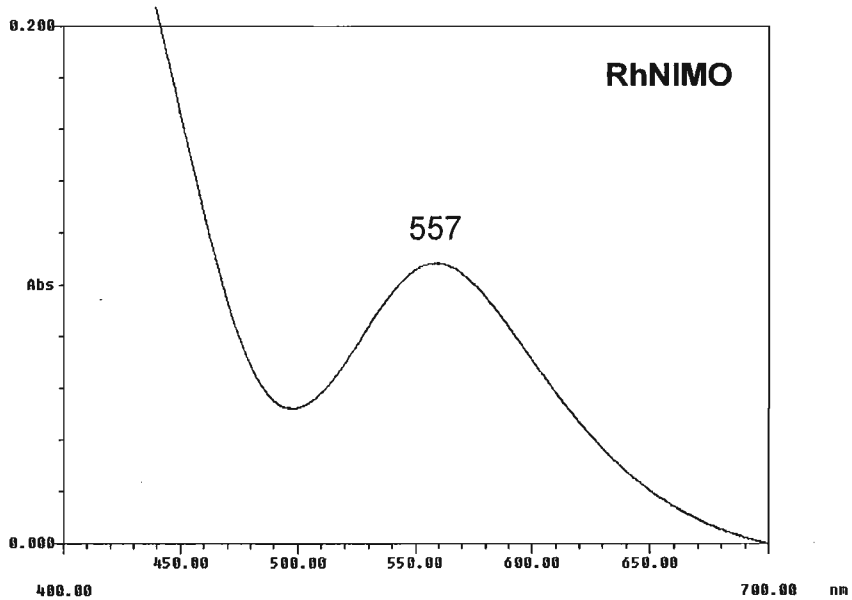
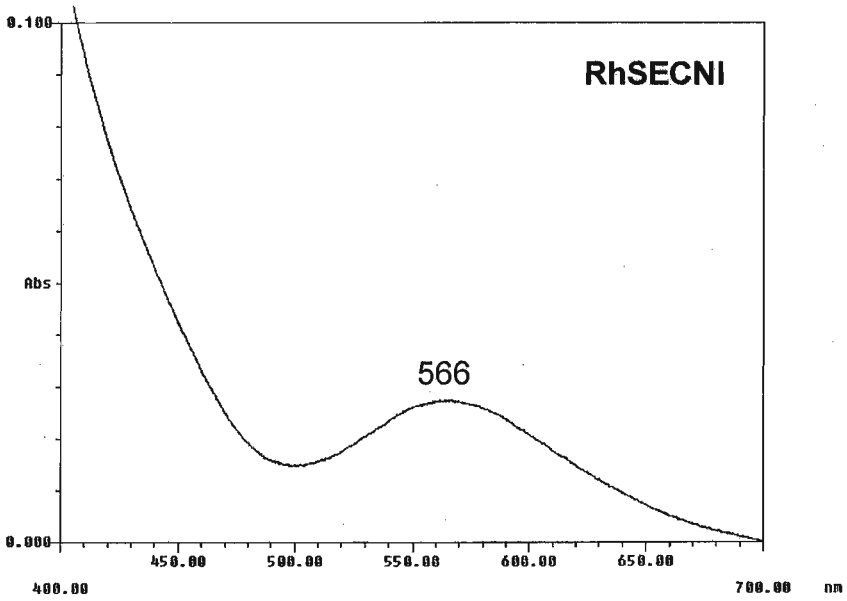


***FIGURA II.2.2.3.*- Espectros eletrônicos dos complexos RhMETRO e RhNIMO 0,5 x 10^{-3} mol dm^{-3} em acetona.**



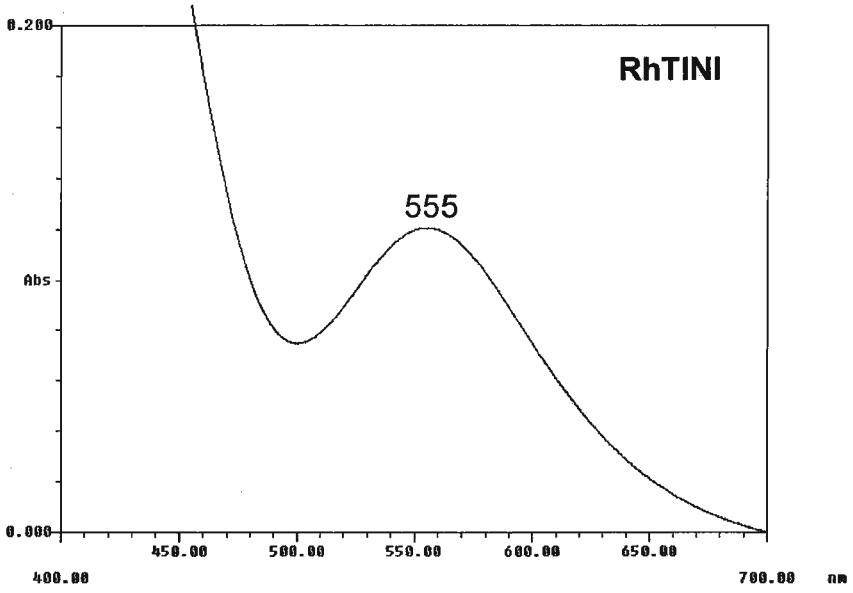


***FIGURA II.2.2.4.*- Espectros eletrônicos dos complexos RhSECNI e RhTINI 0,5 x 10^{-3} mol dm^{-3} em acetona.**

***TABELA II.2.2.4.*- Comprimentos de onda na região UV-VIS dos complexos de $Rh_2(II,II)$.**

Complexos	Solvente	Conc. x 10^{-3} mol dm^{-3}	Ultravioleta * λ/nm (ε x 10^{-3}/$cm^{-1}mol^{-1}dm^3$)	VISÍVEL λ/nm (ε / $cm^{-1}mol^{-1}dm^3$)
RhACET**	EtOH	0,1 0,5	251(3,97) / 223(13,4)	590 (180)
RhMETRO	Acetona	0,5		553 (240)
RhNIMO	Acetona	0,5		557 (220)
RhSECNI	Acetona	***		566^{sh}
RhTINI	Acetona	0,5		555 (240)

* Como a acetona absorve na região do UV não foi possível obter os espectros nesta região
** Uma banda em 445 nm pode ser atribuída à transição $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh\text{-}O)$
** baixa solubilidade em acetona
^{sh} ombro

B.2 Espectros dos complexos no estado sólido

Os espectros eletrônicos na região do visível e infravermelho próximo do acetato de $Rh_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos são mostrados na figura II.2.2.5. A Tabela II.2.2.5 mostra os comprimentos de onda obtidos a partir destes espectros.

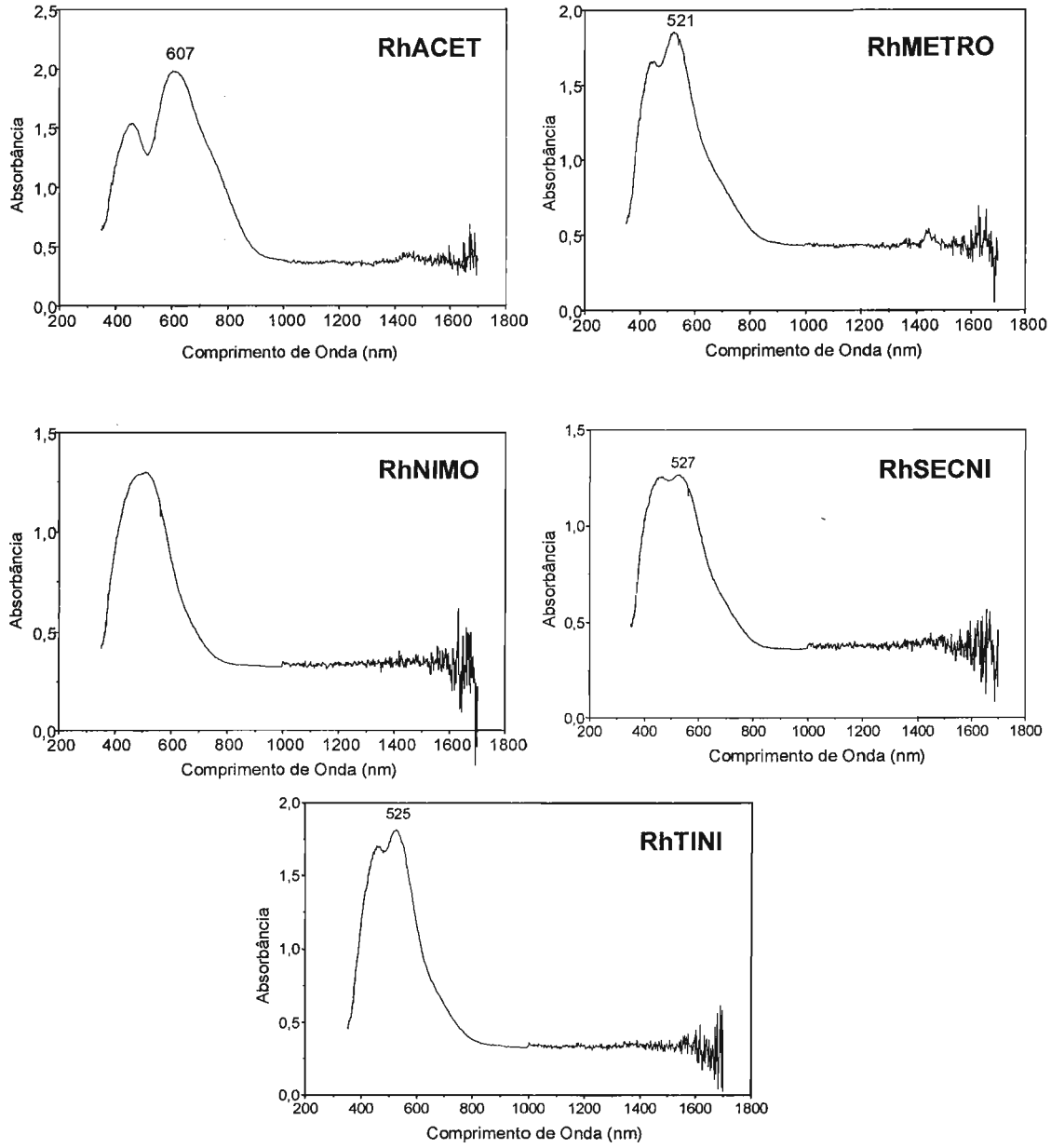


FIGURA II.2.2.5.- **Espectros eletrônicos na região do infravermelho próximo dos complexos RhACET, RhAQUO, RhMETRO, RhNIMO, RhSECNI e RhTINI, no estado sólido.**

***TABELA II.2.2.5*.- Comprimentos de onda máximos observados na região do infravermelho próximo para os complexos de $Rh_2(II,II)$ no estado sólido.**

COMPLEXOS	Banda 1 : λ(nm)
RhACET	607
RhMETRO	521
RhNIMO*	512
RhSECNI	527
RhTINI	525

*afetada pelo limite de detecção do aparelho

B.3 Atribuição das Bandas

Os espectros UV-Vis em solução do acetato de $Rh_2(II,II)$ está de acordo com a literatura[2,29] (figura II.2.2.2). Na região do Vis aparecem duas bandas: em 590 e 445 nm, correspondentes às transições $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$ (banda 1) e $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh\text{-}O)$ (banda 2) respectivamente Na região do UV podem ser observadas as bandas devidas às transições $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh\text{-}O)$ em ~ 251 nm (banda 3) e $\sigma(Rh\text{-}O) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$ (banda 4) em ~223 nm.

Para os derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$ (figuras II.2.2.3 e II.2.2.4) observa-se um deslocamento da banda 1 ($\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$ para menores comprimentos de onda[25,27,38] (550 – 570 nm). Deslocamento semelhante foi observado por Nothmberg *et al*[18]. A banda 2, $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh\text{-}O)$ deve estar encoberta pela intensa banda dos nitroimidazóis que aparece em ~ 310 nm e pode ser atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$[18].

Os dados da figura II.2.2.5 e da Tabela II.2.2.5 mostram que para os compostos no estado sólido, a banda 1, $\pi^*(Rh_2) \rightarrow \sigma^*(Rh_2)$ também encontra-se deslocada para menores comprimentos de onda em relação ao espectro do RhACET (607 nm).

Esses resultados estão de acordo com os apresentados por Goodgame *et al.*[14] para complexos de fórmula $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4L_2]$, L = misonidazol, 2-nitroimidazol-1-etanol, 1-(2-hidroxi-3-metoxipropil)-2-metil-5-nitroimidazol, cujos espectros de reflectância mostraram que a banda 1 apresenta-se na faixa de 520 – 560 nm.

Para o caso do RhNIMO não foi possível atribuir a banda 1 desde que esta encontra-se deslocada para a região do limite de sensibilidade do aparelho, similar ao acontecido com os derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$.

4. Medidas de Susceptibilidade Magnética

A Tabela II.2.2.6 traz os valores das susceptibilidades magnéticas molares corrigidas e dos momentos magnéticos efetivos calculados para o acetato de $Rh_2(II,II)$ e seus derivados nitroimidazólicos.

Todos os valores de momento magnético efetivo são iguais a zero, sendo coerentes com espécies que apresentam elétrons emparelhados e configuração eletrônica $\sigma^2\ \pi^4\ \delta^2\ \pi^{*4}\delta^{*2}$, como é esperado no caso dos carboxilatos de $Rh_2(II,II)$.

***TABELA II.2.2.6*.- Susceptibilidades Magnéticas Molares (χ_M) e Momentos Magnéticos Efetivos (μ_{eff}) dos complexos de $Rh_2(II,II)$.**

COMPLEXOS	T/°C	$\chi_M \times 10^{-3}$ (unidades CGS mol^{-1})	μ_{eff} (M.B.)
RhACET	23,0	0	0
RhMETRO	20,0	0	0
RhNIMO	26,0	0	0
RhSECNI	20,0	0	0
RhTINI	26,8	0	0

5. Espectroscopia Vibracional

A. Espectroscopia na Região do Infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})

Conforme abordado no Capítulo II.2.1 (ítem.5), Deacon e Phillips[39,40] sugeriram que um valor de $\Delta\nu$ [$\nu_{as}(CO_2)$ - $\nu_s(CO_2)$] < 200 cm^{-1} indica uma coordenação do ligante carboxilato na forma bidentada tipo ponte ou quelato. Comparado aos complexos de $Ru_2(II,III)$, os de $Rh_2(II,II)$ exibem valores de $\Delta\nu$ mais altos, porém sempre menores do que 200 cm^{-1}.

Najjar *et al.*[41,42] observaram pequenos deslocamentos da freqüência $\nu_{as}(CO_2^-)$ para números de onda mais elevados e da frequência $\nu_s(CO_2^-)$ para números de onda menores sob influência dos ligantes axiais, embora Mazo *et al.*[43] tenham verificado que a natureza dos ligantes axiais exerce pouca influência sobre estas frequências vibracionais no caso dos carboxilatos de ródio.

Os espectros na região do infravermelho permitem também identificar as vibrações dos principais grupos orgânicos presentes nos ligantes que formam os complexos metálicos. As atribuições tentativas das bandas dos derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$ foram feitas com base na comparação com os espectros dos ligantes e dos derivados análogos de $Ru_2(II,III)$.

A.1 Espectros vibracionais dos complexos de $Rh_2(II,II)$

Os espectros do acetato de $Rh_2(II,II)$ e seus derivados nitroimidazólicos na região do infravermelho são mostrados nas figuras II.2.2.6 - II.2.2.10.

A Tabela II.2.2.7 apresenta as atribuições tentativas das principais frequências vibracionais observadas nesta região.

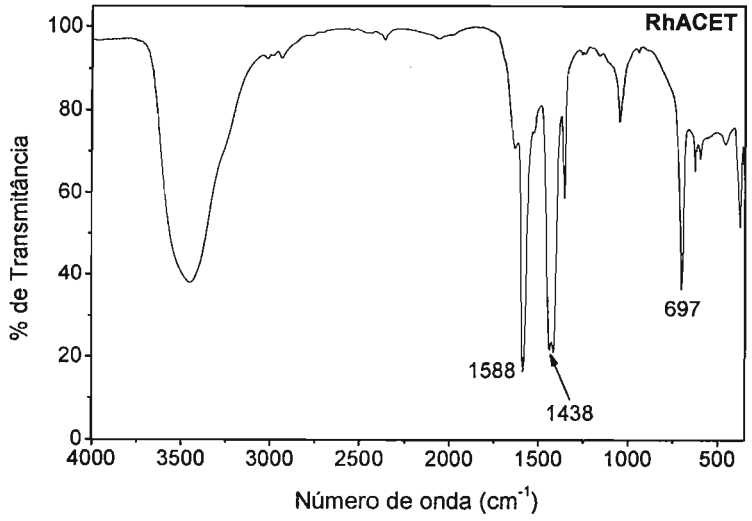


***FIGURA II.2.2.6.*- Espectro do acetato de $Rh_2(II,II)$ na região do infravermelho (4000 - 400 cm^{-1}).**

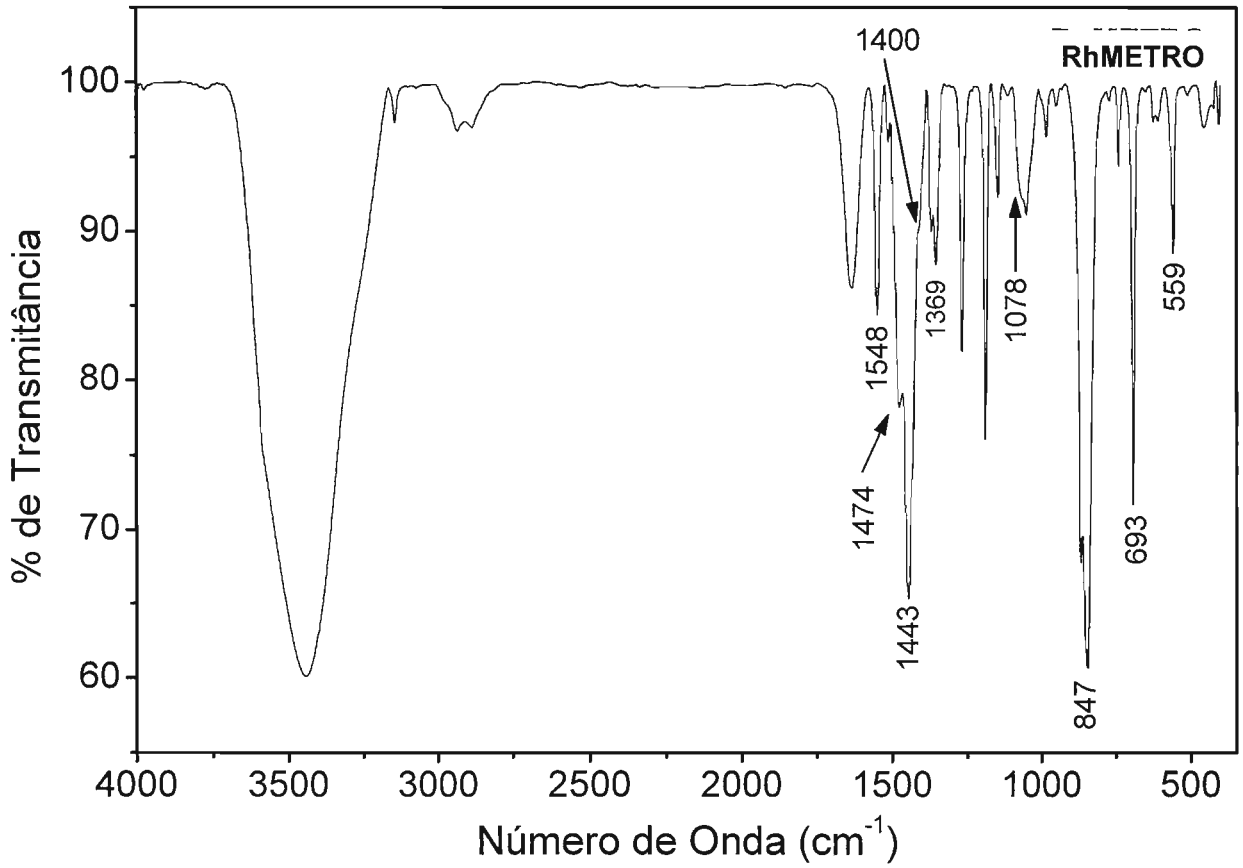


***FIGURA II.2.2.7.*- Espectro do RhMETRO na região do infravermelho (4000 - 400 cm^{-1}).**

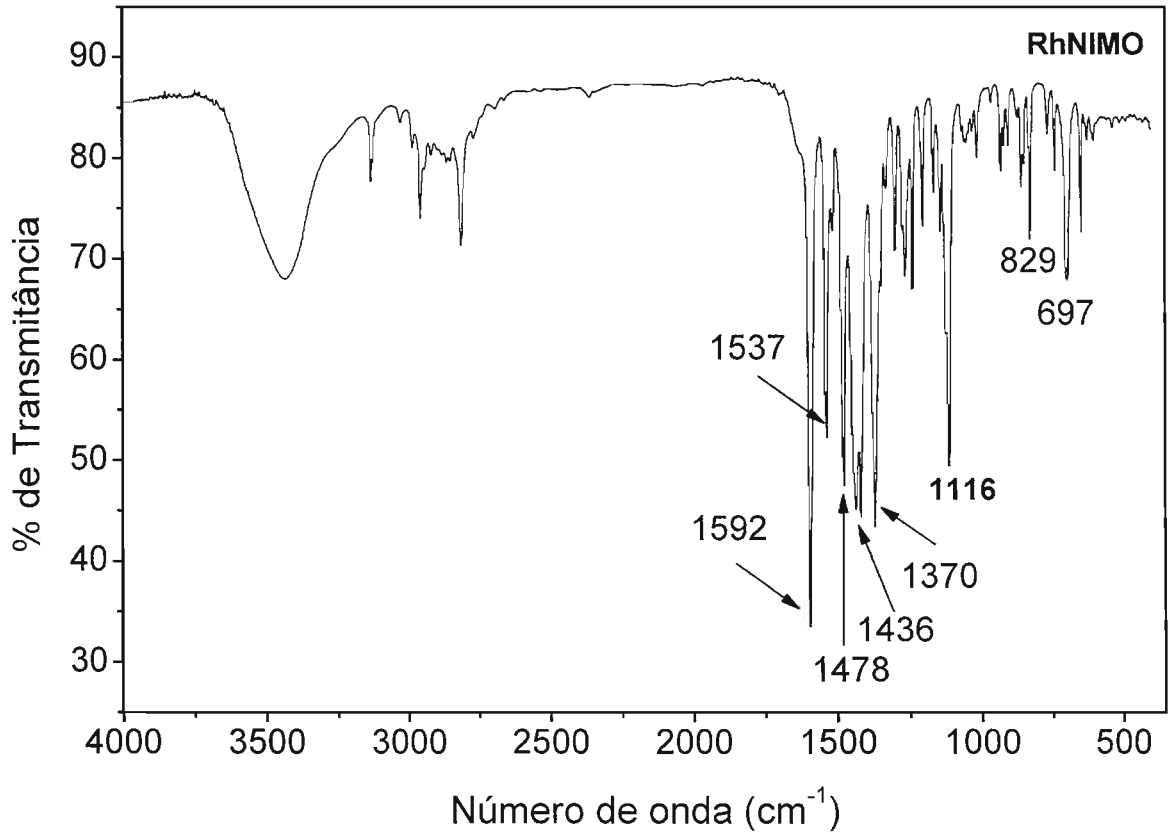


***FIGURA II.2.2.8.*- Espectro do RhNIMO na região do infravermelho (4000 - 400 cm^{-1}).**

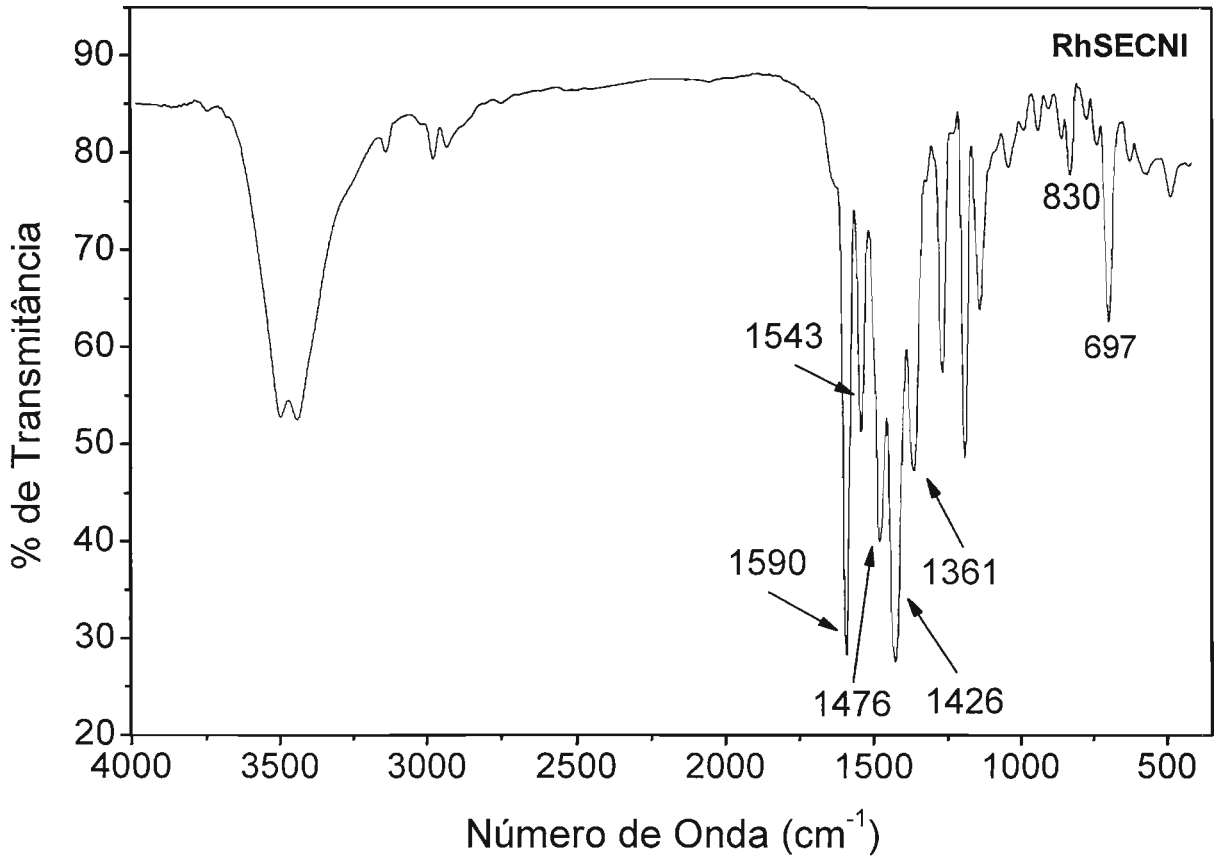


FIGURA II.2.2.9.- **Espectro do RhSECNI na região do infravermelho (4000 - 400 cm^{-1}).**

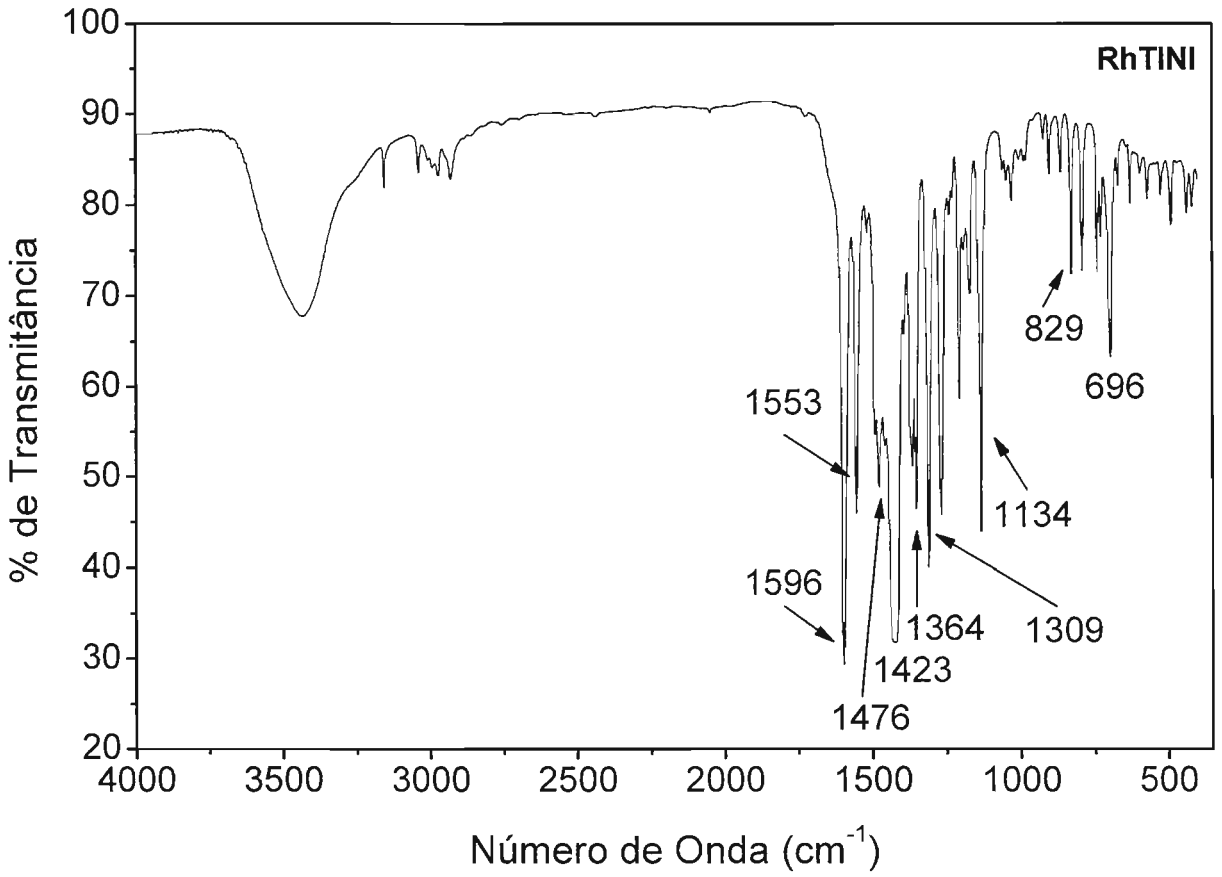


***FIGURA II.2.2.10.*- Espectro do RhTINI na região do infravermelho (4000 - 400 cm^{-1}).**

***TABELA II.2.2.7.*- Atribuição tentativa das principais bandas vibracionais no infravermelho (4000 – 400 cm^{-1}) dos complexos de $Rh_2(II,II)$.**

COMPLEXOS	ACETATO $\nu(cm^{-1})$			NITROIMIDAZÓIS $\nu(cm^{-1})$							
	$\nu_{a\ COO}$	$\nu_{s\ COO}$	δ_{oco}	$\nu_{a\ NO2}$	$\nu_{s\ NO2}$	$\nu_{C=N}$	ν_{CO}	$\nu_{CN(NO2)}$	$\nu_{a\ S=O}$	$\nu_{s\ S=O}$	ν_{COC}
RhACET	1588	1438	697	--	--	--	--	--	--	--	--
RhMETRO	1593	1426	694	1474	1368	1545	1083	828	--	--	--
RhNIMO	1592	1436	697	1478	1370	1537	--	829	--	--	1116
RhSECNI	1590	1426	697	1476	1361	1543	[a]	830	--	--	--
RhTINI	1596	1423	696	1476	1364	1553	--	829	1309	1134	--

[a] não se observa

De acordo com os dados apresentados na Tabela II.2.2.7, as frequências $\nu_s(CO_2)$ e $\nu_a(CO_2)$ aparecem nas regiões esperadas[2]. Os valores de $\Delta\nu$ [$\nu_{as}(CO_2)$ - $\nu_s(CO_2)$], estão na faixa de 155 – 175 cm^{-1} indicando a coordenação do carboxilatos em ponte aos centros metálicos.

Os derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$ apresentam as freqüências de estiramento $\nu_{as}(CO_2)$ e $\nu_s(CO_2)$ ao redor de 1590 e 1425 cm^{-1} respectivamente. A freqüência $\nu_s(CO_2)$ do RhNIMO (1436 cm^{-1}) é um pouco mais próxima da observada para o precursor RhACET (1438 cm^{-1}).

Goodgame *et al.*[14] também observaram valores das frequências $\nu_s(CO_2)$ em aproximadamente 1440 cm^{-1} para os derivados com ligantes nitroimidazólicos que não apresentam o grupo metila (-CH_3) na posição 2 do anel imidazólico (figura I.5) como o nimorazol. Estes mesmos autores, trabalhando depois com ligantes 4-nitroimidazólicos[15] (grupo –NO_2 na posição α ao nitrogênio imidazólico) apresentaram resultados similares aos nossos, em que a freqüência $\nu_a(CO_2)$ aparece na região de ~1590 cm^{-1} e $\nu_s(CO_2)$ em ~1420 cm^{-1}. Valores semelhantes foram observados anteriormente para os complexos de fórmula: $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCR)_4(METRO)_2]$ (R = CH_3, C_2H_5, C_3H_7) e para derivados de benzinidazol[18].

Uma outra banda observada nos espectros dos derivados nitroimidazólicos nesta região é a correspondente à frequência $\delta(CO_2)$ em ~ 690 cm^{-1} similar aos derivados de $Ru_2(II,III)$[44,45,46].

O deslocamento da frequência ν(C=N) para maiores números de onda (1537 – 1553 cm^{-1}), em relação aos nitroimidazóis livres, deve-se provavelmente à coordenação do nitrogênio imidazólico N3 aos íons metálicos[47].

Os valores de $\Delta\nu$ [$\nu_{as}(NO_2)$ - $\nu_s(NO_2)$], estão na faixa de 106 – 115 cm^{-1} indicando que o grupo nitro não participa da ligação ao íon metálico[47].

A coordenação do secnidazol pelo grupo OH e do nimorazol pelo oxigênio do anel são pouco prováveis. A primeira por causa do impedimento estérico e a segunda porque não se observa deslocamento da banda ν(COC).

O ligante tinidazol apresenta na sua estrutura um grupo R_2SO_2. Embora seja um grupo de força doadora bastante fraca, existe a possibilidade de sua ligação ao centro metálico de Rh_2^{4+} já que na literatura foi relatado um complexo polimérico de fórmula: $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCF_3)_4(R_2SO_2)_2]$, R = CH_3, Ph[48]. Porém semelhantemente ao observado para o análogo RuTINI, os deslocamentos mínimos das frequências

$\nu_{as}(S=O)$ e $\nu_s(S=O)$, na faixa de 7 – 11 cm^{-1} (Tabela II.2.1.8) não sustentam a possibilidade da ligação do tinidazol através do grupo sulfona.

B. Espectroscopia na Região do Infravermelho Afastado (500 – 190 cm^{-1})

B.1 Vibrações mais importantes

Os carboxilatos de $Rh_2(II,II)$ apresentam nos seus espectros duas bandas importantes, de media e baixa intensidade correspondentes, respectivamente, às vibrações $\nu_a(Rh-O)$ e $\nu_s(Rh-O)$. Para o complexo $[Rh_2(\mu-O_2CH)_4]$ estas aparecem na região de 500 – 420 cm^{-1} enquanto que para o $[Rh_2(\mu-O_2CH_3)_4]$ e $[Rh_2(\mu-O_2CF_3)_4]$ aparecem em 395 – 340 cm^{-1}. Esta marcada diferença foi atribuída inicialmente à influência do grupo R carboxílico, mas não existia uma correlação entre a frequência $\nu(Rh-O)$ e a massa do grupo R nos complexos de tipo $[Rh_2(\mu-O_2CR)_4]$[2].

Miskowski *et al.*[28] observaram bandas em ~380 e 342 cm^{-1} no espectro do complexo $[Rh_2(\mu-O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$, atribuindo-as às frequências $\nu_{eu}(Rh-O)$ e $\nu_{a2u}(Rh-O)$ respectivamente. Observaram ainda que a banda relativa ao modo $\nu_{eu}(Rh-O)$ desdobrava-se em dois componentes, um em 386 e o outro em 374 cm^{-1}.

Posteriormente Clarck e Hempleman[49], estudando complexos do tipo $[Rh_2(\mu-O_2CR)_4(PPh_3)_2]$ atribuíram bandas em 341, 333 e 306 cm^{-1} (R = C_2H_5) e em 369, 364, 347 e 341 cm^{-1} (R = C_3H_7) à frequências $\nu(Rh-O)$, observando uma provável influência dos ligantes equatoriais e axiais.

Um deslocamento das bandas $\nu(Rh-O)$ para regiões de maior energia, em ~ 430 cm^{-1} e na faixa de 333 – 415 cm^{-1} (acoplada com a banda $\nu(Rh-N)$), foi observado quando ligantes nitrogenados foram introduzidos nas posições equatoriais dos carboxilatos de $Rh_2(II,II)$: $[Rh_2(O_2CH)_2(phen)_2Cl_2]$, $[Rh_2(O_2CH)_2(bpy)_2Cl_2].4H_2O$ e $[Rh_2(O_2CCH_3)_2(phen)_2Cl_2].2H_2O$.

Na literatura não existe muita informação em relação à freqüência de estiramento da ligação metal-nitrogênio axial. Alguns estudos de complexos monoméricos de Rh(III) com ligantes N-heterocíclicos mostram que a banda $\nu(Rh-N)$ deve aparecer na região de 300 – 200 cm^{-1} [50] similar à faixa proposta por Cornilsen e Nakamoto[51] e Hodgson[52] que estudaram complexos com ligantes imidazólicos.

B.2 Espectros vibracionais IR dos complexos de $Rh_2(II,II)$ (500 – 190 cm^{-1})

Nas figuras II.2.2.11 – II.2.2.13 são mostrados os espectros do acetato de $Rh_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos. A Tabela II.2.2.8 traz algumas atribuições tentativas para as principais frequências vibracionais nesta região.

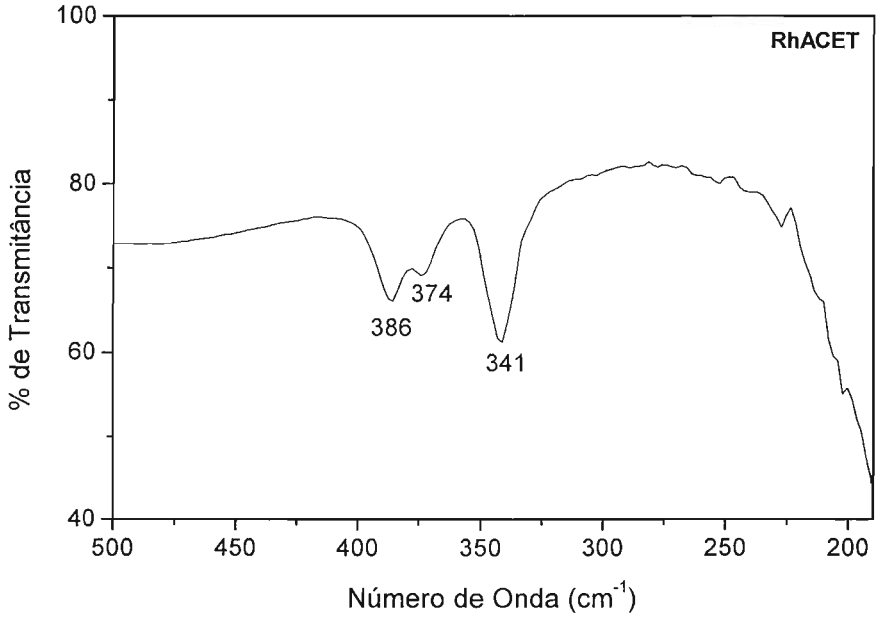


***FIGURA II.2.2.11*.- Espectro vibracional na região de 500 - 190 cm^{-1} do complexo RhACET.**

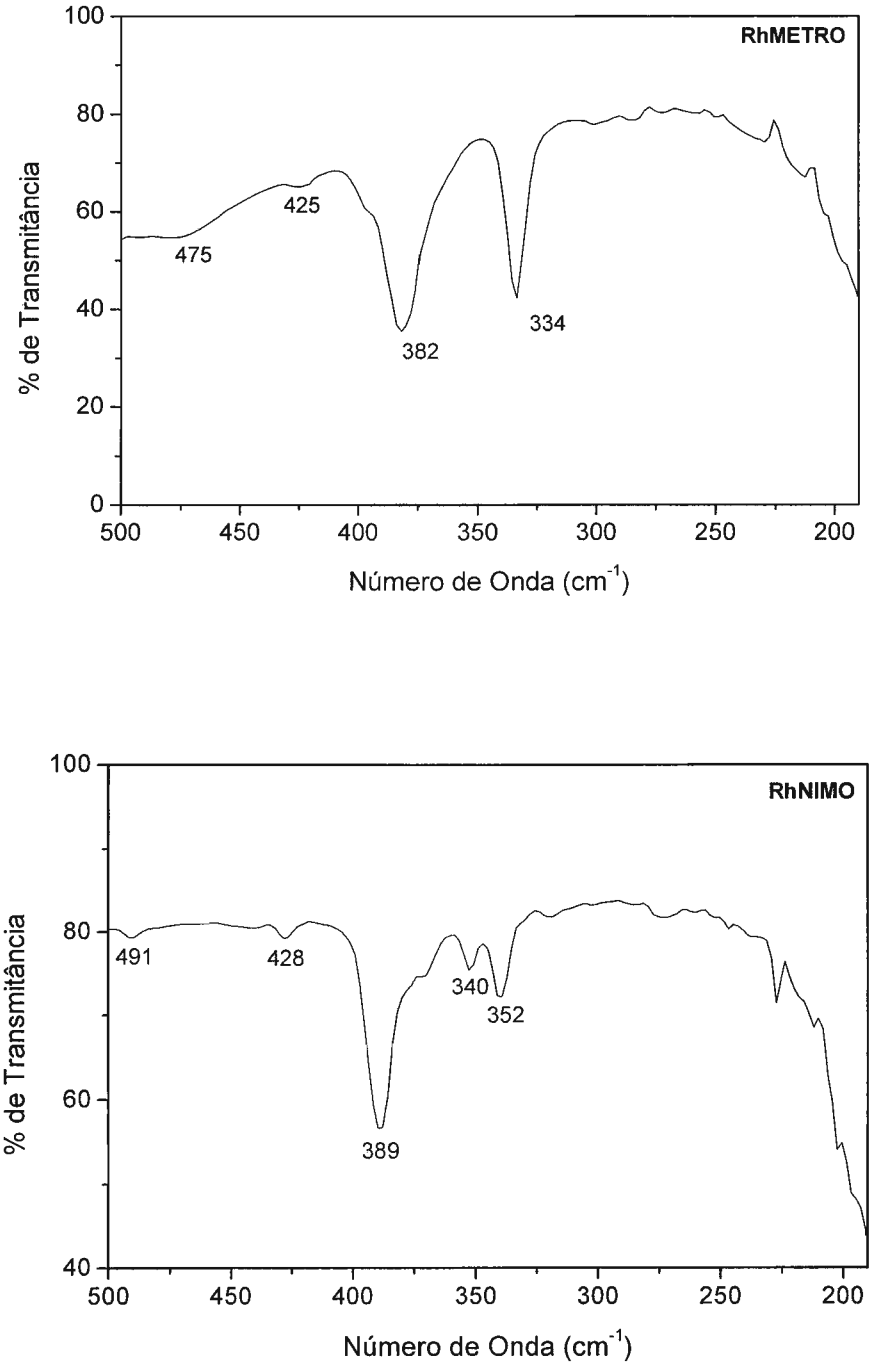
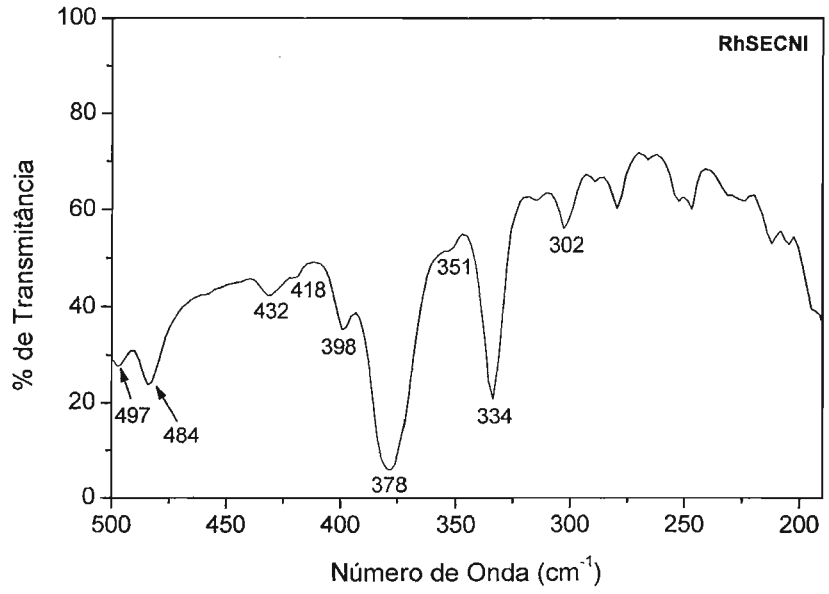


***FIGURA II.2.2.12*.- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos complexos RhMETRO e RhNIMO.**

B I B L I O T E C A
INSTITUTO DE QUÍMICA
Universidade de São Paulo



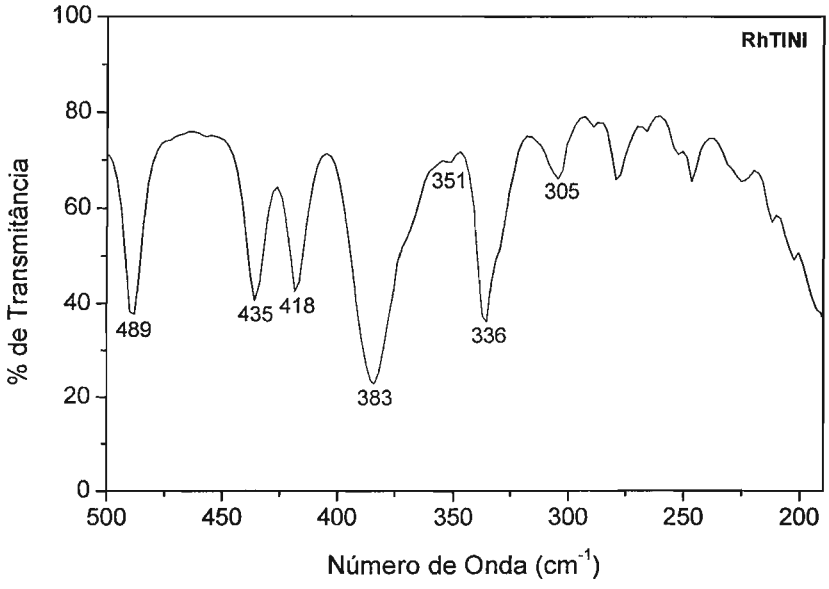


***FIGURA II.2.2.13*.- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos complexos RhSECNI e RhTINI.**

***TABELA II.2.2.8*.- Atribuição tentativa das bandas vibracionais no infravermelho afastado (500 – 190 cm^{-1}) dos complexos de $Rh_2(II,II)$.**

COMPLEXOS	$\nu\ e_u$ (Rh-O) (cm^{-1})	$\nu\ a_{2u}$ (Rh-O) (cm^{-1})	ν (Rh-N) (cm^{-1})
RhACET	386	341	--
RhMETRO	382	334	~ 475^{sh}
RhNIMO	389	340	491
RhSECNI	378	334	484
RhTINI	383	336	489

^{sh} = ombro

Com base nos espectros dos derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$ e nos resultados mostrados na Tabela II.2.2.8, observamos que todos os complexos apresentam as frequências ν_{eu}(Rh-O) e ν_{a2u}(Rh-O) nas faixas de 378 – 390 e 334 - 341 cm^{-1} respectivamente. Ambas as freqüências variam muito pouco com a mudança do ligante axial. As frequências ν_{a2u}(Rh-O) praticamente não se deslocam em comparação com o RhACET, o que já era esperado.

As bandas dos nitroimidazóis, que aparecem na região de 190 - 500 cm^{-1} para os ligantes livres, são de baixa intensidade nos espectros dos complexos de $Rh_2(II,II)$. Nessa região deve aparecer a banda correspondente à freqüência de estiramento da ligação Rh-N. De acordo com a literatura esta banda é observada na região de 470 – 490 cm^{-1} [53]. Em nossos complexos esta pode ser a que aparece em ~490 cm^{-1} (Tabela II.2.2.8).

C. Espectroscopia RAMAN

Para os carboxilatos de $Rh_2(II,II)$, a atribuição da frequência de estiramento ν(Rh-Rh) tem sido motivo de muita controvérsia. San Filippo e Sniadoch[54] sugeriram tentativamente que a banda aparecia em ~170 cm^{-1} no espectro do complexo

$[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(CH_3OH)_2]$. Estes resultados foram confirmados por Kharitonov *et al.*[55] e Kireeva *et al.*[56] que fizeram a atribuição desta frequência numa faixa de 150 - 170 cm^{-1} para uma série de complexos $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CR)_4(L)_2]$.

Posteriormente Clark *et al.*[57] trabalharam com substituição isotópica (^{16}O, ^{18}O e CD_3) no complexo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(PPh_3)_2]$ e não observaram a presença de bandas na região de 150 – 170 cm^{-1}. Uma banda que para os três casos apresentava-se praticamente na mesma frequência : 289 cm^{-1} (^{16}O), 289 cm^{-1} (^{18}O) e 287 cm^{-1} (CD_3), foi então atribuída à frequência ν(Rh-Rh). Por outro lado, duas bandas, que se apresentaram em ~ 338 e 321 cm^{-1} para o complexo com ^{16}O, foram deslocadas para menores números de onda com a substituição por ^{18}O e deslocaram-se ainda mais com a deuteração, sendo este comportamento esperado para modos em que predomina o estiramento ν(Rh-O). Estes mesmos autores fizeram estudos sobre a influência da variação do grupo R do ligante carboxilato ponte nas frequências ν(Rh-Rh) e ν(Rh-O)[49]. Os espectros Raman Ressonante dos complexos $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CR)_4(PPh_3)_2]$ (R = H, CH_3, C_2H_5 e C_3H_7), mostraram que a banda correspondente à frequência ν(Rh-Rh) se mantém constante com a mudança nos ligantes equatoriais, o que já não acontece com a ν(Rh-O) que apresenta-se em ~402 cm^{-1} para o formiato e desloca-se até ~ 289 cm^{-1} no butirato. Estas atribuições feitas por Clark *et al.* foram corroboradas por Miskowski *et al.*[58] Por estudos Raman Ressonante dos complexos $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4X_2]^{2-}$ (X = Cl^-, Br^-, I^-).

Com a finalidade de resolver a controvérsia na atribuição da frequência de estiramento ν(Rh-Rh), Pruchnik *et al.*[23,59] por meio de cálculos concluíram que ambas as bandas, tanto em ~170 – 180 cm^{-1} quanto em 280 – 300 cm^{-1} apresentam contribuição da vibração ν(Rh-Rh) e que não são bandas puras, estando provavelmente acopladas com as frequências ν(Rh-O), sendo este acoplamento dependente da constante de força da ligação Rh-Rh.

C.1 Espectros Vibracionais Raman dos Complexos de $Rh_2(II,II)$

Os espectros Raman do acetato de $Rh_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos são apresentados nas figuras II.2.2.14 - II.2.2.16. A Tabela II.2.2.29 mostra as principais freqüências atribuídas aos modos vibracionais no Raman.

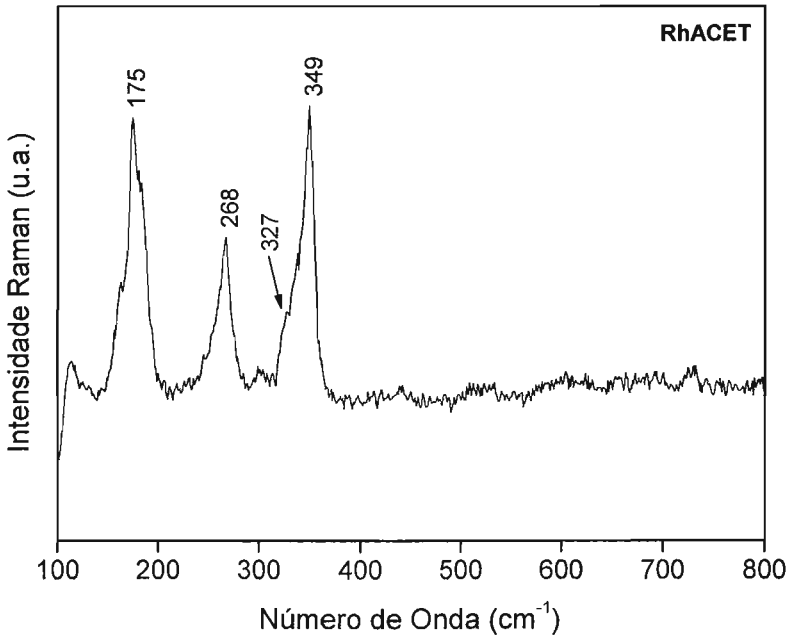
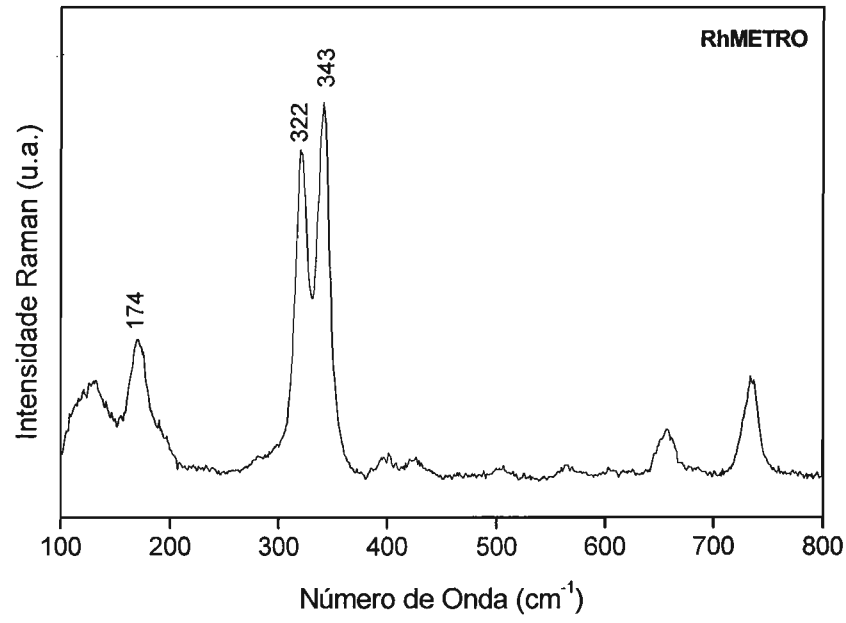


***FIGURA II.2.2.14.*- Espectro RAMAN do acetato de Rh_2 (II,II) : RhACET**



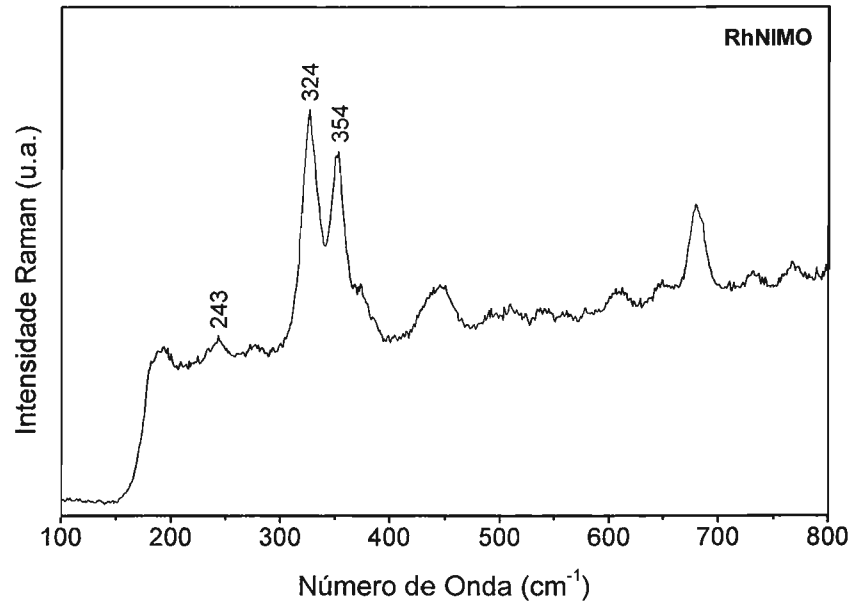


***FIGURA II.2.2.15.*- Espectros RAMAN dos complexos: RhMETRO e RhNIMO**

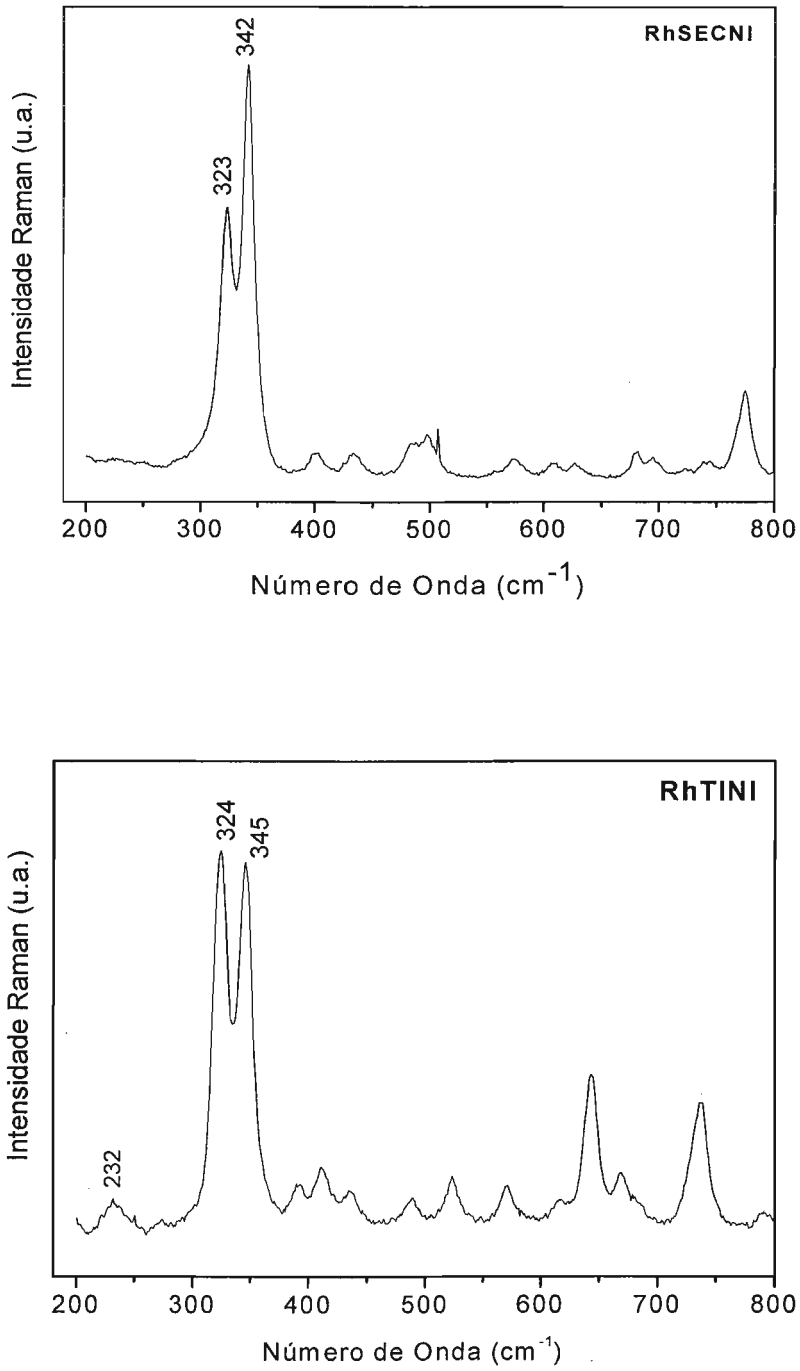


***FIGURA II.2.2.16.*- Espectros RAMAN dos complexos: RhSECNI e RhTINI**

***TABELA II.2.2.9.*- Principais bandas vibracionais Raman atribuídas tentativamente aos acetatos de $Rh_2(II,II)$ e seus derivados nitroimidazólicos**

COMPLEXOS	ν_{a1g} (Rh-Rh) (cm^{-1})	ν_{a1g} (Rh-O) (cm^{-1})
RhACET	175, 268	327^{sh}, 349
RhMETRO	174	322, 343
RhNIMO	243	324, 354
RhSECNI	[a]	323, 342
RhTINI	232	324, 345

[a] Não se observa devido ao limite de detecção do aparelho naquele dia.

Observando o espectro do precursor, RhACET (figura II.2.2.14), podemos ver que tanto a banda em 175 cm^{-1} quanto a banda em 268 cm^{-1} apresentam-se com uma intensidade bastante alta. Com base nos estudos de Pruchnik[23, 59], podemos atribuí-las a vibrações que apresentam contribuições da freqüência ν(Rh-Rh).

No espectro do derivado com metronidazol, RhMETRO (figura II.2.2.15), a banda em ~ 268 cm^{-1} não aparece e a banda em ~ 175 cm^{-1} apresenta-se com intensidade bastante diminuída, confirmando a influência que o ligante axial exerce na freqüência ν(Rh-Rh). Provavelmente a ligação Rh-Rh ficou enfraquecida pela entrada do metronidazol nas posições axiais. Este fato é confirmado quando comparamos os comprimentos da ligação Rh-Rh do derivado RhMETRO (2,39 Å)[16] e do composto de partida RhACET (2,28 Å)[2].

Nos espectros do RhNIMO e RhTINI (figuras II.2.2.15 e II.2.2.16), podemos observar que as bandas referentes ao modo ν(Rh-Rh) aparecem deslocadas para ~243 e ~232 cm^{-1}. A banda em ~197 cm^{-1} para o RhNIMO parece estar cortada pelo efeito do limite de detecção do aparelho e não foi atribuída. Em ambos os casos comprovam-se também a influência da entrada do ligante nas posições axiais. Analogamente ao METRO, o NIMO e o TINI causam um enfraquecimento da ligação Rh-Rh, e por isso observamos a freqüência ν(Rh-Rh) em regiões de menor energia

(menor número de onda). Para o caso do RuSECNI, a banda relativa à frequência ν(Rh-Rh) na região de 230 – 240 cm^{-1} não é observada, similar ao espectro raman do RhMETRO. A frequência ν(Rh-Rh) na região de ~170 cm^{-1} também não é observada mas neste caso é devido a que as medidas iniciaram-se a partir de 200 cm^{-1}, sendo que estes espectros foram obtidos em diferentes momentos durante este trabalho.

As bandas em ~320 e ~340 cm^{-1} podem ser atribuídas às frequências ν(Rh-O), estas também são observadas nos espectros dos derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$. Como relatado na literatura, estas bandas sofrem deslocamentos quando ocorrem mudanças nos ligantes equatoriais[49,57]. No nosso caso, o ligante equatorial foi mantido e, portanto, os derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$ apresentam as freqüências ν(Rh-O) (Tabela II.2.2.9) com valores muito próximos das bandas ν(Rh-O) do precursor RhACET.

6. Análises Termogravimétricas

O processo de decomposição térmica de carboxilatos de $Rh_2(II,II)$ usualmente ocorre em várias etapas. A saída dos ligantes axiais ocorre em primeiro lugar, sendo seguida, em temperaturas mais altas, da quebra completa da estrutura de gaiola, que produz óxido de Rh (III) sob atmosfera de ar e ródio metálico sob vácuo[2].

É possível representar o mecanismo dessa decomposição de acordo com as equações gerais:

$$Rh_2(O_2CCH_3)_4L_2 \rightarrow Rh_2(O_2CCH_3)_4L + L_{(g)} \quad .....(II.2.2.1)$$

$$Rh_2(O_2CCH_3)_4L \rightarrow Rh_2(O_2CCH_3)_4 + L_{(g)} \quad .....(II.2.2.2)$$

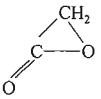
$$Rh_2(O_2CCH_3)_4 \rightarrow 2Rh^0 + 2CO_{(g)} + 3CH_3OH_{(g)} \quad .....(II.2.2.3)$$

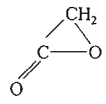
Kitchens e Bear[8,27] propuseram essas equações com base em estudos sobre derivados de acetato de $Rh_2(II,II)$ com DMSO e com dietil-dissulfeto. Nestes trabalhos, os autores relatam que a 400 °C os complexos foram decompostos a Rh^0. Embora os estudos termogravimétricos tenham sido conduzidos em atmosfera de

nitrogênio, eles mencionam que mesmo em atmosfera de ar o produto obtido não é a forma oxidada, Rh_2O_3, como foi reportado por Duval[60].

Bear *et al.*[61] voltaram a estudar o comportamento térmico dos carboxilatos de $Rh_2(II,II)$: acetato, propionato, butirato e seus derivados com DMSO e piridina. Eles observaram que o resíduo, imediatamente após a quebra da gaiola, foi Rh^0 e, prosseguindo o aquecimento, uma lenta conversão a Rh_2O_3 ocorre, mesmo em atmosfera dinâmica de N_2. Estudos posteriores de Shafranskii *et al.*[62] focalizaram o comportamento térmico nos derivados de carboxilatos de ródio com ligantes contendo diversos grupos doadores e da mesma forma, analisaram o comportamento das ligações metal-ligante frente ao aquecimento afirmando que o resíduo final era Rh^0, embora tenha sido observada uma nítida ascendência nas curvas, caracterizando um ganho de massa.

Um mecanismo de decomposição térmica foi proposto para os derivados contendo carboxilatos alifáticos $[Rh_2(O_2CR)_4L_2]$ com base nos produtos identificados por espectrometria de massas[8]. Assim o acetato de $Rh_2(II,II)$ decompõe-se para produzir CO, ácido acético e Rh metálico, de acordo com o esquema mostrado abaixo:

$$Rh_2^{II}(O_2CCH_3)_4 \rightarrow Rh_2^{II}(O_2CCH_2)(O_2CCH_3)_2(HO_2CCH_3) \rightarrow "Rh_2^{I}(O_2CCH_3)_2" + CH_3COOH + \text{  } \quad \text{....(II.2.2.4)}$$



$$\rightarrow \quad CH_2O + CO \quad \text{....(II.2.2.5)}$$

$$"Rh_2^{I}(O_2CCH_3)_2" + CH_2O \rightarrow 2Rh^0 + 2CH_3CO_2H + CO \quad \text{.....(II.2.2.6)}$$

A seguinte dissociação ocorre por aquecimento:

$$[Rh_2(O_2CR)_4L_2]_{(s)} \rightarrow [Rh_2(O_2CR)_4]_{(s)} + 2L_{(g)} \quad \text{....(II.2.2.7)}$$

Fouad e Mohamed[63] interessados no uso do ródio metálico como catalisador na indústria automobilística, fizeram estudos sobre a decomposição térmica do complexo $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4].H_2O$ com a finalidade de procurar um precursor alternativo produtor de Rh^0 que pudesse substituir o $RhCl_3$ que precisa de aproximadamente 1000 °C para se decompor e produzir o metal em atmosfera inerte.

A decomposição térmica do $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4].H_2O$ foi realizada em atmosfera de N_2 (40 mL / min) aquecendo o material com velocidades de 5, 10 e 15 °C/min numa faixa de 50 – 400 °C. O termograma obtido a uma velocidade de 5 °C/min mostrou uma perda de massa de ~ 7,5% entre 100 – 125 °C, que foi atribuída ao processo de desidratação (% massa calculada = 7,63). Este processo foi seguido de uma pequena perda de massa (~2,5%) até ~260 °C, temperatura em que inicia-se a principal reação de decomposição, na faixa de 260 – 275 °C, com uma perda de massa de ~40,8%, perfazendo um total de ~ 53%, que é consistente com a formação de Rh^0 (% massa calculada = 56,9). Quando a velocidade de aquecimento é aumentada, ocorre um deslocamento dos processos de desidratação e de decomposição para maiores temperaturas. Assim a uma velocidade de 15 °C/min obteve-se uma perda de massa de 55,3% que está mais próximo do valor esperado (56,9%) para a produção de Rh^0 : $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4].H_2O \rightarrow Rh^0$.

As curvas termogravimétricas do acetato de $Rh_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos em atmosfera de nitrogênio são apresentadas nas figuras II.2.2.17 - II.2.2.19. A Tabela II.2.2.10 apresenta as perdas de massa teórica e experimental desses complexos em função da formação de Rh_2O_3 quando aquecidos até 900 °C, e as temperaturas de decomposição.

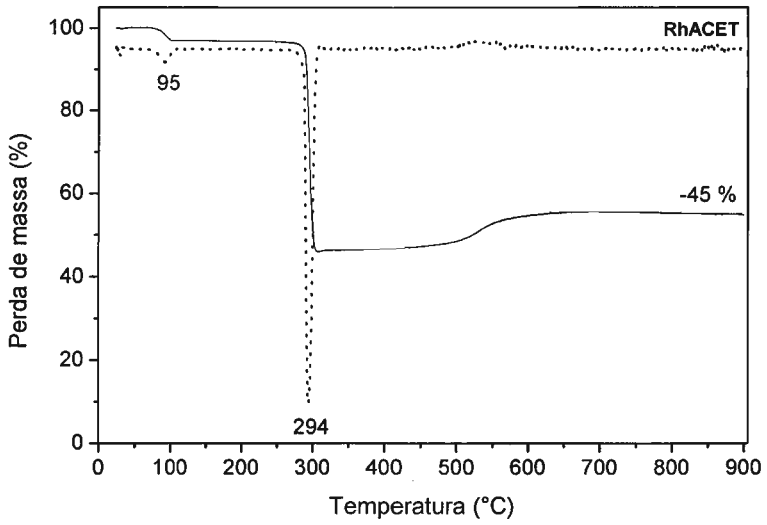
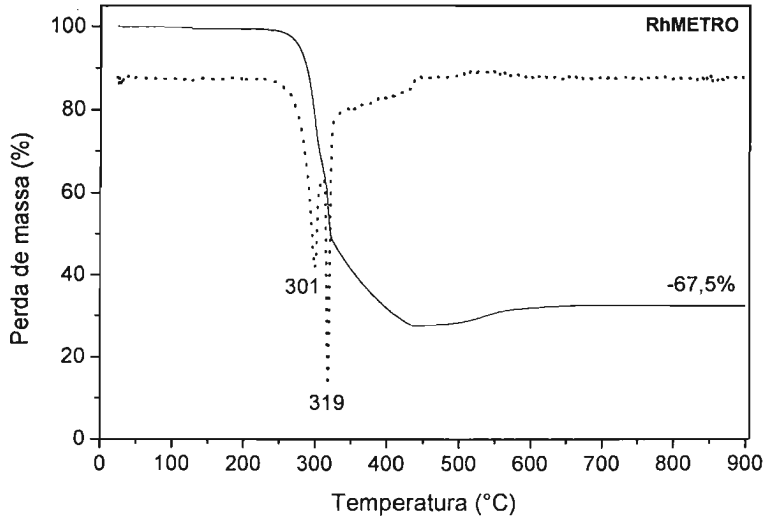


***FIGURA II.2.2.17.*- Curva TGA do complexo RhACET até 900 °C (10°C/min) em atmosfera de nitrogênio (50 mL/min).**



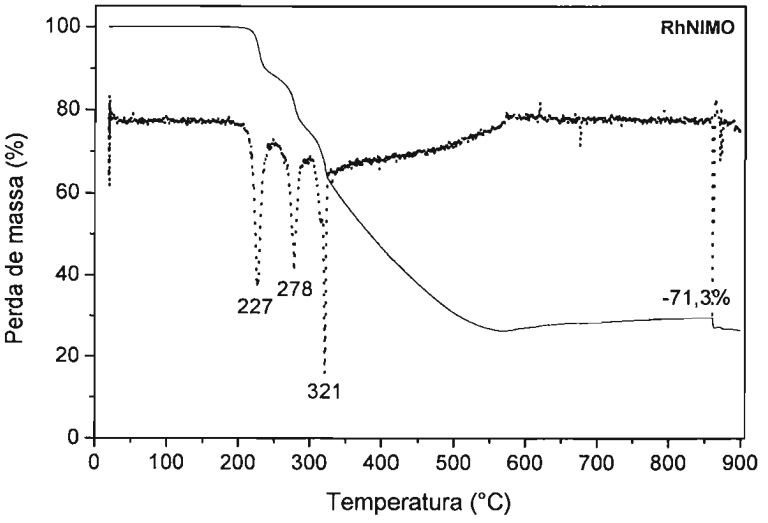
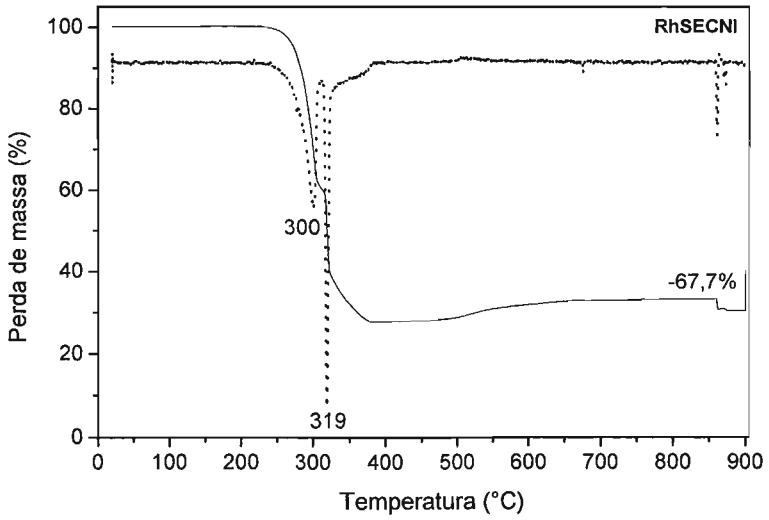


***FIGURA II.2.2.18*.- Curva TGA dos complexos RhMETRO e RhNIMO até 900 °C (10 °C/min) em atmosfera de nitrogênio.**



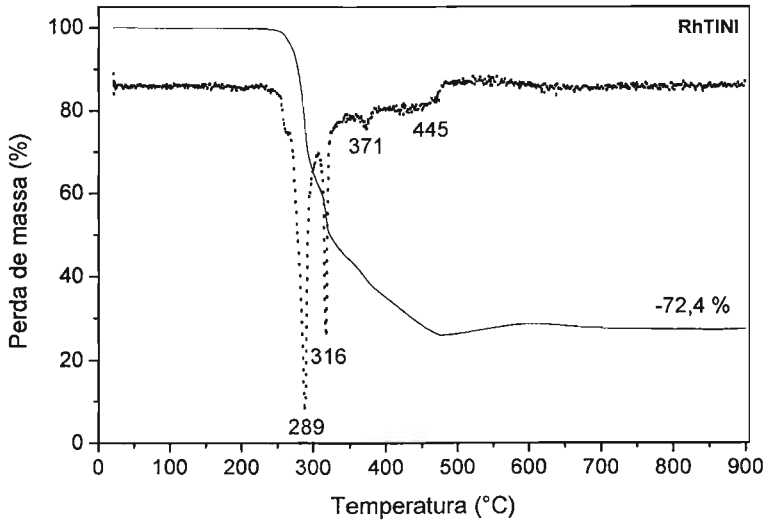


***FIGURA II.2.2.19.*- Curva TGA dos complexos RhSECNI e RhTINI até 900 °C (10 °C/min) em atmosfera de nitrogênio.**

***TABELA II.2.2.10*.- Temperaturas de decomposição e porcentagens de perda de massa do acetato de $Rh_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos em atmosfera de N_2 quando aquecidos até 900 °C.**

COMPLEXOS	TEMPERATURAS (° C) REFERENTES AOS PICOS DA DTG	% PERDA DE MASSA TOTAL EXPERIMENTAL	% PERDA DE MASSA TOTAL CALCULADA (Para formação de Rh_2O_3)
RhACET	95, 294	45,0	44,8
RhMETRO	300, 319	67,5	67,0
RhNIMO	227, 278, 321	71,3	71,6
RhSECNI	301, 319	67,7	68,8
RhTINI	289, 316, 371, 445	72,4	72,9

* $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4].H_2O$

De acordo com os dados da Tabela II.2.2.10 podemos observar que os resultados experimentais estão de acordo com o calculado para a formação de Rh_2O_3, confirmando assim as fórmulas que foram atribuídas para cada um destes complexos. O RhACET apresenta um pico em 95 °C que corresponde à perda da água de hidratação, similar ao observado por Fouad e Mohamed[64].

No caso dos derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$ os valores de perda de massa experimentais também são muito próximos dos valores calculados considerando a formação dos respectivos óxidos metálicos.

Os desvios das porcentagens totais de perda de massa foram maiores quando consideramos a produção de Rh^0 como resíduo. Porém, a formação de ródio metálico no processo de decomposição térmica não pode ser descartada.

Comparando a curva TGA dos derivados nitroimidazólicos com a do precursor RhACET, observamos que os picos DTG referentes às primeiras etapas dos processos de decomposição, ocorrem em temperaturas muito próximas (~300 °C), exceto para o derivado de nimorazol, cuja primeira etapa acontece em temperatura mais baixa (227 °C). Para os complexos de METRO e SECNI, as temperaturas das primeiras etapas são um pouco mais altas em relação aos picos DTG dos respectivos ligantes livres, o que pode ser indício de que esses ligantes são ligeiramente estabilizados com a complexação. O mesmo já não se observa para o derivado TINI, cuja primeira temperatura assemelha-se à do ligante livre. Já o

derivado de NIMO começa a se decompor em temperatura mais baixa do que o ligante livre.

Para os complexos nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$ não é possível saber se a saída dos ligantes axiais ocorre primeiro do que a decomposição da unidade dimetálica. Cálculos efetuados considerando separadamente as saídas do primeiro L_{axial}, do segundo L_{axial}, e dos dois L_{axiais}, não coincidem com os valores observados nas curvas TGA para nenhuma das temperaturas dos picos DTG. Nestes casos, portanto, embora os processos ocorram em mais de uma etapa, a saída dos ligantes nitroimidazólicos deve acontecer juntamente com a saída dos acetatos e quebra do núcleo dimetálico.

O complexo RhNIMO é o menos estável termicamente provavelmente por ser um melhor doador σ (não tem o grupo metila $-CH_3$ na posição 2 do anel imidazólico) consegue enfraquecer mais a ligação Rh-Rh em relação aos outros ligantes e provavelmente uma decomposição do centro de Rh-Rh esteja acontecendo simultaneamente à saída dos ligante axiais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Chernyaev, I.I.; Schenderetskoya, E.V.; Karyogina, A.A.; *Russ. J. Inorg. Chem.*, 1960, 5, 559.

[2] Boyar, E.B.; Robinson, S.D.; *Coord. Chem. Rev.*, 1983, 30, 109.

[3] Nazarova, L.A.; Chernyaev, I.I.; Mozorova, A.S.; *Russ. J. Inorg. Chem.*, 1966, 11, 1387.

[4] Legzdins, P.; Mitchell, R.W.; Rempel, G.L.; Ruddick, J.D.; Williamson, G. J.; *Chem. Soc.*, 1970, A, 3322.

[5] Rempel, G.A.; Legzdins, P.; Smith, H.; Wilkinson, G.; *Inorg. Sym.*, 1972, 13, 90.

[6] Dean, J.A.; *Handbook of Organic Chemistry*. 1987, McGraw-Hill (New York).

[7] Winkhaus, G.; Ziegel, P. Z.; *Anorg. Allg. Chem.*, 1967, 350, 51.

[8] Kitchens, J.; Bear, J.L.; *Termochem. Acta*, 1970, 1, 537.

[9] Valderrama, N.A.C., Síntese e Caracterização de Carboxilatos de Rh (II) e seus adutos com metronidazol: Ensaios Biológicos com Vistas à Atividade Radiossensibilizadora de Tumores, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP, 2000.

[10] Tang, R.; Diamond, S.C.; Neary, N.; Mares, J. J.; *Chem. Comm.*, 1978, 562.

[11] Souza, A.R.; Cicloalcanocarboxilatos de Ródio (II). Síntese, Estudos Espectroscópicos e Avaliação do Potencial Antitumor. Tese de Doutoramento, Instituto de Química, USP, 1995.

[12] Felthouse, T.R., *Progress in Inorg. Chem.*, 1982, 29, 73.

[13] Das, K. e Bear, L., *Inorg. Chem.*, 1976, 15, 2093.

[14] Goodgame, D.M.L., Lawrence, A.S., Slawin, A.M.Z, Williams, D.J., *Inorg. Chim. Acta*, 1986, 125.

[15] Goodgame, D.M.L, Page C.J.e Williams, D.J., *Polyhedron*, 1992, 11(19), 2507.

[16] Dale, L.D., Dyson, T.M., Tocher, D.A., Tocher, J.H. e Edwards, D.I., *Anticancer Drug Design*, 1989, 4, 295.

[17] Dyson, T.M., Morrison, E.C., Tocher, D.A., Dale, L.L. e Edwards, D., *Inorg. Chim. Acta, 1990*, 169, 127.

[18] Nothenberg, M.S., Funayama, G.K. e Najjar, R., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 1991, 42, 217.

[19] Norman, J.G.; Kolari, H.G.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100 (3), 791.

[20] Cotton, F.A.; Trexler, J.W.; *Inorg. Chem.*, 1988, 27 (19), 3265.

[21] Christoph, G.G.; Koh, Y.B.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101, 1422.

[22] Rotov, A.V.; Ugolkova, E.A.; Rakitin, Y.V.; *Russ. J. Inorg. Chem.*, 1991, 36 (7), 1026.

[23] Pruchnik, F.P., *Pure Appl. Chem.*, 1989, 61, 795.

[24] Natkaniec, L., Pruchnik, F.P., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1994, 3261.

[25] Dubicki, L., Martin, R.L., *Inorg. Chem.*, 1970, 9(3), 673.

[26] Mougenot, P., Demyunck, J. e Bernard, M., *Chem. Phys. Letters*, 1987, 136, 279.

[27] Kitchens, J.; Bear, J.L.; *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1969, 31, 2415.

[28] Miskowski, V.M.; Schaefer, W.P.; Sadeghi, B.; Santarsiero, B.D.; Gray, H.B.; *Inorg. Chem.*, 1984, 23, 1154.

[29] Souza, A.R.; Cicloalcano carboxilatos de Ródio (II). Síntese, Estudos Espectroscópicos e Avaliação do Potencial Antitumor. Tese de Doutoramento, Instituto de Química, USP, 1995.

[30] Stranger, R. et al.; *Inorg. Chem.*, 1996, 35 (8), 2268.

[31] Christoph, G.G., Halpern, J., Khare, G.P., Koh, Y.B. e Romanowski, C., *Inorg. Chem.*, 1981, 20, 3029.

[32] Norman, J.G., Renzoni, G.E. e Case, D.A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101, 5256.

[33] Bear, J.L.; Howard, R.A.; Korn, J.E.; *Inorg. Chim. Acta*, 1979, 32, 123.

[34] Drago, R.S.; Tanner, S.P.; Richman, R.M.; Long, J.R.; *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, 101, 2897.

[35] Drago, R.S.; Long, J.R.; Cosmano, R.; *Inorg. Chem.*, 1981, 20, 2920.

[36] Drago, R.S.; *Inorg. Chem.*, 1982, 21, 1697.

[37] Bursten, B.E.; Cotton, F.A.; *Inorg. Chem.*, 1981, 20, 3042.

[38] Pneumatikakis, G., Hadjiliadis, N., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1979, 4 596.

[39] Deacon, G.B.; Phillips, R.J.; *Coord. Chem.*, 1980, 33, 227.

[40] Deacon, G.B.; Huber, F.; Phillips, R.J.; *Inorg. Chim Acta*, 1985, 104, 41.

[41] Najjar, R.; Netto, E.R.; Takamo, Y.; *Inorg. Chim. Acta*, 1984, 89, 53.

[42] Najjar, R., De Oliveira, W., Carducci, J.B. e Watanabe, M., *Polyhedron*, 1989, 8, 1157.

[43] Mazo, G.Y.; Baranosvskii, I.B.; Schelonov, R.N.; *Russ. J. Inorg. Chem.*, 1979, 24, 1855.

[44] Miskowski, V.M., Loehr, T.M. e Gray, H.B., *Inorg. Chem.*, 1987, 26, 1098.

[45] Miskowski, V.M. e Gray, H.B., *Inorg. Chem.*, 1988, 27, 2501.

[46] Cukiernik, F. et al., *Inorg. Chim. Acta*, 1994, 215, 203.

[47] Galván-Tejada, N., Bernès, S., Castillo-Blum, S.E., Nöth, H., Vicente, R., Barba-Behrens, N., *Journal of Inorg. Bioch.*, 2002, 91, 339.

[48] Dikarev, E.V., Becker, R.Y., Block, E., Shan, Z., Haltiwanger, R.C. e Petrukhina, M.A., *Inorg. Chem.*, 2003, 42, 7098.

[49] Clarck, R.J.H. e Hempleman, A.J., *Inorg. Chem.*, 1989, 28, 746.

[50] Bhayat, I.I. e McWhinnie, W.R., *Spectrochimica Acta*, 1972, 28A, 743.

[51] Cornilsen, B. e Nakamoto, K., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1974, 36, 2467.

[52] Hodgson, J.B., Percy G.C.e Thornton, D.A., *J. Mol. Struct.*, 1980, 66, 81.

[53] Kesharwani, R. e Singh, P., *Asian Journal of Chemistry*, 12(1), 2000, 23.

[54] San Filippo, J., Jr., Sniadoch, H., *J. Inorg. Chem.*, 1973, 12, 2326.

[55] Kharitonov Y.Y., Mazo, G.Y., Knyazeva, N.A., *Russ. J. Inorg. Chem.*, 1970, 15, 739.

[56] Kireeva, I.K., Mazo, G. Ya, Shchelekov, R.N., Russ. *J. Inorg. Chem.*, 1979, 24, 220.

[57] Clark, R.J.H., Hempleman, A. e Flint, C.D., *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, 108, 518.

[58] Miskowski, V.M., Dallinger,R.F., Christoph, G.G., Morris, D.E., Spies, G.H. e Woodruff, W.H., *Inorg. Chem.*, 1987, 26, 2127.

[59] Pruchnik, F., Hanuza, J., Hermanowicz, K., Wajda- Hermanowicz, K., Pasternak, H. e Zuber, M., *Spectrochimica Acta*, 1989, 45A(8), 835.

[60] Duval, C., Inorg. Thermogravimetric Anal., 1963, 472.

[61] Bear, J.L. et al., *Inorg. Nucl. Chem.*, 1976, 38, 1015.

[62] Shafranski, V.N. e Vetera, J.A., *J. Gen. Chem. USSR*, 1979, 29, 428.

[63] Fouad, N.E. e Mohamed, M.A., *Journal of Analytical and Applied Pyrolisis*, 2000, 56, 123.

II.2.3.- COMPLEXOS DE $Cu_2(II,II)$

1. Sínteses

A metodologia utilizada para as sínteses dos derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II) foi similar àquela utilizada por Latif Abuhijleh na síntese do derivado do ibuprofenato e valproato de Cu_2(II,II) com metronidazol e outros ligantes N-doadores[1,2]. O autor menciona que a síntese do derivado de ibuprofenato de Cu_2(II,II) com metronidazol deve ser realizada em aproximadamente 50 °C. Nós realizamos a síntese do derivado de acetato de Cu_2(II,II) com metronidazol em três temperaturas diferentes: (a) com EtOH em ebulição, (b) em banho-maria e (c) em temperatura ambiente, observando que, nos três casos, o produto formado é o mesmo: $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(C_6H_9N_3O_3)_2]$ (Tabela II.2.3.1). O aumento da temperatura não facilita o rompimento da estrutura em gaiola, como pensamos que poderia ocorrer. Na literatura já foram reportadas sínteses de compostos mononucleares de Cu(II) com derivados imidazólicos e nitroimidazólicos, a partir de carboxilatos de Cu_2(II,II), com quebra da gaiola. Segundo os dados reportados, os carboxilatos de cobre que mantinham a estrutura dimérica eram somente aqueles que apresentavam ligantes equatoriais de maior tamanho, ou seja, com um grupo carboxílico R volumoso (μ-O_2CR) como o ibuprofenato ou valproato por exemplo[1,2,3,4,5,6,7,8,9].

Vários estudos sobre quais seriam os fatores que influenciam a adoção de uma estrutura mononuclear em preferência à dinuclear nos derivados de carboxilatos de Cu_2(II,II) têm sido realizados. Os resultados indicam que isto depende tanto das propriedades eletrônicas dos ligantes carboxilato em ponte quanto das propriedades eletrônicas e estéricas dos ligantes axiais. Geralmente um aumento da acidez dos grupos carboxilato e/ou da basicidade dos ligantes axiais favorecem a formação de complexos mononucleares[2].

Um outro fator importante nas sínteses é a razão molar entre o $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$ e o ligante axial. Segundo observamos em todos os artigos que relatam a síntese de complexos mononucleares[1, 2, 4-9], o ligante encontra-se em grande excesso, enquanto que nas sínteses dos dinucleares, a razão molar precursor : ligante é de 1:1[10], 1:2[11] ou máximo 1:4[1,2].

Em nossos casos a estrutura de gaiola foi mantida para os derivados nitroimidazólicos de acetato de Cu_2(II,II), apesar do acetato ser um ligante equatorial pouco volumoso. Inicialmente achamos que as condições de síntese, como baixa temperatura, evaporação lenta do solvente, e principalmente pouco excesso de

ligante nitroimidazólico é que estariam determinando a preferência da manutenção da gaiola em relação à sua quebra. Entretanto, um pouco depois de começarmos nossos estudos, Galván-Tejada *et al.*[11] reportaram a síntese do mesmo complexo de $Cu_2(II,II)$ com metronidazol por meio de refluxo de ambos os reagentes durante 6 horas. Embora possamos supor que um excesso de ligante axial poderia ser a causa da quebra da estrutura dimérica nos carboxilatos de $Cu_2(II,II)$, a moderada basicidade do metronidazol em relação ao ligante imidazol, neste caso, pode estar favorecendo a estabilidade da estrutura dinuclear do complexo.

Levando em consideração esses dados experimentais, decidimos realizar as sínteses de nossos derivados nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ usando uma relação molar intermediária, ou seja $1[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$: 3 nitroimidazol. As análises elementares são coerentes com a formação de espécies diméricas em todos os casos (Tabela II.2.3.1).

***TABELA II.2.3.1*.- Análises Elementares do acetato de $Cu_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos**

COMPLEXOS DE $Cu_2(II,II)$	CALCULADO			EXPERIMENTAL		
	C(%)	H(%)	N(%)	C(%)	H(%)	N(%)
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]$	34,05	4,29	11,91	34,38	4,08	12,05
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(NIMO)_2]$	38,28	4,94	13,74	38,68	4,56	14,10
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(SECNI)_2]$	36,02	4,67	11,46	36,30	4,39	11,54
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(TINI)_2]$	33,60	4,47	9,80	33,40	3,97	9,71

2. Testes de Solubilidade dos Complexos

As solubilidades do acetato de $Cu_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos foram testadas em diferentes solventes. Os resultados são mostrados na Tabela II.2.3.2.

***TABELA II.2.3.2.*- Solubilidade dos complexos de $Cu_2(II,II)$**

SOLVENTES	CuACET	CuMETRO	CuNIMO	CuSECNI	CuTINI
Água	s	s	s	s	s
MeOH	s	s	s	s	s
EtOH	p.s.	s	p.s.	s	p.s.
Acetona	p.s.	s	s	s	s
THF	p.s.	s	s	s	s
DMSO	p.s.	p.s.	s	s	s
Acetonitrila	i	s	s	s	s
DMF	p.s.	s	s	s	s
Hexano	i	i	i	i	i
Tolueno	i	i	p.s.	p.s.	p.s.
Diclorometano	i	p.s.	s	p.s.	s
Cloroformio	i	p.s.	s	s	s
1,4 dioxano	i	s	p.s.	s	s

s = solúvel, p.s. = pouco solúvel, i = insolúvel

Os derivados nitroimidazólicos apresentaram maior solubilidade em relação ao precursor CuACET em todos os solventes, sendo esta solubilidade bastante similar às dos correspondentes nitroimidazóis livres (Tabela II.2.1.2).

3. Espectroscopia Eletrônica

A. Estrutura Eletrônica e Espectros de Absorção dos Tetracarboxilatos de $Cu_2(II,II)$.

O acetato de cobre, $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$, é, sem dúvida, um dos complexos dinucleares com ligantes carboxilatos em ponte mais conhecido. Sua estrutura é semelhante a dos complexos de $Rh_2(II,II)$ e $Ru_2(II,III)$ apresentadas também neste trabalho, mas com uma diferença importante. Os átomos de oxigênio dos grupos acetato que atuam como ligantes-ponte entre os dois íons de Cu,

ocupam quatro posições num arranjo quadrado-planar em torno de cada íon de Cu(II). A quinta posição é ocupada pelo oxigênio de uma molécula de água e a sexta é ocupada pelo outro íon de Cu(II). A distância Cu-Cu é de 2,64Å, consideravelmente mais longa que a distância de 2,55 Å encontrada no cobre metálico. O cobre não forma uma ligação M-M como o Ru e o Rh em complexos análogos. Os íons Cu(II) apresentam configuração d^9 e um elétron desemparelhado. Se os dois íons formassem uma ligação metal-metal, esses elétrons estariam emparelhados e o complexo seria diamagnético. Caso contrário, esperar-se-ia um comportamento paramagnético. A 25 °C, o valor do momento magnético medido para o CuACET é de 1,4 M.B. por átomo de Cu, menor do que o valor do momento magnético de *spin-only* (1,73 M.B.). Isso sugere a existência de uma interação ou acoplamento fraco entre os elétrons desemparelhados nos dois átomos de Cu, nesse complexo. Supõe-se que a interação deva-se ao recobrimento dos orbitais $d_{x^2-y^2}$ dos centros metálicos com formação de uma ligação δ [12] (figura II.2.3.1).

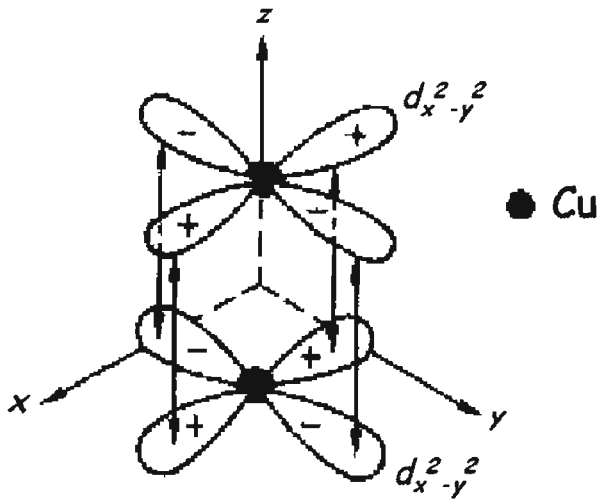


***FIGURA II.2.3.1*.- Recobrimento dos orbitais $d_{x^2-y^2}$ de dois átomos de Cu[13]**

Como mencionamos anteriormente, neste tipo de composto existe um fraco acoplamento dos elétrons desemparelhados, um de cada íon de Cu(II), originando um estado fundamental singlete. Este acoplamento, entretanto, pode dar origem também a um estado excitado triplete com energia um pouco mais alta. Este estado é populado com elétrons a temperatura ambiente e, nesse caso, a susceptibilidade magnética e momento magnético efetivo são dependentes da temperatura[14].

Como o recobrimento dos orbitais $3d_{x^2-y^2}$ é muito fraco, a interação M-M não poderia ser a responsável por manter a estrutura dimérica da molécula[13]. Outras

tentativas para explicar este comportamento consideram a possibilidade de existir uma interação entre os orbitais π dos ligantes carboxilato ponte RCO_2^- e os orbitais dos átomos metálicos[14].

A história sobre a elucidação do espectro eletrônico do acetato de cobre (II) é bastante instrutiva no que se refere aos progressos alcançados na utilização da técnica.

O relato mais antigo do espectro polarizado de monocristal do complexo $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$ foi apresentado por Tsuchida e Yamada em 1955. Esses autores observaram duas bandas bastante definidas: a banda I próxima de 700 nm que era esperada para Cu(II), e a banda II, em 370 nm, polarizada ao longo do eixo Cu-Cu na direção z, que não era observada nos espectros de complexos mononucleares de Cu(II). Em trabalhos posteriores, a banda II foi utilizada como um diagnóstico da estrutura dinuclear, até ser observado que algumas espécies mononucleares também exibiam essa banda[15]. Neste mesmo trabalho, os autores relatam que a posição e intensidade da banda I eram sensíveis à natureza do ligante axial enquanto que a banda II não sofria deslocamento. Esta última é uma banda muito difícil de se localizar, pois pode se apresentar como um ombro sobreposto a uma intensa banda de transferência de carga na região do UV[15].

A etapa seguinte da pesquisa foi a resolução do espectro num sistema de três componentes Gaussianas que correspondem às bandas Ia (910 nm), Ib (710 nm) e II (370 nm). Observou-se que a banda Ia é sensível às mudanças do ligante axial, deslocando-se para menores energias conforme aumenta a força doadora deste ligante. Uma terceira banda (banda III) bastante intensa foi observada em 250 nm, mostrando-se sensível ao tipo de ligante equatorial e já foi atribuída também a uma banda de transfererência de carga[15]. Com base em uma teoria muito simples de orbital molecular, concluiu-se que a banda II correspondia a uma transição entre orbitais associados a uma ligação σ formada entre os átomos de Cu(II).

Reimann *et al.*[16] atribuíram a banda Ib à transição $d_{xz,yz} \rightarrow d_{x^2-y^2}$, enquanto a banda Ia, polarizada em z, foi atribuída à transição $d_{xy} \rightarrow d_{x^2-y^2}$. A origem da banda II não foi estabelecida, mas eles sugeriram que se fosse uma banda d-d poderia ser atribuída à transição $d_{z^2} \rightarrow d_{x^2-y^2}$. Caso contrário a banda Ia é que seria devida a essa transição $d_{z^2} \rightarrow d_{x^2-y^2}$. Já Hansen e Ballhausen[17] sugeriram que a banda II era devida a um estado duplamente excitado do tipo $(d_{z^2} \rightarrow d_{x^2-y^2})^2$.

Estudos de Dubicki e Martin[18] mostraram que com a mudança do ligante axial a banda Ib era deslocada para menores comprimentos de onda. Quando mais eletroatraente o ligante, mais a banda II deslocava-se para maiores comprimentos de onda, comportamento este mais típico de uma banda de transferência de carga do que de uma banda d-d.

O espectro do $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$ foi examinado posteriormente em alta resolução numa faixa de temperatura de 4,2 – 290 K, observando-se que a banda II tinha dois componentes: a banda IIa em ~360 nm e IIb em ~325 nm. A intensidade da banda IIa dobrava em relação à da IIb numa faixa de 287 – 77 K, mas pequenas mudanças ocorriam na faixa de 77 – 4,2 K, indicando que a banda se originava do estado fundamental singlete do dímero, uma vez que a população eletrônica deste estado aumentava de ~57% até 99% a 77K e mudava pouco entre 77 e 4,2 K. Embora não tão conclusiva, a banda IIb foi considerada como uma banda de transferência de carga semelhante à banda IIa[15].

Todas estas observações que foram feitas nas décadas do 60 e 70 ainda se mantêm em vigência e as publicações mais recentes, em relação à espectroscopia eletrônica de carboxilatos dinucleares de $Cu_2(II,II)$, sempre citam os artigos aos quais também fazemos referência neste trabalho.

Com a finalidade de observar qual é a influência do ligante axial nas propriedades magnéticas e espectrais nos carboxilatos diméricos de $Cu_2(II,II)$, Kato *et al.*[19] estudaram uma série de carboxilatos de $Cu_2(II,II)$ com 3,5-dicloropiridina, que é uma base muito mais fraca do que a piridina, e compararam as propriedades do ligante com as dos derivados de $Cu_2(II,II)$.

Os perfis dos espectros de reflectância dos derivados com 3,5-dicloropiridina foram bastante similares ao do complexo $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(py)_2]$, apresentando duas bandas: uma em ~385 nm (banda II), atribuída a uma banda de transferência de carga dos átomos de oxigênio do carboxilato para o metal e a outra em ~715 nm (banda I) referente à transição $d_{xz,yz} \rightarrow d_{x^2-y^2}$. A banda I nos derivados com 3,5-dicloropiridina apareceram em menores comprimentos de onda em relação aos derivados com piridina, indicando que, ligantes axiais com menor força doadora deslocam a banda I para menores comprimentos de onda. Este fato pode ser explicado em termos do princípio da eletroneutralidade, assim em derivados de carboxilatos de $Cu_2(II,II)$, quando a doação $L_{axial} \rightarrow Cu$ é fraca, as ligações covalentes Cu-O no plano CuO_4 tornam-se mais fortes para manter a

eletroneutralidade da molécula, ou seja, uma fraca ligação $L_{axial} \rightarrow Cu$ poderia originar um forte campo ligante dos 4 átomos de oxigênio dos carboxilatos ao redor do átomo do íon metálico produzindo um maior desdobramento nos orbitais d-d, e resultando logo num deslocamento da banda I para menores comprimentos de onda[19].

Dendrinou *et al.*[20] estudando complexos do tipo $[Cu_2(L)_4(DMSO)_2]$ (L = anti-inflamatórios: tolmetin, ibuprofeno e naproxeno) observaram 3 bandas nos espectros eletrônicos em solução de DMSO e DMF. A banda I em ~720 nm, uma segunda banda que apresentou-se como um ombro (banda II) em ~370 nm e uma forte banda (banda III) em ~310 nm. Esses autores atribuíram a banda I à transição $d_{xz,yz} \rightarrow d_{x^2-y^2}$, a banda II a uma transição $d_{z^2} \rightarrow d_{x^2-y^2}$, de acordo com Reimann *et al.*[16], ou a uma transição de estado duplamente excitado $(d_{z^2} \rightarrow d_{x^2-y^2})^2$, de acordo com Hansen e Ballhausen[17]. Em soluções de diclorometano, a banda II não foi observada para os complexos de tolmetin e ibuprofeno, mas os autores afirmam que uma estrutura dinuclear não poderia ser descartada somente com base na ausência desta banda.

Vários autores têm estudado os espectros eletrônicos de carboxilatos de Cu_2(II,II) com ligantes axiais N-doadores. Abuhijleh mostrou que os espectros eletrônicos dos complexos $[Cu_2(ibuprofenato)_4(L)_2]$, L = metronidazol ou cafeína[1] em MeOH e $[Cu_2(ibuprofenato)_4(L)_2]$, L = metronidazol em CH_2Cl_2, apresentavam a banda I (em ~700 nm), mas não a banda II, que deveria estar sendo encoberta pela intensa banda do metronidazol ou da cafeína na região de 300 – 330 nm. Espectros similares foram observados para os complexos com nicotinamida $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(nicotinamida)_2]$[21] e $[Cu_2(indometacina)_4(L)_2]$ L = DMF, N-metilpirrolidona, N,N-dimetilacetamida[22] em solução.

B. Espectros de Absorção dos Derivados Substituídos de Cu_2(II,II) com Nitroimidazóis.

B.1 Em solução :

Os espectros eletrônicos na região do UV-VIS dos acetatos de Cu_2(II,II) e de seus respetivos derivados nitroimidazólicos são apresentados nas figuras II.2.3.2 –

II.2.3.6. A Tabela II.2.3.3 mostra os comprimentos de onda máximos e as absortividades molares estimadas a partir destes espectros.

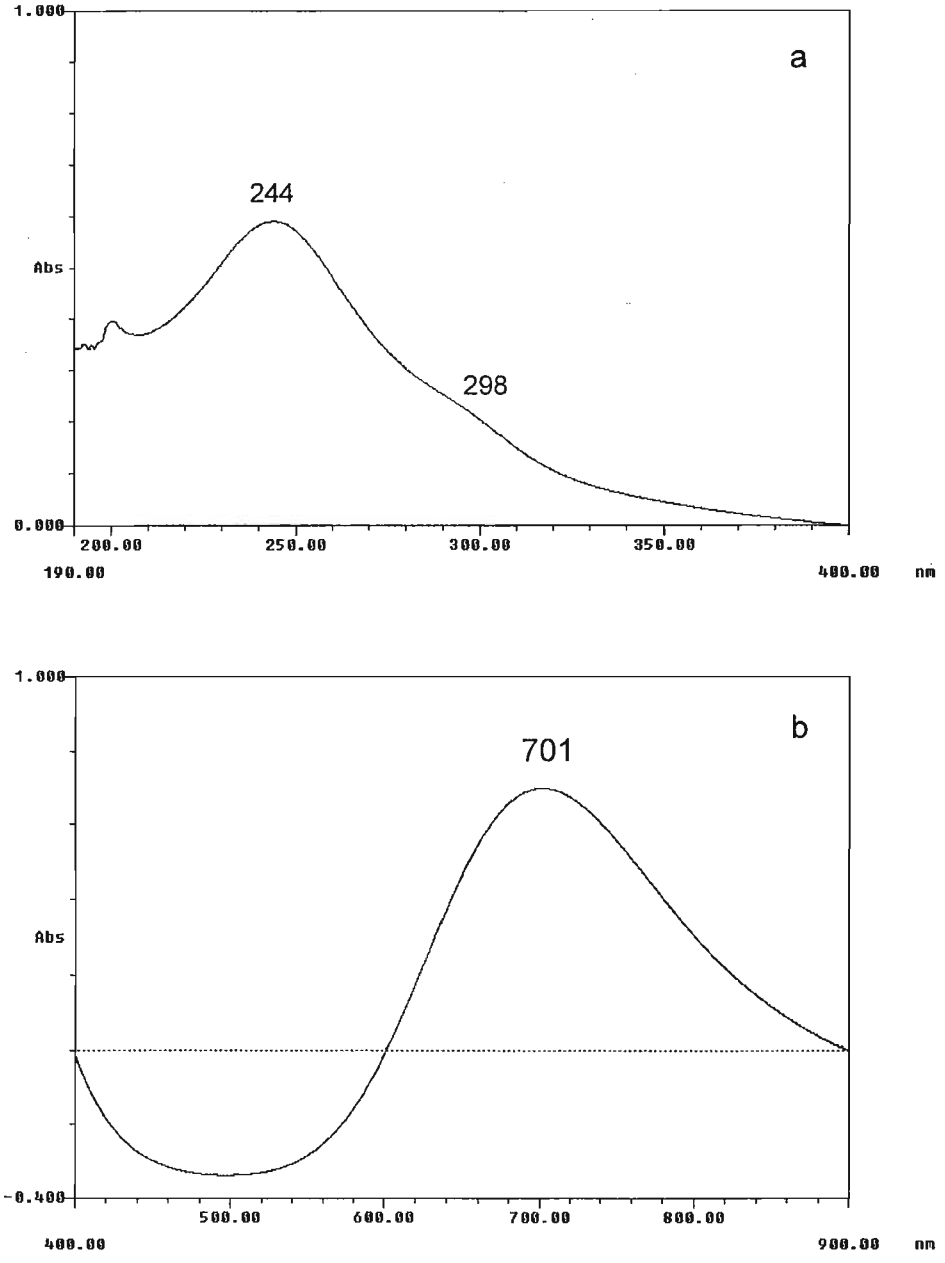


***FIGURA II.2.3.2.*- Espectros eletrônicos do complexo CuACET em metanol : (a) 1,0 x 10^{-4} mol dm^{-3}, (b) 0,5 x 10^{-2} mol dm^{-3}.**

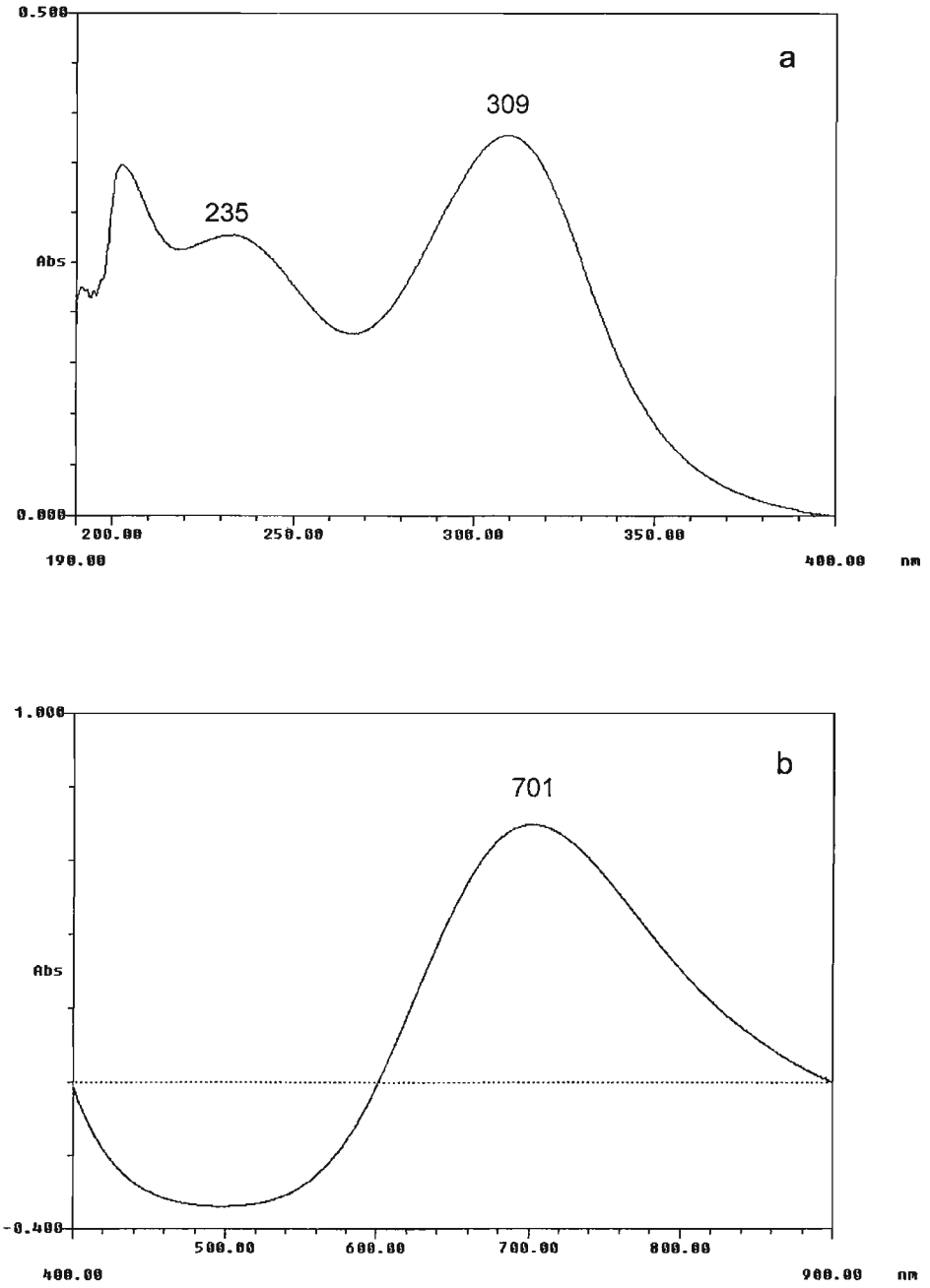


***FIGURA II.2.3.3.*- Espectros eletrônicos do complexo CuMETRO em metanol : (a) 1,0 x 10^{-5} mol dm^{-3}, (b) 0,5 x 10^{-2} mol dm^{-3}.**

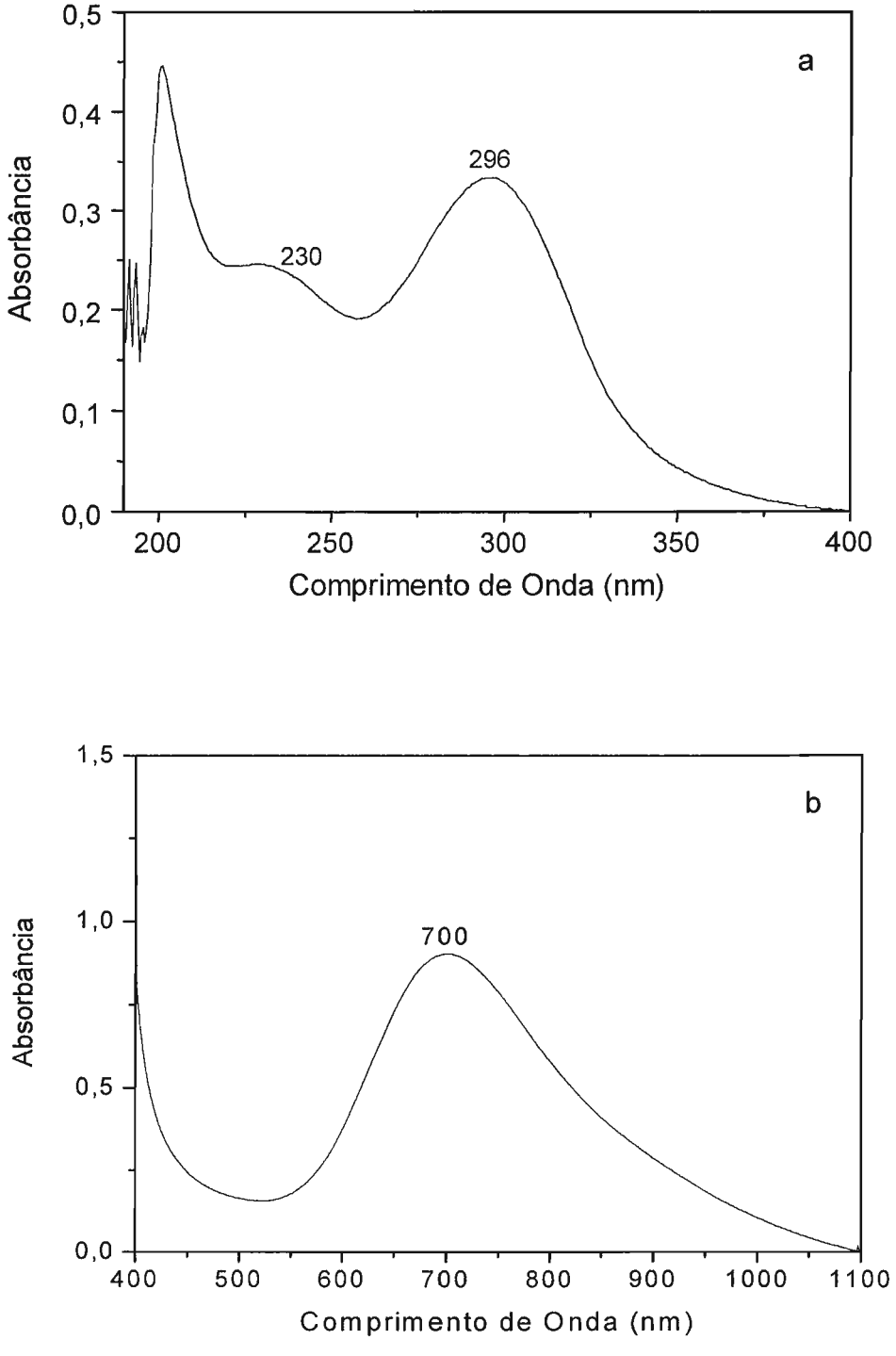


***FIGURA II.2.3.4.*- Espectros eletrônicos do complexo CuNIMO em metanol : (a) 1,0 x 10^{-5} mol dm^{-3}, (b) 0,5 x 10^{-2} mol dm^{-3}.**

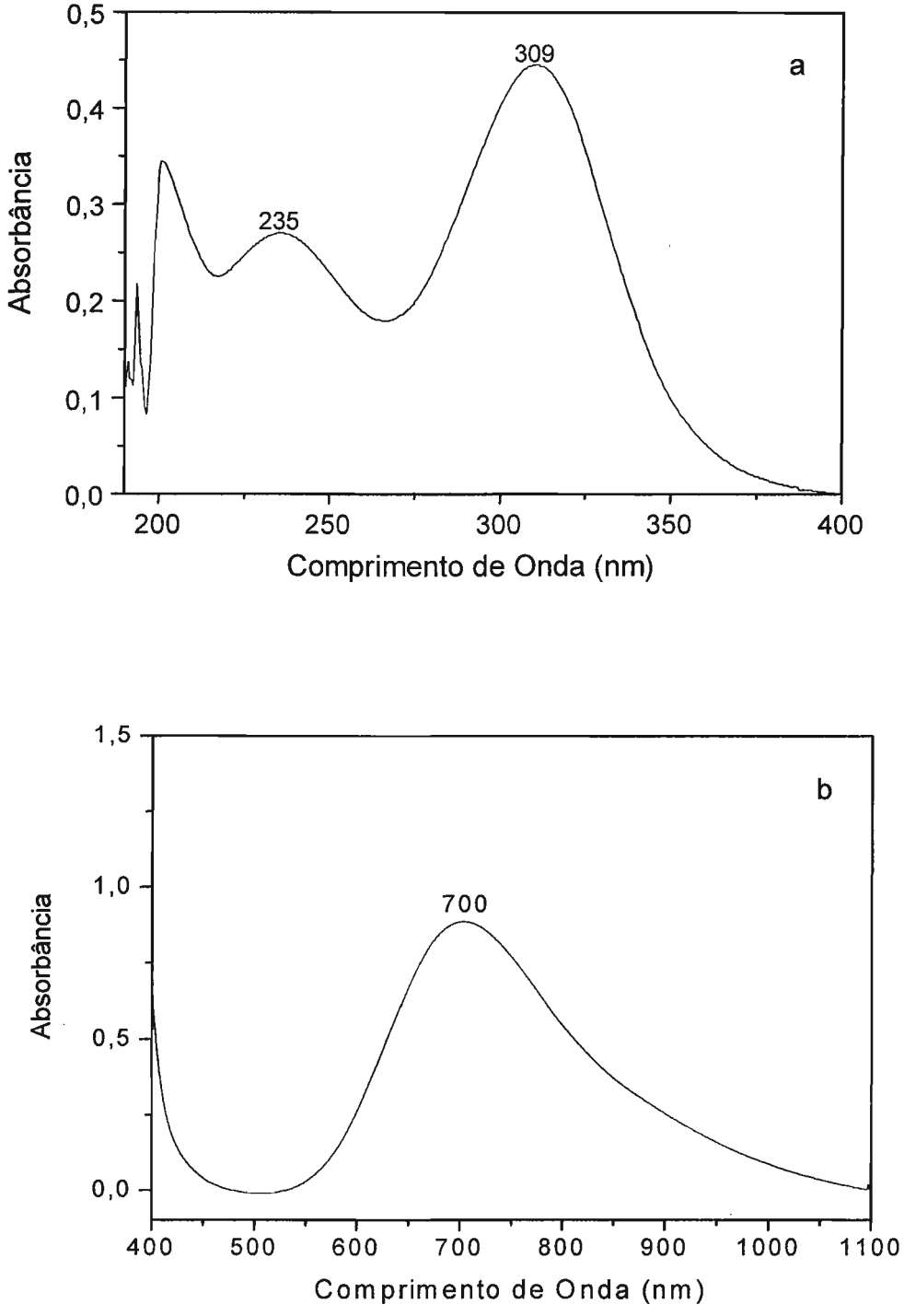
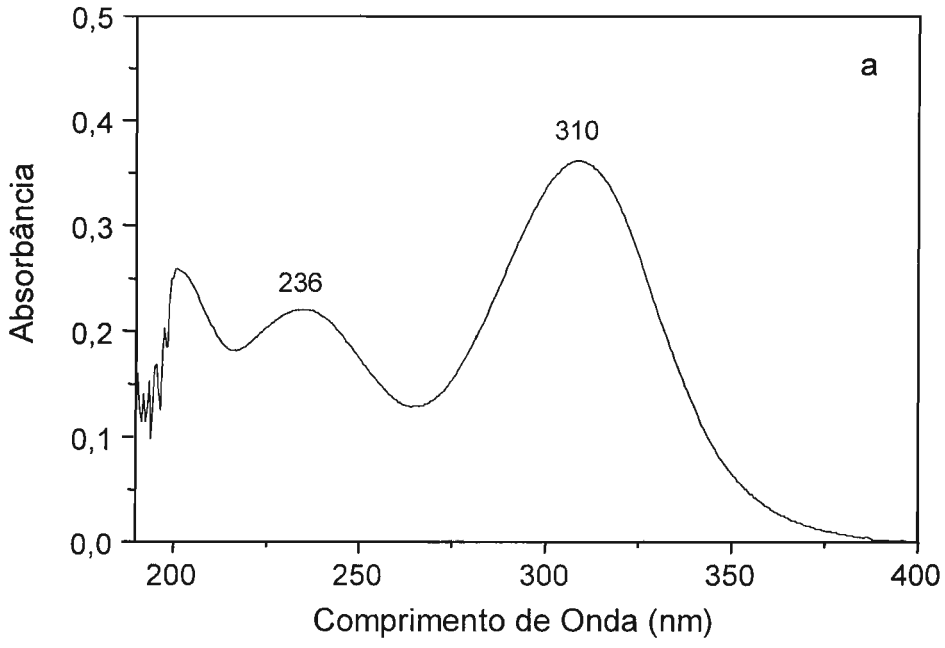


***FIGURA II.2.3.5.*- Espectros eletrônicos do complexo CuSECNI em metanol : (a) 1,0 x 10^{-5} mol dm^{-3}, (b) 0,5 x 10^{-2} mol dm^{-3}.**



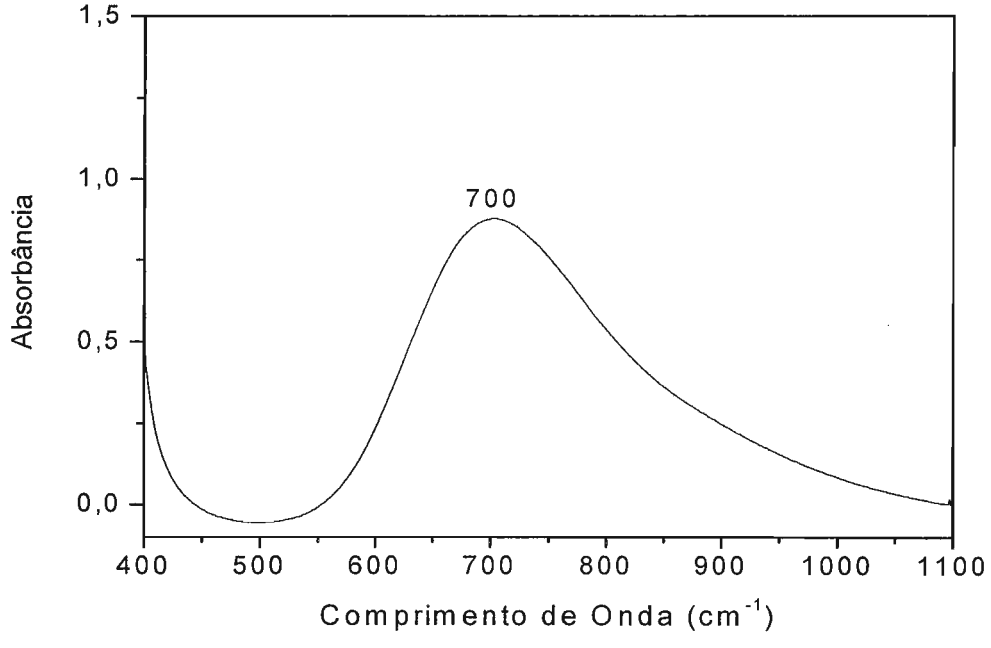


***FIGURA II.2.3.6.*- Espectros eletrônicos do complexo CuTINI em metanol : (a) 1,0 x 10^{-5} mol dm^{-3}, (b) 0,5 x 10^{-2} mol dm^{-3}.**

***TABELA II.2.3.3*.- Comprimentos de onda na região UV-VIS dos complexos de $Cu_2(II,II)$ em MeOH**

Complexos	Conc.x10^{-4} mol dm^{-3}	Ultravioleta* λ/nm (ε x 10^4 / $cm^{-1}mol^{-1}dm^3$)	Conc. x10^{-3} mol.dm^{-3}	Visível λ/nm (ε / $cm^{-1}mol^{-1}dm^3$)
CuACET	0,5	244 (1,2), 298^{sh}	0,5	701 (140)
CuMETRO	0,1	235^{sh}, 309 (3,8)	0,5	702 (140)
CuNIMO	0,1	230^{sh}, 296 (3,3)	0,5	700 (180)
CuSECNI	0,1	235^{sh}, 309 (4,5)	0,5	700 (180)
CuTINI	0,1	236^{sh}, 310 (4,4)	0,5	700 (180)

B. Espectros dos complexos CuACET e CuMETRO no estado sólido :

Os espectros eletrônicos dos complexos CuACET e CuMETRO no estado sólido são mostrados nas figuras II.2.3.7 e II.2.3.8 respectivamente.

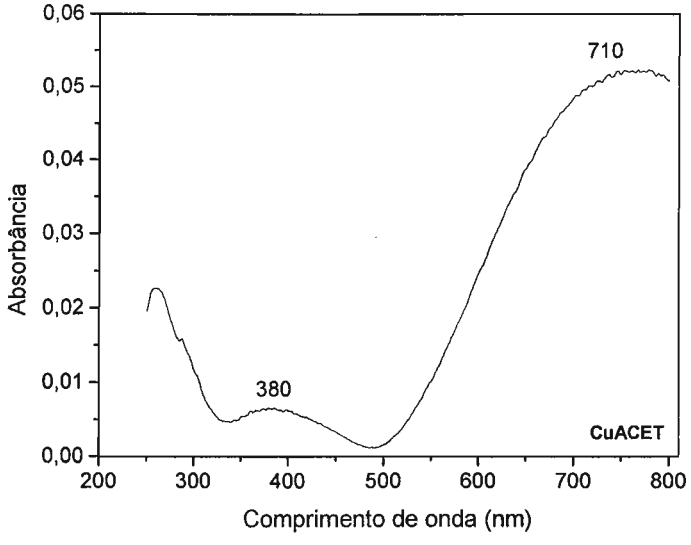


***FIGURA II.2.3.7*.- Espectro eletrônico do complexo CuACET no estado sólido**

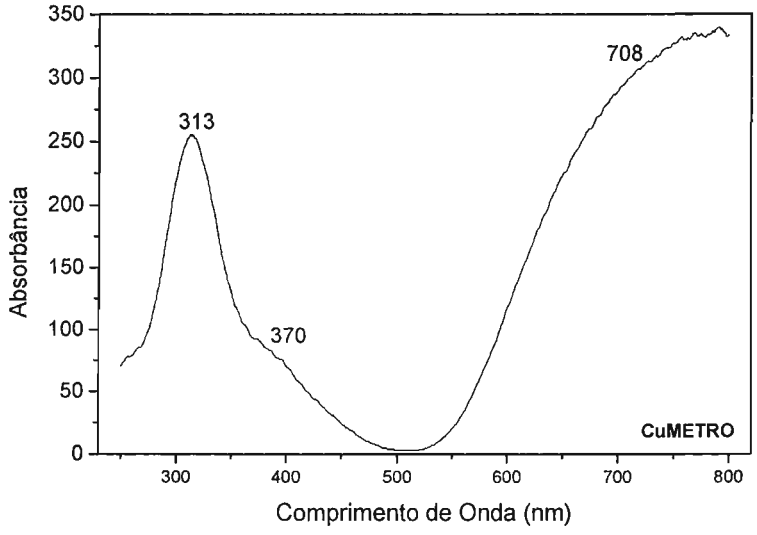


***FIGURA II.2.3.8*.- Espectro eletrônico do complexo CuMETRO no estado sólido**

B.3 Atribuição das Bandas

Com base nos espectros eletrônicos dos derivados nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ em solução metanólica e dos resultados apresentados na Tabela II.2.3.3, observamos que em todos eles está presente a banda I, em ~700 nm, que pode ser atribuída à transição $d_{xz,yz} \rightarrow d_{x^2-y^2}$. Para nenhum deles é possível observar a banda II, que seria indicativa de uma estrutura dinuclear[15] e deveria aparecer em ~ 375 nm. Provavelmente esta deve estar encoberta pela intensa banda $\pi \rightarrow \pi^*$ do ligante nitroimidazólico que aparece próxima a 300 nm. A banda que aparece em ~230 nm pode ser atribuída ao ligante axial.

Nos espectros dos sólidos CuACET e CuMETRO (figuras II.2.3.7 e II.2.3.8), a banda II aparece como um ombro, confirmando as estruturas diméricas de $Cu_2(II,II)$[15].

3.4 Medidas de Susceptibilidade Magnética

No ano de 1915, Lifschitz e Rosenbohn mediram o momento magnético efetivo do acetato de $Cu_2(II,II)$ a temperatura ambiente, encontrando o valor de 1,4 M.B., menor que o esperado para *spin-only* (1,73 M.B.) e menor também do que os

valores dos momentos magnéticos efetivos de complexos mononucleares de Cu(II), que estão na faixa 1,8 – 2,2 M.B.[15].

Abuhijleh[1] mostrou que os complexos do tipo $[Cu_2(ibuprofeno)_4L_2]$, L = metronidazol e cafeína, apresentavam μ_{eff} de 1,45 e 1,42 M.B. respectivamente, a 25°C, sugerindo que existe um acoplamento entre os átomos de Cu nestes casos. O mesmo foi observado para os complexos $[Cu_2(valproato)_4L_2]$, L = metronidazol e 2-metil-5-nitrobenzinidazol, que apresentaram, respectivamente, valores de 1,18 e 1,26 M.B. à temperatura ambiente[2].

Outros carboxilatos de Cu_2(II,II) com ligantes axiais N-doadores de fórmula: $[Cu_2(indometacina)_4L_2]$, L = DMF, N,N-dimetilacetamida e N-metilpirrolidona, exibem valores de μ_{eff} na faixa de 1,42 – 1,53 M.B. a temperatura ambiente, apresentando também acoplamento antiferromagnético entre os centros de Cu[22].

A Tabela II.2.3.4 apresenta os valores das susceptibilidades magnéticas molares corrigidas e dos momentos magnéticos efetivos do acetato de Cu_2(II,II) e seus respectivos derivados nitroimidazólicos.

Todos os valores de μ_{eff} dos derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II), encontram-se na faixa de 1,40 – 1,55 M.B., que está de acordo com os resultados mostrados na literatura[1,2,22] para carboxilatos dinucleares de cobre, de fórmula $[Cu_2(carboxilato)_4L_2]$. Isto confirma a estrutura dinuclear com carboxilatos em ponte e a existência de um acoplamento antiferromagnético entre os átomos metálicos para todos eles. Particularmente, o valor de μ_{eff} do derivado CuMETRO (1,53 M.B.) é similar ao apresentado por Galván-Tejada para o mesmo complexo (1,55 M.B.)[11].

***TABELA II.2.3.4.*- Susceptibilidades Magnéticas Molares (χ_M) e Momentos Magnéticos Efetivos (μ_{eff}) dos complexos de Cu_2(II,II).**

COMPLEXOS	T / °C	$\chi_M \times 10^{-4}$ (unidades CGS mol^{-1})	μ_{eff} (M.B.)
CuACET	25,0	8,7	1,45
CuMETRO	25,0	9,8	1,53
CuNIMO	25,0	8,1	1,40
CuSECNI	25,0	10,0	1,55
CuTINI	25,0	9,1	1,48

5. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica, EPR.

A formação de dímeros, no caso dos carboxilatos de Cu_2(II,II) e seus derivados, pode ser identificada também por medidas de EPR.

Esta técnica permite estudar moléculas ou íons com elétrons não-emparelhados através da ressonância produzida por campos magnéticos na presença de radiação eletromagnética monocromática. Os campos magnéticos usados encontram-se na ordem de 0,3 x 10^4 G (0,3 T) e correspondem a ressonâncias com campos eletromagnéticos de freqüência de 10 GHz (10^{10} Hz) e comprimento de onda de 3 cm. Como a radiação de 3 cm está na banda X da região das microondas, o EPR é considerado uma técnica de microondas, onde os espectros são obtidos pelo registro da absorção das microondas em função do campo. A técnica é adequada para estudar radicais livres, complexos de metais de transição e moléculas em estado triplete, mas é insensível para moléculas com spins emparelhados[23].

Os carboxilatos de Cu_2(II,II) representam um típico caso de estado triplete randomicamente orientado (S=1) de simetria axial e os seus espectros podem ser satisfatoriamente analisados usando a equação de Hamiltoniano de spin a seguir:

$$\mathbf{H} = \beta g H \mathbf{S} + D[\mathbf{S}^2_Z - 1/3\ S(S+1)] + E(\mathbf{S}^2_X + \mathbf{S}^2_Y) \quad \ldots\ldots (II.2.3.1)$$

O primeiro termo ($\beta g H \mathbf{S}$) é o efeito Zeeman que descreve a interação entre o campo magnético e o momento magnético de spin e o segundo ($D[\mathbf{S}^2_Z - 1/3\ S(S+1)]$) e terceiro ($E(\mathbf{S}^2_X + \mathbf{S}^2_Y)$) termos são conhecidos como desdobramentos de campo zero[24,25,26].

D e E representam os parâmetros de desdobramento de campo zero, axial e rômbico respectivamente (desdobramento de campo zero é o desdobramento equivalente ao estado triplete em sistemas dinucleares de Cu na ausência de campo externo);

x, y, z são as coordenadas fixadas com respeito à ligação Cu-Cu;

H, campo magnético externo;

β, magneton de Bohr; 9,27 x 10^{28} J $Gauss^{-1}$;

g, tensor de desdobramento anisotrópico ou constante giromagnética;

S, vetor de spin total;

$\mathbf{S_x}$, $\mathbf{S_y}$, $\mathbf{S_z}$, vetor de spin total na coordenada x, y e z respectivamente;

S, spin total = 1.

A figura II.2.3.9 mostra os níveis de energia para um sistema dinuclear de Cu (II) num estado de triplete, onde J corresponde ao acoplamento magnético Cu-Cu.

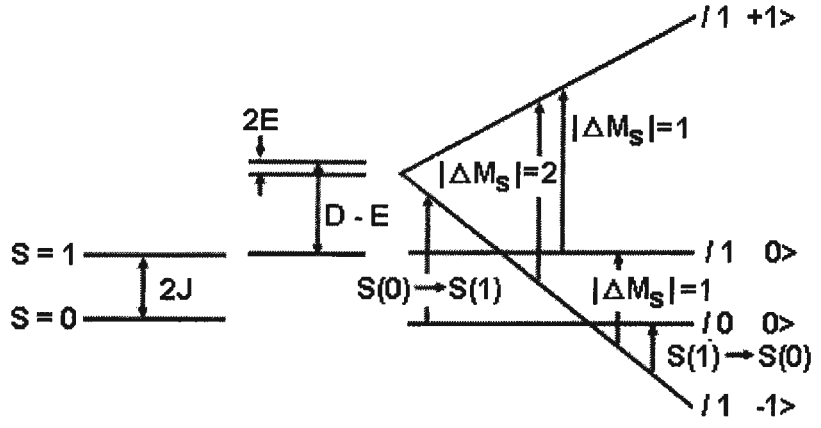


***FIGURA II.2.3.9*.- Representação esquemática dos níveis de energia de um complexo dinuclear de Cu_2(II,II).**

Outros autores considerando que para uma espécie dinuclear de Cu, *S* = 1, indicam que a equação II.2.3.1 pode também ser expressa como[27, 28]:

$$H = \beta g B_o \mathbf{S} + D\mathbf{S}_Z^2 + E(\mathbf{S}_X^2 + \mathbf{S}_Y^2) - \frac{2}{3}D \qquad \text{..... (II.2.3.2)}$$

Utilizando este Hamiltoniano e as funções de spin para estado triplete, a matriz Hamiltoniana pode ser derivada e facilmente solucionada para os três casos onde o campo externo coincide com um dos eixos principais (x, y e z).

Assim, quando o campo magnético está alinhado com um dos eixos, duas transições para cada eixo são permitidas pela regra de seleção $\Delta m_s = \pm 1$ e, portanto podem ser determinados seis campos ressonantes[13]:

$$H_{x1}^2 = (g_e/g_x)^2 [(H_0 - D` + E`)(H_0 + 2E`)] \quad \text{..... (II.2.3.3)}$$

$$H_{x2}^2 = (g_e/g_x)^2 [(H_0 + D` - E`)(H_0 - 2E`)] \quad \text{..... (II.2.3.4)}$$

$$H_{y1}^2 = (g_e/g_y)^2 [(H_0 - D` - E`)(H_0 - 2E`)] \quad \text{..... (II.2.3.5)}$$

$$H_{y2}^2 = (g_e/g_y)^2 [(H_0 + D` + E`)(H_0 + 2E`)] \quad \text{..... (II.2.3.6)}$$

$$H_{z1}^2 = (g_e/g_z)^2 [(H_0 - D`)^2 - E`] \quad \text{..... (II.2.3.7)}$$

$$H_{z2}^2 = (g_e/g_z)^2 [(H_0 - D`)^2 - E`] \quad \text{..... (II.2.3.8)}$$

onde:

H_0: $h\nu/g_e\beta$;

$D` = D/g_e\beta$;

$E` = E/g_e\beta$;

H_{z1} e H_{z2} são, por exemplo, as duas transições permitidas por $|\Delta M_s| = 1$ quando o campo magnético está na direção do eixo z;

h: constante de Planck = $6{,}626 \times 10^{34}$ J.s ;

ν: Freqüência da radiação eletromagnética, em nosso caso = $9{,}3612 \times 10^9$ Hz;

g_e: valor de g para um elétron livre = 2,0023.

Para materiais policristalinos é impossível alinhar o campo magnético ao longo de um eixo dado e, portanto, o espectro observado reflete uma soma de todas as orientações possíveis.

Para o caso específico dos complexos dinucleares de $Cu_2(II,II)$, o parâmetro D é sempre maior que a energia do campo induzido, ou seja $D > h\nu$, e algumas das transições não podem ser observadas, como é o caso de H_{x1} e H_{y1}, Assim, o espectro EPR deve apresentar 4 linhas (hiperfinas). Se considerarmos ainda o fato de que E = 0 quando a molécula apresenta simetria axial, então o espectro vai apresentar apenas três hiperfinas, ou seja, três campos ressonantes[20]:

$$H_{\perp}^2 = (g_e/g_{\perp})^2[H_0(H_0 + D')] \quad \text{..... (II.2.3.9)}$$

$$H_{z1} = (g_e/g_{//})\,(H_0 - D')] \quad \text{..... (II.2.3.10)}$$

$$H_{z2} = (g_e/g_{//})\,(H_0 + D')] \quad \text{..... (II.2.3.11)}$$

As componentes do tensor g em relação aos eixos cartesianos, $g_{\perp}$ e $g_{//}$ que junto ao D, são chamados de parâmetros de EPR ajudam a elucidar se o sistema estudado corresponde a uma estrutura dinuclear de Cu(II).

Um exemplo de espectro EPR para uma espécie dinuclear de $Cu_2(II,II)$ pode ser observado na figura II.2.3.10 :

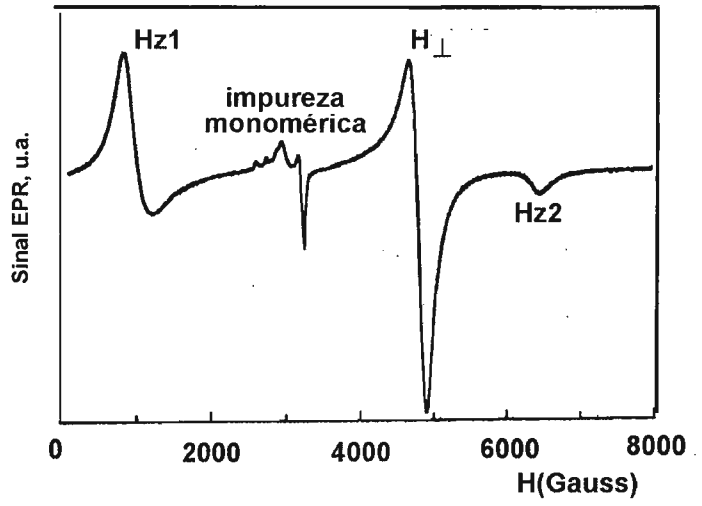


***FIGURA II.2.3.10*.- Espectro EPR do complexo $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(DMSO)_2]$ a 180 K, mostrando os campos onde aparecem as hiperfinas e as impurezas devido à presença de monômero[27].**

Quando as moléculas perdem a simetria axial, observa-se que a hiperfina correspondente a $H_{\perp}^2$, desdobra-se em dois sinais, isto significa que E tem um valor bastante baixo, mas não é zero.

Quando utilizamos a banda Q das microondas, o espectro de EPR apresenta cinco hiperfinas, isto porque na banda Q, D < hν e, portanto, na região de maior energia do campo externo, um número maior de transições podem ser observadas[28].

Os espectros EPR do acetato de $Cu_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos são mostrados nas figuras II.2.3.11 – II.2.3.13.

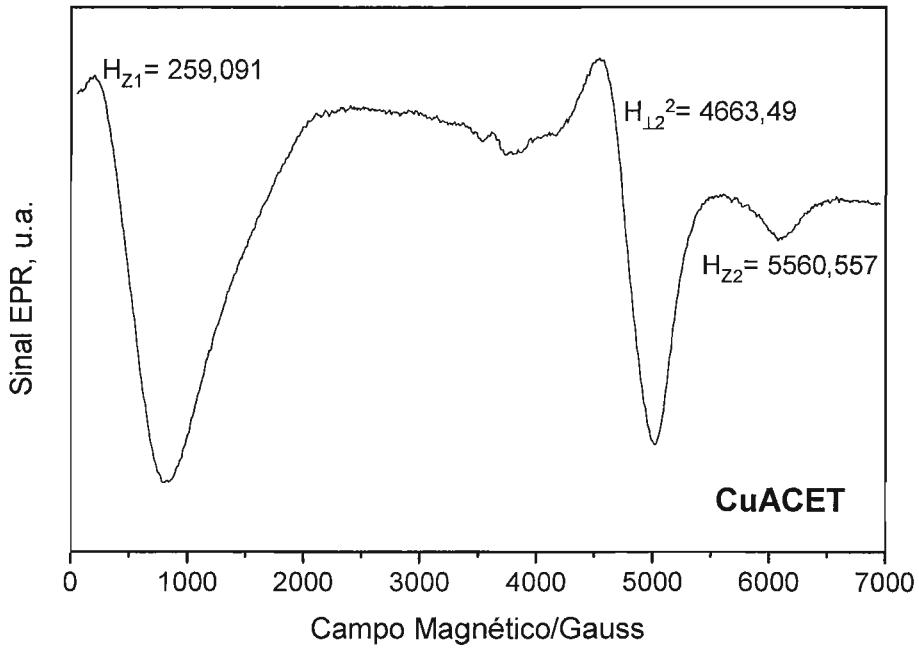


***FIGURA II.2.3.11*.- Espectro EPR do acetato CuACET**

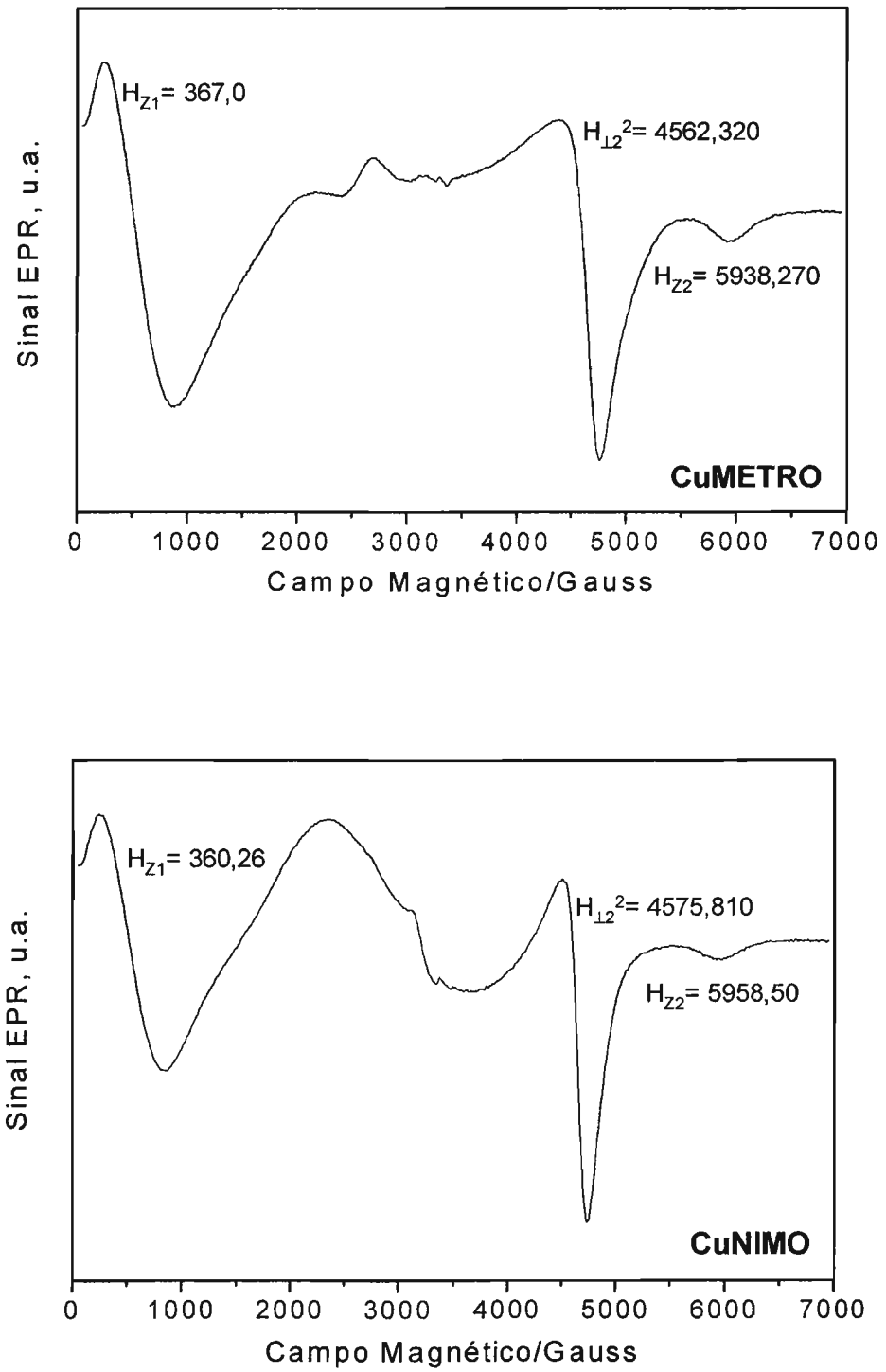


***FIGURA II.2.3.12.*- Espectros EPR dos complexos: CuMETRO e CuNIMO**

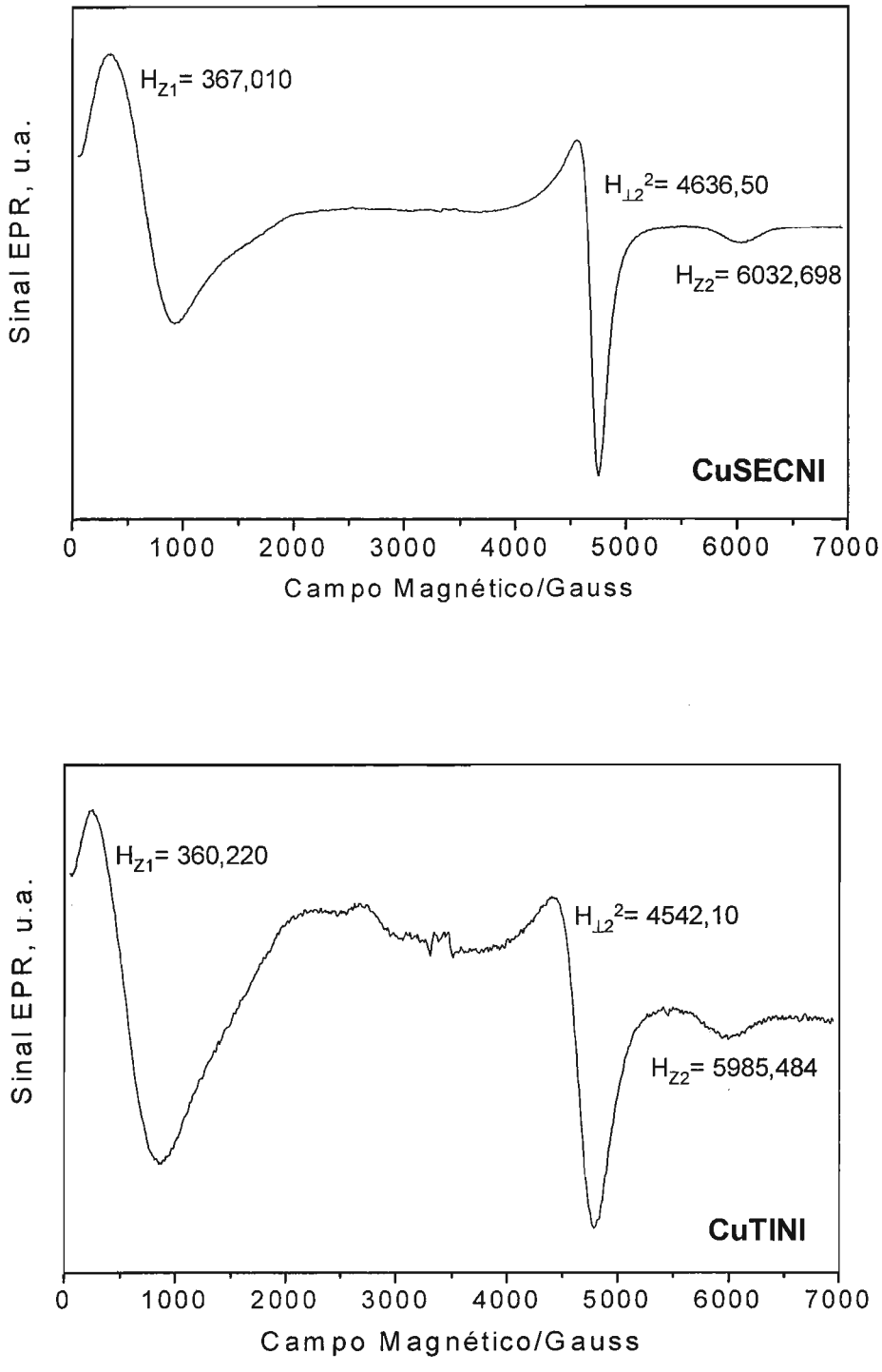


***FIGURA II.2.3.13.*- Espectros EPR dos complexos CuSECNI e CuTINI**

Os valores de H_{z1}, H_{z2} e $H_{\perp z}^2$ obtidos a partir dos espectros de EPR são mostrados na Tabela II.2.3.5.

TABELA II.2.3.5.- Valores dos campos magnéticos : H_{z1}, H_{z2} e $H_{\perp z}^2$ do acetato de Cu_2(II,II) e de seus derivados nitroimidazólicos.

COMPLEXOS	H_{z1} (G)	$H_{\perp 2}^2$ (G)	H_{z2} (G)
CuACET	259,091	4663,490	5560,557
CuMETRO	367,000	4562,320	5938,270
CuNIMO	360,260	4575,810	5958,500
CuSECNI	367,010	4636,500	6032,698
CuTINI	360,220	4542,100	5985,484

Os valores de campo magnético foram, então, utilizados para resolver o sistema de equações II.2.3.9 – II.2.3.11. Desde que o valor de g_e é conhecido o valor de D' pode ser obtido e aplicado às mesmas equações para se determinar os valores de $g_{//}$ e $g_{\perp}$, e também de D, que, para o caso dos complexos em estudo, são mostrados na Tabela II.2.3.6. Esta mostra também alguns parâmetros obtidos dos espectros EPR de carboxilatos diméricos de Cu_2(II,II) com ligantes axiais N-doadores, reportados na literatura.

Os espectros EPR dos derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II) (figuras II.2.3.12 e II.2.3.13), apresentam três linhas de absorção que são típicas de carboxilatos dinucleares que apresentam estado de triplete com simetria axial.

Os valores dos parâmetros EPR calculados para os derivados nitroimidazólicos (Tabela II.2.3.6), $g_{//}$ (2,160 – 2,180), $g_{\perp}$ (2,010 – 2,050) e D (0,287 – 0,296 cm^{-1}), são um pouco menores do que aqueles relatados na literatura para derivados análogos de Cu_2(II,II) contendo ligantes axiais N-doadores ($g_{//}$ =2,211 – 2,424; $g_{\perp}$ = 2,020 – 2,114 e D = 0,340 – 0,370 cm^{-1}). Esta pequena diferença pode ser justificada levando-se em conta que estes parâmetros dependem da determinação das posições dos campos H_{z1}, H_{z2} e $H_{\perp z}^2$ nos espectros, que dependem das condições instrumentais.

***TABELA II.2.3.6.*- Valores de $g_{//}$, $g_{\perp}$ e D para o acetato de $Cu_2(II,II)$, seus derivados nitroimidazólicos e alguns complexos descritos na literatura.**

COMPLEXOS	$g_{//}$	$g_{\perp}$	g_{iso}	D (cm^{-1})
CuACET	2,131	2,011	2,05	0,294
CuMETRO	2,164	2,029	2,07	0,287
CuNIMO	2,190	2,040	2,09	0,296
CuSECNI	2,160	2,010	2,06	0,295
CuTINI	2,180	2,050	2,09	0,296
CuACET[29]	2,420	2,080	2,193	0,340
$[Cu_2(ibuprofenato)_4(METRO)_2]$[1]	2,424	2,114	2,217	0,368
$[Cu_2(ibuprofenato)_4(cafeína)_2]$[1]	2,211	2,109	2,211	0,370
$[Cu_2(indometacina)_4(DMF)_2]$[21]	2,360	2,060	2,160	0,344
$[Cu_2(indometacina)_4(NMP)_2]$[21]	2,360	2,060	2,160	0,344
$[Cu_2(valproato)_4(py)_2]$[25]	2,390	2,060	2,180	0,361
$[Cu_2(valproato)_4(anilina)_2]$[25]	2,360	2,020	2,140	0,349
$[Cu_2(valproato)_4(METRO)_2]$[2]	2,400	2,120	2,213	0,340
$[Cu_2(CH_3COO)_4(nicotinamida)_2]$[21]	2,350	2,090	2,177	0,351

$g_{iso} = 1/3(g_{//} + 2g_{\perp})$

Os valores dos parâmetros de EPR dos derivados nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$, contudo, são similares aos obtidos para CuACET em nossas condições experimentais. Os dados obtidos para essas espécies em estado sólido são características de estruturas tetragonais ($g_{//} > g_{\perp}$), com o elétron desemparelhado no orbital $d_{x^2-y^2}$. Isto comprova que os complexos apresentam simetrias análogas a do precursor. Portanto, a entrada dos nitroimidazóis não produz a quebra do dímero.

Nos espectros dos derivados nitroimidazólicos (figuras II.2.3.12 e II.2.3.13), além das bandas típicas do complexo dinuclear, podem-se observar sinais na região de aproximadamente 3000 G que correspondem a impurezas de espécies mononucleares que são comumente encontradas nos carboxilatos dinucleares de $Cu_2(II,II)$[2].

6. Medidas de Susceptibilidade Magnética em Função da Temperatura

Como mencionamos anteriormente, o acetato de Cu_2(II,II) apresenta um valor de μ_{eff} menor do que os esperados para *spin only* e para espécies mononucleares de Cu (II)[15].

Os primeiros estudos sobre a dependência da susceptibilidade magnética de um monocristal deste complexo com a temperatura, mostraram a existência de um valor máximo de susceptibilidade em ~270 K, em contraste ao esperado pela Lei de Curie. Medidas para uma amostra em pó, na faixa de 87 – 288 K, indicaram também a existência desse máximo, mas com um valor diferente do anterior. Esta diferença foi atribuída à presença de impurezas de espécies mononucleares de Cu, uma fonte de erro comum neste tipo de medidas[15].

Figgis e Martins efetuaram medidas até 400 K, encontrando um valor máximo de susceptibilidade a 255 K para o complexo hidratado e a 270 K para o complexo anidro, sendo que o momento magnético diminuía conforme diminuía a temperatura[15,30].

Por outro lado, Bleaney e Bowers, que haviam analisado o espectro EPR do acetato de Cu_2(II,II) monoidratado, sugeriram que o valor da susceptibilidade era conseqüência do acoplamento dos pares isolados de Cu através de forças de intercâmbio. Os spins eletrônicos interagem formando dois níveis de energia: um estado singlete no qual os spins estão emparelhados e um estado triplete, ligeiramente maior em energia, no qual os spins estão desemparelhados. A forma caraterística da curva da susceptibilidade em função da temperatura reflete a distribuição térmica das moléculas nesses estados de energia. Em temperaturas menores o estado singlete é mais populado, mas com o aumento da temperatura, o estado triplete torna-se mais populoso, originando um aumento na susceptibilidade até atingir um valor máximo, depois do qual segue-se a Lei de Curie e a susceptibilidade diminui com o aumento da temperatura[15].

Esses autores foram os primeiros a reconhecer que as propriedades magnéticas desse composto podiam ser explicadas incluindo um termo adicional de acoplamento de spin $H = -2JS_1S_2$ em que J é a integral de intercâmbio (acoplamento magnético) e $S1$, $S2$ os spins dos íons metálicos separados no Hamiltoniano utilizado para descrever este tipo de sistema.

Para o caso dos carboxilatos dinucleares de $Cu_2(II,II)$, sistemas que possuem um par de íons com spin = ½ interagindo, os dados de susceptibilidade ajustam-se bastante bem à equação modificada de Bleaney e Bowers[19]:

$$\chi = 2N\beta^2g^2/kT\,[3 + \exp(-2J/kT)]^{-1}\,(1-p) + [N\beta^2g^2/2kT]p + N\alpha \quad \ldots\ldots (II.2.3.12)$$

onde:

χ, é a susceptibilidade magnética;

N, constante de Avogadro, N° = $6{,}022045 \times 10^{23}$ mol^{-1};

β, o magneton de Bohr, $9{,}27 \times 10^{28}$ J $Gauss^{-1}$;

$g = g_{iso}$, obtidos dos espectros de EPR;

k, constante de Boltzman = $1{,}3805 \times 10^{-23}$ J K^{-1};

T, temperatura em Kelvin;

-2J, separação entre o estado fundamental de singlete e o estado excitado de triplete. Um valor positivo significa um acoplamento antiferromagnético, ou seja, estado fundamental de singlete, enquanto um valor negativo refere-se a um acoplamento ferromagnético;

p, fração molar das impurezas monoméricas de Cu(II);

$N\alpha$, contribuição do paramagnetismo independente da temperatura, incluindo a contribuição paramagnética de Van Vleck e a contribuição diamagnética de ligantes e ânions.

Para o derivado CuSECNI, a curva não pode ser ajustada satisfatoriamente pela equação II.2.3.12. Uma outra equação onde são incluídas as interações de intercâmbio inter-dímeros, que podem ter influência na susceptibilidade magnética próximo da T_{max}, teve que ser aplicada. Neste caso, a susceptibilidade magnética corrigida é dada pela seguinte equação:

$$\chi' = 2Ng^2\mu_B^2(1-p)\ /\{3kT[1 + 0.333exp(-2J/kT)] - 2J'z\} + [N\beta^2g^2/2kT]p + N\alpha \quad ....(II.2.3.13)$$

A figura II.2.3.14 mostra a curva do CuSECNI que embora tenha sido ajustada considerando outras interações, seu perfil foi muito similar aos das curvas susceptibilidade-temperatura observadas para carboxilatos de $Cu_2(II,II)$.

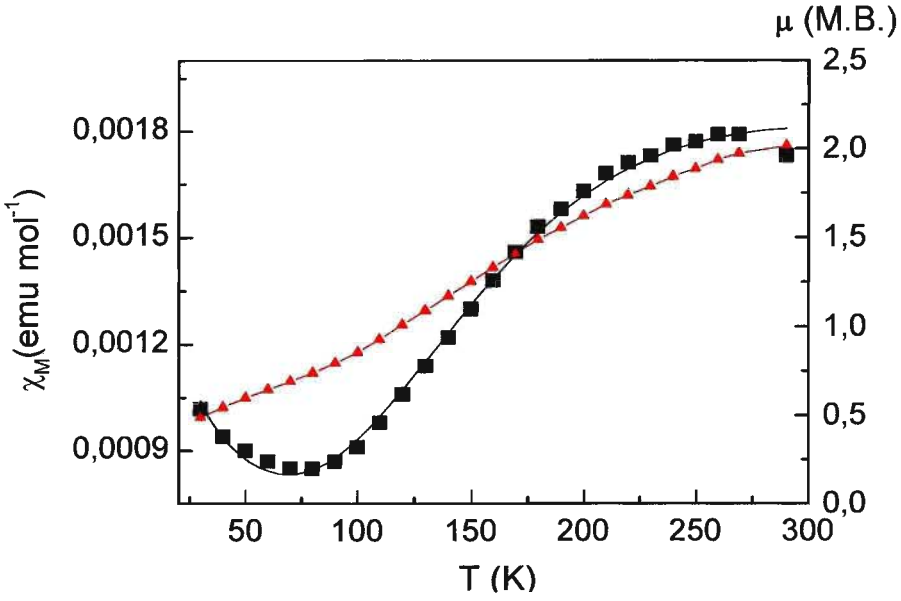


***FIGURA II.2.3.14.*- Susceptibilidade Magnética, χ_M (■, experimental; ____,calculada) e Momento Magnético, μ (▲, experimental) *vs* Temperatura, para o complexo CuSECNI.**

A partir dos ajustes das curvas para os três complexos obtivemos os valores de –J´z/k, p e Nα, que são apresentados na Tabela II.2.3.7 onde J'z/k representa a constante de acoplamento inter-dímeros. O valor do momento magnético foi obtido a partir da expressão $\mu_{eff} = 2{,}84\sqrt{\chi_M \times T}$.

***TABELA II.2.3.7.*- Dados Magnéticos a temperatura variável para os derivados nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$.**

COMPLEXOS	J/k, cm^{-1}	J'z/k, cm^{-1}	g	p	Nα
CuNIMO	-(201,8 ± 3,8)	--	2,1	0,01	40×10^{-6}
CuSECNI	-(181,1 ± 2,3)	-(24,1 ± 9,1)	2,1	0,01	630×10^{-6}
CuTINI	-(181,6 ± 2,0)	--	2,1	0,06	-340×10^{-6}

Os valores de –J/k obtidos para cada um dos complexos, são coerentes com os apresentados na literatura para vários carboxilatos dinucleares de Cu_2(II,II) (Tabela II.2.3.8), incluindo o CuMETRO (-145,5 cm^{-1})

Várias tentativas para tentar correlacionar a magnitude de J com os parâmetros estruturais ou com as propriedades doadoras dos ligantes equatoriais e axiais foram feitas, mas nenhuma delas deu resultados satisfatórios até o momento.

Kato e Muto[19] discordam do fato de que o valor de J aumente conforme aumenta a força doadora do ligante axial, e acreditam que uma fraca doação L_{axial} → Cu contribui para fortalecer as ligações Cu-O no plano basal CuO_4, mantendo assim a neutralidade da molécula como um todo. Quando a doação é fraca ocorre um forte efeito de campo ligante dos quatro oxigênios dos carboxilatos ao redor do íon metálico. Isto permite um grande desdobramento nos níveis de energia d-d, ou seja, um valor de J maior.

Comparando os valores de J dos derivados de valproato de Cu_2(II,II) com piridina e anilina (Tabela II.2.3.8), vemos que o derivado com piridina apresenta um valor de J maior, o que os autores atribuem à maior basicidade desse ligante em relação à anilina[31].

Em nossa série, o derivado CuNIMO é que apresenta um valor de J maior em relação ao CuSECNI e ao CuTINI (Tabela II.2.3.7), o que pode ser atribuído à maior força doadora já que não possui o grupo metila na posição 2 do anel imidazólico (figura I.5) o que diminui os efeitos.

A curva da susceptibilidade magnética em função da temperatura para o CuSECNI (figura II.2.3.14) é característica de centros de Cu(II) fortemente acoplados. A 290 K o complexo apresenta um momento magnético (μ) de 2,01 M.B. O valor sofre um decréscimo com a diminuição da temperatura para atingir um valor mínimo de 0,49 M.B. a 30 K. Isso pode ser explicado considerando que existe um decréscimo da população do estado triplete (S=1) em relação à população do estado singlete (S=0), ou seja, que ocorre uma forte interação antiferromagnética entre os íons Cu(II)[28,31].

***TABELA II.2.3.8.*- Dados Magnéticos a temperatura variável para os alguns carboxilatos dinucleares de Cu_2(II,II) e derivados.**

COMPLEXOS	J/k, cm^{-1}	Referência:
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]$	-151,0	27
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4].H_2O$	-143,0	27
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(py)_2]$	-163,0	27
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(DMSO)_2]$	-217,0	28
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]$	-145,5	11
$[Cu_2(valproato)_4]$	-160,0	31
$[Cu_2(valproato)_4(py)_2]$	-172,0	31
$[Cu_2(valproato)_4(anilina)_2]$	-150,0	31
$[Cu_2(indometacina)_4(H_2O)_2]$	-144,0	22
$[Cu_2(indometacina)_4(DMF)_2]$	-152,5	22
$[Cu_2(indometacina)_4(DMA)_2]$	-142,3	22
$[Cu_2(indometacina)_4(NMP)_2]$	-142,3	22

A susceptibilidade magnética atinge um valor máximo a ~260 K. Com a diminuição da temperatura ocorre um decréscimo da susceptibilidade magnética até ~ 70 K. Abaixo desta temperatura é observado um aumento considerável da susceptibilidade, ao contrário do momento magnético que diminui sistematicamente com o abaixamento da temperatura. Esse comportamento do aumento da susceptibilidade magnética a baixas temperaturas é uma consequência da presença de pequenas quantidades de Cu(II) monomérico[22,31] o que foi demonstrado pelos valores de p (fração molar de impurezas monoméricas de Cu(II)) na Tabela II.2.3.7.

O parâmetro de desdobramento de campo zero (D_{total}) obtido experimentalmente apresenta contribuições das interações de intercâmbio e de dipolo-dipolo, isto é[27]:

$$D_{total} = D_{ex} + D_{dip} \qquad \text{....(II.2.3.14)}$$

Considerando que estes complexos apresentam simetria axial, os termos D_{ex} e D_{dip} podem ser relacionados com a constante de acoplamento (J/k) e a separação internuclear (r) Cu-Cu da seguinte forma:

$$D_{ex} = -1/8J[1/4(g_{//} - 2)^2 - (g_{\perp} - 2)^2] \quad .....(II.2.3.15)$$

$$D_{dip} = -[(g_{//}^2 - 1/2\ g_{\perp}^2)^2]\ \beta^2/r^3 \quad ..... (II.2.3.16)$$

Os valores das distâncias Cu-Cu determinadas através das equações II.2.3.15 e II.2.3.16 substituindo-se os valores de D_{total} e g (dos resultados de EPR) e de J/k, são mostrados na Tabela II.2.3.9.

***TABELA II.2.3.9*.- Distâncias Cu-Cu dos derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II) obtidas através da equação II.2.3.16.**

COMPLEXOS	Cu – Cu (Å)
CuMETRO[11]	2,648
CuNIMO	2,54
CuSECNI	2,63
CuTINI	2,60

Com base nesses dados, o derivado CuNIMO apresenta uma distância Cu-Cu menor do que os complexos CuSECNI e CuTINI. Este fato era esperado já que o CuNIMO apresentou um maior valor de acoplamento antiferromagnético, o que acontece quando os íons metálicos encontram-se mais perto um do outro. Observa-se também que o valor da distância Cu-Cu obtida através desta técnica é similar ao valor obtido para o complexo CuMETRO por difração de raios-X (2,648 Å) [11].

7. Espectroscopia Vibracional

A. Espectroscopia na Região do Infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})

No caso dos complexos diméricos de $Cu_2(II,II)$ com ligantes carboxilato em ponte, as diferenças nos valores das freqüências de estiramento assimétrico e simétrico do grupo carboxilato $\Delta\nu$ [$\nu_{ass}(CO_2)$ - $\nu_s(CO_2)$] encontram-se na faixa de 170 – 220 cm^{-1} [15]. Inúmeros exemplos poderiam ser citados, dentre os quais alguns são mostrados na Tabela II.2.3.10 que traz exemplos de valores de $\Delta\nu$ (CO_2) para alguns complexos de $Cu_2(II,II)$.

***TABELA II.2.3.10*.- Bandas correspondentes às freqüências $\nu_{as}(CO_2^-)$ e $\nu_s(CO_2^-)$ em carboxilatos de $Cu_2(II,II)$.**

COMPLEXO	$\nu_{ass}(CO_2^-)$	$\nu_s(CO_2^-)$	Δ	REF.
$[Cu_2(valproato)_4]$	1590	1428	162	31
$[Cu_2(valproato)_4(py)_2]$	1621	1423	198	31
$[Cu_2(valproato)_4(anilina)_2]$	1613	1425	188	31
$[Cu_2(valproato)_4(METRO)_2]$	1610	1415	195	2
$[Cu_2(ibuprofenato)_4]$	1588	1409	179	1
$[Cu_2(ibuprofenato)_4(METRO)_2]$	1620	1408	212	1
$[Cu_2(ibuprofenato)_4(cafeína)_2]$	1618	1410	208	1
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(nicotinamida)_2]$	1610	1422	188	21
$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(METRO)_2]$	1620	1429	191	11

Além dessas freqüências, algumas das vibrações dos principais grupos orgânicos presentes nos derivados nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ também são importantes na caracterização dos complexos, de modo similar ao que foi feito para os análogos de $Ru_2(II,III)$ e $Rh_2(II,II)$.

A.1 Espectros Vibracionais dos Complexos de $Cu_2(II,II)$

Os espectros do acetato de $Cu_2(II,II)$ e seus derivados nitroimidazólicos na região do infravermelho são mostrados nas figuras II.2.3.15 – II.2.3.19. A Tabela II.2.3.11 apresenta as atribuições tentativas das principais freqüências vibracionais observadas nesta região.

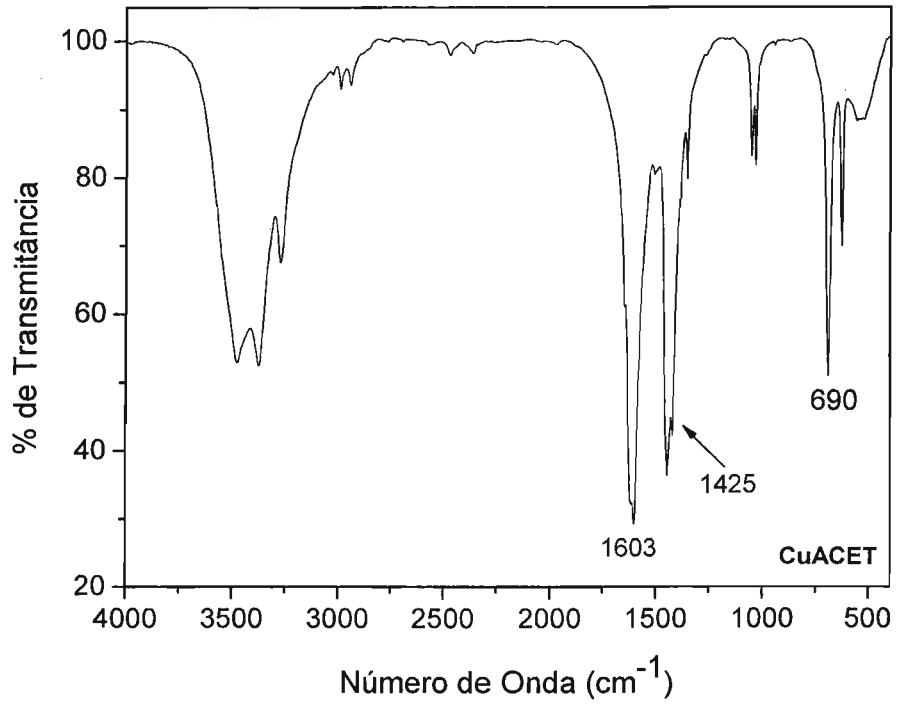


***FIGURA II.2.3.15.*- Espectros do acetato de $Cu_2(II,II)$: CuACET na região do infravermelho (4000 - 400 cm^{-1}).**

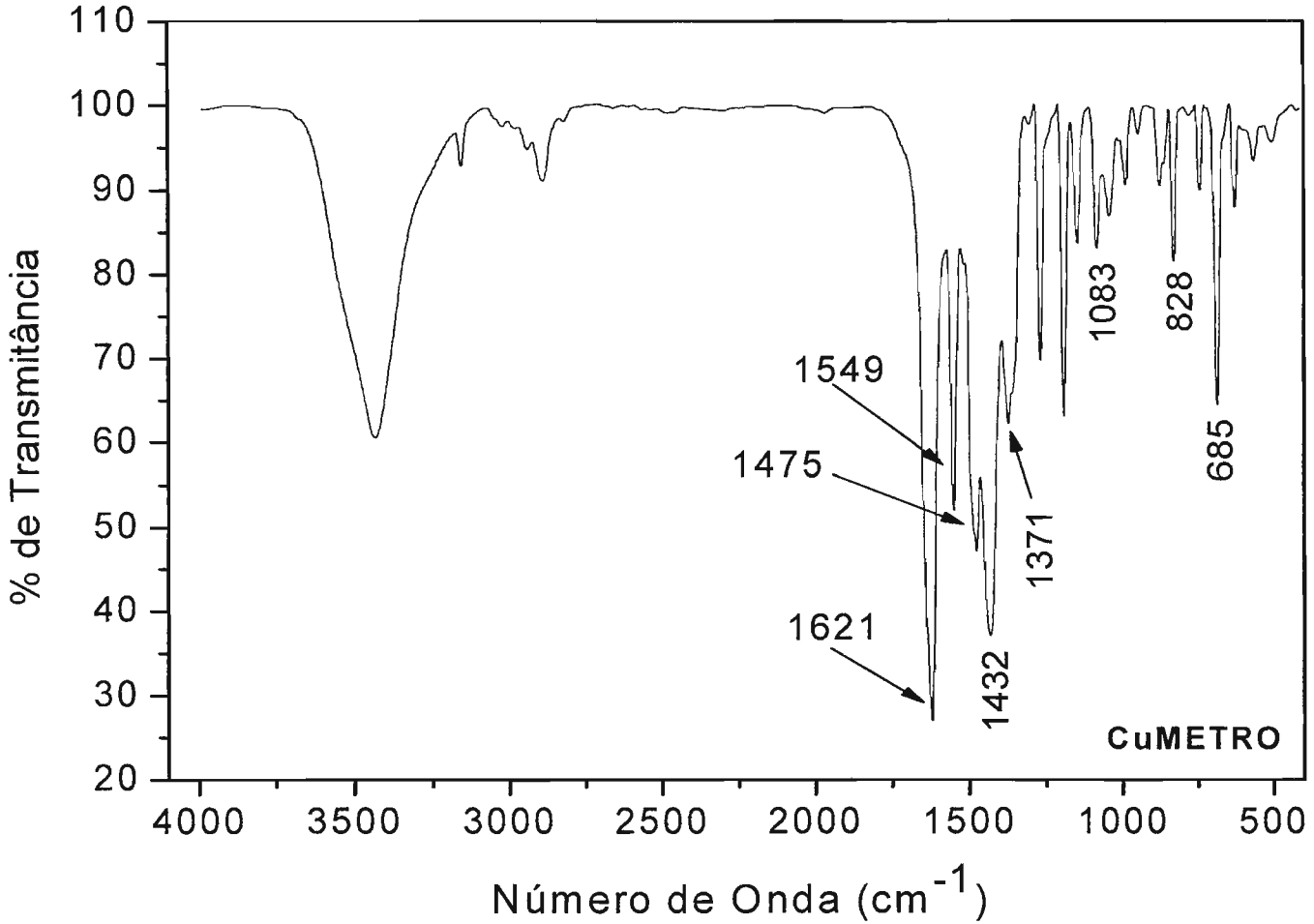


FIGURA II.2.3.16.- **Espectro do CuMETRO na região do infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})**

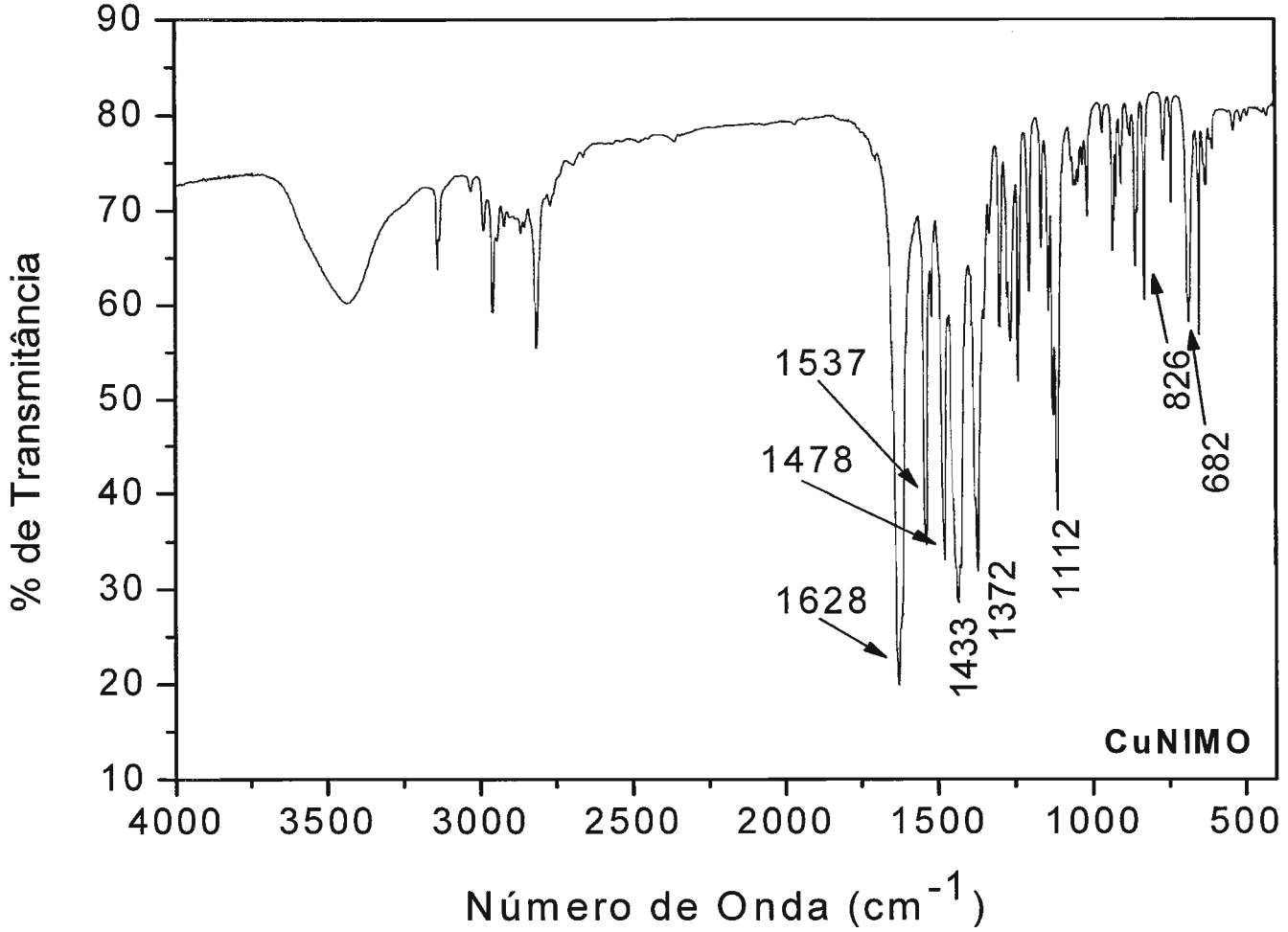


FIGURA II.2.3.17.- **Espectro do CuNIMO na região do infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})**

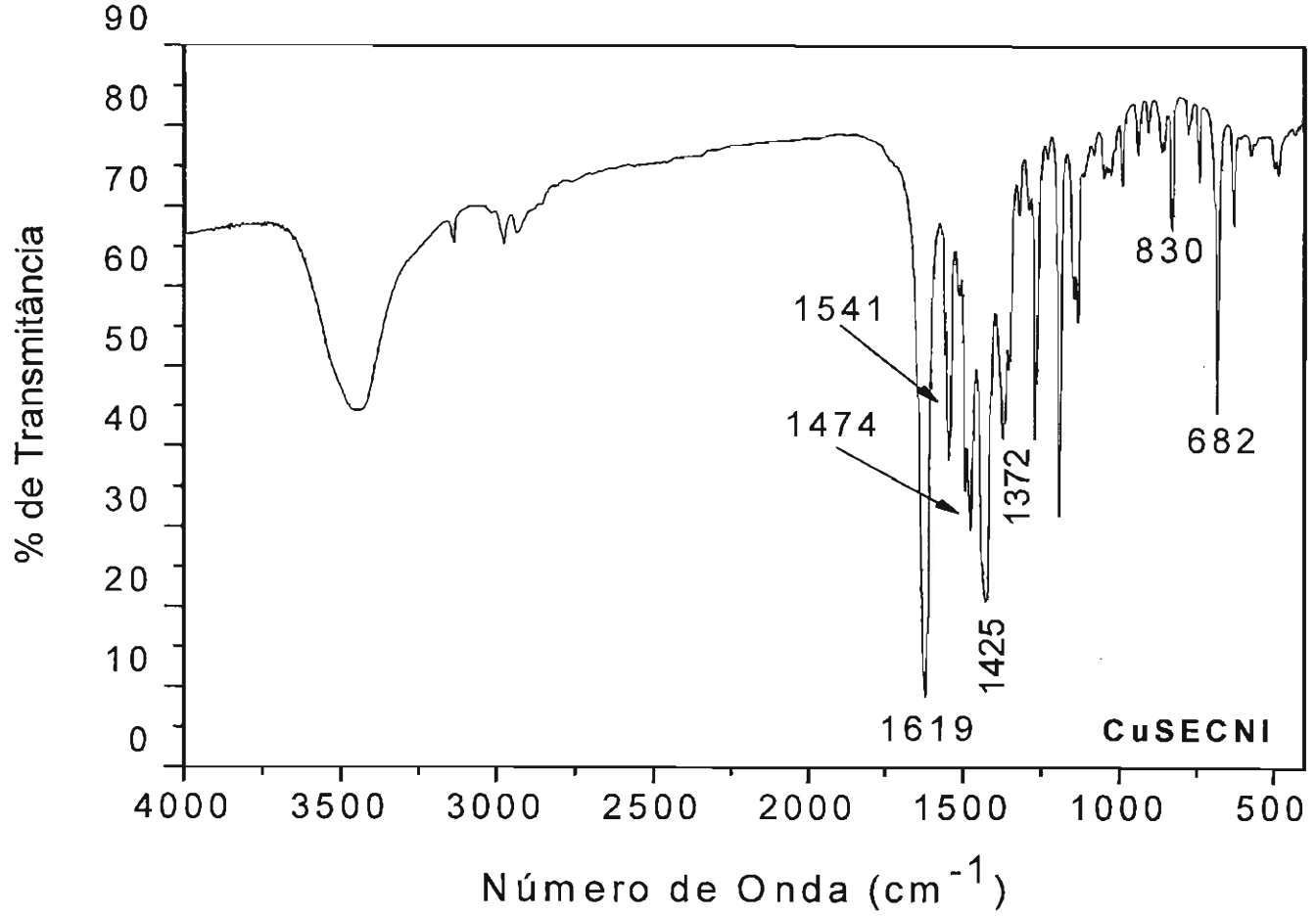


FIGURA II.2.3.18.- **Espectro do CuSECNI na região do infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})**

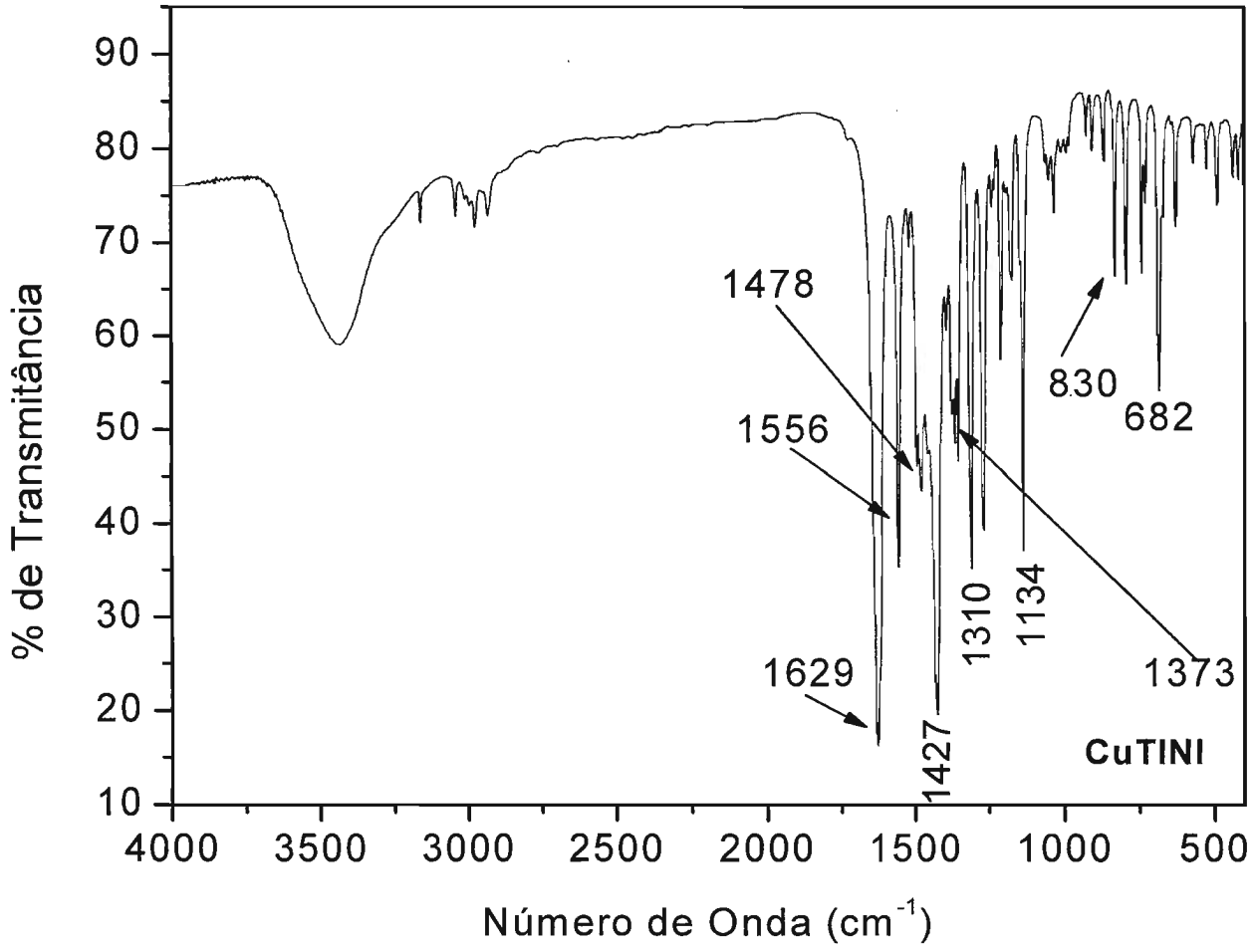


FIGURA II.2.3.19.- **Espectro do CuTINI na região do infravermelho (4000 – 400 cm^{-1})**

***TABELA II.2.2.7.*- Atribuição tentativa das principais bandas vibracionais no infravermelho (4000 – 400 cm^{-1}) dos complexos de Cu_2(II,II).**

COMPLEXOS	ACETATO $\nu(cm^{-1})$			NITROIMIDAZÓIS $\nu(cm^{-1})$							
	$\nu_{a\ COO}$	$\nu_{s\ COO}$	δ_{oco}	$\nu_{a\ NO2}$	$\nu_{s\ NO2}$	$\nu_{C=N}$	ν_{CO}	$\nu_{CN(NO2)}$	$\nu_{a\ S=O}$	$\nu_{s\ S=O}$	ν_{COC}
CuACET	1603	1445	690	--	--	--	--	--	--	--	--
CuMETRO*	1621	1432	685	1475	1371	1549	1083	828	--	--	--
CuNIMO	1628	1433	682	1478	1372	1537	--	826	--	--	1112
CuSECNI	1619	1425	682	1474	1372	1541	1082	830	--	--	--
CuTINI	1629	1427	682	1478	1373	1556	--	830	1310	1134	--

*** valores similares aos observados por Galván-Tejada[11] para o mesmo complexo**

De acordo com os dados apresentados na Tabela II.2.3.11, as freqüências de estiramento $\nu_s(CO_2)$ e $\nu_a(CO_2)$ aparecem em regiões similares às descritas na literatura[1,2,11,21] e os valores de $\Delta\nu$ [$\nu_{as}(CO_2)$ - $\nu_s(CO_2)$], indicam a coordenação dos carboxilatos em ponte aos íons metálicos de Cu(II).

Todos os derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II) apresentaram as freqüências $\nu_a(CO_2)$ na região de 1620 – 1629 cm^{-1}, deslocadas para maiores números de onda em relação ao CuACET (1603 cm^{-1}). Por outro lado as freqüências $\nu_s(CO_2)$ que aparecem na região de 1425 – 1432 cm^{-1} não sofrem deslocamento em relação ao precursor (CuACET, 1425 cm^{-1}).

Em todos os espectros a banda correspondente à freqüência $\delta(CO_2)$ é observada em ~ 680 cm^{-1}.

A freqüência ν(C=N) aparece deslocada para maiores números de onda (1537 – 1556 cm^{-1}) em relação aos nitroimidazóis livres (Tabela II.2.1.8), indicando a coordenação do nitrogênio imidazólico N3 aos íons metálicos.

Todos os derivados de Cu_2(II,II) apresentam valores de Δ [$\nu_{as}(NO_2)$ - $\nu_s(NO_2)$] na faixa de 102 – 106 cm^{-1}, o que indica que o grupo nitro não participa da ligação ao íon metálico.

A ligação dos nitroimidazóis pelos outros possíveis átomos coordenantes também pode ser descartada.

No caso do CuNIMO, a banda correspondente à freqüência C-O-C do anel do nimorazol encontra-se em 1112 cm^{-1}, ou seja, não sofre deslocamento em relação ao ligante livre. Os mínimos deslocamentos de ν_{as}(S=O) e ν_s(S=O) na faixa de 8 – 11 cm^{-1}, permitem excluir a possibilidade da ligação do secnidazol através da sulfona para o CuSECNI.

B. Espectroscopia na Região do Infravermelho Afastado (500 – 190 cm^{-1})

B.1 Vibrações mais importantes

Wason *et. al.* atribuíram uma série de bandas que aparecem no espectro do CuACET na região do infravermelho afastado (400 – 250 cm^{-1}) à vibrações de estiramento Cu-O (equatorial)[32].

Lever *et al.*[32] fazendo estudos de substituição isotópica de cobre numa série de carboxilatos dinucleares de $Cu_2(II,II)$ a temperatura ambiente e a – 196 °C, observaram que um grupo destes complexos apresentava uma banda em ~350 cm^{-1} enquanto outro apresentava duas bandas; uma com freqüência acima e outra abaixo de 350 cm^{-1}, todas sensíveis à substituição isotópica de Cu natural por ^{65}Cu, as quais foram atribuídas às freqüências ν(Cu-O).

A baixas temperaturas, os espectros apresentam melhor resolução e a banda larga desdobra-se em dois componentes como, por exemplo, no espectro do complexo $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(quinolina)_2]$, a banda larga da vibração Cu-O que a temperatura ambiente aparece em 354 cm^{-1}, desdobra-se em duas bandas, uma em 365 e outra em 351 cm^{-1}, a – 196 °C.

Mathey *et al.*[33] estudaram os espectros vibracionais Raman e infravermelho de várias formas isotópicas do complexo CuACET e de seus derivados com piridina e pirazina. Nos espectros do CuACET, eles atribuíram as bandas em ~ 373 e 330 cm^{-1} às freqüências ν(Cu-O). Um deslocamento da primeira para menores energias foi observado quando a piridina (ν(Cu-O) = 353 cm^{-1}) e a pirazina (ν(Cu-O) = 357 cm^{-1}), foram introduzidas nas posições axiais.

A influência dos ligantes equatoriais é apresentada no trabalho de Weder *et al.*[22]. Esses autores mostraram que os espectros dos complexos $[Cu_2(indometacina)_4L_2]$ (L = H_2O, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidona) apresentavam duas bandas atribuídas às freqüências ν(Cu-O), que encontravam-se, uma deslocada para maior energia em ~385 cm^{-1} e a outra praticamente na mesma região (320 – 340 cm^{-1}), em relação ao espectro do CuACET.

A freqüência de estiramento ν(Cu-N) foi atribuída por Cornilsen e Nakamoto[34] utilizando isótopos metálicos, à forte banda que aparece em 286 cm^{-1} (com ombro em 294 cm^{-1}) nos espectros dos complexos, $[Cu(imidazol)_4X_2]$ (X = F, Cl, Br, NCS e H_2O).

Lever *et al.*[32] observaram que carboxilatos dinucleares de $Cu_2(II,II)$ contendo piridina e toluidina, apresentam uma banda em ~ 240 cm^{-1}, que é isotopicamente sensível à mudança de Cu natural por ^{65}Cu e foi atribuída à freqüência ν(Cu-N). Mathey *et al.*[33] atribuíram a esse mesmo modo de estiramento as bandas que aparecem em 266 e 256 cm^{-1} nos espectros dos complexos $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(piridina)_2]$ e $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(pirazina)_2]$ respectivamente.

Trabalhos mais recentes sobre o complexo de fórmula $[Cu(METRO)_4Cl_2]$ já atribuem uma banda na região de 460 – 450 cm^{-1} à freqüência ν(Cu-N)[35].

B.2 Espectros vibracionais IR dos complexos de $Cu_2(II,II)$ (500 – 190 cm^{-1}).

Os espectros do acetato de $Cu_2(II,II)$ e seus derivados nitroimidazólicos na região do infravermelho afastado de 500 a 190 cm^{-1}, são mostrados nas figuras II.2.3.20 – II.2.3.22. A Tabela II.2.3.12 mostra as atribuições tentativas das freqüências vibracionais observadas nesta região.

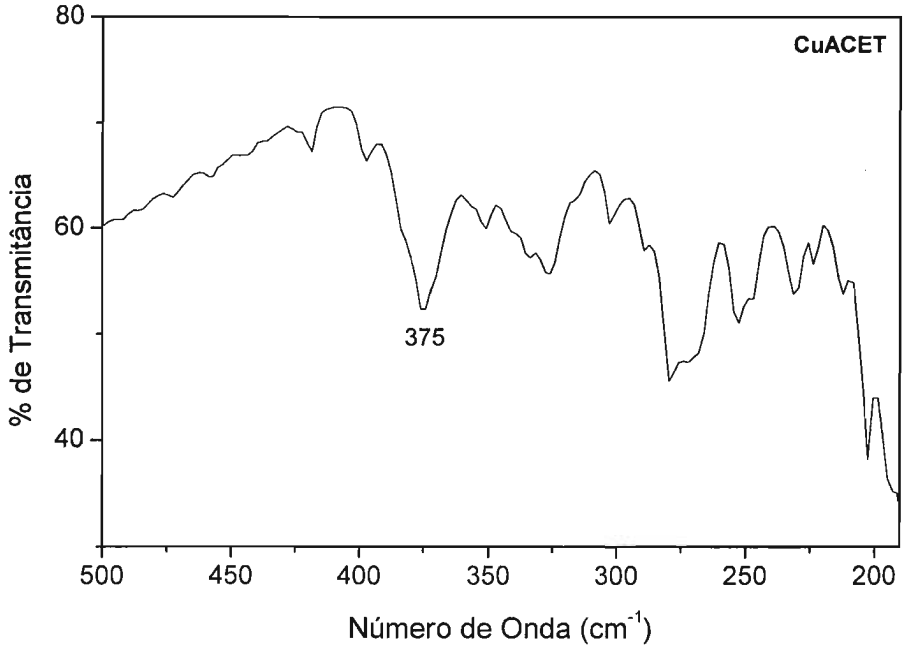
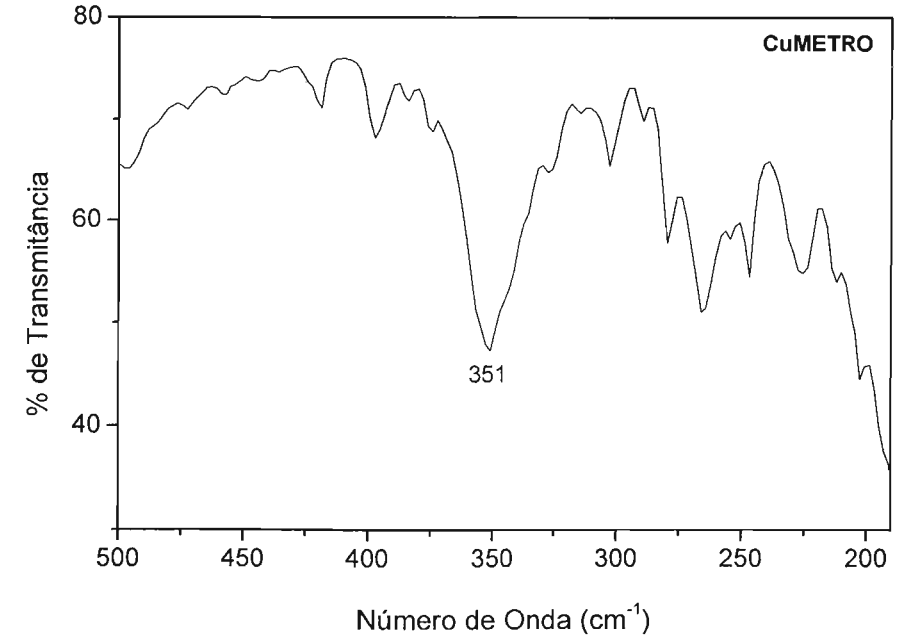


***FIGURA II.2.3.20*.- Espectro vibracional na região de 500 - 190 cm^{-1} dos complexos CuACET.**



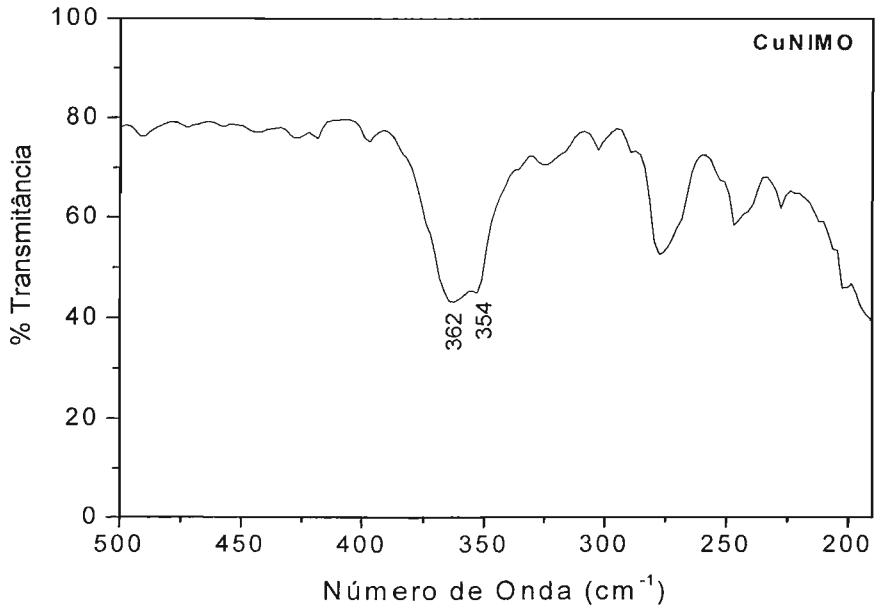


***FIGURA II.2.3.21.*- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos complexos CuMETRO e CuNIMO.**

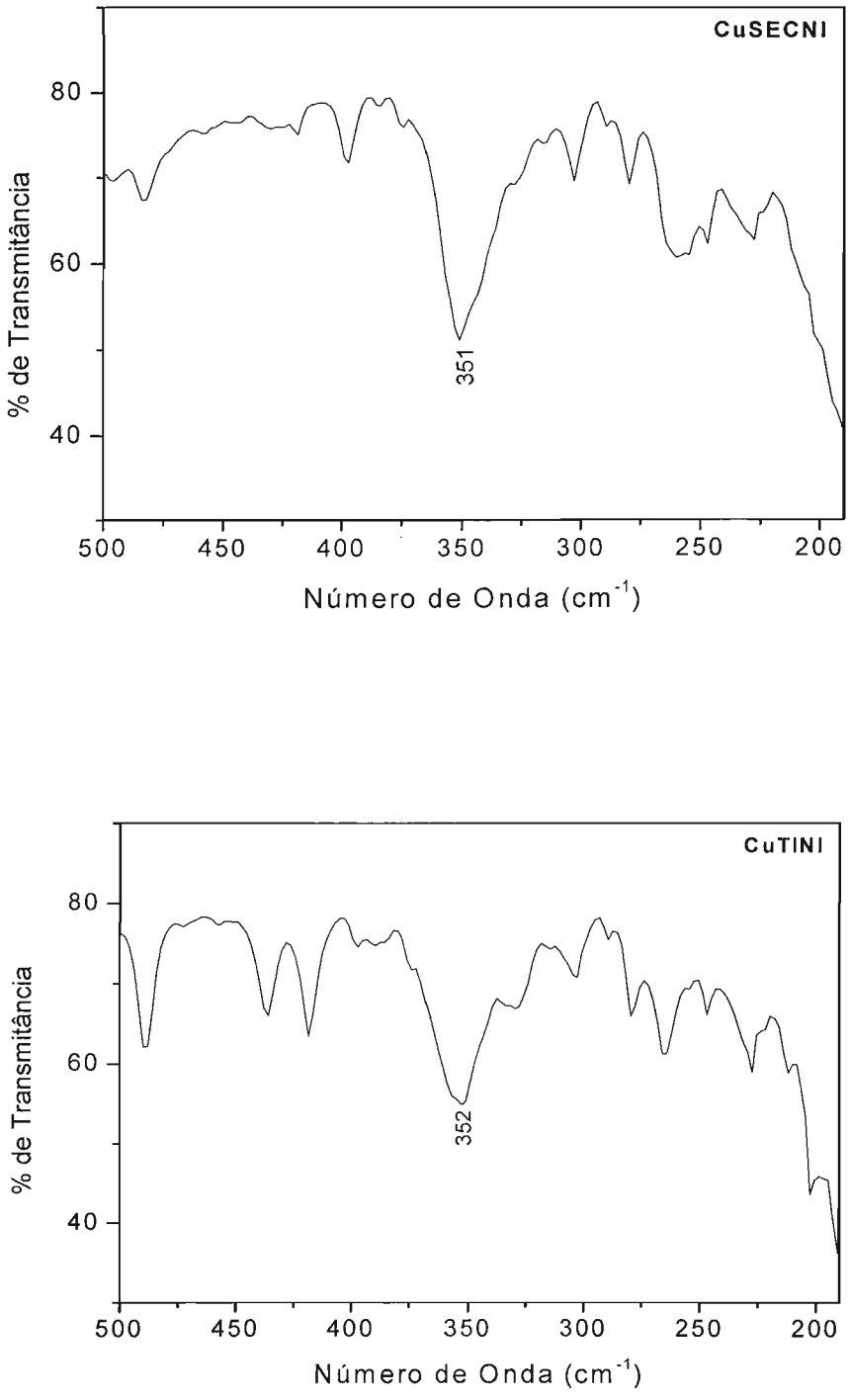


***FIGURA II.2.3.22.*- Espectros vibracionais na região de 500 - 190 cm^{-1} dos complexos CuSECNI e CuTINI.**

***TABELA II.2.3.12*.- Atribuição tentativa das bandas vibracionais no infravermelho afastado (500 – 190 cm^{-1}) dos complexos de $Cu_2(II,II)$ (ν / cm^{-1}).**

COMPLEXOS	ν (Cu-O) (cm^{-1})
CuACET	375
CuMETRO	351
CuNIMO	362, 354^{sh}
CuSECNI	351
CuTINI	352

^{sh} = ombro

No espectro do CuACET (figura II.2.3.20), podemos observar a presença de duas bandas, em ~ 375 e 326 cm^{-1}, que podem ser atribuídas à freqüência ν(Cu-O) [22,33]. Uma outra banda (de baixa intensidade) que outros autores[32] atribuem a esta freqüência, também pode ser observada em ~ 351 cm^{-1}.

Quando os ligantes nitroimidazólicos ocupam as posições axiais, uma banda larga é observada ao redor de ~350 cm^{-1}, o que demonstra a influência dos ligantes axiais na freqüência ν(Cu-O). Freqüências similares foram observadas por Mathey[33] para derivados de acetato de $Cu_2(II,II)$ com ligantes N-doadores como piridina e pirazina.

Os derivados nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ mostram uma série de bandas na região de 325 – 210 cm^{-1}, o que dificulta a atribuição da freqüência ν(Cu-N).

Se compararmos os espectros de todos os complexos na região de 500 – 400 cm^{-1}, podemos observar que em todos eles existem bandas em 490 – 497 cm^{-1} as quais, similar ao observado por Kesharwani[35], poderiam ser atribuídas à freqüência ν(Cu-N). No caso do CuNIMO (figura II.2.3.21), fica ainda mais difícil pois o ligante apresenta banda em aproximadamente 486 cm^{-1}.

8. Análises Termogravimétricas

O processo de decomposição térmica do complexo $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$, CuACET foi estudado por Mansour[36], que fez o aquecimento a várias velocidades até 600 °C em atmosfera de ar e de N_2. Esse processo foi estudado por meio das técnicas de termogravimetria (TGA), análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria diferencial (DSC) sendo os produtos analisados por espectroscopia na região do infravermelho, difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura. As curvas termogravimétricas foram obtidas aquecendo o CuACET em atmosfera dinâmica de ar (30 mL min^{-1}) a velocidades de 5, 10, 20 e 50 °C min^{-1}. O CuACET se decompõe através de um processo de duas etapas de perda de massa, na faixa de 100 – 320 °C. Após essa temperatura, ocorre lentamente um ganho de massa até 600 °C.

Durante a etapa I observa-se um processo endotérmico de perda de massa na faixa de 125 – 175 °C que depende da velocidade de aquecimento. A porcentagem de perda de massa experimental (9,1%) foi similar à calculada para um processo de desidratação (9,0%), sendo sugerido então que o evento térmico I envolve o seguinte processo:

$$[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(H_2O)_2] \rightarrow 2\ Cu(O_2CCH_3)_2 + 2H_2O \qquad .....(II.2.3.17)$$

A etapa II, exotérmica, ocorre na faixa de 220 – 320 °C, com uma perda de massa de 66%, que é um valor maior do que o esperado para a formação de CuO (60%) e menor do que o esperado para a formação do cobre metálico (68,1). Neste caso as curvas DTA mostraram que se tratava de um processo mais complicado.

Os espectros no infravermelho e os estudos de raios-X mostraram que o produto sólido obtido em 240 °C é uma mistura de Cu_2O, e em menor proporção, CuO e Cu_4O_3.

Em função destes resultados, foi concluído que a decomposição do acetato anidro intermediário (equação II.2.3.17) começa lentamente numa faixa de 220 – 260 °C e é completada rapidamente. A porcentagem de perda de massa que acompanha este evento estaria então dando valores mais altos devido à formação de Cu_2O e Cu_4O_3, além do CuO.

Essa mistura de óxidos, produto da decomposição, começa a apresentar um processo lento de ganho de massa conforme aumenta a temperatura, resultando numa porcentagem de perda total de massa de 60%, equivalente ao esperado para a

formação de CuO. Os estudos de infravermelho e raios-X comprovaram a existência de deste único óxido e, provavelmente um processo de oxidação dos outros óxidos, Cu_2O e Cu_3O_4, explicaria o ganho de massa observado em altas temperaturas e velocidades de aquecimento maiores.

A seguinte sequência de reações podem descrever a decomposição do CuACET em atmosfera de ar:

$$2\ Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4.2H_2O \xrightarrow{190\ °C} 4\ Cu(O_2CCH_3)_2 + 4H_2O \quad .....(10)$$

$$4\ Cu(O_2CCH_3)_2 \xrightarrow{220\ °C} \begin{cases} Cu_2O + CH_3CHO + (CH_3)_2CO + CO_2 + 2CO + H_2O \\ Cu(O_2CCH_3)_2 + CuO + (CH_3)_2CO + CO_2 \end{cases} \quad .....(11)$$

$$Cu_2O + 2CuO \longrightarrow Cu_4O_3 \quad .....(12)$$

$$Cu(O_2CCH_3)_2 \xrightarrow{> 220\ °C} CuO + (CH_3)_2CO + CO_2 \quad .....(13)$$

$$Cu_2O + Cu_4O_3 + O_2 \xrightarrow{\geq 400\ °C} 6\ CuO \quad .....(14)$$

sendo a acetona o principal produto de decomposição do CuACET.

As curvas termogravimétricas do acetato de Cu_2(II,II) e de seus derivados nitroimidazólicos em atmosfera de ar são apresentadas nas figuras II.2.3.23 – II.2.3.25.

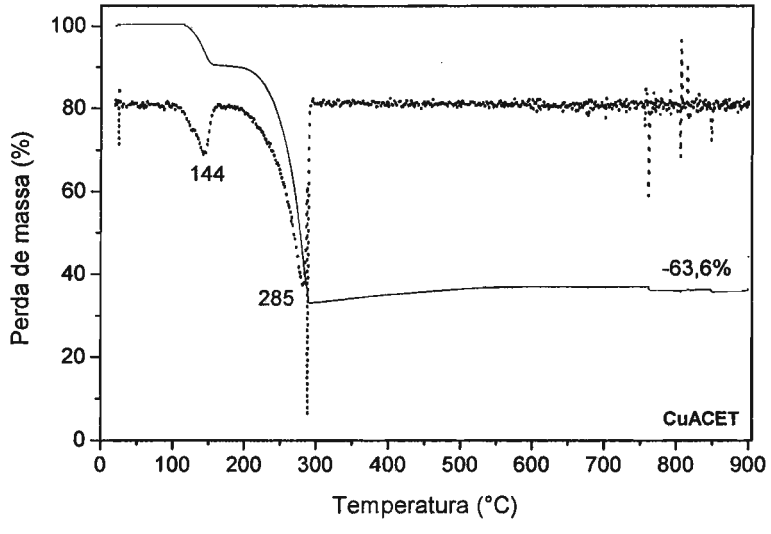


***FIGURA II.2.3.23*.- Curva TGA do complexo CuACET até 900 °C (10°C/min) em atmosfera de ar (50 mL/min).**

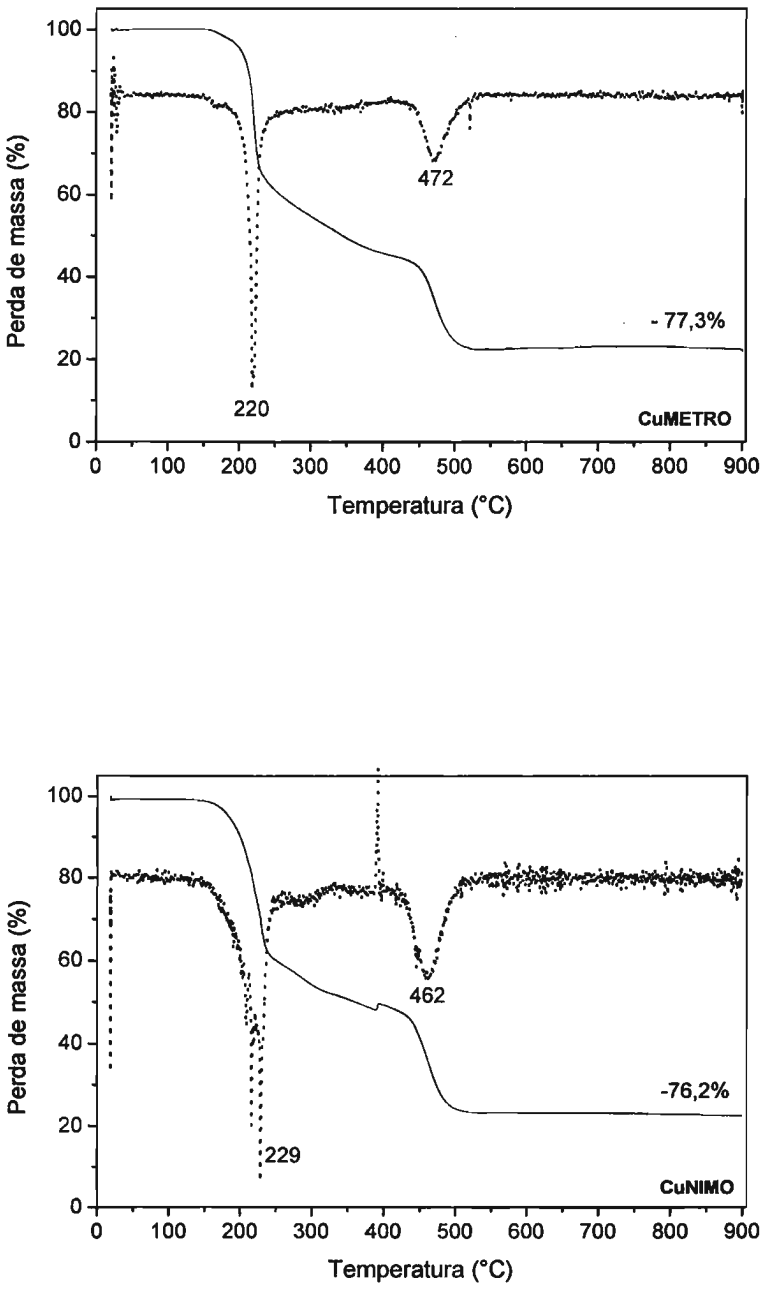


***FIGURA II.2.3.24*.- Curva TGA dos complexos CuMETRO e CuNIMO até 900 °C (10°C/min) em atmosfera de ar (50 mL/min).**

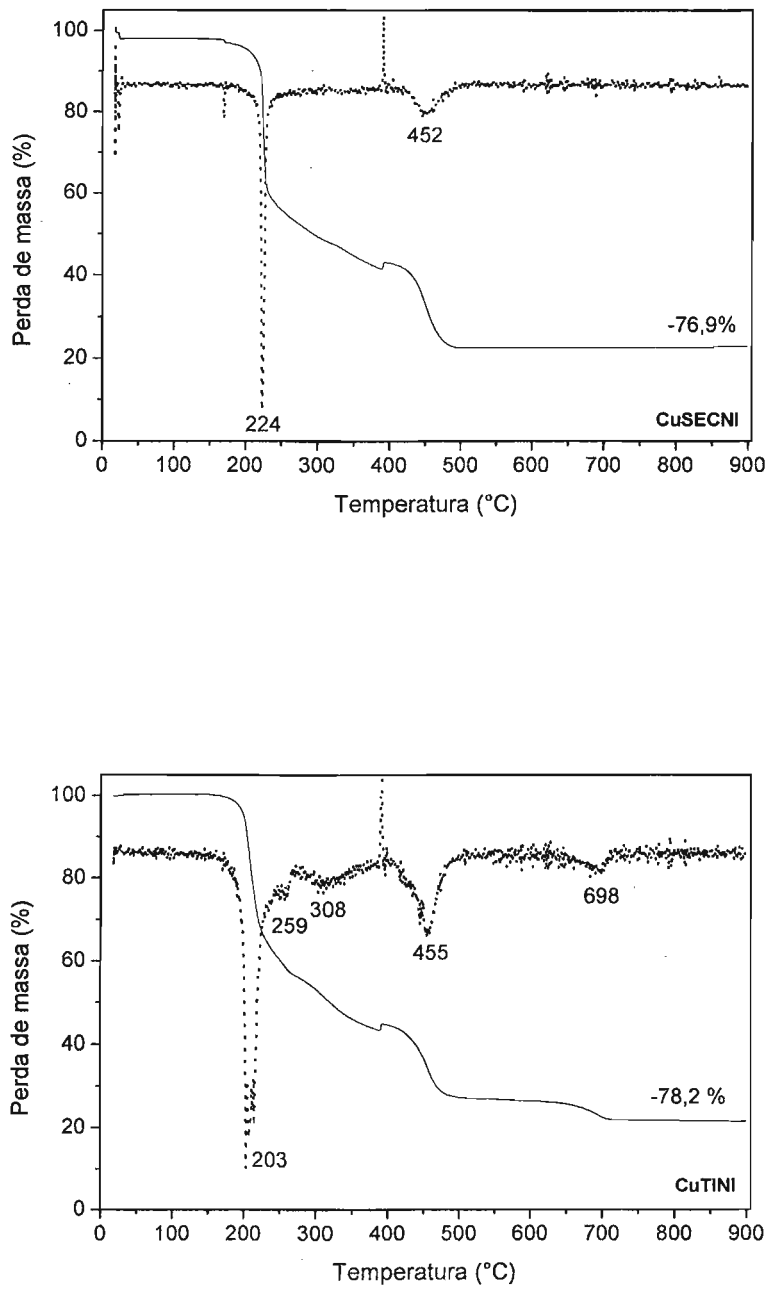


***FIGURA II.2.3.25.*- Curva TGA dos complexos CuSECNI e CuTINI até 900 °C (10°C/min) em atmosfera de ar (50 mL/min).**

A Tabela II.2.3.13 traz as perdas de massa teórica e experimental desses complexos em função da formação de CuO quando aquecidos até 900 °C e as temperaturas de decomposição.

***TABELA II.2.3.13*.- Temperaturas de decomposição e porcentagens de perda de massa do acetato de $Cu_2(II,II)$ e de seus derivados nitroimidazólicos em atmosfera de ar quando aquecidos até 900 °C.**

COMPLEXOS	TEMPERATURAS (° C) REFERENTES AOS PICOS DA DTG	% PERDA DE MASSA TOTAL EXPERIMENTAL	% PERDA DE MASSA TOTAL CALCULADA (Para formação de CuO)
CuACET	144, 285	63,6	60,2
CuMETRO	220, 272	77,3	77,5
CuNIMO	229, 462	76,2	80,5
CuSECNI	224, 452	76,9	78,3
CuTINI	203, 259, 308, 455, 698	78,2	81,4

Os dados de porcentagens de perda de massa experimentais estão bastante próximos ao esperado para a formação de CuO a 900 °C. O pico em 144 °C na DTG do CuACET corresponde à perda das águas de hidratação.

Os desvios das porcentagens totais de perda de massa foram maiores quando consideramos a produção de Cu^0 como resíduo. Porém a formação de cobre metálico no processo de decomposição térmica não pode ser descartada.

A partir dos picos DTG referentes às primeiras etapas dos processos de decomposição dos derivados niroimidazólicos, observamos que estes ocorrem em temperaturas similares (~220 °C) exceto para o CuTINI, cuja primeira etapa acontece em temperatura mais baixa (203 °C). Para todos os casos, as primeiras etapas de decomposição ocorrem em temperaturas menores em relação aos picos DTG dos

respectivos ligantes livres e provavelmente esses ligantes são desestabilizados com a complexação.

No caso do CuMETRO, o pico DTG a 220 °C corresponde a uma perda de 23% de massa, que é muito próxima da porcentagem que corresponde à perda do primeiro ligante axial (calculado: 24,3%). Para o CuNIMO a perda de 33% de massa a 229 °C, também coincide com a perda do primeiro ligantes axial (calculado : 28%). O mesmo acontece com o CuSECNI, que apresenta perda de 25,7% de massa em 224 °C (calculado : 26,4%) e CuTINI com um perda de 26,8% em 289 °C (calculado: 26,4%). De acordo com estes dados, a decomposição térmica dos derivados nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ inicia-se com a saída de um dos ligantes axiais provavelmente seguida da saída do segundo ligante axial que deve acontecer simultaneamente à decomposição da gaiola. Para esta série de complexos, o CuTINI é o menos estável termicamente.

9. Ensaio de Partição dos Derivados Nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$.

O método utilizado para este ensaio de partição foi de Shake-Flask, sendo o procedimento similar ao utilizado para os derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$, onde a fase orgânica foi n-octanol e a razão octanol:água foi de 20 : 1,5 (v/v).

Neste caso apenas o complexo CuMETRO foi testado como modelo. A concentração testada corresponde à concentração equivalente à $IC_{50\%}$ determinada no ensaio de citotoxicidade com células NCTC clone 990 (Tabela II.1.6).

A Tabela II.2.3.14, mostra as absorbâncias iniciais e após partição obtidas a partir dos espectros das soluções aquosas desses complexos (região do Visível) e das soluções em octanol (região do ultravioleta).

Similar ao observado com os derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$, o octanol estaria facilitando a saída do ligante nitroimidazólico na posição axial, promovendo sua passagem em grandes quantidades para a fase orgânica junto com uma pequena parte do complexo.

***TABELA II.2.3.14*.- Absorbâncias iniciais e após partição dos complexos de Cu_2 (II,II) obtidas a partir dos espectros na região do UV-VIS.**

COMPLEXO	λ(nm)	Concentração (mol dm^{-3})	$A_{inicial}$	$A_{após\ partiçaõ}$	% extraída
VISÍVEL					
CuACET	750	$7,6 \times 10^{-3}$	0,241	0,188	22
CuMETRO	750	$1,0 \times 10^{-2}$	0,334	0,190	43
ULTRAVIOLETA					
CuMETRO	320	$4,9 \times 10^{-5}$	1,065	0,123	89

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Latif Abuhijleh, A., *J. Inorg. Bioch.*, 1994, 55, 255.

[2] Latif Abuhijleh, A. e Woods, C., *J. Inorg. Bioch.*, 1996, 64, 55.

[3] Latif Abuhijleh, A., *Polyhedron*, 1997, 16 (4), 733.

[4] Latif Abuhijleh, A., *Polyhedron*, 1989, 8 (23), 2777.

[5]Latif Abuhijleh, A., Woods, C.e Ahmed, I. Y., *Inorg. Chim. Acta*, 1991, 190, 11.

[6] Latif Abuhijleh, A. e Woods, C., *Inorg. Chem. Comm.*, 2001, 4, 119.

[7] Latif Abuhijleh, A., Woods, C., Bogas, E. e Le Guenniou, G., *Inorg. Chim. Acta*, 1992, 195, 67.

[8] Latif Abuhijleh, A. e Woods, C., *Inorg. Chim. Acta*, 1992, 194, 9.

[9] Latif Abuhijleh, A. e Woods, C., *Inorg. Chim. Acta*, 1993, 209, 187.

[10] Valko, M., Bilton, R.F. e Morris, H., *J. Coord. Chem.*, 1993(29), 257.

[11] Galván-Tejada, N., Bernès, S., Castillo-Blum, S.E., Nöth, H., Vicente, R., Barba-Behrens, N., *Journal of Inorg. Bioch.*, 2002, 91, 339.

[12] Lee, J.D., Química Inorgânica não tão Concisa, Tradução da 5ª Edição Inglesa, 1996, Editora Edgard Blücher Ltda., São Paulo.

[13] Carlin, R.L. e Van Duyneveldt, A.J., Magnetic Properties of Transition Metal Compounds, 1977, Sprynger-Verlag Ed., New York.

[14] Cotton, F.A. e Wilkinson, G., Química Inorgânica Avanzada, 1990, 4ª Edição, Editorial Limusa, S.A., México D.F..

[15] Catterick, J. e Thornton, P., *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.*, 1977, 20, 291.

[16] Reimann G.W., Kokoszka, G.F. e Gordon G., *Inorg. Chem.*, 1965, 4, 1082.

[17] Hansen, A. E. E Ballhausen, C.J., *Trans. Faraday Soc.*, 1965, 61, 631.

[18] Dubicki, L. e Martin, R.L., *Inorg. Chem.*, 1966, 5, 2203.

[19] Kato, M. e Muto, Y., *Coord. Chem. Reviews*, 1988, 92, 45.

[20] Dendrinou-Samara, C., Jannakoudakis, P.D., Kessissoglou, D.P., Manoussakis, G.E., Mentzafos, D. e Terzis, A., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1992, 3259.

[21] Kozlevcar, B., Leban, I., Turel, I., Segedin, P., Petric, M., Pohleven, F., White, A.J.P., Williams, D.J.P., Sieler, J., *Polyhedron*, 1999, 18, 755.

[22] Weder, J.E., Hambley, T.W., Kennedy, B.J., Lay, P.A., MacLachlan, D., Bramley, R., Delfs, C.D., Murray, K.S., Moubaraki, B., Warwick, B., Biffin, J.R. e Regtop, H.L., *Inorg. Chem.*, 1999, 38, 1736.

[23] Alves, W.A., Atividade Catalítica de Compostos Diimínicos de Cobre(II) Frente a Oxidantes Biológicos: Espécies Mono-, Di- e Tetranucleares, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP, 2001.

[24] More, C., Belle, V., Asso, M., Fournel, A., Roger, G., Guigliarelli, G., Bertrand, P., *Biospectroscopy*, 1999, 5, S3.

[25] Machonkin, T.E., Mukherjee, P., Hurson, M.J.,Stack, T.D.P., Solomon, E.I., *Inorg. Chim. Acta*, 2002, 341, 39.

[26] Felthouse, T.R., Hendrickson, D.N., *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 17, 444.

[27] Meier, J.L., Coughenour, C.E., Carlisle J.A. e Carlisle, G.O., *Inorg. Chim. Acta*, 1985, 106, 159.

[28] Sapiña, F., Burgos, M., Escrivá, E., Folgado, J.V., Beltrán, D. e Gómez-Romero, P., *Inorg. Chim. Acta*, 1994, 216, 185.

[29] Jotham, R.W., Kettle, S.F.A. e Marks, J.A., *J. Chem.Soc. Dalton Trans.*, 1972, 428.

[30] Figgis, B.N., and Martin, R.L., *J. Chem. Soc.*, 1956, 3837.

[31] Hadjikostas, C.C., Katsoulos, G.A., Sigalas, M.A., Tsipis, C.A. e Mrozinski, J., *Inorg. Chim. Acta*, 1990, 167, 165.

[32] Lever, A.B.P. e Ramaswamy, B.S., *Can. J. Chem.*, 1973, 51, 514.

[33] Mathey, Y., Greig, D.R. e Shriver, D.F., *Inorg. Chem.*, 1982, 21, 3409.

[34] Cornilsen, B. e Nakamoto, K., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1974, 36, 2467.

[35] Kesharwani, R. e Singh, P., *Asian Journal of Chemistry*, 2000, 12(1), 23.

[36] Mansour, S.A.A., *Journal of Thermal Analysis*, 1996, 46, 263.

CAPÍTULO III:

ENSAIOS BIOLÓGICOS IN VITRO DOS COMPLEXOS DE $Ru_2(II,III)$ E DE $Cu_2(II,II)$

III.1. INTRODUÇÃO

III.1.1 Atividade Antitumoral dos Tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$.

É conhecido que drogas quimioterápicas apesar de eficazes, apresentam uso clínico limitado devido a vários efeitos colaterais negativos. Esses efeitos podem incluir uma alta nefrotoxicidade, desenvolvimento de resistência à droga após contínuas doses e o mais importante de todos, incapacidade de distinguir as células sadias das tumorais[1].

Para combater os efeitos colaterais negativos, novos materiais antineoplásicos estão sendo continuamente sintetizados e avaliados. A terapia combinatória também está sendo pesquisada na esperança de encontrar efeitos sinérgicos. Novos métodos para obtenção de drogas ativas contra o crescimento de tumores estão sendo desenvolvidos e novas técnicas de tratamento, tal como a terapia fotodinâmica estão sendo pesquisadas[1].

Os tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ em contraste aos análogos de $Rh_2(II,II)$, e aos complexos mononucleares desses íons, têm recebido pouca atenção em relação à possível capacidade inibidora de tumor.

Keppler *et al.*[2] pesquisaram a atividade de dois tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ pouco solúveis em água: o acetato, $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$ e o propionato $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_2CH_3)_4Cl]$, verificando que esses apresentam atividade contra Leucemia P388, por meio de medidas das porcentagens do tempo médio de sobrevida em animais tratados (T) e do tempo médio de sobrevida dos animais controle (C). Os valores de %T/C foram de 125 para o primeiro e 133 para o segundo[3].

Clarck *et al.*[4,5] sugerem que a atividade antitumoral desses complexos pode ser devida à ligação ao DNA, de modo similar aos análogos estruturais de $Rh_2(II,II)$. Com o propósito de demonstrar este fato, Dunbar e Christou[6,7] têm realizado estudos sobre a ligação das bases guanina a vários carboxilatos dimetálicos incluindo as espécies de Ru_2^{5+}. A reação da 9-etilguanina (9-EtGH) com uma solução metanólica contendo o produto isolado a partir do refluxo de uma mistura de $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4Cl]$, $Ag(O_2CCH_3)$ e CF_3CO_2H, produz o complexo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_{2-x}(\mu\text{-}O_2CCF_3)_x(9\text{-}EtGH)_2(MeOH)_2][\ (O_2CCF_3)_2.2MeOH.0{,}5Et_2O$, x = 0,18. Nesta estrutura a 9-EtGH substitui dois acetatos ponte e coordena-se ao metal através do O6 e N7.

Derivados de $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^+$ com adenina e adenosina também foram

sintetizados e caracterizados[8]. O derivado de adenina é polimérico com a adenina em ponte entre dois dímeros de $Ru_2(II,III)$ adjacentes, ligada através do N9 e N3 (ou N1). Ao contrário, a adenosina forma um composto do tipo $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(adenosina)_2]$ ligando-se aos íons de Ru através do N7. Os dois complexos mostraram-se menos tóxicos em relação a outros compostos de Ru e sugere-se que poderiam formar espécies potencialmente estáveis quando ligados à região poly-A do DNA através do N7 da adenosina.

Recentemente, Constance *et al.*[1,9] com o propósito de obter novos fármacos anticancerígenos, reportaram os resultados dos ensaios da atividade antitumoral *in vitro* em células cancerígenas humanas, HeLa e Colo 320DM, de uma série de tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ de fórmula $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CR_3)_4(L)_2]PF_6$, L = imidazol, 1-metilimidazol e H_2O quando R = CH_3; L = etanol, quando R = Ferrocenil ou Fc-CH=CH-. Os valores de IC_{50} (concentração do complexo que mata 50% das células) estão na faixa de 120 – 950 μmol dm^{-3}, sendo as células Colo 320DM mais susceptíveis às drogas em relação à HeLa, comportamento este não usual e oposto ao da cisplatina.

Em relação à atividade antitumoral dos carboxilatos dinucleares de $Cu_2(II,II)$, muito pouco é relatado na literatura. Salicilatos de $Cu_2(II,II)$, que apresentam estrutura similar a dos carboxilatos, exibem uma atividade que foi atribuída à alteração da concentração do "oxigênio ativo" nas células tumorais provocada pelos complexos, mimetizando uma atividade enzimática[10].

As células tumorais apresentam uma atividade diminuída da enzima superóxido dismutase (SOD). Como esta enzima (que contém os metais Cu, Zn ou Mn), catalisam o desproporcionamento do íon superóxido, $O_2^{-\bullet}$, segundo a reação:

$$2O_2^{-\bullet} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad \text{.... (III.1)}$$

Essa diminuição da atividade da SOD torna o ambiente de uma célula tumoral seletivamente tóxico devido ao aumento na concentração de O_2^-. Portanto, compostos miméticos da SOD podem apresentar atividade antitumoral[10].

Estudos mostraram que a enzima CuSOD pode inibir o crescimento de tumores. Complexos de cobre como o bis(isopropilsalicilato) de $Cu_2(II,II)$, de estrutura análoga ao CuACET, inibem o crescimento do tumor de Erlich *in vivo*, com retardamento da metástase e aumento do tempo de vida do hospedeiro. O

mecanismo ainda é incerto, mas a produção de H_2O_2 pode ser a responsável, em parte, pelo efeito antitumoral. Este complexo não mimetiza tão fortemente a atividade da SOD e é rapidamente degradado[10].

Na parte III.3.1 e III.3.2 deste capítulo serão apresentados os resultados obtidos nos ensaios de citotoxicidade em células NCTC clone 929 e atividade antitumoral em células HeLa para os complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$ e $Cu_2(II,II)$ com ligantes nitroimidazólicos

III.1.2 Efeito Radiossensibilizador

A. Interação da radiação com tecidos biológicos[11,12]

O princípio da radioterapia baseia-se no fato da radiação poder destruir as células cancerígenas, por danos ao DNA, provocando a quebra das hélices e interferindo principalmente na divisão celular.

Como o principal componente das células é a água (70 – 85 %), as alterações químicas produzidas pela radiação ionizante nesta molécula são importantes para entender os processos biológicos. Esta interação da radiação com a água denomina-se ***Reação de Radiólise*** e pode ser escrita da seguinte forma:

$$H_2O \xrightarrow{h\nu} e^-_{aq} + H^\bullet + H_2 + HO^\bullet + H_3O^+ + H_2O_2 \quad \text{..... (III.2)}$$

O radical hidroxil, $HO^\bullet$, é o produto mais reativo e mais danoso, pois ataca os açúcares do DNA , originando a quebra de uma das suas hélices. As espécies e^-_{aq} e $H^\bullet$ reagem com oxigênio formando íons superóxido:

$$e^-_{aq} + O_2 \rightarrow O_2^{-\bullet} \quad \text{..... (III.3)}$$

$$H^\bullet + O_2 \rightarrow O_2^{-\bullet} + H^+ \quad \text{..... (III.4)}$$

O alvo da radiação é sem dúvida o DNA. O dano pode ser direto (pela interação direta da radiação com o alvo que sofre uma polarização localizada), ou indireto (através de algum produto da radiólise da água como o radical $HO^\bullet$ por

exemplo). Independente do tipo de dano, rearranjos químicos posteriores, "fixam" a lesão, de acordo com o esquema abaixo:

$$T_i \rightarrow T_i^{\bullet} \xrightarrow{\text{fixação}} T_f$$

T_i pode ser o alvo não danificado, $T_i^{\bullet}$ o alvo com algum dano inicial e T_f o alvo com o dano fixado depois de ter transferido o elétron para uma molécula receptora.

As lesões podem ser classificadas como: a) quebra da dupla hélice, b) quebra de uma das hélices, c) dano a uma das bases e d) *cross-linking.* Logicamente, processos de reparos enzimáticos podem acontecer e geralmente ocorrem em escalas de tempo de 10^{-1} a 10^{4} s, sendo a quebra da dupla hélice o dano mais difícil de reparar.

O oxigênio pode ser considerado um clássico agente modificador da dose ou sensibilizador e deve estar presente durante o processo de irradiação para exercer o seu efeito sensibilizador. Um possível mecanismo para o processo é o O_2 receber um elétron dos radicais-alvo gerados pela radiação:

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow RO_2^{\bullet} \rightarrow R^{+} + O_2^{-\cdot} \qquad \text{..... (III.5)}$$

Este radical $R^{\bullet}$ (DNA) apresenta um tempo de vida bastante curto e pode sofrer mudanças químicas como as mostradas na equação III.5, onde reage com o oxigênio originando um peróxido orgânico, reação não reversível resultando num dano biológico pela fixação de uma lesão letal sobre o alvo.

B. Princípios de radiossensibilização[11,12]

Muitos tumores apresentam áreas necróticas geralmente separadas do sistema vascular por uma distância de 150 – 200 μm. Esta situação deve-se ao fato das células tumorais se multiplicarem desordenadamente com alto consumo de oxigênio ao ponto de apresentar áreas hipóxicas (deficientes em oxigênio). No tratamento do câncer, a presença dessas áreas hipóxicas representa uma inerente resistência à ação das drogas. O problema da resistência hipóxica é muito mais agudo no tratamento com radiação (radioterapia). As células hipóxicas, que podem

representar até 30% da massa total do tumor, podem se tornar aeróbicas após o tratamento e, neste caso, o crescimento do tumor pode recomeçar.

Devido a este problema, compostos químicos que possam exibir alguma seletividade para células hipóxicas, tornaram-se interessantes para uso em radioterapia. Chamam-se ***radiossensibilizadores***, *os agentes químicos que aumentam a sensibilidade das células hipóxicas à radiação, visando o aumento da eficácia da radioterapia no tratamento do câncer.*

Existem três tipos de mecanismos propostos para a radiossensibilização :

a) *Incorporação ao DNA (ligação).* Agentes que se ligam ao DNA prejudicando o seu funcionamento e originando, por exemplo, muitas dificuldades no processo de reparo além do dano produzido pela radiação.

b) *Diminuição da concentração de Tióis (RSH).* As propriedades radioprotetoras dos tióis (ex. glutationa) e aminotióis são bastante conhecidas, sendo geralmente atribuídas à sua capacidade de extinguir os radicais induzidos pela radiação. Compostos que removem os tióis aumentam o tempo de vida dos radicais e, conseqüentemente podem apresentar propriedades radiosensibilizadoras.

c) *Miméticos de Oxigênio (mecanismo de afinidade eletrônica).* Alguns compostos atuam de forma similar ao oxigênio, e quando presentes nas células hipóxicas, aumentam a sensibilidade das mesmas à radiação. O mecanismo é idêntico ao exibido pelo oxigênio, envolvendo a transferência eletrônica do alvo danificado pela radiação ($R^{\bullet}$, DNA) (Equação III.5) a uma molécula mais "eletroatraente". Isso resulta, com muita probabilidade, numa fixação da lesão nesse ponto, originando uma mudança química irreversível no DNA (quebra das hélices).

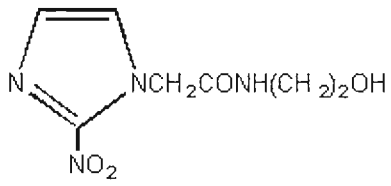
C. Nitroimidazóis como radiossensibilizadores [11,12,13]

A maior parte das pesquisas e desenvolvimento de novos fármacos radiossensibilizadores, tem sido concentrada em compostos orgânicos, embora

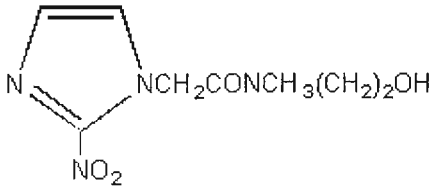
existam complexos inorgânicos que reunem todos os critérios comumente considerados como pré-requisitos para seletividade a células hipóxicas.

A teoria da afinidade eletrônica foi desenvolvida por Adams e Dewey em 1963. O desenvolvimento desta teoria levou à produção de muitas moléculas com atividade radiossensibilizadora. As espécies de maior interesse clínico são os nitroimidazóis substituídos nas posições 2 e 5, sendo de grande importância o misonidazol e o metronidazol .

O melhor candidato para uso clínico foi o misonidazol, mas testes clínicos posteriores mostraram inaceitáveis efeitos colaterais, especialmente a neurotoxicidade nas doses clinicamente requeridas para radiossensibilização. Posteriormente, se deu muita atenção ao etanidazol (SR 2508), um nitroimidazol de estrutura similar ao misonidazol, mas que contém uma cadeia lateral peptídica (figura III.1). A pesquisa sobre novos nitroimidazóis é crescente e na maioria das vezes, são desenvolvidas moléculas com estruturas baseadas na estrutura do miso- e do etanidazol[14,15], onde o grupo nitro ocupa a posição 2 do anel imidazólico.



etanidazol



TXT-1877

***FIGURA III.1*.- Estrutura de alguns nitroimidazóis de interesse como radiossensibilizadores.**

A ativação dos nitroimidazóis por radiação é mostrada na figura III.2. O mecanismo de redução é similar ao do processo metabólico mostrado na figura I.2. A transferência eletrônica para um nitroimidazol permite a produção inicial do ânion nitro-radical com posterior formação de amina.

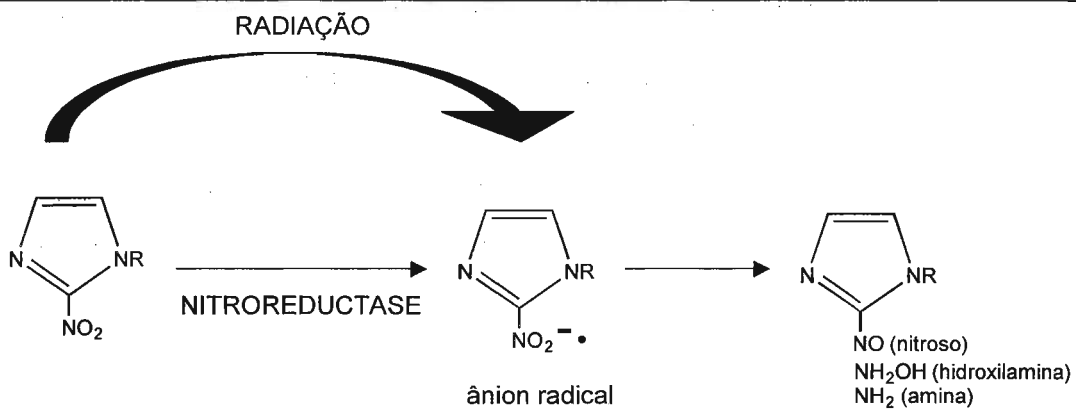


***FIGURA III.2*.- Ativação dos nitroimidazóis tanto por radiação como por processos metabólicos[11].**

D. Complexos de rutênio e de cobre como radiossensibilizadores.

O estudo de complexos de rutênio, visando a atividade radiossensibilizadora limita-se a derivados do *cis*-$[RuCl_2(DMSO)_4]$, que apresenta uma atividade antitumoral bastante discreta. Complexos de DMSO e de TMSO (tetrametilsulfóxido) de fórmula *cis,cis,cis*-$[RuCl_2(L)_2(NO_2Im)_2]$ (L=sulfóxido)[16,17] foram investigados. Em alguns casos o nitroimidazol atua como um ligante quelato, coordenando-se ao Ru(II) pelo N3 do anel e pelo oxigênio do grupo nitro originando complexos do tipo $[RuCl_2(L)_2(NO_2Im)]$. Para o caso específico do etanidazol, o complexo mostrou-se mais ativo do que o ligante livre. A atividade radiossensibilizadora de alguns destes complexos foi mais promissora do que a dos complexos de platina, além da sua toxicidade ser menor[11].

Complexos e sais de cobre também têm sido testados como radiossensibilizadores. O $CuSO_4$, por exemplo, apresenta boa atividade em concentrações 10 μmol dm^{-3}, existindo a possibilidade de o cobre atuar como radiossensibilizador endógeno. A interação entre a radiação e um complexo de cobre com o agente antitumoral 2-formilpiridina monotiosemicarbazona mostrou efeito sinérgico sobre células CHO (ovário de hamster chinês) em ambiente aeróbico em comparação com os compostos orgânicos isolados[18].

Foram realizados estudos dos complexos monoméricos de Cu(II) e metronidazol frente a radiação onde foi observado que o radical $OH^{\bullet}$ atacava o complexo metálico produzindo adutos de OH, e obtendo-se o complexo reduzido de Cu(I) através de transferências eletrônicas intra-moleculares[19]. Efeito semelhante foi

observado por Basu *et al.* que pesquisaram a radiossensibilização de timina por esses mesmos complexos[20].

Em relação aos carboxilatos dinucleares de $Ru_2(II,III)$, não foram encontrados na literatura relatos de teste como radiossensibilizador, ao contrário do que ocorre com o análogo de $Rh_2(II,II)$[21]. No caso do cobre, o carboxilato dinuclear de fórmula: $[Cu_2(L)_4(H_2O)_2].2H_2O$, L = 3-[1-(4-nitroimidazolil)] propionato, apresentou uma atividade radiossensibilizadora semelhante ao do misonidazol em ensaios com células V79 de hamster chinês[22].

E. Curvas de Sobrevivência Celular e Doses de Radiação[11-13]

A efetividade da morte celular por radiação, seja *in vitro* ou *in vivo*, é medida pela *Curva de Sobrevivência Celular* ou *Curva de Sobrevivência à Dose.*

A figura III.3 mostra uma curva típica de células que foram expostas a raios-X sob N_2 ou O_2. No eixo Y, está representada a fração de sobrevivência celular. No eixo X, a dose de radiação em grays (Gy). Note-se que a dose requerida para obter o mesmo efeito, a morte celular, é aproximadamente três vezes maior em ambiente anaeróbico do que em ambiente aeróbico.

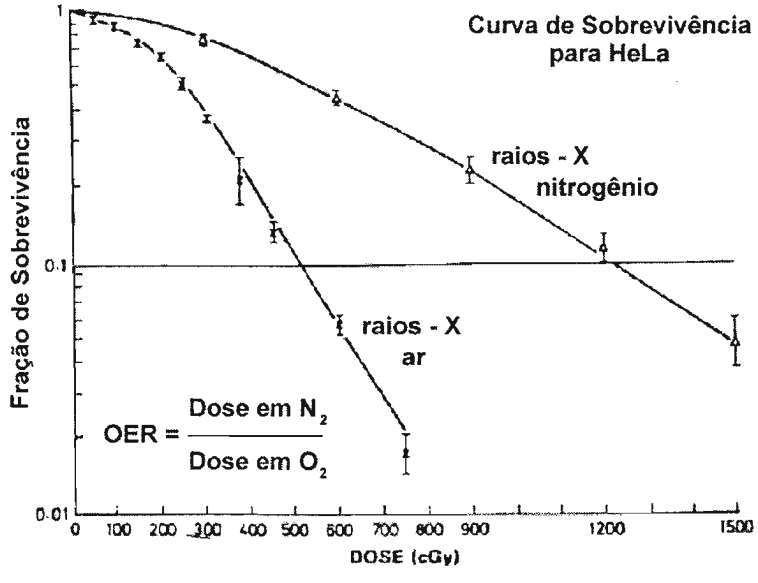


***FIGURA III.3*.- Curva de Sobrevivência típica para células HeLa irradiadas com raios-X[21].**

A relação entre as doses de radiação requeridas para provocar o mesmo efeito em ambientes anaeróbico e aeróbico, é denominado Fator de Contribuição de

Oxigênio (*Oxigen Enhacement Ratio*) (OER). Esta relação varia de acordo com o tipo de radiação e independe do nível de sobrevivência.

$$OER = \frac{\text{Dose em ambiente anaeróbico}}{\text{Dose em } O_2} \quad \ldots\ldots \text{(III.6)}$$

Nos tecidos normais a concentração de oxigênio é de 2-5%. A concentração de oxigênio requerida para uma sensibilização total é de aproximadamente 2% ($30\mu mol\ dm^{-3}$). Portanto, os tecidos normais apresentam oxigênio suficiente para que os efeitos da radiação sejam totalmente observados.

Para agentes modificadores do efeito da radiação diferentes do oxigênio, o termo OER, muda para ER (*Enhacement Ratio*) ou Fator de Modificação da Dose (*Dose Modification Factor*) (DMF), termo que é utilizado para descrever o efeito desses agentes diferentes do oxigênio em relação ao nitrogênio:

$$ER \text{ ou } DMF = \frac{\text{Dose em ambiente anaeróbico na ausência do agente químico}}{\text{Dose na presença do agente químico}} \quad \ldots\ldots \text{(III.7)}$$

Para o agente químico que apresenta efeito radiossensibilizador, a dose de radiação deve ser menor do que a dose requerida na sua ausência para causar a mesma porcentagem de sobrevivência celular. Portanto, um agente radiossensibilizador deve apresentar ER ou DMF > 1.

Vários modelos matemáticos têm sido propostos para descrever a curva de sobrevivência. Muitos deles são convergentes para altas doses, mas apresentam resultados incoerentes no caso de doses baixas (0 – 4 Gy).

Chadwick e Leenhouts[23] sugeriram que a morte celular era causada pela quebra das duas hélices do DNA. Isto poderia ocorrer num evento simples ou em dois eventos independentes, cada um deles gerando a quebra de uma das hélices opostas no DNA (eventos duplos).

Chapman *et al.*[24] desenvolveram este modelo (modelo α, β) e observaram que os dados das curvas de sobrevivência celular ajustavam-se muito bem. O modelo foi desenvolvido com princípios de microdosimetria e equaciona a fração de sobrevivência celular com o produto de dois termos exponenciais que dependem das doses que produzem eventos simples e duplos respectivamente:

$$\ln S = -\alpha D - \beta D^2 \quad \text{..... (III.8)}$$

Nesta equação:

S é a fração de sobrevivência (número de células sobreviventes a uma determinada dose de radiação/número de células sobreviventes na dose = zero);

D é a dose de radiação;

α e β, constantes que definem eventos simples e duplos produzidos pela radiação, respectivamente.

Na literatura é chamado de modelo linear quadrático (LQ), e este é o modelo que adotamos para ajustar os nossos dados experimentais.

A figura III.4 mostra como se produziriam esses eventos α e β.

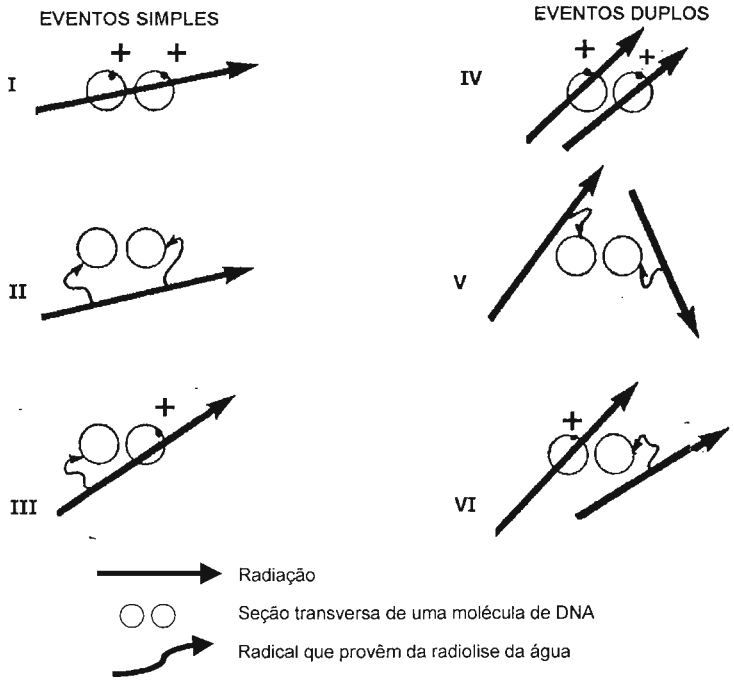


***Figura III.4*.- Esquema representando a produção dos eventos α e β e o possível envolvimento da ação direta e indireta[24].**

Na parte III.3.3 deste capítulo serão apresentados os resultados obtidos para os complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$ e $Cu_2(II,II)$ com ligantes nitroimidazólicos nos ensaios *in vitro* de radiossensibilização em células tumorais Hep2.

III.1.3 Bactérias e Fungos

A. Bactérias[25]

As bactérias foram identificadas pela primeira vez em 1670 por Van Leeuwenhoeck, mas somente no século XIX é que se começou a entender o vínculo com doenças. Depois seguiram os elegantes experimentos do cientista francês Louis Pasteur que demonstrou que certas bactérias eram essenciais para a fermentação e que estes e outros microrganismos eram mais importantes do que se pensava até aquele momento, percebendo-se então que os mesmos poderiam ser responsáveis por algumas doenças.

Durante a última metade do século XIX, cientistas como Koch foram capazes de identificar microrganismos responsáveis por doenças como tuberculose, cólera e tifo. Métodos como a vacinação, começaram a serem estudados para combater infecções e os pesquisadores começaram a encontrar agentes bactericidas ou antibióticos efetivos. Paul Ehrlich ganhou o título de "Pai da quimioterapia" pelo uso de compostos químicos para combater infecções.

Em 1910, Erlich tinha desenvolvido o primeiro exemplo de uma droga antimicrobiana puramente sintética, o Salvarsan, que é um composto que contém arsênio na sua composição. Embora esta não fosse efetiva contra uma ampla faixa de infecções por bactérias, provou ser efetiva contra doenças causadas por protozoários (trypanosomiasis) e sífilis. Esta droga foi utilizada até 1945 quando foi então substituída pela penicilina.

Muitos agentes bactericidas estão agora disponíveis e a grande maioria das doenças produzidas por bactérias têm sido mantidas sob controle, como por exemplo, sífilis e gonorréia.

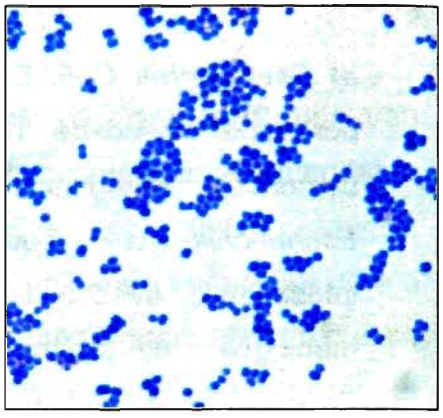
O sucesso dos agentes bactericidas deve-se ao fato de eles atuarem seletivamente contra células bacterianas e não contra células animais, que diferem tanto em relação à estrutura quanto aos processos biosintéticos que acontecem dentro delas.

Em nosso trabalho testamos a atividade dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ e $Cu_2(II,II)$ contra bactérias aeróbicas (*Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa e Staphylococcus aureus*), microaerófilas (*Campylobacter coli*) e

anaeróbicas (*Bacteroides fragilis*). As características mais importantes destas bactérias são apresentadas a seguir[26] :

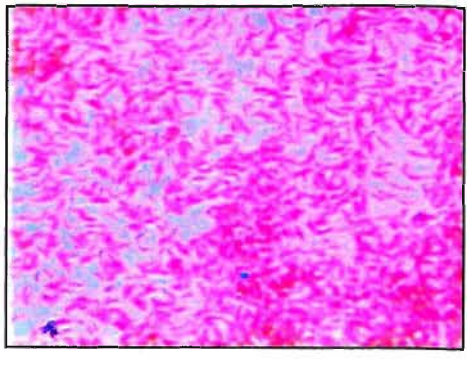
***a) Escherichia Coli*:** Esta espécie é constituída por uma variedade relativamente grande de bactérias patogênicas. As denominadas *Escherichia coli* podem causar infecções intestinais, infecções urinárias, septicemia, meningite e outros tipos de infecção. Provavelmente nenhuma outra espécie bacteriana é tão versátil em sua patogenicidade como esta. Com relação às infecções intestinais, pelo menos seis categorias de *Escherichia coli* são conhecidas: *Escherichia coli* enteroinvasora (EIEC), *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC), *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC), *Escherichia coli* enteroagregativa (EAggEC) e *Escherichia coli* que adere difusamente (DAEC).

***b) Pseudomonas aeruginosa*:** A *Pseudomonas aeruginosa* é um germe tipicamente oportunista, que pode causar várias doenças. As infecções localizadas, em consequência de processos cirúrgicos ou queimaduras, podem resultar em bacteremias severas. Infecções urinárias, associadas ao uso de catéteres, são frequentes. Os portadores de fibrose cística são, em sua maioria, colonizados pela *P. aeruginosa*, embora raramente apresentem bacteremia. Presume-se que esta resistência seja devida à presença de anticorpos séricos em níveis elevados. Em alguns destes pacientes, a bactéria provoca pneumonia mortal. Pneumonias graves podem também ocorrer em pacientes que usam respiradores contaminados. Embora raramente, pode causar meningite, após punções lombares, e endocardites, após cirurgias cardíacas. Vários estudos têm demonstrado que a *P. aeruginosa* geralmente coloniza o trato respiratório, depois de algumas doenças ou do uso de cateteres. Isto parece ocorrer porque a célula epitelial perde fibronectina, uma proteína que bloqueia a aderência da bactéria ao epitélio normal.



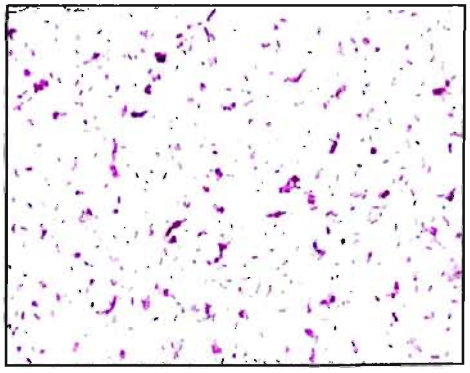
c) Staphylococcus aureus : Os estafilococos são cocos Gram-positivos, catalase positivos, que tendem a formar agrupamentos semelhantes a cachos de uva. Os estafilococos são amplamente distribuídos na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosas de mamíferos e aves. Tradicionalmente, os estafilococos são divididos em duas categorias: coagulase positivas e coagulase negativas. Essa divisão é baseada na capacidade de coagular o plasma, que é uma propriedade considerada, há longo tempo, como importante marcador de patogenicidade dos estafilococos. Entre os coagulase positivas, *Staphylococcus aureus* representa a espécie geralmente envolvida em infecções humanas, tanto de origem comunitária quanto hospitalar, sendo, consequentemente, a mais extensivamente estudada.

O *Staphylococcus aureus* é o agente mais comum de infecções que podem se localizar na pele ou em regiões mais profundas. Quando na pele, recebem diferentes designações, tais como foliculite, furunculose, carbúnculo e impetigo, de acordo com a localização e outras características. Em indivíduos debilitados por doenças crônicas, traumas físicos, queimaduras ou imunossupressão, esse microrganismo pode causar infecções de caráter mais grave. Entre as infecções profundas destacam-se a osteomielite, a bacteremia, a endocardite, a pneumonia e, ocasionalmente, a meningite. Apesar da patogênese das intoxicações estafilocócicas ser relativamente bem compreendida, pouco se sabe a respeito dos fatores que determinam a capacidade do *Staphylococcus aureus* em invadir, proliferar e lesar os tecidos do organismo humano.



d) Campylobacter coli: Estas bactérias são incapazes de proliferar em presença de ar atmosférico, porém também não crescem em anaerobiose. São microaerófilos estritos, precisando de 5 a 6% de O_2 para proliferar. Esta bactéria é um enteropatógeno que eventualmente

invade a circulação, causando infecção em diferentes órgãos. A infecção intestinal localiza-se nos intestinos delgado e grosso, onde a bactéria adere e prolifera. O mecanismo de diarréia ainda não foi esclarecido completamente. Em alguns pacientes não há dúvida de que o *Campylobacter coli* invade a mucosa intestinal, determinando ulceração e diarréia mucossanguinolenta. O *Campylobacter coli* reconhece os porcos como seu principal reservatório natural. Nos países desenvolvidos, *Campylobacter coli* é responsável por mais ou menos 3% dos casos de diarréia produzidos e nos países em desenvolvimento esta frequência pode atingir até 25%.



***e) Bacteróides fragilis*:** Os bacteróides são bacilos Gram-negativos que atualmente incluem as espécies do grupo *Bacteroides fragilis* e algumas novas espécies sem interesse clínico, além do *Bacteroides ureolyticus* e *Bacteroides fracilis*, causadores de infecções em várias regiões, como cabeça, pescoço, pulmões, abdomem, ossos e aparelho uro-genital. O grupo *Bacteroides fragilis* é composto das espécies de maior significado clínico *(Bacteroides fragilis, Bacteroides thetaiomicron)*, tanto pela freqüência de suas infecções quanto pela sua resistência natural ou adquirida aos antimicrobianos. É normalmente encontrado no trato intestinal onde constitui a porção dominante de microbiota normal. Pode também ser encontrado em menor número no trato genital feminino e mais raramente na boca ou trato respiratório superior. De modo geral, estes microrganismos são resistentes aos antibióticos betalactâmicos, aparentemente devido à produção de betalactamases.

B. Fungos[26]

Durante muito tempo, os fungos foram considerados como vegetais e, somente a partir de 1969, passaram a ser classificados em um reino à parte denominado *Fungi*.

Os fungos apresentam um conjunto de características que permitem serem diferenciados das plantas: não sintetizam clorofila nem qualquer pigmento

fotossintético; não têm celulose na parede celular, exceto alguns fungos aquáticos, e não armazenam amido como substância de reserva. A presença de substâncias quitinosas na parede da maior parte das espécies fúngicas e a capacidade de armazenar glicogênio os assemelham às células animais.

Os fungos são ubíquos, encontrando-se em vegetais, em animais, no homem, em detritos e em abundância no solo, participando ativamente do ciclo dos elementos na natureza. A dispersão dos fungos na natureza é feita por várias vias: animais, homem, insetos, água e principalmente, pelo ar atmosférico, através dos ventos.

Os fungos são seres vivos eucarióticos mononucleares, como as leveduras, ou multinucleares, como os fungos filamentosos ou bolores e como cogumelos (fungos macroscópicos).

O reservatório habitual dos fungos que infectam o homem pode ser o próprio homem, animais ou um sítio na natureza, onde o fungo se desenvolve como saprófita.

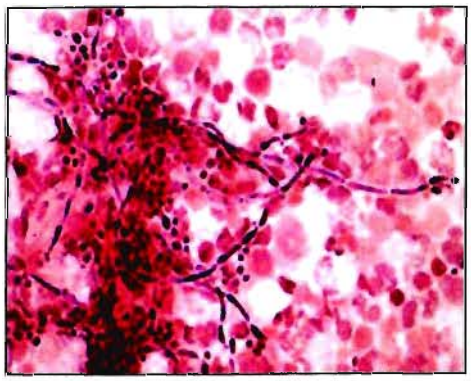
No homem os fungos causam as micoses e dependendo dos tecidos e órgãos atingidos, as micoses são classificadas em:

1. Micoses superficiais de localização nas camadas mais superficiais da pele, pelo ou unhas.
2. Micoses sistêmicas ou profundas atingindo, principalmente, órgãos internos e vísceras, podendo abranger muitos tecidos e órgãos diferentes.

Além dessas infecções fúngicas, os pacientes imunocomprometidos por doenças como câncer, diabetes ou pacientes submetidos a corticoideterapia, antibioticoterapia, ou uso de imunosupressores podem ser atingidas por micoses oportunísticas.

Essas micoses oportunistas são infecções cosmopolitas causadas por fungos de baixa virulência, que convivem pacificamente com o hospedeiro, mas, ao encontrar condições favoráveis, como distúrbios do sistema imunodefensivo, podem se tornar patogênicos, invadindo os tecidos. Atingem indivíduos de ambos os sexos, de todas as faixas etárias e raças.

Da longa lista de fungos oportunistas, destacam-se *Aspergillus spp., Candida spp., Mucor spp., e Cryptococcus neoformans.*



a) Candida spp.: A candidíase, também denominada de candidose, é infecção causada por fungos do gênero Cândida. O agente mais comum é *Candida albicans* que tem sido isolada da boca, tubo digestivo, intestino, faringe, vagina e pele de indivíduos sadios. A maior parte das infecções causadas por *Candida albicans* é de origem endógena. Mais recentemente, a transmissão exógena, principalmente intra-hospitalar, de *Candida albicans* e de outras espécies do gênero, tem sido relatada. O fungo tem poder invasor em pacientes debilitados pelo tratamento com antibióticos e drogas imunossupressoras e no decurso de doenças crônicas. Ao prolongar a vida dos pacientes, ao mesmo tempo, aumenta-se a possibilidade das infecções oportunistas.

A candidiase da mucosa oral, também chamada de estomatite cremosa ou sapinho, caracteriza-se pelo aparecimento de placas brancas, isoladas ou confluentes, aderentes à mucosa é uma forma da micose mais frequente em pacientes gravemente enfermos e em recém-nascidos quando se associa à candidiase da mucosa vaginal da mãe.

Na mucosa vaginal, as lesões se assemelham às da boca e são encontradas principalmente em mulheres grávidas com corrimento, em diabéticas ou pacientes que recebem terapêutica antimicrobiana prolongada. No homem pode ser encontrada a balanite, infecção na glande, por *Candida albicans*, sendo comumente considerada como sexualmente adquirida. A candidíase cutaneomucosa crônica é rara, acometendo geralmente pacientes com deficiências imunológicas, anomalias genéticas e endócrinas. A candidíase cutânea generalizada é comumente crônica, sendo observada em pacientes com deficiências nutricionais e em imunodeprimidos. As lesões são eritematosas, crostrosas e com exsudatos.

A candidíase sistêmica é grave. O diagnóstico em vida é difícil devido ao polimorfismo das lesões, variabilidade de sinais e sintomas que não são específicos. O isolamento do microrganismo do sangue nem sempre é possível.

As principais localizações de candidíase sistêmica se verificam nos rins, cérebro, coração, trato digestivo, brônquios, pulmões e sangue. Febre, mal-estar

geral, dor muscular, erupção cutânea e endoftalmites são alguns dos sintomas mais frequentes.

Endocardites por *Candida* (*Candida tropicalis, Candida parapsilosis* são as espécies mais comuns), ocorrem em pacientes com defeitos vasculares, viciados em drogas e pacientes imunocomprometidos nesses processos.

III.2 PARTE EXPERIMENTAL

III.2.1 DETERMINAÇÃO DA CITOTOXICIDADE, ATIVIDADE ANTITUMORAL E EFEITO RADIOSSENSIBILIZADOR

A. Materiais

Linhagem celular:

- NCTC clone 929 de tecido conectivo de camundongo, originária da American Type Culture Collection [ATCC-(CCL1)].
- HeLa, de carcinoma de cervix humano fornecida pelo Instituto Adolfo Lutz
- Hep2, de carcinoma epidermóide de laringe humana da American Type Culture Collection [ATCC-(CCL1)].

Meio de cultura: Meio de Eagle (MEM) com adição de 10% de soro fetal bovino, amino ácidos não-essenciais e piruvato de sódio.

Soluções:

Tripsina 0,2% (Difco) e Versene (Merck) 0,02% (ATV);

Solução de vermelho neutro (Merck) contendo 50μg cm^{-3} MEM;

Solução de lavagem: cloreto de cálcio (Merck) 1% em formaldeido 0,5%;

Solução tampão fosfato-salina pH 7,4 (Instituto Adolfo Lutz);

Solução de extração: ácido acético glacial(Merck)/etanol(Merck) (1:1).

Equipamentos:

Fluxo laminar classe 100;

Incubadora com CO_2 marca Binder;

Microscópio invertido, Olympus;
Micropipeta multicanal de 8 canais;
Leitor de ELISA marca Sunrise, da Tecan (filtros de 540nm e 630nm).

Materiais descartáveis estéreis:
Microplacas para cultura de tecidos com 96 poços, pipetas graduadas, garrafas para cultura celular, sistema de filtração de soluções, tubos de centrifuga, ponteiras para micropipetas de 8 canais.

Outros materiais descartáveis:

Envelope CampyGen *gas pack* (Oxoid), gerador de ambiente anaeróbico, potes plásticos com tampa, sacos plásticos.

B. Determinação da Citotoxicidade dos Compostos pelo Método de Incorporação do Vermelho Neutro

B.1 Preparo da suspensão celular :

As células NCTC clone 929 foram cultivadas em garrafa de cultura celular, utilizando-se meio de cultura MEM enriquecido com 10% de soro fetal bovino. Após crescimento confluente a cultura celular foi tratada com solução ATV, para o destaque das células. As células foram contadas em hemocitômetro (câmara de contagem de Newbauer) e a suspensão celular foi acertada para obtenção de $5x10^3$ a $5x10^4$ células por cm^3.

Distribuição da suspensão celular na microplaca:

Um volume de 0,2 cm^3 da suspensão celular obtida no item anterior foi distribuído em cada poço na microplaca de cultura celular de 96 poços. A placa foi incubada em estufa úmida a 37°C e atmosfera com 5% CO_2 por cerca de 24h, para a adesão e formação de uma camada de células no fundo de cada poço.

B.2 Preparo das amostras :

Foram preparadas suspensões aquosas saturadas do precursor RuAQUO e dos quatro derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$: RuMETRO, RuNIMO, RuSECNI

e RuTINI. Estas suspensões foram submetidas a uma filtração simples utilizando papel de filtro quantitativo. Para o CuACET, os quatro derivados de Cu_2 (II,II): CuMETRO, CuNIMO, CuSECNI, CuTINI e os ligantes nitroimidazólicos, foram preparadas soluções aquosas de concentrações conhecidas, por apresentarem solubilidade maior que os análogos de Ru_2(II,III). Posteriormente, as soluções foram esterilizadas passando-as por filtros com poros de 0,22 μm, marca Millipore.

A solução mais concentrada de cada composto, que será denominada solução 100%, foi obtida por diluição em meio de cultura MEM, na proporção de 3 cm^3 de solução : 2 cm^3 do meio MEM. Os valores dessas concentrações foram determinadas utilizando-se a técnica de emissão atômica com auxílio de um espectrômetro Spectroflame da Spectro Co. (Alemanha) (Ru, λ =267,876 nm; Cu, λ = 327,396 nm) (Tabela III.1).

A partir desta solução 100%, foram feitas 4 diluições seriadas em MEM para obtenção de soluções: 50%, 25%, 12,5% e 6,25%.

B.3 Teste propriamente dito[27,28,29,30] :

Após o descarte do meio de cultura da microplaca, 0,2 cm^3 de cada solução diluída, preparada de acordo com o descrito no item anterior, foram colocados em triplicata nos poços contendo as células aderidas. Controles positivo e negativo foram submetidos ao mesmo procedimento da amostra. Como controle positivo foi utilizada uma solução de fenol 0,02% e como controle negativo um extrato resultante da imersão de cloreto de polivinila (PVC) atóxico em meio de cultura MEM por 24h a 37°C. Nos poços para controle de células foram colocadas 0,2 cm^3 de meio MEM.

A microplaca foi, então, mantida em estufa úmida a 37°C e atmosfera com 5% CO_2 por 24h. Decorrido este período os meios foram trocados por meio fresco contendo 50 μg cm^{-3} do corante vermelho neutro (o qual é incorporado somente nas células vivas) e incubados por cerca de 3h. Após este período, tempo necessário para a incorporação do corante pelas células vivas, a microplaca foi lavada duas vezes com tampão fosfato-salina e uma vez com a solução de $CaCl_2$ em formaldeido e em seguida cada poço recebeu 0,2 cm^3 da solução de ácido acético em etanol. Esse procedimento leva à quebra da membrana celular, sendo o corante expulso das células vivas. A quantidade de corante liberada é proporcional ao número de

células vivas e pode ser detectada por um espectrofotômetro (Leitor de Elisa). A microplaca foi levada para um leitor de ELISA, agitada por 10min e a leitura efetuada em λ = 540nm, tendo como filtro de referência o de 630nm.

***TABELA III.1*.- Concentrações das soluções testadas nos ensaios de citotoxicidade dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos.**

COMPOSTO	CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO 100%	
	$\mu g\ cm^{-3}$ *	(x 10^{-3} mol dm^{-3})
RuAQUO	594,5	0,96
RuMETRO	1509,8	1,60
RuNIMO	538,6	0,52
RuSECNI	829,7	0,87
RuTINI	312,6	0,29
CuAQUO	62,3	0,16
CuMETRO	670,3	0,95
CuNIMO	1302,0	1,60
CuSECNI	1131,3	1,54
CuTINI	1281,6	1,49
METRO	7486,5	43,74
NIMO	8416,1	37,20
SECNI	7533,1	40,68
TINI	3798,1	15,36

* Determinadas por Emissão Atômica

B.4 Determinação do Índice de Citotoxicidade 50% (IC_{50})

As leituras de densidade óptica (DO) obtidas para cada poço da microplaca foram colocadas no programa de computador (EXCEL) para obtenção dos valores médios e desvios padrão e das porcentagens de sobrevida das células (viabilidade celular) em relação às células controle, consideradas como 100% de sobrevida. Projetando-se esses valores em gráfico foram obtidas as curvas de viabilidade celular para cada composto. O índice de citotoxicidade indicado (IC_{50}), representa a concentração da amostra que provoca morte de 50% da população celular no ensaio.

C. Determinação da Atividade Antitumoral dos Compostos

A metodologia para determinar a ação antitumoral de todos estes compostos foi semelhante à utilizada para a determinação da citotoxicidade, porém o ensaio foi realizado usando-se cultura de células tumorais, células HeLa. As concentrações dos compostos testados foram equivalentes aos respectivos valores de IC_{50} determinados no ensaio de citotoxicidade, e consideradas correspondentes às soluções 100% para os testes de atividade antitumoral (Tabela III.2). Foi determinada a dose letal 50% (DL_{50}) de cada composto, isto é, a concentração do composto que mata 50% da população celular no ensaio. O cálculo da DL_{50} foi semelhante ao da IC_{50}.

D. Determinação do Efeito Radiossensibilizador dos Compostos

O preparo da suspensão celular e das amostras foi similar ao descrito nos ensaios de citotoxicidade e atividade antitumoral, sendo utilizada, neste caso, cultura de células tumorais Hep2.

***TABELA III.2*.- Concentrações das soluções testadas nos ensaios de atividade antitumoral dos complexos de Ru_2 (II,III) e Cu_2 (II,II) e dos ligantes nitroimidazólicos.**

COMPOSTO	CONCENTRAÇÃO DAS SOLUÇÕES 100%	
	$\mu g\ cm^{-3}$ *	($x\ 10^{-3}$ mol dm^{-3})
RuAQUO	470,7	0,76
RuMETRO	1132,3	1,20
RuNIMO	445,4	0,43
RuSECNI	400,5	0,42
RuTINI	269,5	0,25
CuAQUO	47,9	0,12
CuMETRO	190,5	0,27
CuNIMO	122,4	0,15
CuSECNI	110,1	0,15
CuTINI	120,1	0,14
Metronidazol	5477,1	32,0
Nimorazol	5882,2	26,0
Secnidazol	5185,0	28,0
Tinidazol	3461,8	14,0

* Obtida a partir da curva de determinação de IC_{50}

D.1 Determinação da Dose de Radiação que mata 50% das células (DRL_{50})

Para determinar a dose letal DRL_{50}, microplacas contendo células Hep2 (10^4 células/poço) foram expostas a 3 doses diferentes de radiação: 0; 50 e 100 Gy em ambiente anaeróbico. O procedimento para determinar a DRL_{50} é descrito a seguir:

1. As microplacas contendo as 10^4 células Hep2/poço foram incubadas em estufa úmida a 37°C com 5% CO_2 durante 24h. Após este período o meio de cultura foi trocado por meio de cultura MEM fresco.
2. As microplacas foram acondicionadas separadamente em cubas de material plástico (figuras III.5 e III.6).
3. Os recipientes contendo as placas foram colocados em sacos plásticos. As tampas dos mesmos foram depositadas em cima, sem fechá-los.

4. Um envelope gerador de ambiente anaeróbico (produz CO_2) foi colocado em cima da tampa (figura III.7).

5. Os sacos plásticos foram selados e imediatamente levados para irradiação (figura III.8)..

6. As células HEp2 foram submetidas a doses de radiação gama proveniente de uma fonte de ^{60}Co tipo panorâmica, com uma taxa de dose de 0,89 $Gymin^{-1}$, durante tempos de 56,2 e 112,4 (figura III.9), correspondentes às doses de 0, 50 e 100 Gy respectivamente.

7. Para as microplacas receberem doses homogêneas, os recipientes foram girados em 180° na metade do tempo correspondente à dose desejada.

8. Após irradiação o meio de cultura foi removido das microplacas e substituído por meio MEM fresco.

9. As microplacas foram incubadas durante 24h, em estufa úmida com 5% de CO_2 a 37 °C.

10. Decorrido este período, os meios foram trocados por meio contendo 50 μgcm^{-3} do corante vermelho neutro e incubados por cerca de 3h, seguindo o mesmo procedimento descrito no teste propriamente dito de citotoxicidade e atividade antitumoral. A figura III.10 mostra o equipamento utilizado para a leitura das absorbâncias.

11. A DRL_{50} foi calculada projetando-se em gráfico, a porcentagem de células sobreviventes (viabilidade celular) em escala logarítmica (S) em função da dose de radiação aplicada (Gy).

***FIGURA III.5*.- Materiais utilizados para a determinação da Dose de Radiação que mata 50% das células : (1) Microplaca de cultura celular, (2) Envelope gerador de anaerobiose, (3) Recipiente plástico, (4) Saco plástico.**

***FIGURA III.6*.- Microplaca de cultura celular colocada dentro de uma cuba de plástico.**

***FIGURA III.7*.- Microplaca de cultura celular dentro do recipiente plástico com envelope gerador de anaerobiose.**

***FIGURA III.8*.- Saco plástico fechado, contendo o recipiente e envelope gerador de anaerobiose.**

***FIGURA III.9*.- Fotografia mostrando a fonte de ^{60}Co tipo panorâmica antes de irradiar as células HEp2.**

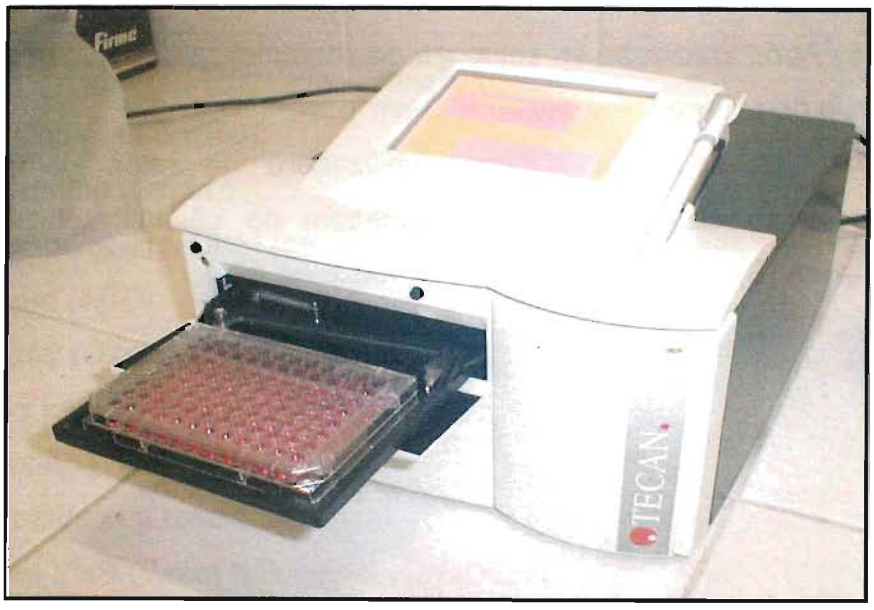


***FIGURA III.10*.- Leitor de ELISA antes de fazer a leitura após irradiação das células HEp2.**

D.2 Determinação do Efeito Radiossensibilizador dos Complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$.

Para determinar o efeito radiossensibilizador dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e $Cu_2(II,II)$ seguiu-se o procedimento análogo ao utilizado para a determinação da dose letal 50% (DRL_{50}), exceto em relação a alguns itens:

Item 1.- Transcorridas 24h após distribuição celular nas microplacas, o meio de cultura foi trocado por 0,2 cm^3 de uma solução 100 $\mu mol\ dm^{-3}$ do complexo. Esta solução foi preparada adicionando-se 3,0 cm^3 de uma solução aquosa aproximadamente 170 $\mu mol\ dm^{-3}$ do complexo a 2,0 cm^3 de meio de cultura MEM.

Item 6.- As células HEp2 em presença das soluções dos complexos foram submetidas a 4 doses de radiação gama proveniente de uma fonte de ^{60}Co tipo panorâmica, com uma taxa de dose de 0,86 $Gymin^{-1}$, durante tempos de 0; 189,8; 400 e 678 s, que correspondem às doses de 0, 3, 6 e 10 Gy respectivamente.

Item 8.- Após irradiação as soluções dos complexos das microplacas foram trocadas por meio de cultura MEM fresco (0,2 cm^3).

Item 11.- A atividade radiossensibilizadora de cada complexo foi calculada projetando-se em gráfico, a porcentagem de células sobreviventes em escala logarítmica (S) em função da dose de radiação (Gy).

III.2.2 DETERMINAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA (ATIVIDADE BACTERICIDA E FUNGICIDA) DOS COMPLEXOS DE $Ru_2(II,III)$ E DE $Cu_2(II,II)$.

A. Materiais

Cepas de microorganismos utilizadas

Bactérias Anaeróbicas: ***(Bacteroides fragilis ATCC 25283);***

Bactérias Aeróbicas: **(*Escherichia coli* ATCC 35218 e 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923);**

Microaerófilos **(*Campylobacter*);**

Leveduras: ***Candida albicans ATCC 90028 .***

Reagentes

Ágar sangue (Oxoid) com base ágar Brucella (Oxoid);
Ágar Wilkins-Chalgren (Oxoid);
Ágar Mueller-Hinton (Oxoid);
Ágar Skirrow modificado, SKM (sangue 5%, base ágar Brucella);
Ágar Sabouraud (ASD);
Ágar Mc Conkey (Oxoid);
Caldo Brucella para ajustar a turbação (Oxoid);
Caldo tioglocolato (THIO) (Oxoid);
Caldo Mueller-Hinton (Oxoid);
Meio de cultura YNB (Yeast Nitrogen Base) (Difco);
Solução fisiológica estéril (NaCl 0,85%);

Suplemento vitamina K e Hemina;
Vitamina K (1 $mgcm^{-3}$);
Sangue estéril desfibrinado de carneiro (Sorensen Laborátorios do Brasil Ltda.).

Equipamento

1. Espectrofotômetro, Espectronic 20 da BAUSCH & LOMB

Material Estéril

Tubos de vidro de 20 x 150 mm, placas de Petri de 90 mm de diâmetro, pipetas graduadas.

Material Descartável

Envelope CampyGen *gas pack* (OXOID), gerador de ambiente anaeróbico
Envelope CampyGen *gas pack* (OXOID), gerador de microaerofilia

B. Preparação dos inóculos

Partindo de cepas de microorganismos congeladas e conservadas à - 80°C em N_2 líquido, realizou-se o isolamento primário em meio de cultura apropriado. A cultura microbiana foi utilizada após três repiques consecutivos das colônias, utilizando-se alça de nicrom, para o meio de cultura adequado (chama-se repique o processo de tomar uma amostra de uma cultura celular utilizando uma alça de nicrom e logo introduzi-lo num tubo de ensaio contendo o meio de cultura adequado para o crescimento das células).

Cerca de 5 colônias foram inoculadas em caldo apropriado e uma alíquota deste foi colocada em meio líquido apropriado. A suspensão dos microorganismos foi ajustada para 0,5 na escala de McFarland, correspondente à leitura espectrofotométrica de 0,08 – 0,1 de absorbância em λ = 625nm, suspensão esta equivalente à 10^8 células por cm^3.

Para a determinação da atividade bactericida dos compostos foi utilizado o Método de Diluição em ágar e para a atividade fungicida o Método de Macrodiluição em caldo (figuras III.11 e III.12).

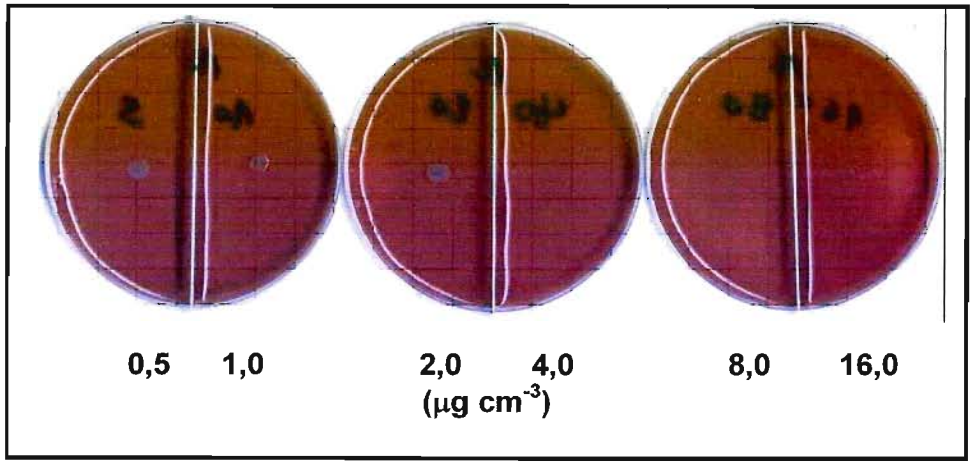


***FIGURA III.11*.- Método de diluição em ágar: a mancha mais clara na figura indica o crescimento da bactéria. Na concentração de 4 μg cm^{-3} de complexo já não é observado esse crescimento, portanto a CMI corresponde a essa concentração.**

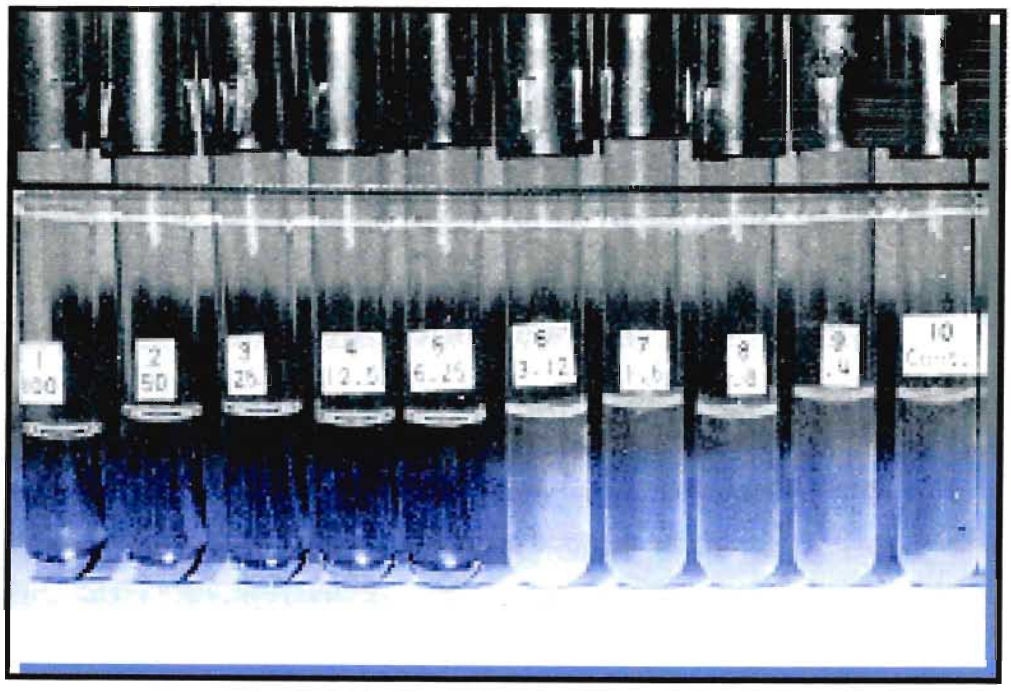


***FIGURA III.12*- Método de Macrodiluição em caldo: a ausência de turbidez indica que não houve crescimento do fungo. A partir da diluição 5 já não é observada a**

turbidez, portanto a CML corresponde a essa concentração de complexo nesta diluição.

C. Método de Diluição em ágar

Neste método, diferentes concentrações dos compostos foram incorporadas em meio de cultura contendo ágar e foram distribuídas em placas de Petri de 90mm de diâmetro. As suspensões microbianas (inóculos) foram semeadas na superfície destes meios nessas placas, para verificação da atividade bactericida dos compostos.

C.1 Preparação das placas:

18 cm^3 dos meios de cultura preparados (ágar) foram distribuídos em tubos de ensaio de tamanho 20 x 150 mm e esterilizados em autoclave. Após este procedimento os tubos foram levados para um fluxo laminar à temperatura de 50 °C para evitar solidificação do ágar, recebendo 2 cm^3 de cada uma das soluções diluídas do composto, resultando um total de 20 cm^3. A mistura contendo o meio de cultura e o composto foi colocada em placa de Petri e mantida no fluxo laminar até a solidificação do meio de cultura. Como controle positivo foram preparadas placas contendo meio de cultura sem a adição dos compostos.

C.2 Teste de Susceptibilidade Antimicrobiana

Sobre cada placa contendo uma certa concentração de cada composto, foram semeados 5 μdm^3 do inóculo microbiano equivalente a 1 x 10^4 microorganismo cm^{-3}.

A concentração letal mínima (CLM), ou seja, menor concentração do composto que inibe o crescimento microbiano, foi determinada visualmente por comparação com a placa de controle positivo (figura III.11).

Os procedimentos de isolamento, preparação do inóculo, preparação das placas e teste de susceptibilidade serão descritos a seguir, especificamente para bactérias anaeróbicas, aeróbicas e microaerófilos.

C.2.1 Bactérias Anaeróbicas (Bacteroides fragilis ATCC 25283)[31].

Procedimento

A cepa foi inoculada em uma mistura contendo ágar sangue suplementado com vitamina K e Hemina e caldo THIO. Este inóculo contendo aproximadamente 10^8 células cm^{-3} foi diluído em caldo Brucella (1:10) (v / v), sendo esta suspensão bacteriana equivalente a 1 x 10^4 bactérias por cm^3.

As placas foram preparadas com ágar Wilkins-Chalgren, como descrito no ítem C.1.

Foram semeados 5 μdm^3 do inóculo: 1 x 10^4 bactérias cm^{-3}. As placas foram incubadas a 37°C por 48h num ambiente anaeróbico gerado por um envelope CampyGen.

C.2.2 Bactérias Aeróbicas (Escherichia coli ATCC 35218 e 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923)[32]

Procedimento

A cepa de *Staphylococcus aureus* foi isolada em ágar sangue e as cepas de *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* em ágar Mc Conkey. O enriquecimento da cultura foi feito inoculando-se colônias das bactérias em caldo Mueller-Hinton e incubados por 3 - 4h. Em seguida estas suspensões bacterianas foram diluídas no mesmo caldo para se obter uma nova suspensão com 1 x 10^4 bactérias por cm^3.

Os compostos foram diluídos em ágar Mueller-Hinton e a mistura colocada em placas de Petri.

Após semear os inóculos, as placas foram incubadas a 37 °C por 24h numa atmosfera de aerobiose, ambiente normal da estufa.

C.2.3 Microaerófilos (*Campylobacter*)[33,34,35]

Procedimento

O isolamento primário foi realizado em ágar Skirrow modificado (SKM) = ágar Brucella com 5% de sangue, incubando por 48h a 42 °C em microaerofilia (atmosfera com 5% O_2). Após três repiques consecutivos o inóculo foi preparado em caldo Mueller-Hinton.

As placas foram preparadas adicionando-se 17 cm^3 de ágar Mueller-Hinton, 1 cm^3 de sangue e 2 cm^3 de composto, resultando um volume total de 20 cm^3.

Após semear os inóculos as placas foram incubadas por 48h a 42 °C em atmosfera de microaerofilia utilizando-se um envelope CampyGen.

D. Método de Macrodiluição em Caldo

D.1 Leveduras *(Candida albicans ATCC 90028)*[36].

Isolamento e preparação do inóculo

O isolamento primário foi realizado em ágar Sabouraud e após 3 repiques consecutivos foram transferidas de 3 a 5 colônias com diâmetro maior que 1mm para um tubo de ensaio contendo 5 cm^3 de solução fisiológica estéril para a preparação do inóculo. A suspensão foi homogeneizada com agitador de tubos Vortex por 15s e ajustada para uma turvação equivalente à escala 0,5 de McFarland, leitura de cerca de 80-85% de transmitância no espectrofotômetro, em λ = 530nm. Esta leitura corresponde a aproximadamente 10^6 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por cm^3.

A confirmação do número de UFC por cm^3 na suspensão inicial de trabalho, foi feita por contagem em placas contendo ágar Sabouraud e semeadas a partir de 7 diluições (1:10) seriadas do inóculo. Em cada placa, foi semeada com alça de

Drigalski, 1 cm^3 de cada diluição, e, incubada a 35°C por 48h, para posterior contagem de UFC por cm^3.

A partir de cada suspensão de *C. albicans*, ajustada na escala 0,5 de McFarland, realizou-se uma diluição 1:100 em meio de cultura líquido YNB e, em seguida, a 1:20 no mesmo meio de modo que a suspensão final resultasse em $5,0x10^2$ a $2,5x10^{-3}$ UFC por cm^3.

Procedimento

Para avaliar a atividade fungicida dos compostos foi preparada uma série de 10 tubos de ensaio previamente esterilizados contendo 500 μdm^3 de cada uma das soluções diluidas seriadas dos compostos. Em cada tubo foi adicionado 500 μdm^3 da suspensão final de *C. albicans*, ficando reduzida à metade a concentração do composto. Foi também preparado um tubo "controle positivo do crescimento", contendo 500 μdm^3 do meio de cultura YNB + 500 μdm^3 da suspensão final de *C. albicans*, sem a adição do composto.

Os tubos foram incubados a 35°C por 46 a 50h antes de se determinar a CFM (Concentração Fungicida Mínima). Transcorrido este tempo, o conteúdo de cada tubo, foi semeado em placas de ASD e essas foram incubadas a 35°C, por 48h para verificar se houve inibição ou morte da levedura.

A menor concentração do composto ($\mu g\ cm^{-3}$) que impediu o desenvolvimento do microrganismo foi considerada a Concentração Fungicida Mínima (CFM) ou Concentração Letal Mínima (CLM).

A Tabela III.3 mostra as faixas das concentrações utilizadas para os ensaios da atividade bactericida e fungicida dos derivados nitroimidazólicos de acetato de $Ru_2(II,III)$, $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos. Essas concentrações foram obtidas fazendo diluições seriadas de cada um dos compostos em água.

III.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.3.1 Determinação do Índice de Citotoxicidade (IC_{50}) dos Complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$.

As Tabelas III.4 – III.10 apresentam a porcentagem de viabilidade celular e respectiva porcentagem do desvio padrão para cada um dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ e também dos ligantes nitroimidazólicos testados.

As curvas para a determinação do índice de citotoxicidade (IC_{50}) dos compostos testados foram obtidas pela projeção dos dados das Tabelas III.4 – III.10 em gráfico e são apresentadas nas figuras III.13 – III.19.

Os dados apresentados nas tabelas estão em função dos complexos testados em cada microplaca desde que o número de células controle é específico para cada microplaca.

***TABELA III.3.*- Faixas das concentrações das soluções utilizadas para avaliar a atividade bactericida e fungicida dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$, de $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos.**

Composto	Faixa de Concentração ($\mu g\ cm^{-3}$)	
	Método de Macrodiluição em caldo	Método de Diluição em ágar
RuAQUO	619 – 1.21	124 – 0.125
RuMETRO	926 – 1.81	188 – 0.125
RuNIMO	225 – 2.25	48 – 0.125
RuSECNI	200 – 2.0	45 – 0.125
RuTINI	135 – 1.35	28.5 – 0.125
CuAQUO	280 – 28.0	48 – 0.125
CuMETRO	250 – 2.50	20.8 – 0.125
CuNIMO	--	130.5 – 13
CuSECNI	--	128 – 12.8
CuTINI	--	127 – 12.7
METRO	6250 – 62.5	256 – 0.125
NIMO	6250 – 62.5	256 – 0.125
SECNI	6250 – 62.5	256 – 0.125
TINI	1500 – 15.0	127 – 12.7

***TABELA III.4*.- Resultados do ensaio de citotoxicidade dos complexos RuAQUO e RuMETRO em cultura de células da linhagem NCTC clone 929: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	RuAQUO	RuMETRO
Média	100%	0,78	0,01	0,17	0,53
% de desvio		3,91	24,59	15,67	6,51
% viabilidade celular		80,06	0,79	17,82	54,81
Média	50%	0,97	0,03	0,93	0,89
% de desvio		2,47	24,10	6,62	2,35
% viabilidade celular		99,32	3,08	94,94	91,35
Média	25%	0,88	0,45	0,82	0,84
% de desvio		7,95	6,24	11,56	5,97
% viabilidade celular		90,18	46,19	83,92	86,45
Média	12,50%	0,95	0,71	0,82	0,88
% de desvio		4,67	6,87	5,07	4,92
% viabilidade celular		97,26	72,77	83,82	90,52
Média	6,25%	0,87	0,85	0,77	0,79
% de desvio		3,55	1,37	3,05	2,65
% viabilidade celular		88,74	86,69	79,40	81,53
Média	Controle de células	0,97	0,97	0,97	0,97
% de desvio		6,89	6,89	6,89	6,89
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%

* Neste caso como a concentração utilizada para o RuMETRO não foi suficiente para determinar 50% da morte celular, o ensaio teve que ser repetido com uma solução mais concentrada (Tabela III.5).

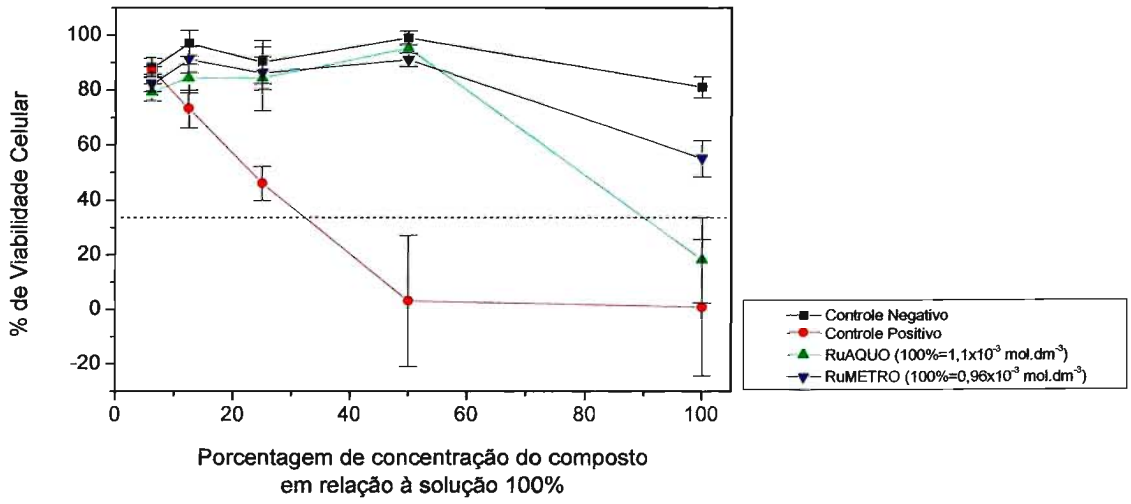


***FIGURA III.13*.- Curvas de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade em células da linhagem NCTC clone 929 dos complexos RuAQUO e RuMETRO.**

***TABELA III.5*.- Resultados do ensaio de citotoxicidade dos complexos RuMETRO e RuNIMO em cultura de células da linhagem NCTC clone 929: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	RuMETRO	RuNIMO
Média	100%	0,52	0,01	0,02	0,17
% de desvio		10,6	28,28	5,10	15,56
% viabilidade celular		70,94	0,69	2,19	22,69
Média	50%	0,64	0,01	0,71	0,80
% de desvio		6,41	28,78	6,83	14,03
% colônias		88,11	0,59	96,96	109,11
Média	25%	0,74	0,30	0,78	0,83
% de desvio		14,75	7,54	2,20	7,68
% viabilidade celular		100,89	41,09	107,19	113,17
Média	12,50%	0,66	0,41	0,74	0,66
% de desvio		9,98	19,68	7,82	21,96
% viabilidade celular		90,25	55,56	101,80	90,16
Média	6,25%	0,64	0,54	0,70	0,61
% de desvio		5,78	18,98	4,07	16,27
% viabilidade celular		87,88	74,18	95,91	83,68
Média	Controle de células	0,73	0,73	0,73	0,73
% de desvio		12,29	12,29	12,29	12,29
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%

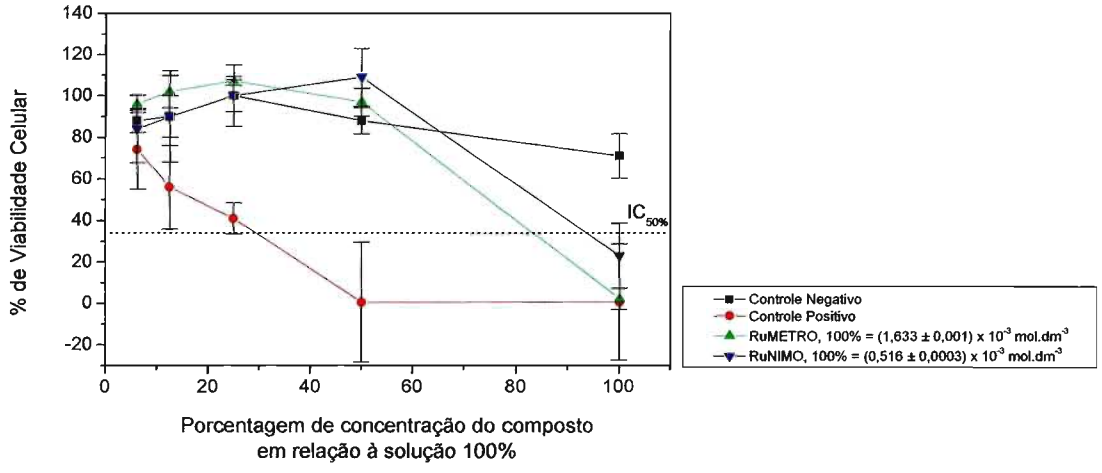


***FIGURA III.14*.- Curvas de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade em células da linhagem NCTC clone 929 dos complexos RuMETRO e RuNIMO.**

***TABELA III.6*.- Resultados do ensaio de citotoxicidade dos complexos RuSECNI e RuTINI em cultura de células da linhagem NCTC clone 929: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	RuSECNI	RuTINI
Média	100%	0,62	0,01	0,05	0,29
% de desvio		4,43	20,41	9,50	6,94
% viabilidade celular		79,18	1,02	6,03	37,00
Média	50%	0,69	0,01	0,67	0,64
% de desvio		12,06	23,33	1,11	1,90
% viabilidade celular		88,40	0,89	85,05	81,82
Média	25%	0,76	0,31	0,73	0,72
% de desvio		3,60	12,89	10,10	1,24
% viabilidade celular		96,94	39,72	92,99	91,93
Média	12,50%	0,75	0,58	0,66	0,76
% de desvio		0,54	4,45	6,80	7,41
% viabilidade celular		95,50	73,32	84,41	96,69
Média	6,25%	0,78	0,68	0,69	0,71
% de desvio		6,68	4,01	5,53	1,30
% viabilidade celular		99,11	86,49	87,64	90,10
Média	Controle de células	0,79	0,79	0,79	0,79
% de desvio		11,05	11,05	11,05	11,05
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%

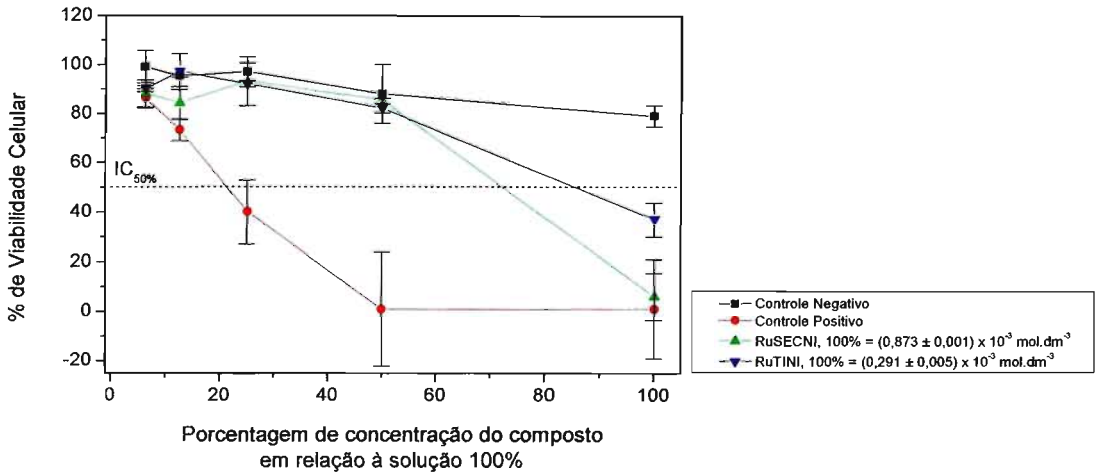


***FIGURA III.15*.- Curvas de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade em células da linhagem NCTC clone 929 dos complexos RuSECNI e RuTINI.**

***TABELA III.7*.- Resultados do ensaio de citotoxicidade do complexo CuMETRO e do ligante metronidazol em cultura de células da linhagem NCTC clone 929: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	CuMETRO	METRO
Média	100%	0,65	0,01	0,01	0,89
% de desvio		9,20	12,07	28,02	3,41
% viabilidade celular		71,31	1,13	0,80	97,14
Média	50%	0,95	0,04	0,02	0,93
% de desvio		6,53	21,67	16,33	6,21
% viabilidade celular		103,59	4,52	1,64	101,26
Média	25%	0,81	0,47	0,52	1,00
% de desvio		7,74	10,22	4,12	4,10
% viabilidade celular		88,36	50,90	56,29	109,35
Média	12,50%	0,88	0,77	0,83	0,88
% de desvio		6,43	8,60	5,32	10,63
% viabilidade celular		95,68	84,24	91,09	96,52
Média	6,25%	0,84	0,75	0,81	0,84
% de desvio		11,76	7,21	3,26	5,43
% viabilidade celular		91,42	82,02	88,21	91,89
Média	Controle de células	0,092	0,92	0,92	0,92
% de desvio		4,73	4,73	4,73	4,73
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%

* Neste caso, como a concentração utilizada para o metronidazol não foi suficiente para determinar 50% da morte celular, o ensaio teve que ser repetido com uma solução mais concentrada (Tabela III.8).

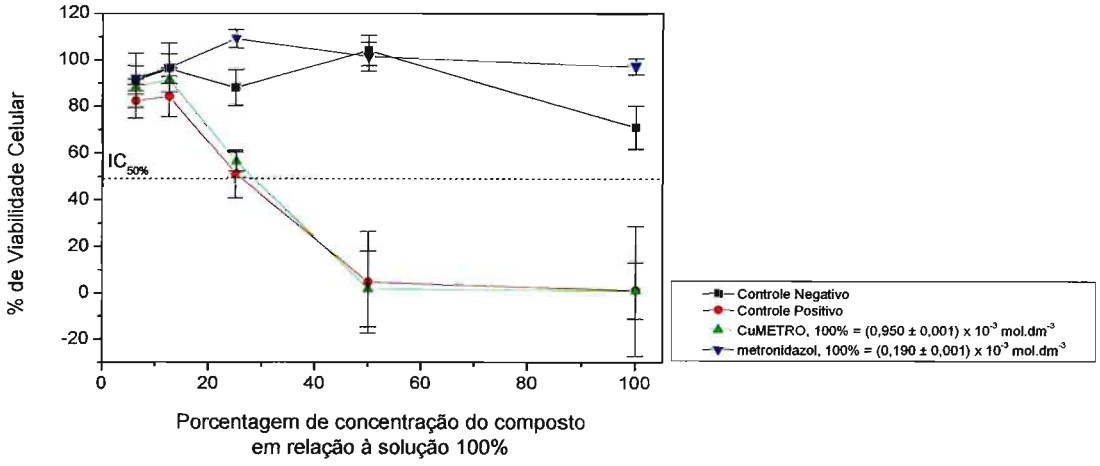


***FIGURA III.16*.- Curvas de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade em células da linhagem NCTC clone 929 do complexo CuMETRO e do ligante METRO.**

***TABELA III.8*.- Resultados do ensaio de citotoxicidade do complexo CuACET e do ligante metronidazol em cultura de células da linhagem NCTC clone 929: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	CuACET	METRO
Média	100%	1,06	0,31	0,02	0,07
% de desvio		8,96	20,04	24,63	27,88
% viabilidade celular		116,31	33,69	1,72	7,59
Média	50%	1,17	0,69	0,94	0,80
% de desvio		6,71	20,25	3,62	10,95
% viabilidade celular		127,92	75,77	102,59	87,77
Média	25%	0,82	1,07	1,04	0,87
% de desvio		20,95	11,14	0,54	17,53
% viabilidade celular		89,64	117,52	113,87	95,04
Média	12,50%	1,18	1,10	1,08	1,20
% de desvio		15,67	14,77	11,14	5,87
% viabilidade celular		128,80	120,04	118,43	131,86
Média	6,25%	1,04	1,08	1,11	1,20
% de desvio		7,88	7,19	7,56	8,41
% viabilidade celular		113,69	117,96	121,57	131,35
Média	Controle de células	0,91	0,91	0,91	0,91
% de desvio		8,98	8,98	8,98	8,98
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%

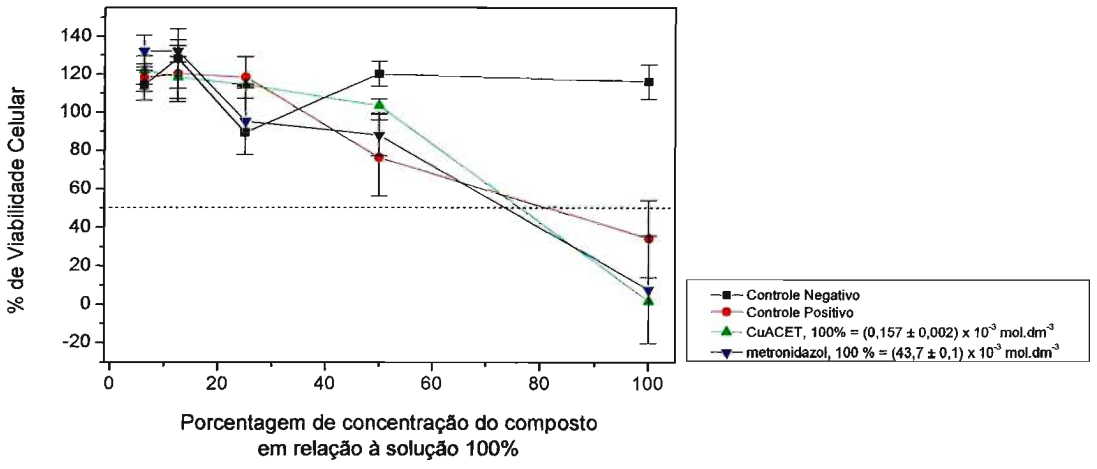


***FIGURA III.17*.- Curvas de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade em células da linhagem NCTC clone 929 do complexo CuACET e do ligante METRO.**

***TABELA III.9*.- Resultados do ensaio de citotoxicidade dos complexos CuNIMO, CuTINI, CuSECNI e do ligante nimorazol em cultura de células da linhagem NCTC clone 929: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	CuNIMO	CuTINI	CuSECNI	NIMO
Média	100%	0,74	0,00	0,13	0,10	0,12	0,05
% de desvio		2,37	0,00	7,52	15,09	8,02	19,65
% viabilidade celular		92,05	0,38	16,02	11,93	14,94	5,80
Média	50%	0,64	0,02	0,03	0,03	0,03	0,61
% de desvio		15,72	11,55	17,32	13,73	1,86	10,94
% viabilidade celular		80,33	2,04	4,26	3,67	3,17	76,40
Média	25%	0,46	0,45	0,02	0,01	0,02	0,58
% de desvio		0,52	0,73	8,84	9,12	17,56	8,80
% viabilidade celular		57,00	56,62	2,00	1,29	2,04	72,11
Média	12,50%	0,60	0,44	0,23	0,30	0,27	0,60
% de desvio		9,16	5,34	8,46	13,12	31,93	5,49
% viabilidade celular		74,78	55,25	29,29	37,35	33,34	75,03
Média	6,25%	0,54	0,47	0,52	0,47	0,53	0,65
% de desvio		8,01	0,20	6,56	13,75	9,45	16,17
% viabilidade celular		67,06	59,25	65,05	59,34	66,18	81,37
Média	Controle de células	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
% de desvio		5,04	5,04	5,04	5,04	5,04	5,04
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%	100%	100%

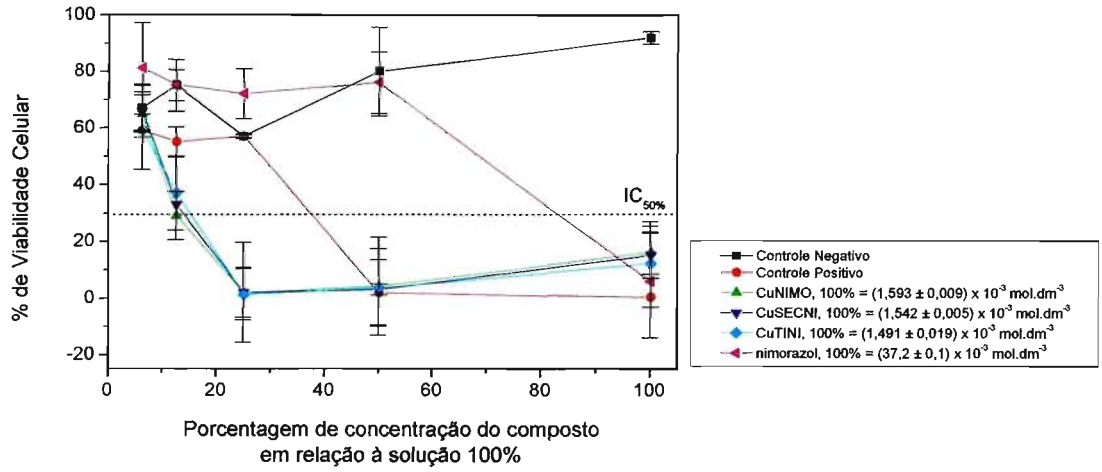


***FIGURA III.18*.- Curvas de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade em células da linhagem NCTC clone 929 dos complexos CuNIMO, CuSECNI, CuTINI e do ligante NIMO.**

***TABELA III.10*.- Resultados do ensaio de citotoxicidade dos ligantes secnidazol e tinidazol em cultura de células da linhagem NCTC clone 929: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	SECNI	TINI
Média	100%	0,82	0,31	0,07	0,51
% de desvio		3,39	24,04	11,43	1,75
% viabilidade celular		65,71	24,63	5,87	41,02
Média	50%	1,20	0,69	0,96	1,13
% de desvio		3,32	20,25	3,70	7,82
% viabilidade celular		96,10	55,40	76,97	90,45
Média	25%	33,54	25,45	27,21	33,13
% de desvio		7,49	11,14	17,42	2,41
% viabilidade celular		65,01	85,94	71,34	82,92
Média	12,50%	1,12	1,10	0,79	0,80
% de desvio		3,32	14,77	16,09	7,42
% viabilidade celular		89,83	87,78	63,46	63,65
Média	6,25%	1,38	1,08	0,81	0,78
% de desvio		12,84	7,19	2,28	3,33
% viabilidade celular		110,73	86,26	65,01	62,56
Média	Controle de células	1,25	1,25	1,25	1,25
% de desvio		5,40	5,39	5,39	5,39
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%

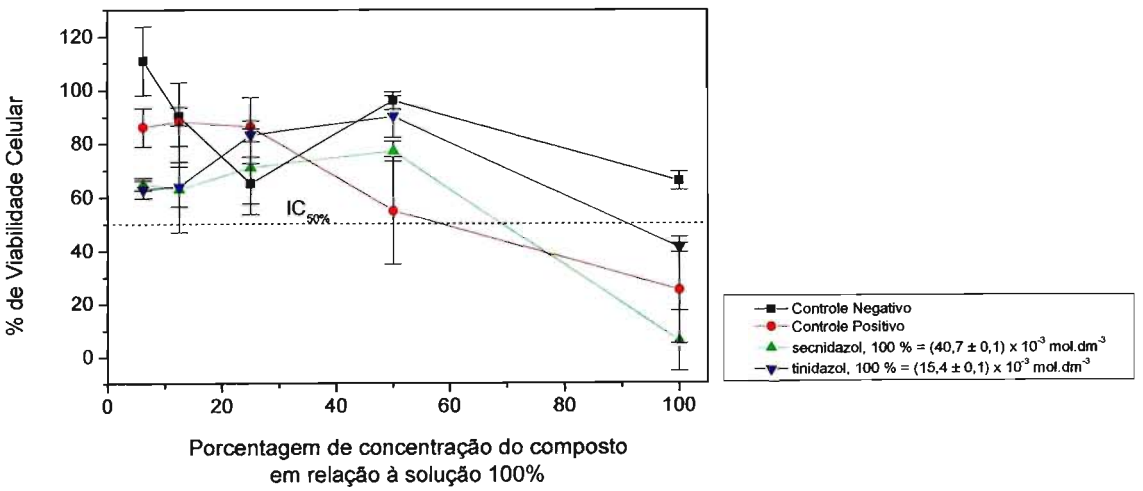


***FIGURA III.19*.- Curvas de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade em células da linhagem NCTC clone 929 dos ligantes SECNI e TINI.**

A partir das curvas de citotoxicidade mostradas nas figuras III.13 – III.19, obtivemos os valores de IC_{50} (Tabela III.11) para cada um dos compostos testados.

***TABELA III.11*.- Índice de Citotoxicidade 50% (IC_{50}) determinados para os complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ e para os ligantes nitroimidazólicos em células da linhagem NCTC clone 929.**

COMPOSTO	IC_{50}	
	$\mu g\ cm^{-3}$	$(x\ 10^{-3}\ mol\ dm^{-3})$
RuAQUO	471 (± 2)	0,760 (±0,005)
RuMETRO	1132 (± 2)	1,200 (±0,001)
RuNIMO	445,4 (± 0,6)	0,430 (±0,003)
RuSECNI	401(± 2)	0,420 (±0,001)
RuTINI	270 (± 1)	0,250 (±0,005)
CuACET	47,9 (± 0,2)	0,120 (± 0,002)
CuMETRO	190,5 (± 0,8)	0,270 (± 0,001)
CuNIMO	122 (± 7)	0,150 (± 0,009)
CuSECNI	110 (± 4)	0,150 (± 0,005)
CuTINI	120 (± 2)	0,14 (± 0,02)
Metronidazol	5477,1	32,0
Nimorazol	5882,2	26,0
Secnidazol	5185,0	28,0
Tinidazol	3461,8	14,0

Pelos resultados mostrados na Tabela III.11, observamos que os complexos de $Cu_2(II,II)$ demostraram ser mais tóxicos que os seus análogos de $Ru_2(II,III)$, ou seja, esses complexos necessitam de menores concentrações para provocar a morte de uma mesma quantidade (50%) de células.

De acordo com esses resultados as seguintes ordens crescentes de citotoxicidade para cada série são observadas em termos das concentrações molares:

RuMETRO < RuAQUO < RuNIMO ~ RuSECNI < RuTINI

aumento da citotoxicidade

CuMETRO < CuNIMO ~ CuSECNI ~ CuTINI < CuACET

aumento da citotoxicidade

Segundo estes resultados, os derivados de metronidazol de $Ru_2(II,III)$ e $Cu_2(II,II)$ apresentam citotoxicidade diminuída em relação aos respectivos aquo-complexos, RuAQUO e CuACET, sendo este fato mais evidente para o caso do CuMETRO. Os outros derivados nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ também apresentam o mesmo comportamento e os seus respectivos valores de IC_{50} apresentam-se muito similares. Na série do rutênio, só o RuNIMO e RuSECNI apresentam valores de IC_{50} similares, nos outros, esses valores já apresentam-se muito diferentes.

III.3.2 Determinação da Atividade Antitumoral dos Complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$.

As Tabelas III.12 – III.15 apresentam os resultados do ensaio de atividade antitumoral e sua respectiva porcentagem de desvio padrão para cada diluição dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ e também dos ligantes nitroimidazólicos testados.

As curvas para a determinação da atividade antitumoral foram obtidas pela projeção dos dados das Tabelas III.12 – III.15 em gráfico e são apresentadas nas figuras III.20 – III.23.

Os dados apresentados nas tabelas estão em função dos complexos testados em cada microplaca desde que o número de células controle é específico para cada microplaca.

***TABELA III.12*.- Resultados dos ensaios de atividade antitumoral dos complexos RuAQUO, RuMETRO, RuNIMO e RuSECNI em cultura de células HeLa: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	RuAQUO	RuMETRO	RuNIMO	RuSECNI
Média	100%	0,58	0,00	0,04	0,05	0,30	0,25
% de desvio		5,00	–	5,66	12,84	7,17	16,67
% viabilidade celular		116,42	0,00	8,43	10,79	61,25	50,59
Média	50%	0,50	0,01	0,47	0,50	0,62	0,60
% de desvio		13,26	27,22	4,58	3,31	0,99	7,41
% viabilidade celular		101,32	1,82	94,17	100,37	125,53	121,01
Média	25%	0,54	0,22	0,50	0,55	0,56	0,56
% de desvio		10,94	10,06	8,05	2,61	2,95	2,34
% viabilidade celular		109,61	45,40	101,05	111,43	113,39	113,52
Média	12,50%	0,47	0,43	0,51	0,58	0,56	0,54
% de desvio		4,97	2,59	8,30	6,81	4,77	6,60
% viabilidade celular		94,84	86,21	104,15	117,17	113,52	109,21
Média	6,25%	0,42	0,46	0,50	0,53	0,57	0,51
% de desvio		18,56	4,73	13,44	4,89	10,18	9,26
% viabilidade celular		85,06	92,82	100,30	106,85	114,47	104,01
Média	Controle de células	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
% de desvio		5,62	5,62	5,62	5,62	5,62	5,62
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%	100%	100%

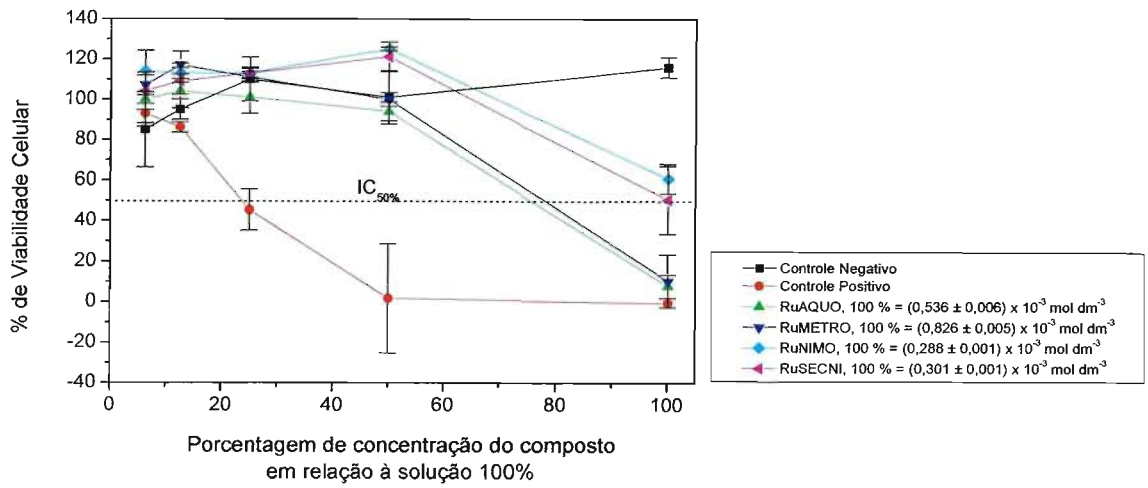


***FIGURA III.20*.- Curvas de Atividade Antitumoral em células HeLa dos complexos RuAQUO, RuMETRO, RuNIMO e RuSECNI.**

***TABELA III.13*.- Resultados dos ensaios de atividade antitumoral dos complexos RuTINI, CuACET, CuMETRO e do ligante METRO em cultura de células HeLa: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	RuTINI	CuACET	CuMETRO	METRO
Média	100%	0,61	0,00	0,14	0,001	0,001	0,11
% de desvio		11,52	–	24,18	0,00	0,000	0,44
% viabilidade celular		132,33	0,00	30,71	0,22	0,22	23,37
Média	50%	0,61	0,003	0,55	0,45	0,57	0,38
% de desvio		8,56	0,000	19,77	8,83	2,38	4,69
% viabilidade celular		131,10	0,65	118,52	97,81	122,11	81,34
Média	25%	0,55	0,01	0,49	0,57	0,52	0,42
% de desvio		5,71	23,39	1,76	5,31	2,22	4,87
% viabilidade celular		119,09	1,15	105,50	122,33	111,18	90,33
Média	12,50%	0,45	0,14	0,50	0,58	0,47	0,46
% de desvio		3,50	3,62	8,51	9,83	13,75	2,20
% viabilidade celular		97,95	30,92	106,87	124,63	102,34	99,96
Média	6,25%	0,51	0,43	0,53	0,52	0,48	0,42
% de desvio		7,79	3,41	8,98	3,36	7,48	7,99
% viabilidade celular		109,82	92,41	114,28	112,05	102,41	89,54
Média	Controle de células	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
% de desvio		14,01	14,01	14,01	14,01	14,01	14,01
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%	100%	100%

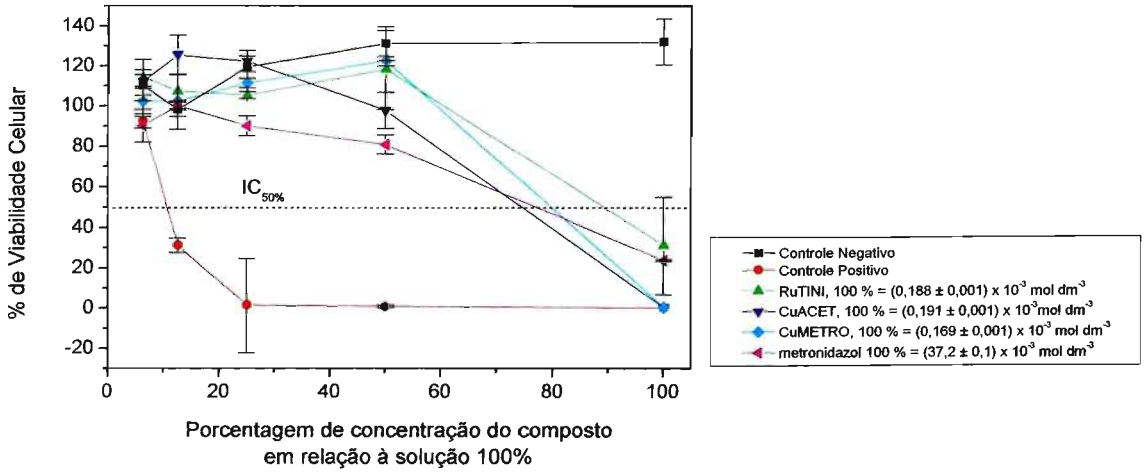


***FIGURA III.21*.- Curvas de Atividade Antitumoral em células HeLa dos complexos RuTINI, CuACET, CuMETRO e do ligante METRO.**

***TABELA III.14*.- Resultados dos ensaios de atividade antitumoral dos complexos RuNIMO, CuNIMO, CuTINI e CuSECNI em cultura de células HeLa: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	RuNIMO	CuNIMO	CuTINI	CuSECNI
Média	100%	0,61	0,00	0,09	0,00	0,003	0,002
% de desvio		11,52	--	3,68	--	17,68	27,22
% viabilidade celular		110,78	0,00	16,19	0,00	0,48	0,27
Média	50%	0,56	0,002	0,55	0,44	0,37	0,63
% de desvio		7,59	28,28	10,90	2,13	5,87	8,31
% viabilidade celular		100,48	0,30	99,04	80,13	66,71	114,45
Média	25%	0,52	0,01	0,55	0,60	0,58	0,57
% de desvio		4,47	9,75	14,07	6,23	2,35	7,66
% viabilidade celular		94,64	1,75	99,22	107,47	105,00	103,67
Média	12,50%	0,62	0,10	0,56	0,64	0,58	0,49
% de desvio		8,66	8,64	12,26	1,00	3,63	12,70
% viabilidade celular		112,70	18,72	101,45	114,69	103,85	87,84
Média	6,25%	0,64	0,50	0,58	0,62	0,56	0,42
% de desvio		6,27	11,21	8,80	2,56	4,90	9,67
% viabilidade celular		115,77	90,79	103,85	112,40	101,20	75,08
Média	Controle de células	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55
% de desvio		12,97	12,97	12,97	12,97	12,97	12,97
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%	100%	100%

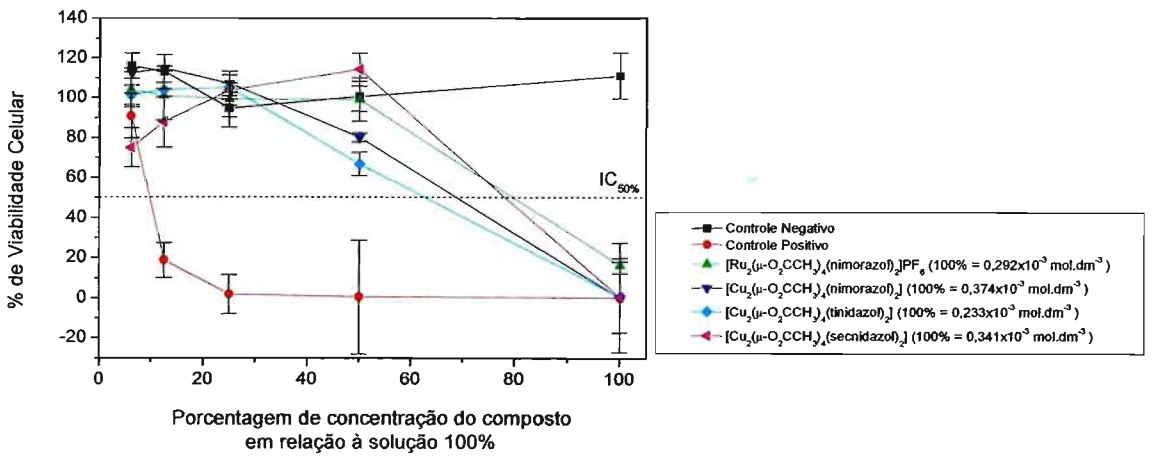


***FIGURA III.22*.- Curvas de Atividade Antitumoral em células HeLa dos complexos RuNIMO, CuNIMO, CuSECNI e CuTINI.**

***TABELA III.15*.- Resultados dos ensaios de atividade antitumoral dos ligantes NIMO, SECNI eTINI em cultura de células HeLa: Porcentagem de viabilidade celular em função da diluição.**

	diluição	C-	C+	NIMO	SECNI	TINI
Média	100%	0,47	0,000	0,11	0,14	0,004
% de desvio		4,45	–	5,90	9,89	10,88
% viabilidade celular		102,90	0,00	24,84	28,89	0,96
Média	50%	0,47	0,013	0,42	0,40	0,54
% de desvio		12,41	6,90	10,54	8,53	6,44
% viabilidade celular		103,86	3,01	92,47	88,64	118,78
Média	25%	0,38	0,19	0,44	0,46	0,52
% de desvio		1,38	12,15	3,98	6,45	7,29
% viabilidade celular		84,16	41,38	97,32	100,55	115,47
Média	12,50%	0,38	0,35	0,47	0,47	0,52
% de desvio		16,25	6,51	5,31	9,43	1,67
% viabilidade celular		83,43	77,40	102,98	103,93	115,40
Média	6,25%	0,43	0,37	0,44	0,42	0,45
% de desvio		15,58	10,51	2,90	8,83	12,00
% viabilidade celular		94,89	80,85	97,02	92,91	98,86
Média	Controle de células	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
% de desvio		15,65	15,65	15,65	15,65	15,65
% viabilidade celular		100%	100%	100%	100%	100%

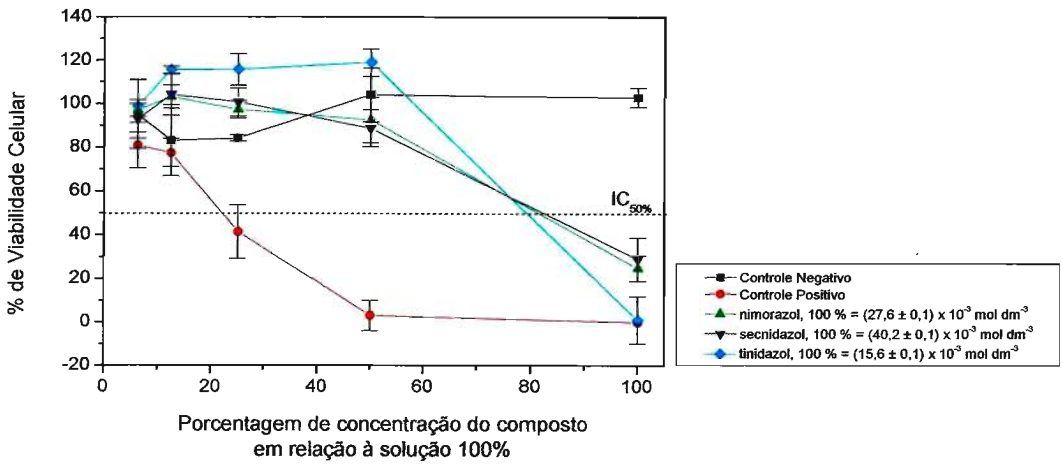


***FIGURA III.23*.- Curvas de Atividade Antitumoral em células HeLa dos ligantes NIMO, SECNI e TINI.**

A partir das curvas de atividade antitumoral mostradas nas figuras III.20 – III.23, obtivemos os valores de DL_{50} para cada um dos compostos testados, os quais são mostrados na Tabela III.16.

***TABELA III.16*.- Dose Letal 50% (DL_{50}) determinados para os complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos em células HeLa.**

COMPOSTO	DL_{50}	
	$\mu g\ cm^{-3}$	$(x\ 10^{-3}\ mol\ dm^{-3})$
RuAQUO	248 (± 4)	0,400 (±0,006)
RuMETRO	614 (± 3)	0,650 (±0,005)
RuNIMO	238 (± 5)	0,230 (±0,001)
RuSECNI	286 (± 1)	0,300 (±0,001)
RuTINI	172 (± 1)	0,160 (±0,001)
CuACET	55,9 (± 0,4)	0,140 (± 0,001)
CuMETRO	91,7 (± 0,7)	0,130 (± 0,001)
CuNIMO	164 (± 2)	0,200 (± 0,003)
CuSECNI	190,7 (± 0,7)	0,260 (± 0,001)
CuTINI	129,0 (± 1,7)	0,150 (± 0,002)
Metronidazol	4895	28,6
Nimorazol	4977	22,0
Secnidazol	6111	33,0
Tinidazol	2967	12,0

A partir dos resultados mostrados na Tabela III.16 podemos observar que os complexos dinucleares de $Cu_2(II,II)$ mostraram-se relativamente mais tóxicos para as células HeLa do que os análogos de $Ru_2(II,III)$. Quando comparamos os resultados de IC_{50} da Tabela III.11 com os de DL_{50} da Tabela III.16, observamos que para o caso dos complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$ os valores de DL_{50} são menores que os seus respectivos IC_{50}, significando que os complexos de Ru demonstraram ser mais tóxicos para as células cancerígenas (HeLa) do que para células normais (NCTC), ou seja, uma mesma concentração do complexo apresentou efeito tóxico maior nas células tumorais do que nas células normais, nos ensaios *in vitro*. Um comportamento uniforme já não é observado para os

complexos de $Cu_2(II,II)$. Os valores de IC_{50} e DL_{50} do CuACET e CuTINI são bastante similares. Para o CuNIMO e CuSECNI os valores de DL_{50} são maiores do que os respectivos IC_{50}, significando que o efeito tóxico é menor nas células cancerígenas (HeLa). Somente o CuMETRO apresentou-se mais tóxico para células cancerígenas (HeLa), apresentando um valor de DL_{50} (0,130μmol dm^{-3}) menor que o de IC_{50} (0,27 μmol dm^{-3}).

De acordo com os resultados da Tabela III.16, elaboramos as seguintes ordens crescentes de atividade antitumoral para cada série podem ser propostas em termos de concentrações molares:

$$\text{RuMETRO} < \text{RuAQUO} < \text{RuNIMO} \sim \text{RuSECNI} < \text{RuTINI}$$

$$\longrightarrow$$

aumento da atividade antitumoral

$$\text{CuSECNI} \sim \text{CuNIMO} < \text{CuACET} \sim \text{CuTINI} \sim \text{CuMETRO}$$

$$\longrightarrow$$

aumento da atividade antitumoral

Segundo este esquema, os complexos de $Ru_2(II,III)$ apresentam ordem semelhante à verificada no ensaio de citotoxicidade o que não é observado no caso dos complexos de $Cu_2(II,II)$.

Os nitroimidazóis livres apresentam atividade para ambos os tipos de células em concentrações muito mais elevadas do que os complexos dinucleares. Provavelmente isso se deve ao fato de que esses compostos geralmente exibem atividade somente em ambientes onde a concentração de oxigênio é bastante diminuída ou zero (anaeróbico).

A partir dos resultados de citotoxicidade e da atividade antitumoral, podemos observar que a entrada dos ligantes axiais torna os carboxilatos dinucleares de $Ru_2(II,III)$ mais ativos em relação ao respectivo aquo-complexo, com exceção do derivado com metronidazol. Para os complexos nitroimidazólicos de $Cu_2(II,II)$ não se observa maior atividade em comparação ao CuACET, tanto para células normais quanto para cancerígenas, com exceção do caso do CuMETRO.

III.3.3 Determinação do Efeito Radiossensibilizador dos Complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$.

Os dados dos ensaios do possível efeito radiossensibilizador dos complexos testados neste trabalho, foram tratados pela equação III.8, para se determinar os valores de ER ou DMF para cada um deles.

O procedimento experimental para a determinação desses valores foi dividido em duas etapas. A primeira, que consistiu em determinar a dose de radiação que mata 50% das células, com a finalidade de selecionar as doses de radiação que poderiam ser utilizadas no ensaio. Na segunda etapa foi feita a medida do efeito radiossensibilizador dos complexos nas doses de radiação pré-estabelecidas.

A. Determinação da Dose de Radiação que mata 50% das células (DRL_{50})

Como foi mostrada na parte experimental, as células foram expostas a doses de radiação de 0, 50 e 100 Gy. A dose de 0 Gy corresponde a 100% de sobrevivência das células.

Na figura III.24 é mostrada a curva obtida pela projeção do logaritmo da fração de sobrevivência celular em função da dose de radiação gama recebida, em cultura de células Hep2, para determinar a DRL_{50}. Nesta figura podemos observar que a DRL_{50} corresponde a aproximadamente 34,1 Gy. Quando essa é aplicada numa cultura de células Hep2, na presença dos complexos testados, uma morte celular de mais de 50%, poderá ser atribuído ao efeito sinérgico da radiação-complexo

No início destes ensaios, células HeLa foram também utilizadas. Como as células Hep2 mostraram-se mais sensíveis à radiação em relação às HeLa , os ensaios foram realizados com as Hep2.

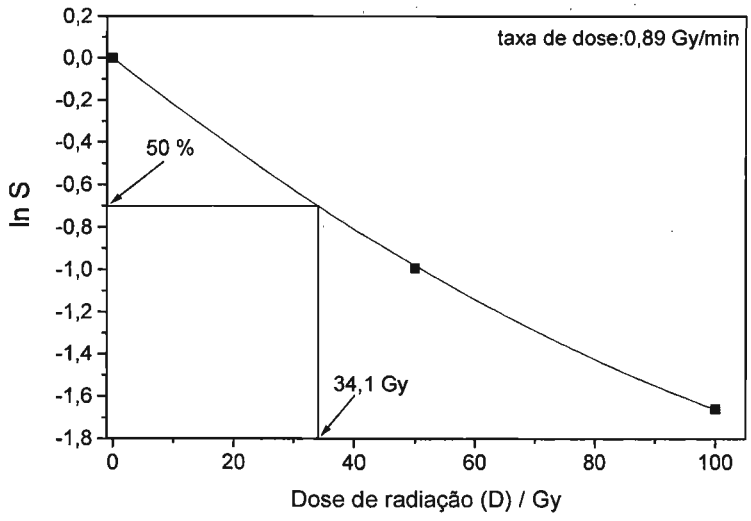


***Figura III.24*.- Determinação da DRL_{50} para células Hep2, utilizando fonte de ^{60}Co com taxa de dose de 0,89 Gy min^{-1}.**

B. Determinação do Efeito Radiossensibilizador dos Complexos de $Ru_2(II,III)$, de $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes Nitroimidazólicos.

Uma vez conhecida a DRL_{50}, as células foram irradiadas na presença de complexos nas doses de 0, 3, 6 e 10 Gy.

As figuras III.25 – III.27 mostram as curvas de radiossensibilização obtidas na presença dos complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$, de $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos. Essas curvas provêm do ajuste dos dados com a equação III.8, considerando que quando a dose aplicada (D) é de 0 Gy, a porcentagem de sobrevivência celular é 100%, ou seja S = 1,0.

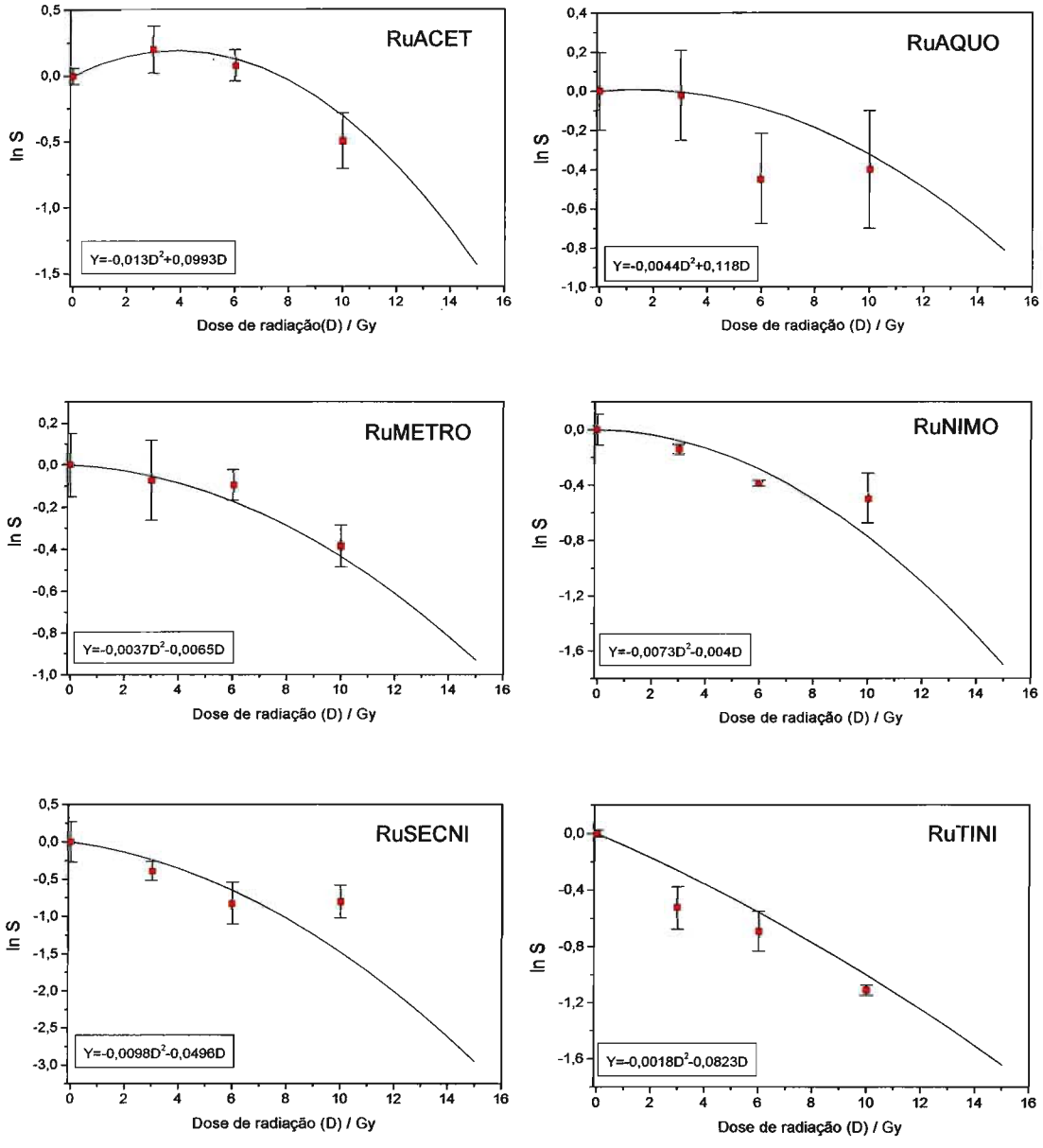


***Figura III.25.*- Curvas de sobrevivência (lnS) das células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico na presença dos acetatos de $Ru_2(II,III)$: RuACET, RuAQUO e de seus derivados nitroimidazólicos : RuMETRO, RuNIMO, RuSECNI e RuTINI (100 μmol dm^{-3}) obtidas por ajuste polinomial de segundo grau à equação : $lnS = -\alpha D - \beta D^2$, onde S = fração de sobrevivência e D = dose de radiação (taxa de dose=0,86 Gy min^{-1}).**

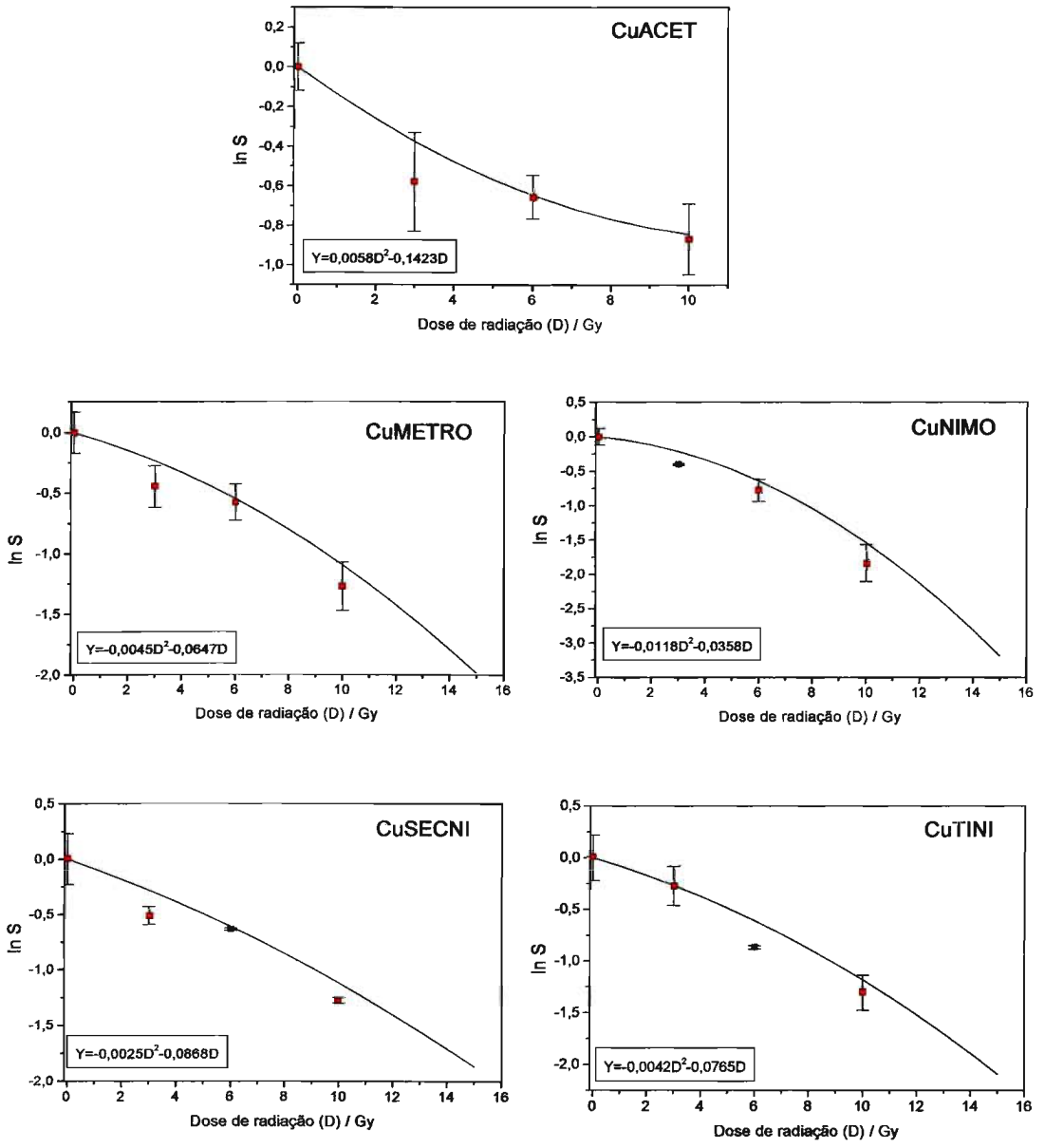


***Figura III.26.*- Curvas de sobrevivência (lnS) das células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico na presença do acetato de $Cu_2(II,II)$, CuACET e de seus derivados nitroimidazólicos : CuMETRO, CuNIMO, CuSECNI e CuTINI (100 μ mol dm^{-3}) obtidas por ajuste polinomial de segundo grau à equação : $lnS = -\alpha D - \beta D^2$, onde S = fração de sobrevivência e D = dose de radiação (taxa de dose=0,86 Gy min^{-1}).**

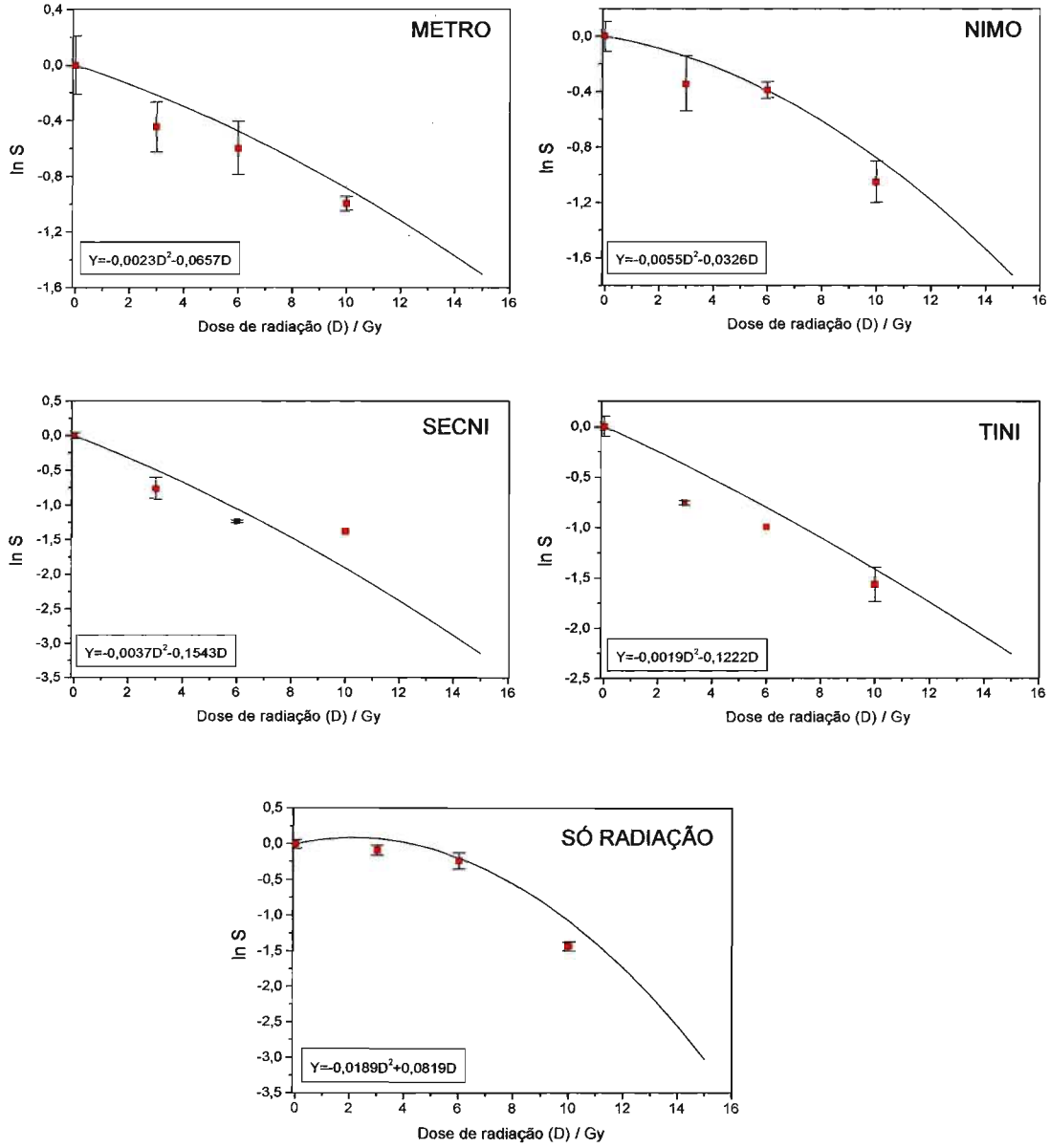


***Figura III.27.*- Curvas de sobrevivência (lnS) das células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico na presença dos ligantes nitroimidazólicos : METRO, NIMO, SECNI e TINI (100 μmol dm^{-3}) e também do efeito só da radiação, em ausência dos compostos, obtidas por ajuste polinomial de segundo grau à equação : $lnS = -\alpha D - \beta D^2$, onde S = fração de sobrevivência e D=dose de radiação (taxa de dose=0,86 Gy min^{-1}).**

A partir das curvas de sobrevivência apresentadas, foram calculados os valores de ER ou DMF de cada um dos complexos, levando em consideração as frações de sobrevivência S = 0,1; S = 0,4 e S = 0,8 (correspondentes a 10%, 40% e 80% de sobrevivência respectivamente).

A Tabela III.17 mostra os dados obtidos para cada um dos compostos testados e os seus respectivos valores de ER (DMF).

***TABELA III.17*.- Valores das Doses (D) correspondentes às frações de sobrevivência, S = 0,1; 0,4 e 0,8 (10%, 40% e 80% de sobrevivência) e os seus respectivos valores de ER (DMF) para os complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$, de $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos.**

COMPOSTO	$D_{0,1}{}^a$	$D_{0,1}{}^b$	$ER_{0,1}$	$D_{0,4}{}^a$	$D_{0,4}{}^b$	$ER_{0,4}$	$D_{0,8}{}^a$	$D_{0,8}{}^b$	$ER_{0,8}$
RuACET	17,7	13,4	**0,76**	13,1	9,5	**0,73**	9,4	6,2	**0,66**
RuAQUO	39,9	13,4	**0,34**	33,1	9,5	**0,29**	28,6	6,2	**0,22**
RuMETRO	24,1	13,4	**0,56**	14,9	9,5	**0,64**	6,9	6,2	**0,90**
RuNIMO	17,5	13,4	**0,77**	10,9	9,5	**0,87**	5,2	6,2	**1,19**
RuSECNI	13,0	13,4	**1,03**	7,4	9,5	**1,28**	2,8	6,2	**2,21**
RuTINI	19,6	13,4	**0,68**	9,3	9,5	**1,02**	2,5	6,2	**2,48**
CuACET	--	13,4	--	--	9,5	--	--	6,2	--
CuMETRO	16,5	13,4	**0,81**	8,8	9,5	**1,08**	2,8	6,2	**2,21**
CuNIMO	12,5	13,4	**1,07**	7,4	9,5	**1,28**	3,1	6,2	**2,00**
CuSECNI	17,6	13,4	**0,76**	8,5	9,5	**1,12**	2,4	6,2	**2,58**
CuTINI	16,0	13,4	**0,84**	8,3	9,5	**1,14**	2,3	6,2	**2,70**
METRO	20,4	13,4	**0,66**	10,3	9,5	**0,92**	3,03	6,2	**2,05**
NIMO	17,7	13,4	**0,76**	10,3	9,5	**0,92**	4,02	6,2	**1,54**
SECNI	11,7	13,4	**1,14**	5,3	9,5	**1,79**	1,4	6,2	**4,42**
TINI	15,2	13,4	**0,88**	6,8	9,5	**1,40**	1,8	6,2	**3,44**

[a] na presença de agente químico
[b] na ausência de agente químico
$ER_n = D_n{}^b/D_n{}^a$ (segundo a equação III.7)

A partir destes valores de ER dos complexos testados, observa-se que os complexos de $Cu_2(II,II)$ apresentam maior efeito radiossensibilizador do que os análogos de $Ru_2(II,III)$.

Altas doses de radiação gama são necessárias para obter uma fração de sobrevivência de 10% (S = 0,1) tanto para os complexos de $Ru_2(II,III)$ quanto para os de $Cu_2(II,II)$ e os ligantes nitroimidazólicos. Pelos valores de ER obtidos para essa fração, nenhum dos complexos apresentou atividade radiossensibilizadora com exceção do secnidazol que apresentou um ER > 1, que é um valor muito moderado.

Quando observamos os dados para a fração de sobrevivência de 40% (S = 0,4), alguns complexos, como o RuSECNI, CuNIMO, CuSECNI e CuTINI, começam a apresentar efeitos radiossensibilizadores ainda moderados. No caso, os ligantes SECNI e TINI apresentam valores de ER mais altos, sendo 1,40 e 1,79 respectivamente. Logicamente as doses para conseguir uma sobrevivência de 40% são menores das necessárias para 10% de sobrevivência.

Os resultados mais relevantes foram obtidos para a fração S = 0,8 (80% de sobrevivência), mostrando que neste caso o RuSECNI e o RuTINI apresentam valores de ER muito mais altos; 2,21 e 2,48 respectivamente. Todos os complexos de $Cu_2(II,II)$ exibiram efeitos radiossensibilizadores para esta fração de sobrevivência, salientando-se o CuTINI, com ER igual a 2,70. Todos os ligantes nitroimidazólicos apresentam efeito radiossensibilizador para esta fração, sendo que o SECNI apresentou ER alto, de 4,42 seguido pelo TINI com ER de 3,44; mostrando-se mais ativos do que os correspondentes derivados de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$.

Como podemos observar, a curva correspondente ao CuACET não é típica de ajuste linear quadrático, fato pelo qual foi impossível determinar os seus valores de D nas diferentes frações de sobrevivência.

Dentre os complexos estudados podemos observar que o RuACET, RuAQUO, RuMETRO e RuNIMO não apresentaram atividade radiossensibilizadora, com ER $\leq$ 1.

Com a finalidade de comparar as atividades radiossensibilizadoras dos complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$, as suas curvas de sobrevivência foram colocadas num mesmo gráfico (figura III.28).

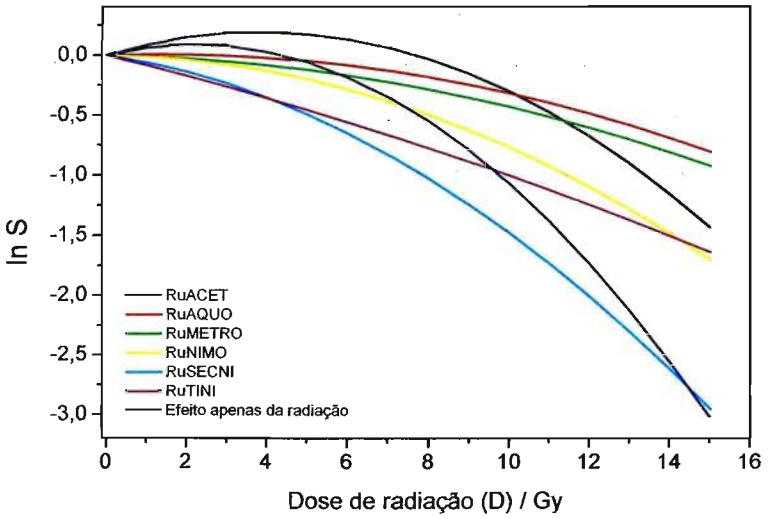


***Figura III.28*.- Curvas de sobrevivência das células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico comparando o efeito da radiação na presença e ausência dos complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$, 100 μmol dm^{-3} (taxa de dose = 0,86 G min^{-1}).**

Traçando-se uma reta horizontal a partir de um valor de lnS comum a todas as curvas, determina-se a dose de radiação (D) que provoca efeito similar para cada composto. Esses valores de D são comparados com o valor de D da curva do efeito provocado só pela radiação. Para que o composto apresente efeito radiossensibilizador, o valor de D deverá ser menor do que o correspondente ao efeito apenas da radiação. Assim sendo, observamos que o RuSECNI e o RuTINI apresentam efeito radiossensibilizador maior que os outros complexos e que o efeito apenas da radiação. A curva do RuSECNI se mantém sempre abaixo da curva do efeito da radiação, logo esse complexo exibe o maior efeito radiossensibilizador na série dos compostos de Ru. Essas observações podem ser corroboradas com os valores de ER mostrados na Tabela III.17.

Um outro fato a notar é que o RuSECNI e RuTINI apresentam efeito radiossensibilizador em baixas doses (0 – 3 Gy), fato este muito importante pois na radioterapia, as doses diárias utilizadas estão usualmente na faixa 1 – 3 Gy. Em cultura celular, tais doses produzem níveis de sobrevivência de 95% a 40%, dependendo da linhagem celular e das condições de irradiação.

Segundo Skov *et al*[37], nos processos radioterapêuticos essas baixas doses de radiação são aplicadas em várias sessões durante períodos prolongados e sabe-se, por exemplo, que algumas substâncias, incluindo o oxigênio e alguns

nitroimidazóis são menos efetivos em baixas doses do que em altas doses. Esses mesmos autores, em estudos posteriores sobre o efeito dos nitroimidazóis em baixas doses, relataram que este fato não poderia ser generalizado e que o efeito radiossensibilizador dependeria principalmente da concentração do composto e da metodologia utilizada para determinar tal efeito[38].

As curvas para os complexos de Cu_2(II,II), são apresentadas na figura III.29.

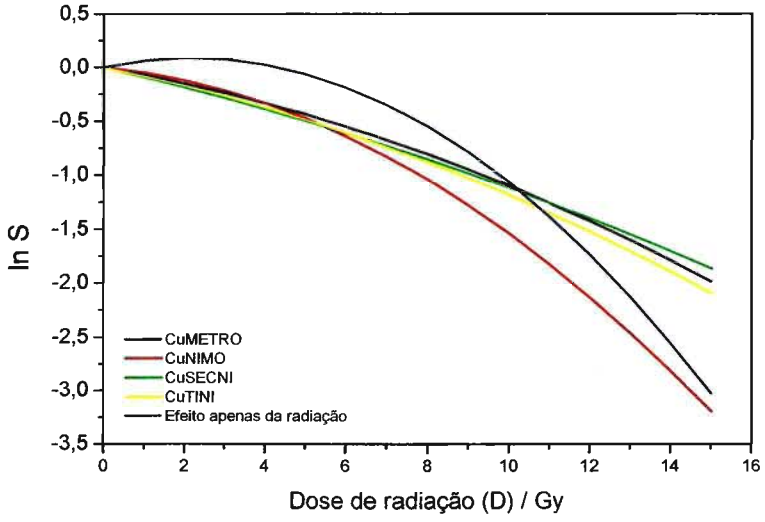


***Figura III.29*.- Curvas de sobrevivência das células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico comparando o efeito da radiação na presença e ausência dos complexos dinucleares de Cu_2(II,II), 100 μmol dm^{-3} (taxa de dose=0,86 Gy min^{-1}).**

Os complexos de Cu_2(II,II) também exibem efeito radiossensibilizador em baixas doses e todos apresentam efeitos muito similares até aproximadamente 5 Gy. De acordo com os valores de ER (Tabela III.17), aqueles que apresentam melhor efeito radiossensibilizador são o CuSECNI (2,58) e o CuTINI (2,70),. A curva do CuNIMO encontra-se abaixo da curva de efeito apenas da radiação podendo significar que este complexo comporta-se melhor em doses baixas.

Com a finalidade de comparar o efeito radiossensibilizador de cada um dos complexos de Ru_2(II,III) e de Cu_2(II,II) em relação aos ligantes, as respectivas curvas foram colocadas num mesmo gráfico (figura III.30).

O metronidazol e respectivos complexos metálicos apresentam atividade radiossensibilizadora (até cerca de 6 Gy para RuMETRO e 8,5 Gy para CuMETRO e metronidazol) comparados com o efeito apenas da radiação. Os valores de ER (Tabela III.17) são muito baixos e portanto seus efeitos são pequenos. Embora o gráfico não demonstre, o CuMETRO apresenta valores de ER maiores em relação

ao ligante livre na região de baixas doses (S = 0,8), enquanto o RuMETRO não apresenta efeito radiossensibilizador.

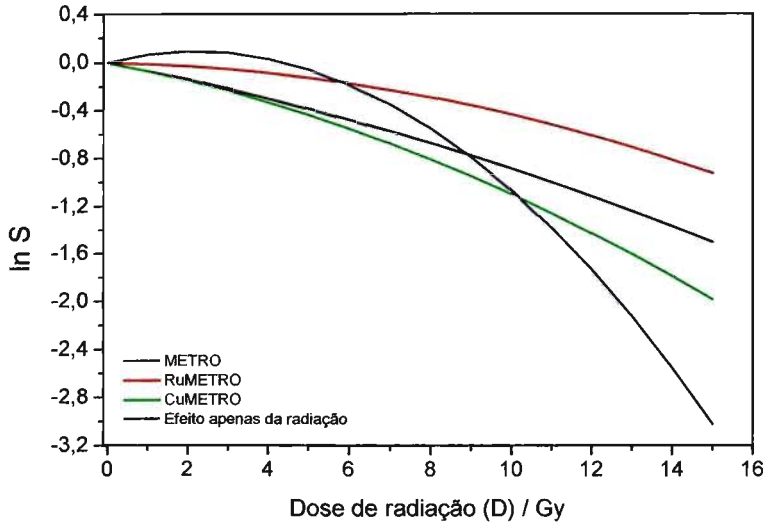


***Figura III.30*.- Curvas de sobrevivência das células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico comparando o efeito da radiação na presença e ausência dos derivados de metronidazol de $Ru_2(II,III)$, de $Cu_2(II,II)$ e do metronidazol livre (100 μ mol dm^{-3}) (taxa de dose=0,86 Gy min^{-1}).**

Em relação aos derivados de nimorazol, a figura III.31 mostra que o CuNIMO é o complexo que apresenta melhor efeito, comparado com o efeito só da radiação, com seu análogo de $Ru_2(II,III)$ e com o ligante livre, que apresenta valor de ER moderado (2,00) em baixas doses (S = 0,8).

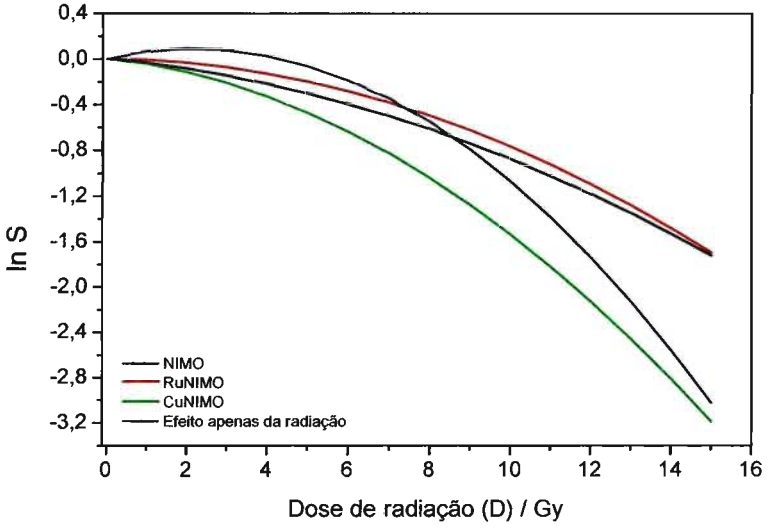


***Figura III.31*.- Curvas de sobrevivência das células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico comparando o efeito da radiação na presença e ausência dos derivados de nimorazol de $Ru_2(II,III)$, $Cu_2(II,II)$ e do nimorazol livre (100 μ mol dm^{-3}) (taxa de dose=0,86 Gy min^{-1}).**

Na figura III.32, observa-se que os ligantes livres, secnidazol e tinidazol apresentam um efeito bastante acentuado (ER = 4,42 e 3,44 respectivamente para S = 0,8) e que os derivados análogos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ apresentam efeitos similares em baixas doses.

Não se têm na literatura dados de complexos de Ru testados como radiossensibilizadores em baixas doses de radiação. Os complexos mononucleares de Ru(II) de fórmula: $[RuCl_2(DMSO)_2(NO_2Im)_2]$ (100 μmol dm^{-3}) em ensaios com células CHO apresentaram atividade radiossensibilizadora em altas doses (S = 0,01) com valores de ER de 1,1 – 1,3; ou seja um efeito bastante moderado[39]. Comparando os valores de ER dos complexos dinucleares de $Ru_2(II,III)$ deste trabalho, observamos que em doses maiores (S = 0,1) estes complexos não apresentam efeito radiossensibilizador.

Com relação ao cobre, alguns complexos e sais mostraram efeitos radiossensibilizadores com valores de ER variando de 1,54 a 4,1; sendo que na literatura não foram relatados detalhes dos ensaios realizados nem se foram utilizadas baixas ou altas doses de radiação[18]. O carboxilato $[Cu_2(L)_4(H_2O)_2].2H_2O$, L = 3-[1-(4-nitroimidazolil)] propionato, apresentou um ER de 1,64 em ensaios com células V79 de hamster chinês, com atividade similar à do misonidazol e maior do que a do ligante livre[22].

Complexos de platina de interesse clínico como a cisplatina, carboplatina, iproplatina e tetraplatina por exemplo, nunca tiveram resultados interessantes em doses altas de radiação (~ 30 Gy), apresentando valores que não ultrapassavam um ER de 1,3. Quando estes mesmos foram testados em baixas doses (1 – 2,5 Gy) produziram valores de ER $\geq$ 2 para uma fração de sobrevivência de 80% (S = 0,8)[40].

O misonidazol, que foi considerado o melhor radiossensibilizador, mostrou também uma diminuição da sua eficácia em baixas doses de radiação, apresentando ER de 2,3 em altas doses (S = 0,01) quando em baixas doses diminui para 1,8 em (S = 0,8)[40].

A comparação do efeito radiossensibilizador de qualquer composto, contudo, pode ser feita quando são utilizados: mesmo procedimento experimental com a mesma linhagem celular e mesmo tipo de radiação, pois todos estes parâmetros influenciam na determinação de ER.

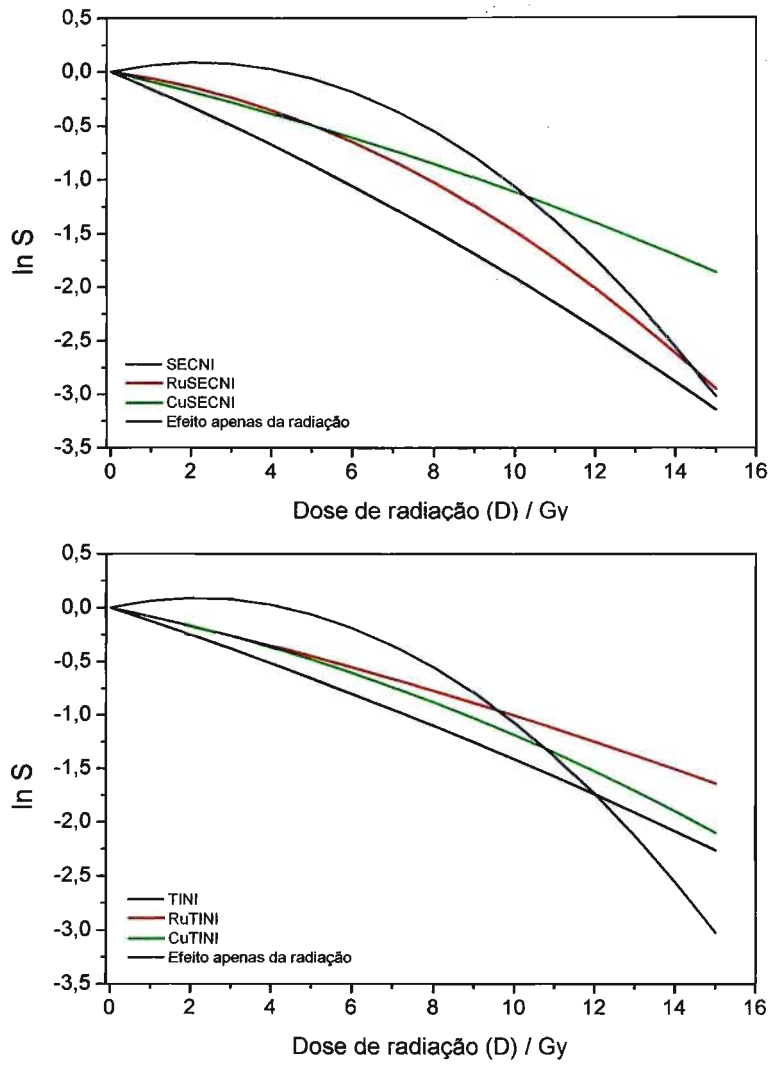


***Figura III.32*.- Curvas de sobrevivência das células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico comparando o efeito da radiação na presença e ausência dos : (a) derivados de secnidazol de $Ru_2(II,III)$, de $Cu_2(II,II)$ e do secnidazol livre (100 μmol dm^{-3}) e (b) derivados de tinidazol de $Ru_2(II,III)$, $Cu_2(II,II)$ e o tinidazol livre (100 μ mol dm^{-3}) (taxa de dose=0,86 Gy min^{-1}).**

A partir do ajuste das curvas de radiossensibilização com a equação III.8, os valores de α e β para os compostos que mostraram melhor efeito em nosso trabalho foram determinados e são apresentados na Tabela III.18.

Como α e β definem os eventos simples e duplos quando células são irradiadas (figura III.4), através de seus valores podemos estabelecer qual desses eventos foi provocado pelos compostos. Assim, o RuTINI, CuSECNI, CuTINI, METRO, SECNI e TINI provocam eventos simples (valores de $\alpha > \beta^{1/2}$); RuSECNI, CuNIMO e NIMO, eventos duplos (valores de $\beta^{1/2} > \alpha$) e o CuMETRO provoca ambos os eventos.

***TABELA III.18*.- Parâmetros da equação : $lnS = -\alpha D - \beta D^2$ obtidos do ajuste das curvas de sobrevivência para células Hep2 irradiadas em ambiente anaeróbico.**

COMPOSTO	α (x 10^{-3} Gy^{-1})	$\beta^{1/2}$ (x 10^{-3} Gy^{-1})
RuSECNI	49,6	99,0
RuTINI	82,3	42,4
CuMETRO	64,7	67,1
CuNIMO	35,8	108,6
CuSECNI	86,8	50,0
CuTINI	76,5	64,8
METRO	65,7	48,0
NIMO	32,6	74,2
SECNI	154,3	60,8
TINI	122,2	43,6

III.3.4 Determinação da Susceptibilidade Antimicrobiana (atividade bactericida e fungicida) dos Complexos de Ru_2 (II,III) e de Cu_2 (II,II).

A. Atividade Bactericida e Fungicida dos complexos de $Ru_2(II,III)$, de $Cu_2(II,II)$ e dos Ligantes Nitroimidazólicos livres.

A Tabela III.19 apresenta a Concentração Letal Mínima (CLM) contra bactérias e fungos dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ investigados.

TABELA III.19.- **Atividade Bactericida e Fungicida *in vitro* dos complexos de $Ru_2(II,III)$, de $Cu_2(II,II)$ e dos ligantes nitroimidazólicos**

COMPOSTO	Concentração Mínima Letal (CLM) ($\mu g\ cm^{-3}$) contra Bacterias e Fungos							
	Bactérias Aeróbicas				Fungos	Micro-aerofilos	Bactérias Anaeróbicas	
	E. coli ATCC 35218	*E. coli* ATCC 25922	*P. Aeuginosa* ATCC 27853	*S. aureus* ATCC 25923	*C. albicans* ATCC 90028	*C. coli* Isolada clinicamente	*B. fragilis* ATCC 25283	*B. fragilis* Isolada clinicamente
RuAQUO	> 619[a]	> 619[a]	> 619[a]	> 619[a]	80,0 ± 1,5	> 124[a]	> 124[a]	ND
RuMETRO	> 926[a]	> 926[a]	> 926[a]	> 926[a]	150,0 ± 1,2	8,0 ± 0,1	8,0 ± 0,1	ND
RuNIMO	> 225[a]	> 225[a]	> 225[a]	> 225[a]	100,0 ± 1,0	> 48[a]	ND	> 48,0 ± 0,1
RuSECNI	> 200[a]	> 200[a]	> 200[a]	> 200[a]	50,0 ± 1,0	> 45[a]	ND	4,0 ± 0,1
RuTINI	> 135[a]	> 135[a]	> 135[a]	> 135[a]	50,0 ± 2,0	8,0 ± 0,2	ND	8,0 ± 0,2
CuACET	> 280[a]	> 280[a]	> 280[a]	> 280[a]	250,0 ± 5,0	32,0 ± 0,5	ND	32,0 ± 0,5
CuMETRO	> 250[a]	> 250[a]	> 250[a]	> 250[a]	250,0 ± 0,6	16,0 ± 0,1	ND	0,50 ± 0,06
CuNIMO	ND	ND	ND	ND	ND	8,0 ± 0,1	ND	13,0± 0,1
CuSECNI	ND	ND	ND	ND	ND	8,0 ± 0,1	ND	8,0 ± 0,1
CuTINI	ND	ND	ND	ND	ND	8,0 ± 0,01	ND	8,0 ± 0,6
METRO	> 3125	> 3125	> 6250[a]	> 6250[a]	1250	2,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1	ND
NIMO	> 6250[a]	> 6250[a]	> 6250[a]	> 6250[a]	> 6250[a]	16,0 ± 0,1	ND	32,0 ± 0,1
SECNI	> 6250[a]	> 6250[a]	> 6250[a]	> 6250[a]	> 6250[a]	16,0 ± 0,1	ND	< 1,0 ± 0,1
TINI	> 1500[a]	> 1500[a]	> 1500[a]	> 1500[a]	> 1500[a]	8,0 ± 0,1	ND	2,0 ± 0,1

[a] Concentração mais alta do composto (100%)
ND : Não determinada

Na Tabela III.19, podemos observar que nenhum dos compostos testados teve atividade contra bactérias aeróbicas, isto provavelmente devido ao fato de que, no caso dos derivados nitroimidazólicos, os ligantes são ativos somente em ambientes anaeróbicos, ou seja, contendo baixas concentrações de oxigênio. Os complexos RuAQUO e CuACET, embora não tenham esses ligantes nitroimidazólicos na sua composição, também não foram efetivos contra as bactérias aeróbicas.

Seguindo com os ensaios em meio aeróbico, podemos observar que o complexo RuAQUO e os derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$, mostraram atividade fungicida na faixa de 50 – 150 μgcm^{-3}, sendo que o RuAQUO (80 μgcm^{-3}), RuSECNI (50 $\mu g\ cm^{-3}$) e RuTINI (50 $\mu g\ cm^{-3}$) apresentaram uma melhor atividade em relação aos outros derivados. De todos os ligantes, o único que apresentou atividade foi o metronidazol, porém em concentrações quase 10 vezes maior do que os complexos de $Ru_2(II,III)$. Os complexos de $Cu_2(II,II)$, CuACET e CuMETRO apresentaram atividade nas concentrações mais altas, quase 5 vezes maior do que as de RuAQUO, RuSECNI e RuTINI. Como o efeito desses complexos não foi relevante, não foram realizados ensaios de atividade fungicida para os outros derivados nitroimidazólicos.

Nos ensaios em meio anaeróbico, observamos que os complexos RuAQUO e RuNIMO não apresentaram atividade nas concentrações testadas, e os complexos RuMETRO, RuSECNI e RuTINI apresentaram atividades similares em concentrações na faixa de 4 – 8 μgcm^{-3}. Quando comparamos essa atividade com a atividade dos respectivos ligantes livres, observamos que estes são efetivos na faixa de 1 – 2 μgcm^{-3}, ou seja, os ligantes são mais ativos que os seus respectivos derivados de $Ru_2(II,III)$. Calculando a quantidade de ligante contida na faixa de 4 – 8 μgcm^{-3} do complexo, foi verificada a concentração de 1 – 2 μgcm^{-3}, por tanto a atividade bactericida dos complexos deve-se principalmente à presença do ligante nitroimidazólico e o tetracarboxilato poderia estar servindo como um simples transportador do fármaco (ligante).

Todos os tetracarboxilatos de cobre apresentam atividade bactericida em baixas concentrações, na faixa de 0,5 – 13 μgcm^{-3}, com exceção do CuACET que apresentou atividade em concentração um pouco maior a 32

μgcm^{-3}, sendo mais ativo do que seu análogo de $Ru_2(II,III)$. Os complexos de $Cu_2(II,II)$, não apresentam comportamento semelhante aos complexos de $Ru_2(II,III)$. Pela Tabela III.19 vemos que é necessário aproximadamente 1 μgcm^{-3} de secnidazol para que o complexo CuSECNI apresente atividade bactericida, ou seja 1 μgcm^{-3} corresponde a 4 μgcm^{-3} do complexo. Porém observando a Tabela III.19 foi necessária a concentração de 8 μgcm^{-3} do complexo para obter a mesma atividade bactericida, isto é, o dobro da quantidade do ligante. Comportamento similar pode ser observado para o complexo CuTINI.

Na série do cobre, o complexo mais ativo foi o CuMETRO com atividade numa concentração de 0,5 μgcm^{-3}, menor do que a do metronidazol (2 μgcm^{-3}). Este tetracarboxilato de $Cu_2(II,II)$ apresentou melhor atividade que os tetracarboxilatos de $Ru_2(II,III)$ e alguns ligantes nitroimidazólicos como metronidazol, nimorazol e tinidazol.

A Tabela III.20 mostra a CLM de alguns agentes antimicrobianos contra *B. Fragilis* e *C. albicans*.

A partir desta tabela podemos observar que o RuMETRO, RuTINI, CuSECNI, e CuTINI (8 μgcm^{-3}) apresentam atividade anti-bacteriana similar à tetraciclina e melhor do que a Piperacilina, Carbenicilina, e Cloramfenicol. O RuSECNI apresenta atividade similar à Ampicilina e Clindamycin e o complexo CuMETRO e os ligantes secnidazol e tinidazol apresentam atividades melhores do que todos esses agentes antimicrobianos.

No que se refere à atividade fungicida, a CLM dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ apresentam valores muito maiores que o fluconazol e flucvtosine (Tabela III.19).

É importante deixar esclarecido que estes ensaios estão sujeitos a pequenos erros de uma a duas diluições, ou seja, se um composto **A** apresenta atividade com 8 μgcm^{-3}, o composto **B** com 4 μgcm^{-3} e **C** com 2 μgcm^{-3} (as diluições sempre correspondem a 50% da diluição anterior), logo podemos considerar que os três compostos apresentam atividades similares.

Observando os valores de CLM dos complexos testados neste trabalho, poder-se-ia dizer que todos eles apresentam atividades similares. Porém, fica

claro que o CuMETRO apresentou o melhor resultado de todos, com significativa diferença em relação aos demais.

TABELA III.20.- Agentes Bactericidas e Fungicidas utilizados na atualidade

Agente Antimicrobiano*	CLM ($\mu g\ cm^{-3}$)	
	B. Fragilis	*C. albicans*
Ampicilina	≤4	
Piperacilina	≤64	
Carbenicilina	≤128	
Tetraciclina	≤8	
Cloramfenicol	≤16	
Clindamycin	≤4	
Fluconazol**	----	≤8
Flucytosine**	---	≤4

*Compostos sugeridos pela U.S. FDA-Approved antimicrobial agents.

** Antifúngicos

A similaridade da atividade de todos os complexos está associada ao tipo de composto utilizado. Os fármacos conhecidos como betalactámicos, penicilina, ampicilina e amoxicilina mostram CLM quase idênticas. A diferença entre elas está na seletividade. A penicilina atinge uma boa quantidade de bactérias na região da garganta e meninges, por isto é utilizada para combater amigdalites. A ampicilina é utilizada no nível gastrointestinal e de pele.

Os nossos complexos e ligantes podem ser classificados num grupo especial que se caracteriza por ser efetivo contra seres anaeróbios. Como os mecanismos de ação são similares, as concentrações para obter o mesmo efeito também devem ser semelhantes. O comportamento *in vivo*, porém, pode ser totalmente diferente, pois dependerá do tipo de ligações às proteínas plasmáticas, de como o complexo é metabolizado, de sua hidrofilicidade, etc.

Como foi citado anteriormente, a principal vantagem de se utilizar estes tipos de complexos poderia resultar numa liberação controlada de agentes

antibacterianos, o que confirmaria a efetividade para terapias prolongadas com baixas doses do agente carregado (nitroimidazol).

Alguns dos antibacterianos mostrados na Tabela III.20, não são utilizados no tratamento de anaeróbios devido aos altos índices de resistência associado ao fracasso terapêutico. Assim, a terapia para anaeróbios é feita preferencialmente com o metronidazol.

É importante destacar que os nossos complexos apresentam uma citotoxicidade seletiva conforme mostrado pelos resultados dos ensaios de citotoxicidade e de atividade antitumoral, o que asseguraria uma terapia sem reações adversas contra agentes anaeróbios.

No futuro seria importante observar se a atividade bactericida dos complexos é atribuível à liberação controlada dos nitroimidazóis, o que poderia ser estudado através das chamadas "Curvas da Morte", onde a atividade bactericida é observada em diferentes tempos, sempre comparando com o nitroimidazol não associado.

III.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Van Rensburg C.E.J., Kreft E., Swarts, J.C., Dalrymple S.R., MacDonald D.M., Cooke M.W. e Aquino M.S., *Anticancer Research*, 2002, 22, 889.

[2] Keppler B.K., Henn M., Juhl U.M., Berger M.R. e Wagner F.E., *Progress in Clinical Biochemistry and Medicine*, 1989, 10, 41.

[3] Keppler B.K., Metal Complexes in Cancer Chemotherapy, 1993, 1ª Edição, Editado por Bernhard, K. Keppler e VHC, Weinheim, Alemanha.

[4] Clarke M.J. e Stubbs M., *Metal ions in biological systems*, 1996, 32, 727.

[5] Clarke M.J., Fuchun Zhu e Frasca D.R., *Chem. Rev.*, 1999, 99, 2511.

[6] Dunbar K.R., Matonic J.H., Saharan V.P., Crawford C.A., Christou G., *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, 116, 2201.

[7] Aquino M.A.S., *Coord. Chem. Rev.*, 1998, 170, 141

[8] Gangopadhyay S., Gangopadhyay P.K., *J. Inorg. Biochem.*, 1997, 66, 175.

[9] Aquino M.A.S., *Coord. Chem. Rev.*, 2004, 248, 1025.

[10] Farrell, N., Transition Metal Complexes as Drugs and Chemoterapeutic Agents, 1989, 1ª Edição, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda.

[11] Farrell, N., *Progress in Clinical Biochemistry and Medicine*, 1989, 10, 90.

[12] Farrell, N., Transition Metal Complexes as Drugs and Chemoterapeutic Agents, 1984, 1ª Edição, Klumer Academic Publishers, London.

[13] Hall E.J., Radiobiology for Radiobiologist, 1994, 4ª Edição, J.B. Lippincott Company, Philadelphia.

[14] Kasai S., Nagasawa H., Yamashita M., Masui M., Kuwasaka H., Oshodani T., Uto Y., Inomata T., Oka S., Inayama S. e Hori S., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2001, 9, 453.

[15] Jin C.Z., Nagasawa H., Shimamura M., Uto Y., Inayama S., Takeuchi S., Kirk K.L., Hori H., *Bioorganic and Medicinal Chemistry* , 2004, 12 (18), 4917.

[16] Chan P.K.L, Skov K.A., James B.R. e Farrell N.P., *Int. J. Rad. Biol.*, 1986, 12, 1059.

[17] Chan P.K.L Frost, James D.C., Skov B.R., *Can. J. Chem.*, 1988, 66, 117.

[18] Skov K.A., *Radiation Research*, 1987, 112, 217.

[19] Mandal P.C., Bardhan D.K. e Bhattacharyya S.N., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1990, 63, 2975.

[20] Roy M.B., Mandal P.C.e Bhattacharyya S.N., *Int. J. Radiat. Biol.,* 1996, 69(4), 471.

[21] Valderrama, N.A.C., Síntese e Caracterização de Carboxilatos de Rh (II) e seus adutos com metronidazol: Ensaios Biológicos com Vistas à Atividade Radiossensibilizadora de Tumores, Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, USP, 2000.

[22] Goodgame D.M.L, Christopher J. P., Williams, D.J. e Stratford, I.J., *Polyhedron*, 1992, 11(19), 2507.

[23] Chadwick, K.H. e Leenhouts, H.P., *Physics Med. Biol.*, 1973, 18, 78.

[24] Chapman, J.D., Gillespie, C.J., Reuvers, A.P. e Dugle, D.L., *Radiat. Res.*, 1977, 65, 365.

[25] Graham L.P., An Introduction to Medicinal Chemistry, 2001, 2da Edição, Oxford.

[26] Trabulsi L.R., Alterthum F., Fischman O. e Neves Candeias J.A., Microbiologia, 2002, 3ra edição, Editora Atheneu, São Paulo.

[27] Ciapetti, G. et al., *Biomaterials*, 1996, 17, (13), 1259.

[28] ISSO 10993, parte 5, *Biological Evaluation of Medical Devices*, 1992.

[29] Gehring, J., *Radiation Physics and Chemistry*, 1995, 46(4-6), 617.

[30] Oshima, H. et al., *J. Mater. Sci.: Materials in Medicine*, 1997, 8, 143.

[31] National Committee for Clinical Laboratory Standards (1990). Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria, 3rd ed. NCCLS document M11-A3. NCCLS, Villanova, P.a.

[32] National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2000). Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standards-5th ed., M7-A5; National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Wayne, P.a.

[33] National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2000). Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standards-5th ed., M7-A5; National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Wayne, P.a.

[34] McDermott, P.F., Walker, R.D., Standardizing Antimicrobial Susceptibility Testing of Campylobacter Species. *Journal of Clinical Microbiology,* 2003, 41: 1810.

[35] National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2003). Testing Methods and Tentative QC ranges, M31-A2 and M7-A6 with corresponding M100-S13 Supplemental Tables; National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Wayne, Pa.

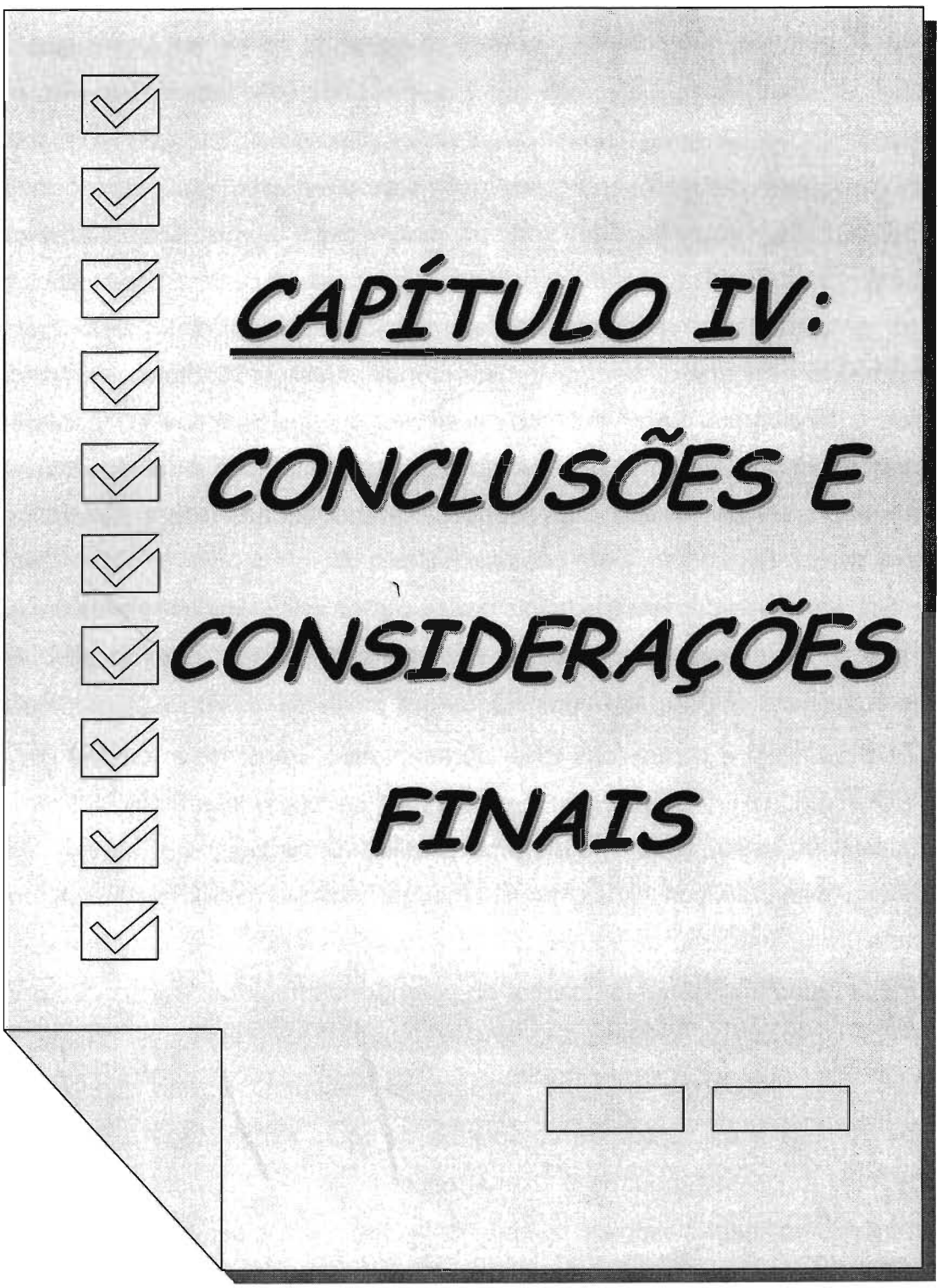
[36] National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1997). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved standard, NCCLS document M27-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, P.a.

[37] Skov, K.A., Korbelik, M. e Palcic, B., *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, 1989, 16, 1281.

[38] Skov, K.A. e Macphail, S., *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, 1994, 29 (1), 87.

[39] Chan, P.K.L., Skov, K.A. e James, B.R., *Int. J. Rad. Biol.*, 1987, 52(1), 49.

[40] Skov, K.A. e Macphail, S., *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, 1991, 20, 221.



CAPÍTULO IV:

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados obtidos por meio de diferentes técnicas e nos principais resultados discutidos neste trabalho, podemos concluir que a interação das unidades $[M_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4]^n$ com os ligantes nitrogenados 5-nitroimidazólicos, por meio de reação química, não provoca a quebra da estrutura central em gaiola que contém os núcleos dimetálicos M_2. Para os três metais investigados (Ru, Rh e Cu), os nitroimidazóis (L= metronidazol, nimorazol, secnidazol e tinidazol) foram introduzidos na unidade dimetálica gerando complexos substituídos de fórmula $[M_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]^n$ (M = Ru, Rh, Cu; L = 5-nitroimidazol). As razões molares carboxilato metálico: nitroimidazol foram escolhidas com base no resultado de várias tentativas de sínteses para cada um dos complexos apresentados neste trabalho. As estruturas de todos os compostos são constituídas por unidades diméricas em que dois núcleos metálicos são unidos por quatro ligantes acetatos, em ponte equatorial, coordenados a eles pelos átomos de oxigênio. Os ligantes nitroimidazólicos ocupam as posições axiais nestas unidades, coordenando-se aos íons metálicos pelo N3 do anel imidazólico.

A entrada dos nitroimidazóis nas posições axiais das estruturas em gaiola não afeta significativamente a interação entre os centros metálicos. No caso do rutênio, os complexos obtidos são constituídos por unidades dimetálicas catiônicas $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]^+$ e contra-íons PF_6^-, apresentando, portanto, a fórmula geral $[Ru_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]PF_6$. Deste modo, comportam-se como eletrólitos 1:1 em solução. Estes compostos, denominados tetracarboxilatos de Ru_2(II,III), embora os elétrons devam estar deslocalizados, possuem dois centros metálicos unidos por ligação metal-metal múltipla, de ordem 2,5, e apresentam três elétrons desemparelhados. Um pequeno abaixamento no valor do potencial de meia-onda $E_{1/2}$ (~ 0,05 V vs EPH) é observado após a introdução dos ligantes nitrogenados, em relação ao aquo-precursor, indicando que os complexos substituídos são ligeiramente mais susceptíveis à oxidação. Os compostos de ródio substituídos axialmente, $[Rh_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$, são neutros e diamagnéticos. Nestes, os dois íons Rh(II) formam entre si uma ligação simples, ou seja, de ordem 1,0. Os complexos de cobre, $[Cu_2(\mu\text{-}O_2CCH_3)_4(L)_2]$, também são neutros. Embora, neste caso, não se forme uma ligação química propriamente dita entre os íons metálicos, medidas experimentais indicam a ocorrência de acoplamento antiferromagnético entre os íons Cu(II), o que evidencia a existência de algum tipo de interação entre os centros metálicos. Um artigo publicado durante o desenvolvimento desta Tese, descreve a estrutura do complexo

CuMetro, análogo ao obtido neste trabalho, em que a distância Cu····Cu é igual a 2,648 Å.

Todos os compostos são estáveis termicamente até aproximadamente 200°C, temperatura acima da qual começa a ocorrer a perda de ligantes e quebra da unidade dimetálica.

Podemos afirmar, portanto, que a entrada dos ligantes nitroimidazólicos nas posições axiais, não gera modificações significativas, em relação aos precursores e outros compostos análogos da literatura, nas características gerais dos tetrakis(acetato) dimetálicos para cada uma das séries dos três metais: Ru, Rh e Cu. Nos três casos, podemos visualizar uma estrutura básica com um ambiente químico semelhante ao redor de cada íon metálico, ou seja, cada íon encontra-se coordenado a quatro átomos de oxigênio dos acetatos equatoriais, em planos perpendiculares, e a um átomo de nitrogênio do ligante nitroimidazólico numa das posições axiais. A sexta posição, considerando uma espécie hexacoordenada, é ocupada pelo outro íon metálico da unidade M_2. No caso do rutênio e do ródio, tanto a ligação axial quanto a ligação metal-metal são mais efetivas, quando comparadas às ligações correspondentes para o cobre. O íon cobre, considerando um ambiente octaédrico, é sujeito à distorções geométricas, e portanto apresenta ligações axiais mais fracas, com distâncias mais longas entre o Cu(II) e o átomo coordenante do ligante axial.

As principais diferenças entre os ligantes 5-nitroimidazólicos escolhidos neste trabalho são estruturais devido aos diferentes tipos de grupos substituintes no N1 e no C2 do anel imidazólico, conforme mostrado na figura I.5 do capítulo I. O METRO, o SECNI e o TINI, apresentam grupos substituintes distintos ligados ao N1 (o METRO e o SECNI apresentam uma função álcool enquanto que o TINI apresenta uma função sulfona neste grupo), porém os três possuem um grupo metila ($-CH_3$) ligado ao C2 do anel. Já o NIMO possui grupos diferentes dos demais ligados tanto ao N1 quanto ao C2 (neste caso, –H em vez de $-CH_3$). Embora todos apresentem mais de um átomo coordenante na sua estrutura, todos se coordenam aos íons Ru, Rh e Cu pelo mesmo átomo, ou seja, pelo N3 do anel imidazólico, que é o melhor átomo doador em todos os casos. Os grupos substituintes, portanto, não devem estar causando impedimento estérico para coordenação dos respectivos nitroimidazóis por este átomo aos íons metálicos.

No entanto, mudanças na geometria global, devem ser esperadas, em função do tamanho e da disposição espacial das moléculas. Na figura IV.1 são representadas esquematicamente as estruturas moleculares para a série dos derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II).

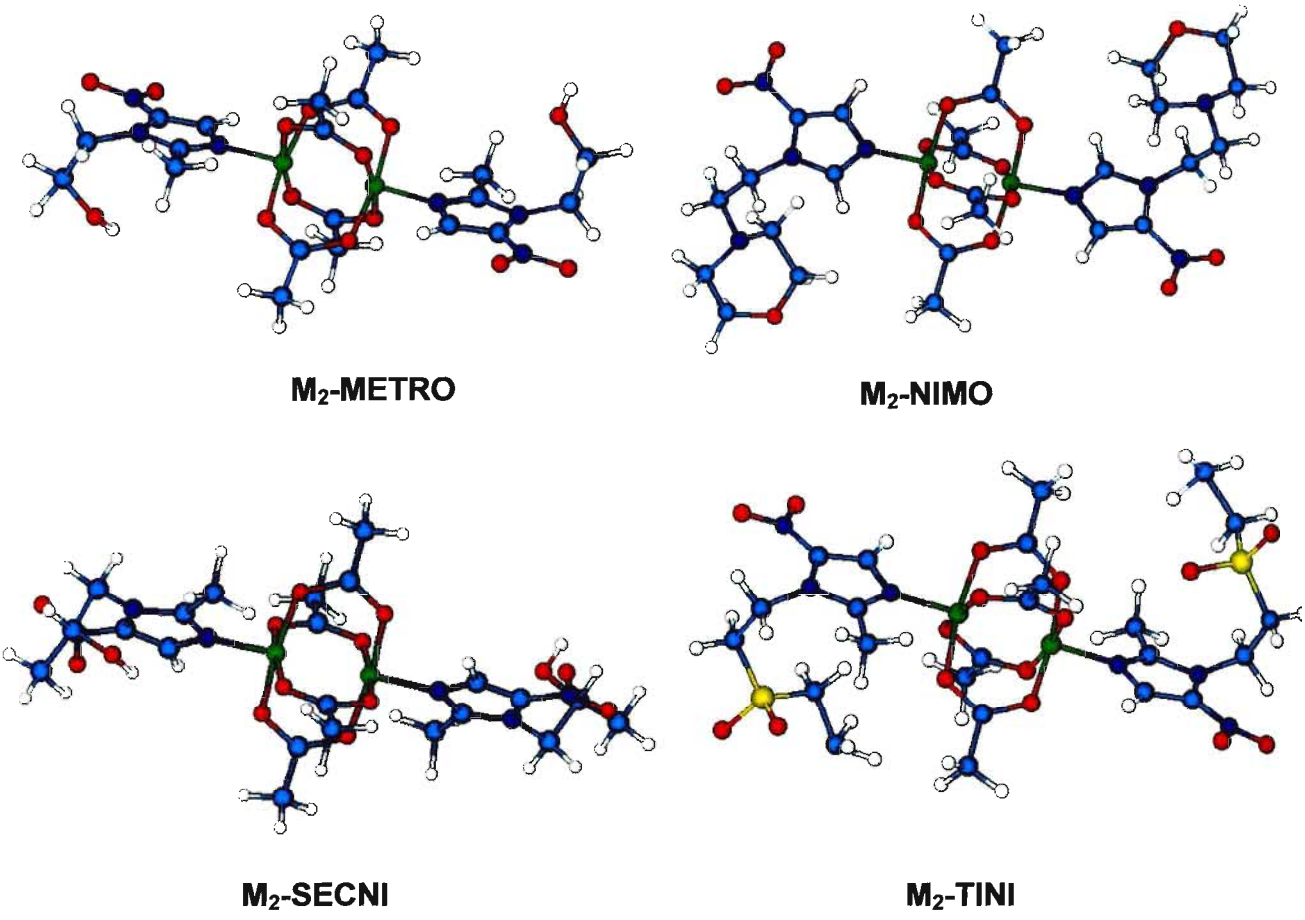


***FIGURA IV.1*.- Representações esquemáticas das estruturas moleculares geradas por meio do programa HyperChem 6.0 para a série dos derivados nitroimidazólicos de Cu_2(II,II).**

Estas diferenças nas estruturas dos ligantes nitroimidazólicos afeta a hidrofilicidade das moléculas orgânicas. A figura IV.2 mostra um gráfico com valores de coeficientes de partição experimentais e calculados para os nitroimidazóis. Para estes dados, quanto maior o valor do coeficiente, mais hidrofóbica é a substância. Existem grandes discrepâncias entre os valores medidos e calculados, de modo que, podemos estabelecer duas seqüências em ordem decrescente de hidrofobicidade:

1) Para os valores experimentais: NIMO > METRO > SECNI > TINI;

2) Para os valores calculados: NIMO > SECNI > TINI > METRO.

As porcentagens de complexos de $Ru_2(II,III)$ extraídas para a fase orgânica, em função do ligante axial encontram-se também na figura IV.2. Neste caso, em ordem decrescente de hidrofobicidade, a seqüência fica assim:

RuTINI > RuSECNI > RuNIMO > RuMETRO > RuAQUO.

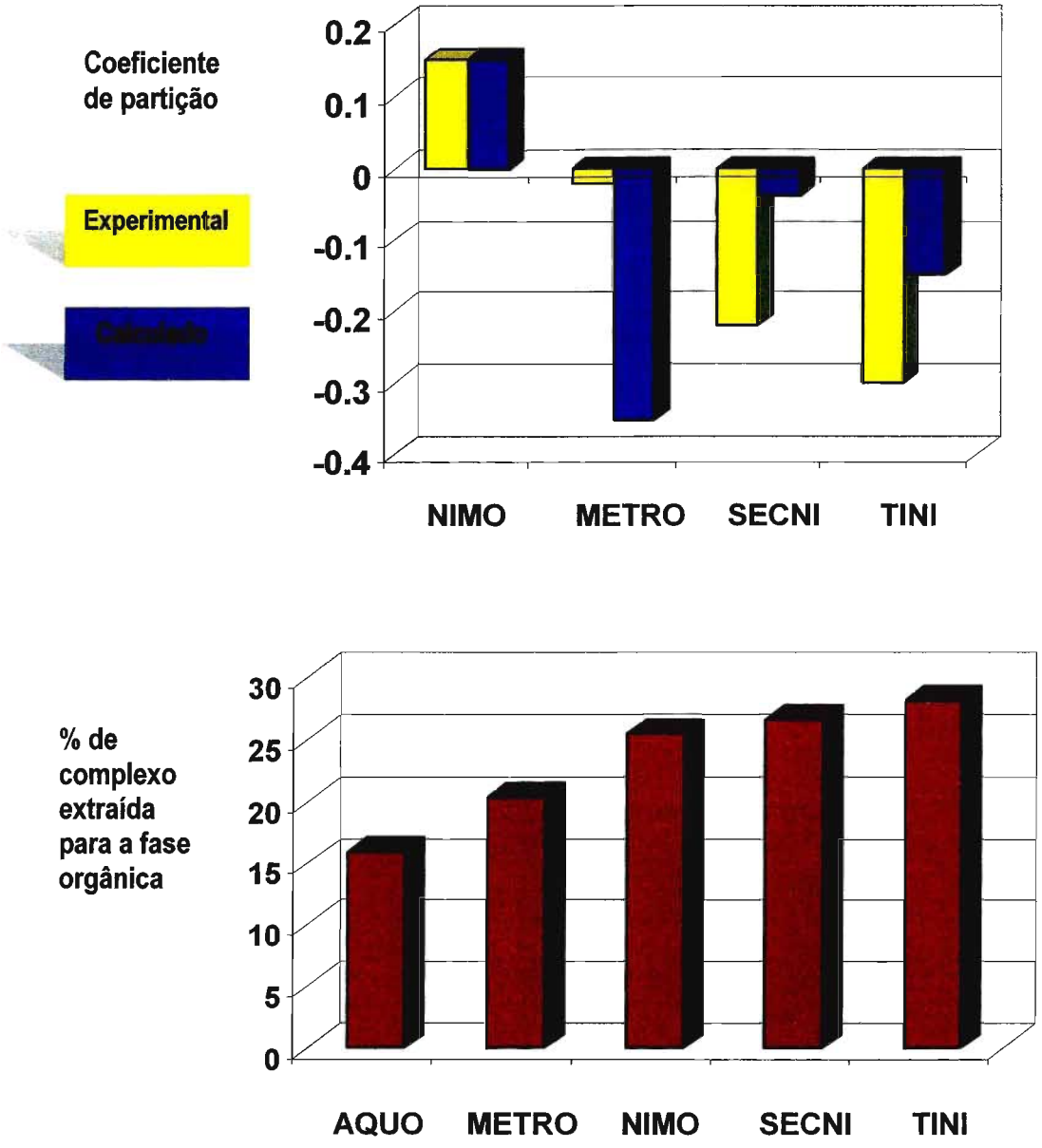


***FIGURA IV.2*.- Gráficos relacionados à partição dos nitroimidazóis e dos complexos de $Ru_2(II,III)$ em sistemas n-octanol-água (λ 430 nm).**

De acordo com os dados da Figura IV.2, não há, portanto, uma uniformidade na ordem quanto ao caráter hidrofóbico dos compostos de $Ru_2(II,III)$ em relação aos ligantes nitroimidazólicos livres. Pela análise dos valores de porcentagem extraída para a fase orgânica, contudo, é possível dizer que a diferença de caráter hidrofílico/hidrofóbico entre os complexos metálicos de rutênio substituídos não é muito significativa. Ressalta-se que interações intermoleculares podem influenciar neste caráter e, portanto, não é possível mesmo prever uma uniformidade no comportamento.

Como os tetracarboxilatos diméricos, em geral, apresentam potencial na área de metalofármacos e os 5-nitroimidazóis pertencem a uma importante classe de fármacos de amplo uso clínico, ensaios foram realizados *in vitro* para verificar a possível atividade biológica dos novos complexos metálicos de rutênio e cobre. No caso do ródio não foi possível realizar estes ensaios devido à baixa solubilidade dos complexos.

As Figuras IV.3 – IV.5 trazem na forma de gráfico uma compilação dos principais resultados obtidos nos ensaios biológicos de citotoxicidade, atividade antitumoral, efeito radiossensibilizador e atividade antimicrobiana (bactericida e fungicida) para os nitroimidazóis e para os complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$. Com base nos dados descritos no capítulo IV e nestes gráficos, as conclusões a seguir podem ser obtidas.

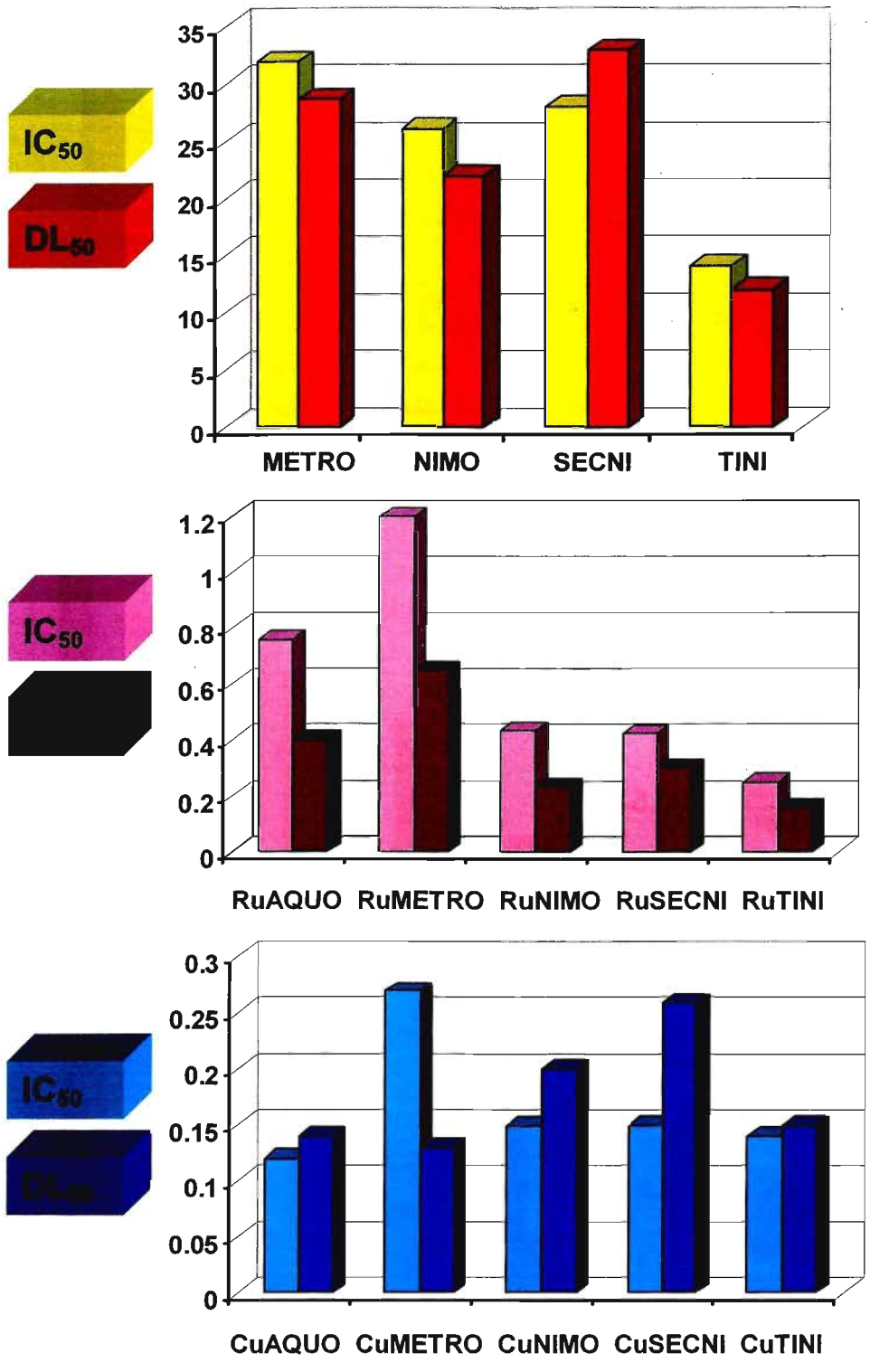


***FIGURA IV.3.*- Valores de IC_{50} (mol dm^{-3}) e de DL_{50} (mol dm^{-3}) para os nitroimidazóis, complexos de $Ru_2(II,III)$ e complexos de $Cu_2(II,II)$.**

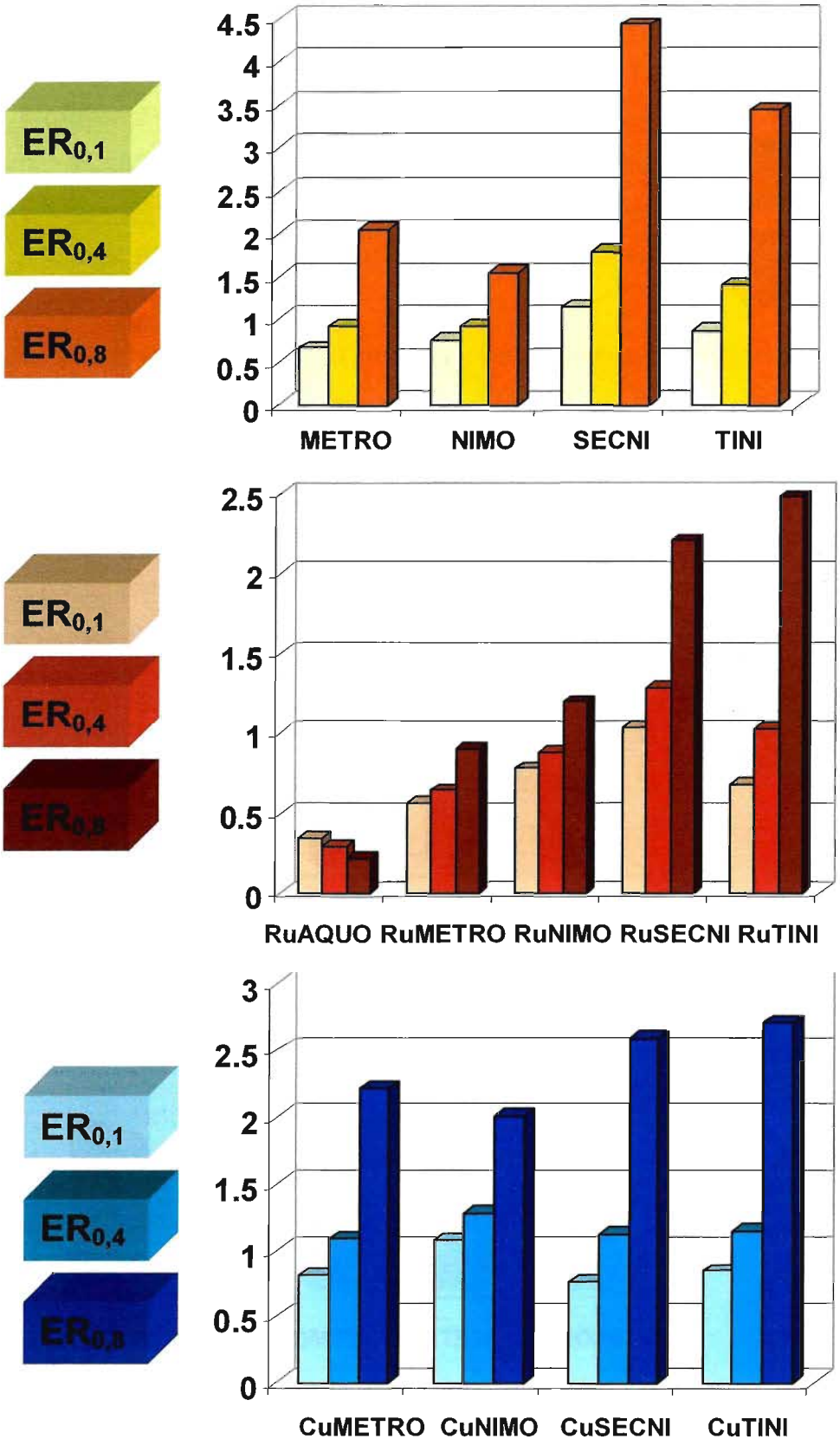


***FIGURA IV.4*.- Valores de ER correspondentes às frações de sobrevivência S= 0,1%, 0,4% e 0,8% para os nitroimidazóis, complexos de Ru_2(II,III) e complexos de Cu_2(II,II).**

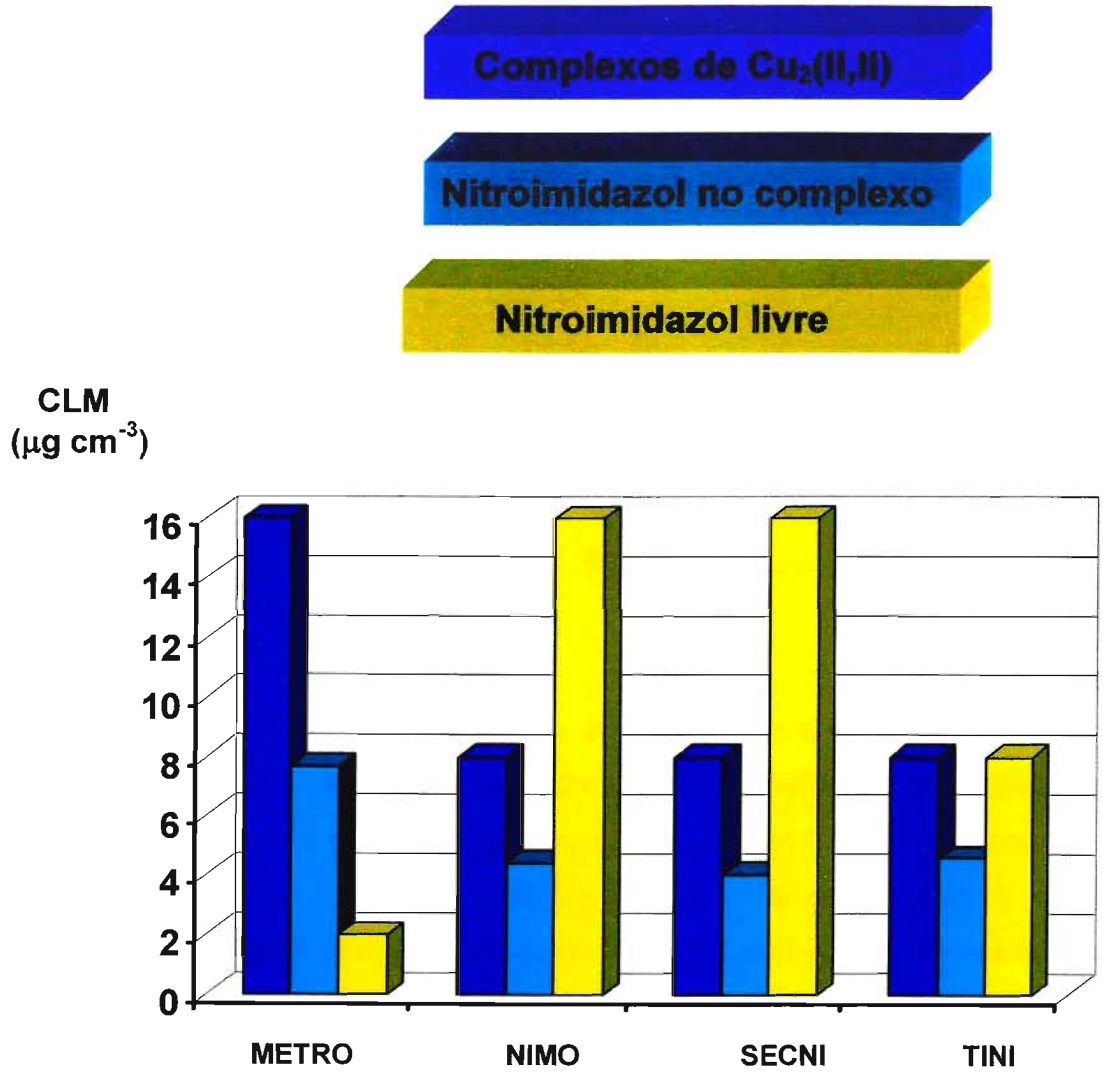


***Figura IV.5.*- Valores das CML (Concentrações Mínimas Letais) contra *C. coli* (microaerófilo) referentes aos complexos de Cu_2(II,II), ligantes nitroimidazóis contidos nos complexos e nitroimidazóis livres.**

Com relação à citotoxicidade e atividade antitumoral: Os ligantes nitroimidazólicos livres apresentam valores altos de IC_{50} e de DL_{50}. Portanto, não são citotóxicos. A pequena atividade contra células cancerígenas pode ser atribuída ao próprio meio provido por estas células, que se apresentam em ambiente com baixa concentração de oxigênio, propício para atuação dos nitroimidazóis.

A citotoxicidade e a atividade antitumoral dos complexos de $Ru_2(II,III)$ e de $Cu_2(II,II)$ devem-se principalmente à unidade dimetálica central. O ligante METRO parece contribuir para diminuir um pouco a citotoxicidade nestes casos, mas também diminui a atividade contra célula cancerígena, no caso do RuMETRO. Os complexos de $Cu_2(II,II)$ são melhores agentes do que os de $Ru_2(II,III)$ com relação à atividade antitumoral.

Com relação ao efeito radiossensibilizador: Para baixas doses de radiação (S = 0,8%), os complexos de $Cu_2(II,II)$, em geral, também são mais eficazes do que os de $Ru_2(II,III)$. Para as mesmas doses, melhor efeito radiossensibilizador é observado para os ligantes SECNI e TINI e seus correspondentes complexos dimetálicos.

Com relação aos ensaios de atividade antimicrobiana: Ressaltamos aqui os dados de atividade dos complexos de cobre contra microorganismos microaerófilos que permitem efetuar uma comparação completa. Os mais eficazes contra *C. coli* são os complexos CuNIMO e CuSECNI. Nestes casos (fig. IV.5) a quantidade de ligante que o complexo carrega é muito menor do que a necessária no caso do ligante livre. O complexo CuMETRO é mais eficaz para *B. fragilis*. Contra fungos, os complexos de $Ru_2(II,III)$ são eficazes, e esse dado é interessante pois na literatura não encontramos relatos sobre este tipo de atividade para complexos de rutênio.

A maior atividade dos complexos de cobre nestes estudos pode ser atribuída ao fato deste elemento ser um metal essencial para o organismo.

Como complementação a este trabalho, medidas da constante de estabilidade dos derivados nitroimidazólicos de $Ru_2(II,III)$ e $Cu_2(II,II)$, podem ser realizadas, com a finalidade de esclarecer se estas moléculas, nas condições em que são realizados os ensaios biológicos, mantém as suas estruturas iniciais.

Como a atividade bactericida do RuMETRO é similar à do ligante livre, um ensaio denominado "Curva da morte", poderia nos informar se a estrutura de gaiola estaria servindo como agente transportador da droga. Esta curva se obtém do registro da morte celular em função do tempo, fazendo comparações entre o complexo e o ligante livre.

Um outro trabalho muito importante seria tentar realizar os ensaios biológicos com os derivados nitroimidazólicos de $Rh_2(II,II)$, que devido a sua baixa solubilidade em água, provavelmente devido à formação de polímeros, não permitiram de testar a possível atividade biológica. A inserção destes complexos em compostos como a ciclodextrina, por exemplo, poderia aumentar a solubilidade e permitir a realização de ensaios biológicos.

ANEXO

TABELA DE MASSAS MOLARES DOS COMPOSTOS UTILIZADOS NESTE TRABALHO

Composto	Fórmula	MM
METRO	$C_6H_9N_3O_3$	**171,16**
NIMO	$C_9H_{14}N_4O_3$	**226,24**
SECNI	$C_7H_{11}N_3O_3$	**185,18**
TINI	$C_8H_{13}N_3O_4S$	**247,27**
RuACET	$[Ru_2(O_2CCH_3)_4Cl]$	**473,77**
RuAQUO	$[Ru_2(O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]\ PF_6\ \ 2H_2O$	**619,31**
RuMETRO	$[Ru_2(O_2CCH_3)_4(C_6H_9N_3O_3)_2]\ PF_6$	**943,61**
RuNIMO	$[Ru_2(O_2CCH_3)_4(C_9H_{14}N_4O_3)_2]\ PF_6$	**1035,75**
RuSECNI	$[Ru_2(O_2CCH_3)_4(C_7H_{11}N_3O_3)_2]\ PF_6$	**953,65**
RuTINI	$[Ru_2(O_2CCH_3)_4(C_8H_{13}N_3O_4S)_2]\ PF_6$	**1077,88**
CuACET	$[Cu_2(O_2CCH_3)_4(H_2O)_2]$	**399,30**
CuMETRO	$[Cu_2(O_2CCH_3)_4(C_6H_9N_3O_3)_2]$	**705,58**
CuNIMO	$[Cu_2(O_2CCH_3)_4(C_9H_{14}N_4O_3)_2]$	**815,74**
CuSECNI	$[Cu_2(O_2CCH_3)_4(C_7H_{11}N_3O_3)_2]$	**733,64**
CuTINI	$[Cu_2(O_2CCH_3)_4(C_8H_{13}N_3O_4S)_2]$	**857,81**