Universidade de São Paulo

Instituto de Química de São Carlos

Jessica M de Almeida

Síntese e caracterização estrutural de novos complexos de rênio(I) e tecnécio-99m(I) com potencial aplicação na medicina nuclear

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon

São Carlos – SP

2019

Universidade de São Paulo

Instituto de Química de São Carlos

Jessica M de Almeida

Síntese e caracterização estrutural de novos complexos de rênio e tecnécio-99m com potencial aplicação na medicina nuclear

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon

São Carlos – SP

2019

Dedico este trabalho à minha família, por todo

o amor e empenho para a minha formação.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Victor Deflon pela oportunidade de trabalhar em um grupo de excelência, por sua orientação e amizade.

A USP pela a oportunidade de fazer uma pós-graduação de excelência.

A Deus por ter me permitido fazer este trabalho, por me dar saúde, discernimento e amparo nos momentos difíceis.

Gostaria de agradecer o apoio da minha família, em especial a minha mãe Graça, minha irmã Renata e meus lindos sobrinhos. E também ao meu pai e aos meus entes queridos que não se encontra mais aqui. Eu amo vocês.

Aos meus avós e bissavós que foram pessoas maravilhosas na minha vida e me passaram os seus valores.

Ao meu guri, o Rapha, que sempre acreditou em mim e me deu o seu apoio incondicional. Obrigada do fundo do meu coração, tu me faz uma pessoa melhor.

Tenho um agradecimento especial também à Lu, que sempre me ajudou e apoiou durante todo o meu trajeto de vida até aqui. Tu és muito querida.

In diesem Sinne möchte ich mich auch bei dem Professor Stefan Müller der Universität Otto von Guericke für seine Unterstützung, Freundschaften und Weise Worten bedanken. Er hat mir neue Wege der Forschung ermöglicht und viel weitergeholfen.

Às minhas moléculas de estudos, vocês são lindas e colaboraram muito para a minha formação durante todo o meu trabalho.

Aos meus amigos de Lab GQIEB. Vocês fazem parte do meu trabalho e da minha vida.

Ao pesquisador Fabio Marques por toda amizade, sugestões e árduo trabalho nas minhas marcações no Instituto de Radiologia do HC-FMUSP.

Também gostaria de agradecer a gurizada do HC-USP por serem triqueridos.

Ao Professor Luiz Carlos Dias (UNICAMP) pela amizade e por me ajudar na síntese do meu ligante juntamente com o seu grupo trigenial. Em especial ao Rafael e ao Marco pela paciência e toda a colaboração.

Ao Manoel Barrionuevo, vulgo “Manú “, por toda ajuda nos cálculos computacionais, por toda amizade, por toda paciência em tentar fazer as coisas perfeitas! Tu és muito querido.

Gostaria de agradecer ao Professor Adelino presente na minha banca de qualificação pela sua gentileza e por todas as suas sugestões para que eu finalizasse o trabalho.

Gostaria de agradecer aos professores na minha banca: Professor Adelino, Professor Corbi e Professor Filipe, por todas as sugestões e correções à minha dissertação.

Gostaria de agradecer também a todos da CAQI-IQSC, em especial a Dra. Sylvana e o André (RMN) e ao Paulo (HPLC).

Ao professor Claudio Tormena (UNICAMP) por ser uma pessoa tão querida e pelas sugestões para a atribuição dos meus espectros de RMN.

A Rita da espectrometria de massas da UNICAMP, por me ajudar nos meus espectros e pela sua gentileza e atenção.

Bah, é claro que também tenho um agradecimento especial para as gurias da CPG, a Gislei, a Dani e a Andréia, por serem tão queridas e gentis!

A minha amiga e "irmã" Anne, que sempre ouviu os meus desabafos e sempre me incentivou mesmo longe fisicamente, mas perto no coração.

Ao meu amigo Lulu que sempre foi um amigo muito fiel e esteve ao meu lado nos momentos felizes e triste, sempre me apoiando.

Aos meus amigos do Kaputt e dos Legalzões, pela amizade e momentos inesquecíveis até aqui.

Aos meus amigos da UNICAMP, a Lai, o Matheus abagualado, Mari e o Emerson por compartilharmos as nossas pesquisas, as nossas vidas, as nossas lutas e vitória.

Gostaria de agradecer as agências de fomento por possibilitar a minha pesquisa.

E por fim, gostaria de agradecer a todos que, de forma direta e indireta contribuíram durante o período da minha pesquisa.

“Um objetivo sem um plano é a apenas um desejo”
Antoine de Saint-Exupery

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS iv

RESUMO ix

ABSTRACT x

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS xi

LISTA DE FIGURAS xii

LISTA DE TABELAS xvi

LISTA DE ESQUEMAS xviii

1 INTRODUÇÃO 19

1.1 A química de coordenação e a química inorgânica biológica 19

1.2 A Radioquímica e o panorama em medicina nuclear 25

1.3 Medicina de Diagnóstico 29

1.4 Tecnécio e Rênio 33

1.5 Motivações e critérios para a escolha do ligante 37

2 OBJETIVOS 40

SEÇÃO I 41

3 PARTE EXPERIMENTAL 42

3.1 Materiais 42

3.2 Instrumentação e Caracterização dos materiais 42

3.3 Cálculos Computacionais 43

3.4 Métodos de síntese 45

3.4.1 Síntese do ligante HL 45

3.4.2 Síntese complexo de rênio (I) 48

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 50

4.1 Ligante 50

4.1.1 Proposta de reação 50

4.1.2 Caracterização do Ligante 54

4.2 Complexo 69

4.2.1 Reação de Complexação 69

4.2.2. Caracterização do complexo 70

5 CONSIDERAÇÕES 90

SEÇÃO II 91

6 PARTE EXPERIMENTAL 92

6.1 Materiais 92

6.2 Instrumentação e Caracterização dos materiais 92

6.3 Métodos de síntese 94

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO 96

7.1 Avaliação da marcação do radiocomplexo e pureza radioquímica 98

7.1.1 Avaliação da Síntese do $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Cl$ 98

7.1.2 Avaliação da Síntese do $[^{99m}TcCl(CO)_3(HL)]$ 100

8 CONCLUSÕES 107

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS 108

10 REFERÊNCIAS 109

ANEXOS 117

RESUMO

Jessica, A.M. **Síntese e caracterização estrutural de novos complexos de rênio e tecnécio-99m com potencial aplicação na medicina nuclear.** 2019. 133 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Usando os conceitos de química de coordenação, introduzidos por Alfred Werner, e com o avanço da ciência que compreende a relação de compostos inorgânicos em sistemas biológicos, a bioinorgânica, que encontra aplicações em diversas áreas, inclusive na medicina nuclear, podemos propor estudos visando à preparação de novos complexos metálicos como potenciais radiofármacos e analisar o seu comportamento no organismo. Dessa forma, este trabalho consiste na síntese e caracterização do ligante inédito 2-hidroxi-5-metil-3-((metil(2-(metilamino)etil)amino)benzaldeído (HL) e o seu cloridrato (HL·HCl), e dos respectivos complexos de rênio, $[ReBr(CO)_3(HL)]$ e tecnécio-99m, $[^{99m}TcCl(CO)_3(HL)]$.

A síntese do ligante foi realizada a partir dos compostos 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeído e *N,N'*-(dimetil)etilenodiamina. A reação foi realizada em três etapas e envolveu a monoproteção do grupo amina com o *Di-terc-butil dicarbonato* (Boc). A síntese do complexo de rênio foi realizada usando o cloridrato recém-sintetizado com o complexo precursor $[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$.

A caracterização dos compostos se deu pelas técnicas de: espectroscopia de absorção na região do infravermelho e UV-Visível, ressonância magnética nuclear (^1H, ^{13}C, COSY, DEPT-135 e HSQC), condutimetria, espectrometria de massas e difração de raios X de monocristal. Também foram realizadas simulações computacionais do ligante e dos compostos de coordenação que tiveram por objetivo corroborar os resultados experimentais e ampliar o entendimento de suas propriedades espectroscópicas.

Após a obtenção do complexo de rênio (I), foram realizadas as marcações utilizando o radioisótopo tecnécio-99m. As marcações apresentaram resultados satisfatórios, tendo valor máximo de pureza radioquímica de 83%. Ensaios de eletroforese e lipofilicidade do composto $[^{99m}TcCl(CO)_3(HL)]$ demonstraram que o complexo é neutro com caráter lipofílico, e as marcações utilizando radiação de micro-ondas apresentaram pureza radioquímica de aproximadamente 80%. Os resultados até aqui obtidos mostraram-se promissores para aplicação do radiocomplexo na medicina nuclear de diagnóstico.

Palavras-chave: bioinorgânica, radiofármacos, tecnécio-99m(I) e rênio(I).

ABSTRACT

Jessica, A. M. **Synthesis and structural characterization of new rhenium and technetium-99m complexes with potential application in nuclear medicine.** 2019. 133s. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

Using concepts of coordination chemistry, introduced by Alfred Werner, and with the advancement of the science that comprises the relationship of inorganic compounds in biological systems, bioinorganic chemistry, which finds applications in several areas, including in nuclear medicine, we can propose new studies as potential radiopharmaceuticals and analyze their behavior in the human body. Thus, this work consists on the synthesis and characterization of the new Ligand 2-hydroxy-5-methyl-3-((methyl (2-(methylamino)ethyl) amino) benzaldehyde (HL), its corresponding hydrochloride salt, and the respective rhenium (I) - $[ReBr(CO)_3(HL)]$ – and technetium-99m (I), - $[^{99m}TcCl(CO)_3(HL)]$ – complexes.

The synthesis of the ligand (HL) was carried out from the 2-hydroxy-3-chloromethyl-5-methylbenzaldehyde and N, N'-(dimethyl)ethylenediamine compounds. The reaction was performed in three steps, involving the mono-protection of the amine group with Di-tert-butyl dicarbonate (Boc). The synthesis of the rhenium (I) complex was performed using the newly synthesized ligand-salt with the precursor complex $[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$.

The characterization of the compounds was carried out by infrared and UV-Visible spectroscopies, nuclear magnetic resonance (^1H, ^{13}C, COSY, DEPT-135 and HSQC), conductimetry, mass spectrometry, and single crystal X-ray diffraction. Computational simulations of the ligand and coordination compounds were also carried out with the objective of corroborating the experimental work, broadening the understanding of the radiocomplex and its spectroscopic properties.

After obtaining the rhenium (I) complex, the labeling was performed using the technetium-99m (I) radioisotope. The markers presented satisfactory results, having a maximum radiochemical purity of 83%. Electrophoretic and lipophilicity assays of the compound $[^{99m}TcCl(CO)_3(HL)]$ showed that the complex is neutral with lipophilic character, and the labeling using microwave irradiation showed radiochemical purity of approximately 80%. The results obtained so far have been encouraging and have demonstrated potential for applications in diagnostic nuclear medicine.

Key words: bioinorganic, radiopharmaceuticals, technetium-99m(I) and rhenium(I).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Boc	Di-*tert*-butil dicarbonato
$CDCl_3$	clorofórmio deuterado
CMB	2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido
d	dupleto
DCM	diclorometano
ddd	duplo duplo dupleto
Diamino	*N,N'*-(dimetil)etilenodiamina
DRX	difração de raios X
EECL	energia de estabilização do campo ligante
ESI-MS	espectrometria de massas com ionização por *electrospray*
Et_3N	trietilamina
HL·HCl	cloridrato
HOMO	do inglês, *Highest Occupied Molecular Orbital*
IV	espectroscopia de Absorção no Infravermelho
J	constante de Acoplamento
Ligante HL	2-hidroxi-5-metil-3-((metil(2-(metilamino)etil)amino)benzaldeido
LUMO	do inglês, *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*
m	multipleto
MeCN	acetonitrila
MeOH	metanol
nm	nanômetro
MOs	do inglês, *Molecular Orbitals*
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
TDDFT	Time-dependent density functional theory
s	simpleto
t	tripleto
UV-Vis	Espectroscopia de Absorção eletrônica na região do UV-Visível
δ	deslocamento químico
λ	comprimento de onda
ν	vibração de estiramento

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplos de Complexos: íon tetraminocobre(II) (esquerda) e azul da prússia (direita). 19

Figura 2- Estrutura do complexo cloreto de hexaminocobalto(III) proposto por a) Jörgensen e b) Werner. 20

Figura 3 *- Esfera de coordenação para o cloreto de hexaminocobalto(III).* 21

Figura 4 - Tabela Periódica da vida. 23

Figura 5 - Exemplos de metalofármacos. 25

Figura 6 - Espectro eletromagnético, onde, E= c /λ (onde c é a velocidade da luz no vácuo e λ é o comprimento de onda). 27

Figura 7 - Tipos de radiação e diferentes poderes de penetração. 28

Figura 8- Reator Nuclear de Angra (esquerda) e Ciclotron (acelerador de partículas) no HCFMUSP-SP (direita). 29

Figura 9 - Técnicas para diagnósticos de doenças utilizando29 a) SPECT e b) PET. 30

Figura 10 - a) Exemplos dos quelante bifuncional macrociclos utilizados na preparação de radiofármacos, e b) exemplos de quelantes bifuncional com denticidade bidentado e tridentado. 33

Figura 11 - Estruturas de radiofármacos comerciais utilizados na química de diagnóstico. 36

Figura 12 - Estruturas do ligante tridentado PADA. 37

Figura 13 - ligante HL e seus sítios de coordenação (em azul) e sítio para bioconjugação (em vermelho). 38

Figura 14 - Exemplo de ligantes na literatura que utilizam o mesmo fragmento aromático utilizado na síntese do ligante HL. 39

Figura 15- Diagrama de OM qualitativo do HOMO e LUMO do Ligante. 52

Figura 16 - Espectro de absorção na região do IV do cloridrato (ATR). 55

Figura 17 - Espectro de absorção na região do IV do ligante HL (pastilha de KBr). 56

Figura 18 - Espectro ^{1}H-RMN do composto 3 - Monoproteção da amina ($CDCl_3$ em 400MHz). 57

Figura 19 - Espectro ^{1}H-RMN do composto 5 - S_N2 ($CDCl_3$ em 400MHz). 59

Figura 20 - Espectro ^{1}H-RMN do cloridrato (dimetilsulfóxido-D6 em 400MHz). 60

Figura 21 - Espectro RMN ^{13}C do cloridrato (DMSO-D6 em 400MHz). 61
Figura 22 - Espectro RMN HSQC do Cloridrato (DMSO-D6 em 400MHz).....62
Figura 23 - Espectro ^{1}H-RMN do ligante HL ($CDCl_3$ em 400MHz).....63
Figura 24 - Espectro ^{13}C-RMN do ligante HL ($CDCl_3$ em 400MHz).....64
Figura 25 - Espectro MS-ESI do cloridrato teórico (superior) e experimental (inferior). 66
Figura 26 – Proposta de processo de ionização MS-ESI para o cloridrato. 67
Figura 27 - Espectro de UV-Vis do ligante HL experimental e teórico, com energias em eV....68
Figura 28 - Espectro de Absorção na região do IV do complexo de rênio (pastilha de KBr). ...72
Figura 29 - Espectro ^{1}H-RMN do complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).....73
Figura 30 - Espectro ^{1}H-RMN do complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).....75
Figura 31 – Espectro de RMN ^{13}C do complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz). 77
Figura 32- Espectro RMN HSQC complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).....79
Figura 33 - Espectro RMN COSY complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).....80
Figura 34 - Espectro RMN DEPT-135 do complexo de rênio (CDCl3 em 400MHz).....81
Figura 35 - Espectro de Massas (ESI-MS) do complexo de rênio experimental (superior) e teórico (inferior). 82
Figura 36 – Proposta de processo de ionização MS-ESI para o complexo de rênio. 83
Figura 37 - Representação ORTEP 50% de probabilidade do complexo de rênio. 84
Figura 38- Representação Mercury do complexo de rênio. 85
Figura 39 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o complexo de rênio, ligante puro HL e o sal fac[$Re(H_2O)_3(CO)_3$]Br.....86
Figura 40 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o complexo de rênio experimental e teórico.....87
Figura 41 – Ampliação dos estados e orbitais moleculares (MOs) envolvidos nas transições eletrônicas do complexo de rênio. 88
Figura 42 - Curva de gradiente da eluição utilizada no HPLC. 93
Figura 43 - Radiocromatograma do complexo precursor [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3$]Cl. 99
Figura 44 - Avaliação da estabilidade da marcação do [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3$]Cl. 100
Figura 45- Cromatogramas dos complexos [$ReBr(CO)_3(HL)$], analisado por UV-Vis a 254 nm (superior) e [$^{99m}TcCl(CO)_3(HL)$] (inferior). 102
Figura 46 - Sobreposição dos radiocromatogramas dos complexos de ^{99m}Tc e Re. 102

Figura 47 - Perfil de eletroforese do $^{99m}TcO_4^-$ (em solução de PBS). 105
Figura 48- Perfil de eletroforese do $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ (em solução de PBS). 105
Figura 49- Perfil de eletroforese do $[^{99m}TcCl(HL)_2(CO)_3]$ (em solução de PBS). 106
Figura 50 – ^{1}H-RMN do precursor 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido.....117
Figura 51 - Espectro de absorção na região do IV do complexo precursor $[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$ (pastilha de KBr). 118
Figura 52 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do IV do cloridrato: teórico e experimental.....118
Figura 53 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do IV do ligante HL: teórico e experimental.....119
Figura 54 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do IV do complexo de Re: teórico e experimental.....119
Figura 55 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do IV do complexo de Re: teórico e experimental.....120
Figura 56 - Estruturas dos isômeros tricarbonil fac e mer.....120
Figura 57 - Ampliação do espectro RMN HSQC do cloridrato ($CDCl_3$ em 400MHz). 124
Figura 58 - Ampliação do espectro RMN HSQC complexo de rênio (CDCl3 em 400MHz). 124
Figura 59 – Ampliação do espectro RMN COSY complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).....125
Figura 60- Ampliação do espectro RMN COSY complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz). 125
Figura 61- Representação ORTEP do complexo do complexo de rênio. 127
Figura 62- Representação célula unitária do complexo do complexo de rênio. 127
Figura 63 – Deconvolução do Espectro de do UV-Vis ligante HL.....128
Figura 64 - Deconvolução do Espectro de absorção no UV-Vis do complexo. 128
Figura 65 - Deconvolução do Espectro de absorção no UV-Vis do complexo precursor fac-$[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$.....129
Figura 66 - Ampliação dos estados e MOs envolvidos nas transições eletrônicas do ligante HL 129
Figura 67 - Radiocromatograma do complexo $[^{99m}TcCl(HL)(CO)_3]$ com 1 mg em pH 7. 130
Figura 68 - Radiocromatograma do complexo $[^{99m}TcCl(HL)(CO)_3]$ com 5 mg em pH 7. 130
Figura 69 - Radiocromatograma do complexo $[^{99m}TcCl(HL)(CO)_3]$ com 1 mg em pH 8,5. 131
Figura 70 - Radiocromatograma do complexo $[^{99m}TcCl(HL)(CO)_3]$ com 5 mg em pH 8,5. 131

Figura 71 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7 a 37°C com irradiação em microondas de 1 min. 132
Figura 72 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7 a 70°C com irradiação em microondas de 1 min. 132
Figura 73 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7 a 37°C com irradiação em microondas de 5 min. 133
Figura 74 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7 a 70°C com irradiação em microondas de 5 min. 133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Propriedades das radiações nucleares. 27
Tabela 2 - Alguns radioisótopos utilizados na Medicina Nuclear de diagnóstico. 30
Tabela 3 - Produtos químicos utilizados na síntese do ligante e complexo de Re. 42
Tabela 4 - Dados de ^{1}H-RMN do composto 3 - Monoproteção da amina ($CDCl_3$, 400 MHz). .58
Tabela 5 - Dados de ^{1}H-RMN do composto 5 - S_N2 ($CDCl_3$, 400 MHz). 59
Tabela 6 - Dados de ^{1}H-RMN do cloridrato (dimetilsulfóxido-D6, 400 MHz). 61
Tabela 7 – Dados de RMN ^{13}C do Cloridrato ($CDCl_3$, 400 MHz). 62
Tabela 8 – Dados de ^{1}H-RMN do ligante HL ($CDCl_3$, 400 MHz). 64
Tabela 9 – Dados de RMN ^{13}C do ligante HL ($CDCl_3$, 400 MHz). 65
Tabela 10 - Dados das transições eletrônicas para o espectro de UV-Vis do ligante HL. 68
Tabela 11 – Dados de ^{1}H-RMN do complexo de rênio ($CDCl_3$, 400 MHz). 73
Tabela 12 – Comparativo entre os dados de ^{1}H-RMN do ligante HL e do complexo de rênio. 76
Tabela 13 – Dados de RMN ^{13}C do complexo de rênio ($CDCl_3$, 400 MHz). 77
Tabela 14 – Comparativo entre os dados de RMN ^{13}C do ligante HL e do complexo de rênio.78
Tabela 15 - Acoplamentos dos hidrogênios diastereotópicos (azul), da amina secundária (verde). 80
Tabela 16 - Dados das transições eletrônicas para o espectro de UV-Vis do complexo de rênio. 87
Tabela 17 - Produtos químicos utilizados na marcação com o ^{99m}Tc. 92
Tabela 18 - Estabilidade da marcação do [^{99m}Tc$(OH_2)_3(CO)_3$]Cl. 100
Tabela 19 - Parâmetros de avaliação para as marcações do complexo [^{99m}TcCl$(CO)_3$(HL)]. ...101
Tabela 20 - Avaliação para as marcações do complexo [^{99m}TcCl$(CO)_3$(HL)] em microondas. .103
Tabela 21 - Determinação da lipofilicidade do complexo precursor [^{99m}TcCl(HL)$(CO)_3$]. 104
Tabela 22 - Dados do ^{1}H-RMN do precursor 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido ($CDCl_3$, 400 MHz). 117
Tabela 23 - ^{1}H-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do cloridrato. 121
Tabela 24 - ^{13}C-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do cloridrato. 121

Tabela 25 - ^{1}H-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do ligante HL. 122
Tabela 26 - ^{13}C-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do ligante HL. 122
Tabela 27 - ^{1}H-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do complexo de Re. 123
Tabela 28 - ^{13}C-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do complexo de Re. 123
Tabela 29 - Dados Cristalográficos para o complexo de rênio. 126

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1- Algumas áreas de aplicação da química inorgânica medicinal. 24

Esquema 2 - Esquema da especificidade de um quelante bifuncional por um alvo específico. 32

Esquema 3 – Decomposição do molibdênio-99 a Tecnécio-99m.....34

Esquema 4- Obtenção de tecnécio-99m e a preparação na química radiofarmacêutica. 34

Esquema 5 - Síntese do Ligante em uma única etapa. 50

Esquema 6 – Síntese do ligante 1ª Etapa – Substituição Nucleofílica. 51

Esquema 7 – Síntese do ligante 2ª Etapa Substituição nucleofílica bimolecular (S_N2). 51

Esquema 8 – Síntese do ligante – 3ª Etapa a-) Preparação do HCl anidro (em éter). 52

Esquema 9 – Síntese do ligante – 3ª Etapa b-) Desproteção e formação do cloridrato. 53

Esquema 10 – Síntese do ligante – 3ª Etapa c-) Neutralização e obtenção do ligante HL. 54

Esquema 11 – Síntese do complexo de rênio. 70

Esquema 12 - Esquema de preparação geral dos complexos ^{99m}Tc. 97

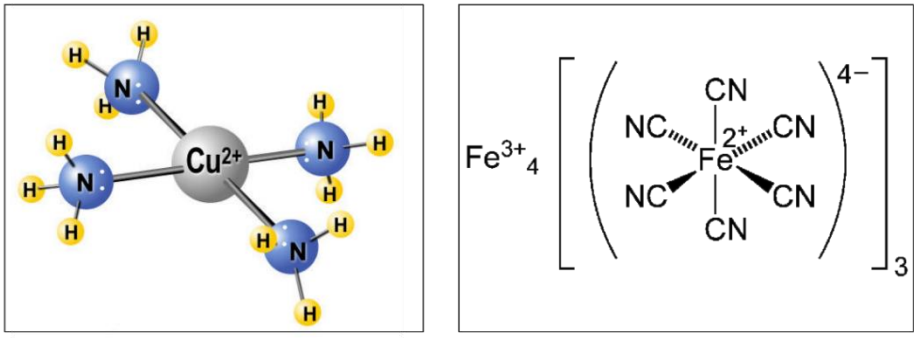
Esquema 13 - Preparação do complexo precursor $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ 97

1 INTRODUÇÃO

1.1 A química de coordenação e a química inorgânica biológica

Desde o surgimento da água na Terra, os aquo complexos de metais devem ter existido na superfície. O surgimento posterior da vida dependeu, e pode até ter resultado, da interação de íons metálicos com moléculas orgânicas.[1] Os compostos de coordenação são utilizados desde a antiguidade e, em um panorama cientifico, o primeiro composto de coordenação descoberto foi o íon tetraminocobre(II), $[Cu(NH_3)_4]^{+2}$, que foi descrito pelo alquimista Andreas Libavius em seu livro *Alchemia*, publicado em 1597.[1] Outro composto de coordenação descrito, considerado por muitos o primeiro composto de coordenação a ter sua síntese reportada, foi o azul da prússia, $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$, descrita por Diesbach em 1704; este composto é um pigmento barato e muito utilizado atualmente. A sua fórmula e estrutura (Figura 1) foram elucidadas três séculos depois, pois a estrutura desse composto eram de difícil entendimento.[2,3]

Figura 1 - Exemplos de Complexos: íon tetraminocobre(II) (esquerda) e azul da prússia (direita).



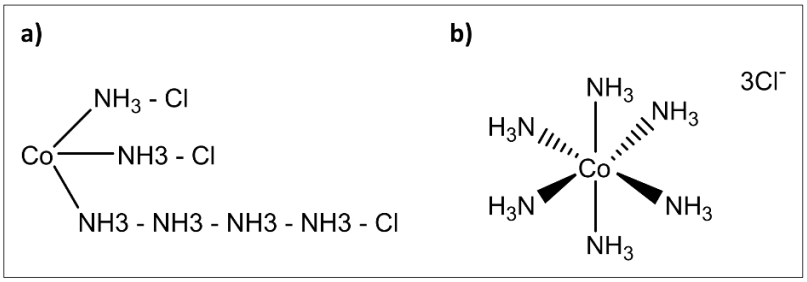
Fonte: https://www.flickr.com/photos/ncssm/9424504108/ e https://www.acs.org/content/acs/en/molecule-of-the-week/archive/p/prussian-blue.html

Com o uso da teoria da cadeia de Blomstrand-Jörgensen, e com a influência da química orgânica, o estudo desses compostos estabelecia que as moléculas, como as de amônia, podiam se ligar umas às outras, formando cadeias $-NH_3-NH_3-$ de modo similar à tetravalência do carbono nos compostos orgânicos. A valência era tida como uma propriedade intrínseca

nos compostos, não sendo considerada, portanto, a geometria (estereoquímica) dessas moléculas.[3] Contudo, um jovem pesquisador destacou-se no estudo desses materiais referidos como complexos, termo utilizado até os dias atuais: seu nome era Alfred Werner, e ele estudava e procurava explicar a química que envolvia esses compostos.

Werner não se preocupava apenas com a afinidade existente entre os átomos, mas também com a disposição espacial nas quais eles se distribuíam[4] e, em 1893, publicou o seu trabalho intitulado originalmente como *Beitrag zur Konstitution anorganischer Verbindungen*[5] (Contribuição à constituição de compostos inorgânicos), onde propôs a teoria de coordenação. O entendimento desses compostos contribuiu para a base da química moderna e vale lembrar que essa teoria foi proposta em uma época que ainda não se sabia muito a respeito do elétron (descoberto em 1897 por Thomson)[6] e que antecede o estabelecimento da teoria eletrônica de valência (em 1916 por Lewis e Kossel).[2] Na Figura 2, é ilustrada a proposta de estrutura para o complexo cloreto de hexaminocobalto(III) utilizando os dois conceitos diferentes.

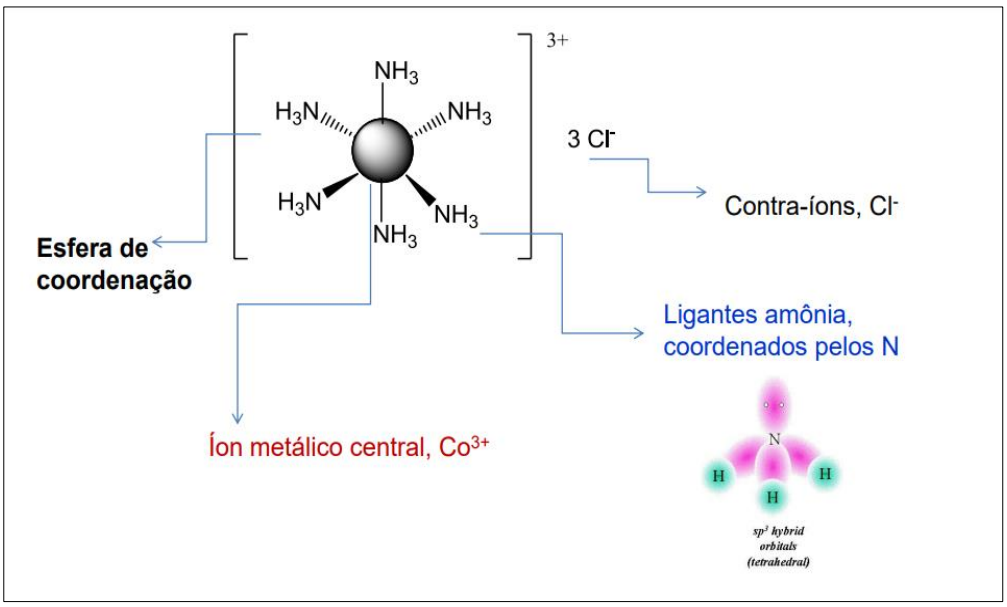
Figura 2- Estrutura do complexo cloreto de hexaminocobalto(III) proposto por a) Jörgensen e b) Werner.[3]



A partir de suas descobertas, Werner introduziu pela primeira vez o conceito de dupla valência, sendo a valência primária o número de oxidação do íon metálico e a valência secundaria o número de coordenação (NC) do mesmo.[7] Os compostos de coordenação podem ser definidos como espécies contendo um metal como átomo/íon central, cercado por íons ou moléculas, ao qual estão ligados por meio de forças eletrostáticas e compartilhamento de elétrons.[8] Essas espécies podem ser neutras ou iônicas e são denominadas ligantes. O número de ligantes coordenados ao metal depende dos tipos de orbitais do metal que estão envolvidos na ligação, da natureza do ligante e dos efeitos estéreos da esfera de coordenação.[3] As geometrias mais comuns são a octaédrica (NC = 6) e a tetraédrica (NC = 4). Uma representação de uma esfera de coordenação é ilustrada na Figura 3.

A presença do ligante é sentida de duas formas pelo íon (átomo) metálico: i) a primeira envolve a atração natural exercida pela carga nuclear efetiva do metal sobre os elétrons localizados nos ligantes, o que leva a formação da ligação química.[9] Essa ligação envolve interações de caráter eletrostático e também a combinação de orbitais do metal e do ligante (essa combinação de orbitais é descrita na Teoria do Orbital Molecular); ii) o segundo é o desdobramento energético dos orbitais de valência "d" do metal que ocorre em decorrência da repulsão intereletrônica provocada pelo os elétrons do ligante. Esse efeito é descrito pela teoria do Campo Ligante, formulada por Hans Bethe em 1929.[3]

Figura 3 - Esfera de coordenação para o cloreto de hexaminocobalto(III).



Fonte: http://www2.iq.usp.br/docente/amdcferr/disciplinas/QFL2129/Aula_10_-_Comp_Coordenacao.pdf

Uma característica dos metais que os torna indispensáveis para os seres vivos é o seu caráter eletropositivo. Enquanto os íons metálicos são deficientes em elétrons, a maioria das moléculas biológicas, como proteínas e DNA, são ricas em elétrons. A atração dessas cargas opostas leva a uma tendência geral de íons metálicos se ligarem e interagirem com moléculas biológicas.[10] Outro papel importante dos íons metálicos é a capacidade de transferência de elétrons; por apresentarem vários estados de oxidação acessíveis, eles podem variar as suas características químicas, atendendo dessa maneira, diversas necessidades biológicas. Uma

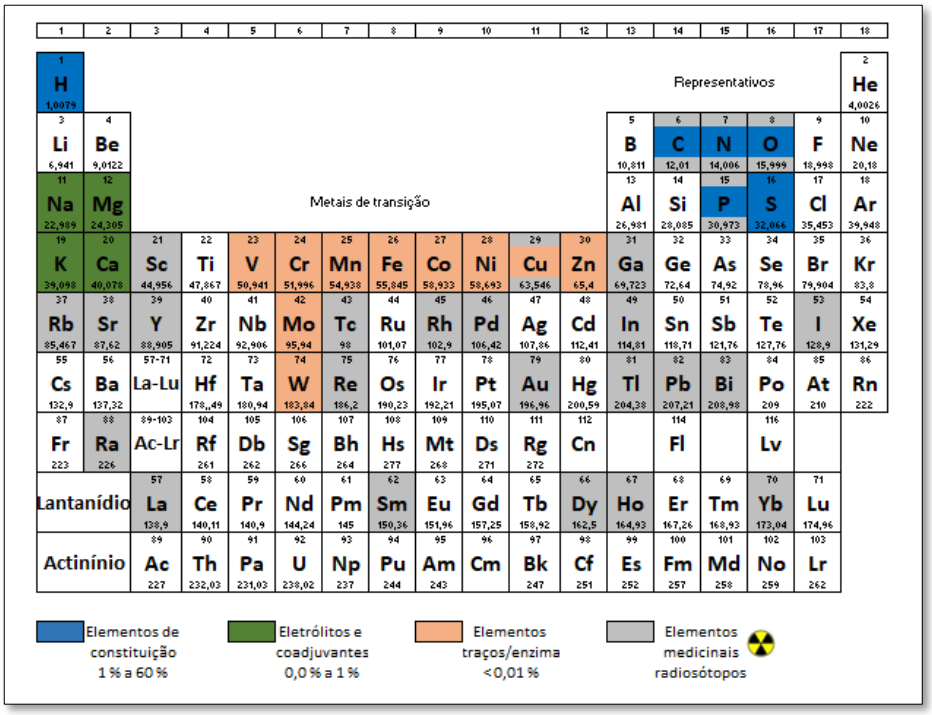
outra característica dos complexos é de ordem estrutural: a possibilidade de diferentes tipos de geometria ou conformação podem ser uteis para que proteínas exerçam as suas atividades. Por fim, os íons metálicos podem mudar a reatividade dos ligantes por meio de efeitos eletrônicos que afetam o comportamento ácido-base, o potencial redox e a estabilidade química do sistema, sendo esses comportamentos importantes nos processos de catalise enzimática, por exemplo.[9]

De forma geral, os compostos de coordenação são importante para diversas aplicações da química como na conversão de energia solar, fixação do nitrogênio atmosférico, e uso fármacológicos[11] - o qual é o foco deste trabalho. O conhecimento gerado com o advento da química de coordenação corroborou o entendimento das reações biológicas que envolvem complexos metálicos, como é o caso da hemoglobina (responsável pelo transporte de O_2 no sangue) e da cobalamina (vitamina B12). A área de estudo que aplica os conhecimentos da química de coordenação em sistemas biológicos é a química bioinorgânica, que estuda as funções, metabolismo e aplicações de íons inorgânicos em sistemas biológicos.[12] O estudo dos metais de transição nos organismos se dá por duas abordagens de trabalho: i) metais em sistemas biológicos de ocorrência natural (fisiológico) ou intoxicação (patológico); ou ii) metais como fármacos (diagnóstico ou terapia). Na Figura 4, é apresentada a tabela periódica com os elementos essenciais a vida.[3]

Para o surgimento dos primeiros organismos vivos, vários fatores se combinaram para tornar a vida viável. Quatro razões foram propostas para explicar o porquê de elementos específicos serem selecionados para determinados propósitos, são elas: a) a aptidão básica (adequação química), b) a abundância, c) a eficiência e, por fim, d) a adaptação evolutiva. Esses fatores se combinam para fazer com que um determinado elemento seja selecionado para uma função biológica específica. Em outras palavras, um elemento é intrinsecamente (quimicamente) adequado para uma determinada função. Se existem mais de dois desses elementos para uma mesma função específica, os organismos preferem o mais disponível dentre os abundantes. Se a natureza apresentar mais que um elemento disponível, o mais eficiente será o preferido. O alumínio, por exemplo, é o metal mais abundante da crosta terrestre; contudo, ele é encontrado na forma de óxidos e hidróxidos insolúveis, sendo, portanto, de difícil incorporação em pH fisiológico. Uma vez que um elemento foi empregado, o organismo melhora seu funcionamento no curso da evolução. Nesse processo, a

especificidade (para um elemento) se torna mais relevante.[8]

Figura 4 - Tabela Periódica da vida.

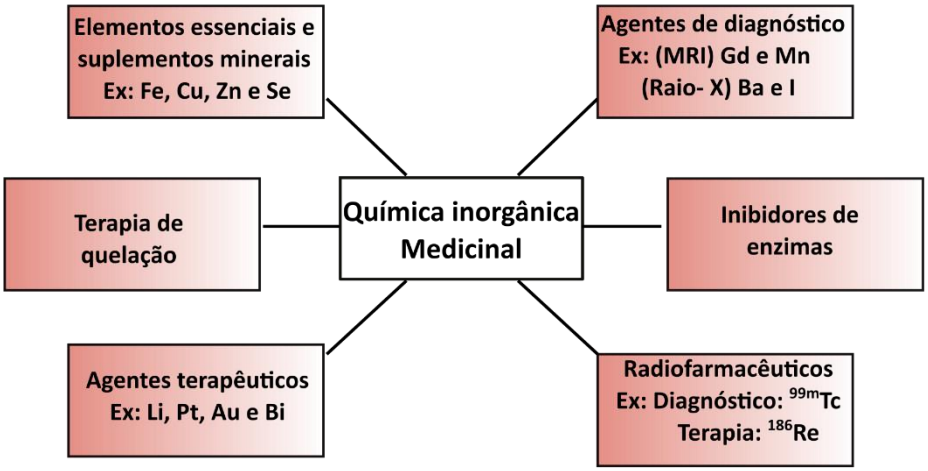


Adaptado de: Henrique E. TOMA – São Paulo: Blucher, 2015. (Coleção química conceitual; v.5).

Alguns elementos, conforme ilustrado na Figura 4 como C, H, N, O, S e P se combinaram para dar origem aos compostos orgânicos, que são dominantes nos sistemas biológicos, constituindo até 60% de sua massa. Já outros elementos como Na, Mg, K, Ca, e Cl apresentam massa de 0,01% a 1% na composição, sendo esses os componentes iônicos (eletrólitos). Por fim, temos os metais de transição, como V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn e Mo, que aparecem em quantidade traço (abaixo de 0,01%), porém indispensáveis nos sistemas biológicos. Juntamente a essa lista de elementos essenciais, o B, Si, Se, e I encontram-se em quantidades abaixo de 0,01% também. A faixa de concentração dos metais em sistemas biológicos é pequena, mas o excesso ou deficiências desses metais podem causar alterações patológicas severas.[9,13]

Nos últimos 50 anos, o conhecimento dos elementos inorgânicos nos organismos abriu a possibilidade para químicos inorgânicos contribuírem para a saúde e o bem-estar do homem e dos organismos vivos. A química inorgânica biológica é uma área de estudo relativamente

nova, porém sua prática é exercida há quase 5.000 anos.[10] No Esquema 1, abaixo, pode-se observar as áreas de abrangência da química inorgânica medicinal.



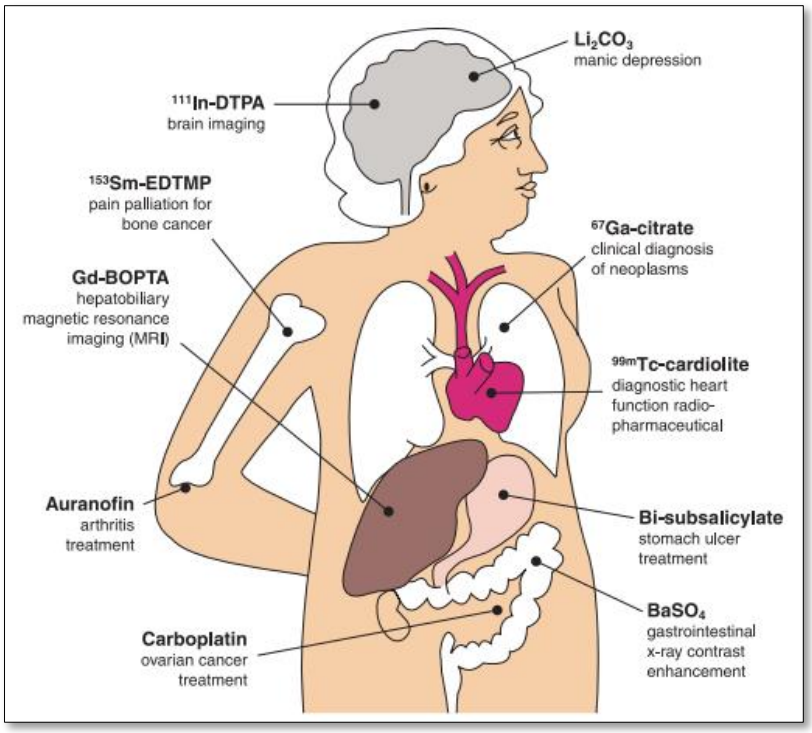
Esquema 1 - Algumas áreas de aplicação da química inorgânica medicinal.[14]

Adaptado de: Guo, Z; Sadler, P. J. Metals in Medicine. *Angew. Chemie Int. Ed.* **38,** 1512–1531 (1999).

Dentre os campos de estudo da química bioinorgânica encontra-se a área de fármacos. A maioria dos fármacos em uso clínico é constituída por compostos orgânicos; entretanto, fármacos à base de metais têm sido usados desde a antiguidade.[15,16] A descoberta da cisplatina, pelo físico Barnett Rosenberg em 1965, que é um exemplo de metalofármaco, possui um mecanismo de ação que até hoje não foi mimetizado por nenhum outro fármaco orgânico, o que indica claramente a interação ímpar que um metal pode ter com uma biomolécula.[10] Este composto e seus análogos são empregados em todo o mundo para o tratamento de diversos tipos de câncer.[17] Jacques Forestier difundiu os compostos de ouro a serem usados contra a artrite reumatoide e, hoje, medicamentos como aurotiomalato são utilizados para o tratamento dessa doença.[18] O complexo pentacianidonitroferrato(II), o nitroprussiato de sódio, é um complexo de ferro de baixo spin empregado nas emergências hipertensivas.[19] Os radiofármacos contendo metais como tecnécio-99m são amplamente utilizados em diagnósticos por imagem.[10] Uma das áreas de importante aplicabilidade da química de coordenação biológica são os radiofármacos, que empregam o uso de radioisótopos para diagnóstico e terapia de doenças. Esse tópico será mais bem discutido no próximo item. Na Figura 5, são apresentados alguns exemplos que evidenciam a importância

dos metalofármacos na medicina atualmente.

Figura 5 - Exemplos de metalofármacos.[20]



1.2 A Radioquímica e o panorama em medicina nuclear

Os alquimistas acreditavam na transmutação de um elemento, ou seja, na conversão de um elemento em outro; como exemplo, metais como o chumbo poderiam ser transformados em metais nobres, como o ouro. Hoje se sabe que o processo de transmutação ocorre espontaneamente na natureza. Os elementos químicos podem sofrer mudanças, não apenas se combinando a outros elementos formando moléculas, mas também em diferentes ou novos elementos químicos. Para que um elemento se transforme em outro é necessário ocorrer uma alteração em seu núcleo atômico.

O principal fenômeno de transmutação que ocorre no universo e que deu origem aos elementos que conhecemos atualmente é a fusão nuclear, onde há a junção de núcleos menores para formar núcleos maiores, gerando grande quantidade de energia no processo. Abaixo, na Equação 1, é mostrado um exemplo de fusão de núcleos de deutério e trítio, formando o hélio e um nêutron e produzindo 17,6 MeV de energia (3,5 MeV para o He e 14,1 MeV para o nêutron).[21,22] Todavia, essa reação demanda muita energia e somente ocorre em

estrelas, como no Sol.

$$ {}^{2}_{1}H + {}^{3}_{1}H \rightarrow {}^{4}_{2}He + {}^{1}_{0}n \qquad \text{Equação (1)} $$

Outro processo em que se observa a transmutação, comumente observado na Terra, está relacionada a instabilidade nuclear. Alguns núcleos, em decorrência de um desbalanço entre a proporção de prótons e nêutrons, se fragmentam em dois outros novos elementos. Esse fenômeno ocorre no processo de fissão do urânio, por exemplo, conforme mostrado nas equações 2 e 3:

$$ {}^{235}_{92}U + {}^{1}_{0}n \rightarrow {}^{236}_{92}U \qquad \text{Equação (2)} $$

$$ {}^{236}_{92}U \rightarrow {}^{141}_{56}Ba + {}^{92}_{36}Kr + 3\,{}^{1}_{0}n \qquad \text{Equação (3)} $$

Os estudos e a teoria atômica de Ernest Rutherford, considerado o pai da física nuclear, foram essenciais para a compreensão da estrutura da matéria. Com seus experimentos, ele evidenciou pela primeira vez o fenômeno de transmutação[23] de um elemento químico em outro, em laboratório, através do bombardeamento de partículas α a átomos de nitrogênio, gerando oxigênio e um próton, conforme reação nuclear mostrada na Equação 4.

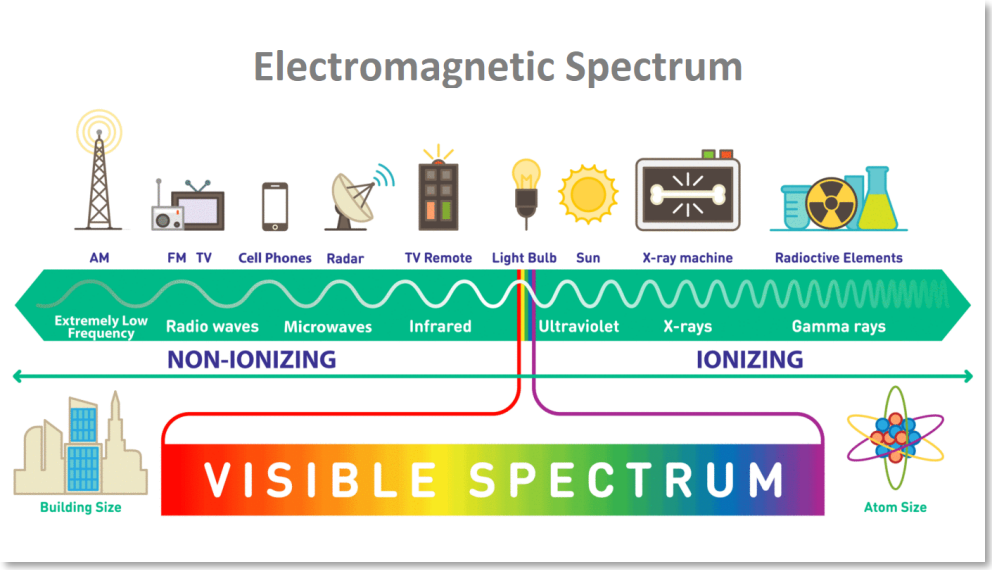
$$ {}^{14}_{7}N + {}^{4}_{2}\alpha \rightarrow {}^{17}_{8}O + {}^{1}_{1}p \qquad \text{Equação (4)} $$

Rutherford também introduziu o conceito de meia vida[11,23] (tempo necessário para que metade dos núcleos sofram decaimento radioativo) e descobriu dois diferentes tipos de radiação, alfa (α) e beta (β), ao observar o efeito do campo elétrico sobre as emissões radioativas.[11,24] O terceiro tipo de radiação foi descoberto pelo cientista francês Paul Villard, denominada como radiação gama (γ). Outros ilustres cientistas como Henry Becquerel, Marie Curie e Pierre Curie mostraram que a radioatividade é produzida pelo decaimento nuclear; ou seja, a ejeção espontânea de partículas nucleares e energia por um núcleo muito energético, que tende a estabilizar-se ao emitir tais radiações.

A radiação é a emissão e propagação de energia (corpuscular e/ou ondulatória) de um ponto a outro, seja no vácuo ou num meio material.[25] A Figura 6 mostra um esquema do espectro eletromagnético. A maior parte dos radioisótopos emitem radiações α, β (radiação

corpuscular) e γ (radiação eletromagnética), mas há outros tipos de radiação nuclear, tais como os nêutrons (n) e os prótons (p), que são partículas constituintes do núcleo atômico. Há também as antipartículas como o pósitron, que possui a mesma massa que os elétrons, mas carga positiva. A Tabela 1 resume as propriedades das radiações nucleares.[11] É fundamental compreender o poder ionizante e o alcance da penetração das radiações, pois estes fatores estão diretamente relacionados a sua aplicação e também as suas formas de proteção.

Figura 6 - Espectro eletromagnético, onde, E= c /λ (onde c é a velocidade da luz no vácuo e λ é o comprimento de onda).



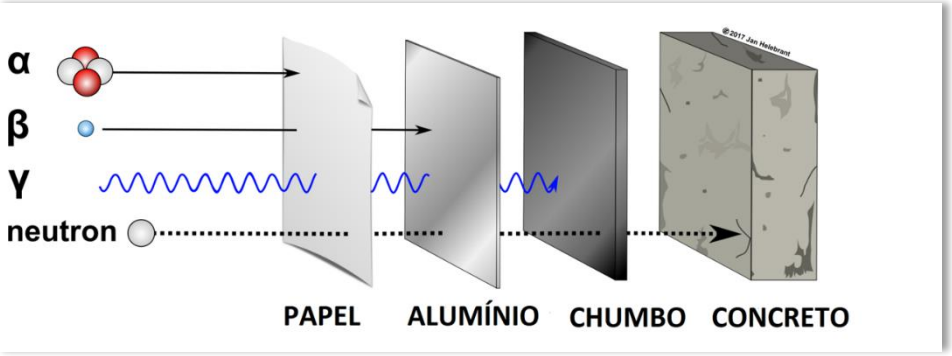
Fonte: https://www.defendershield.com/learn/electromagnetic-spectrum

Tabela 1- Propriedades das radiações nucleares.[11]

Partícula	Grau de Penetração	Velocidade	Partícula	N° de massa	Poder ionizante relativo
α	não penetrante, mas causa danos	10 % de c	parecido com o núcleo de hélio, ${}^{4}_{2}\alpha$	4	1000
B^-	moderadamente penetrante	< 90 % de c	elétron, ${}^{0}_{-1}e$	0	100
γ	muito penetrante	c	fóton	0	1
β^+	moderadamente penetrante	< 90 % de c	pósitron, ${}^{0}_{+1}e$	0	100
p	penetração moderada ou baixa	10 % de c	próton, ${}^{1}_{1}p$	1	100
n	muito penetrante	< 10 % de c	nêutron, ${}^{1}_{0}n$	1	1

Na Figura 7, é possível ver os diversos níveis de penetração dos diferentes tipos de radiação. As partículas α podem ser bloqueadas pela mão humana ou por uma folha de papel. Já as partículas β possuem uma maior penetrabilidade, e requerem um material de maior densidade para bloqueá-las, como o alumínio, por exemplo. Por fim a radiação gama possui alta energia de penetração, e requer materiais mais densos para bloqueá-la como chumbo ou concreto, enquanto os nêutrons só são barrados com espessas camadas de concreto.[11]

Figura 7 - Tipos de radiação e diferentes poderes de penetração.



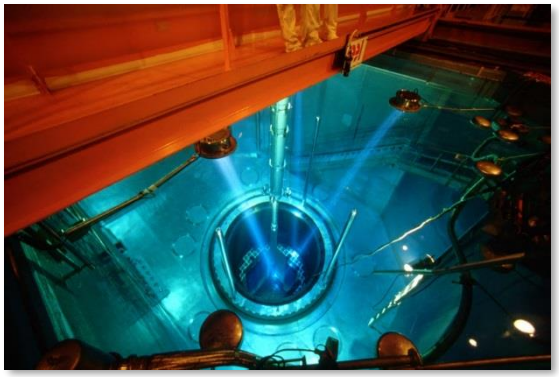
Fonte: https://saintschemistry9.weebly.com/isotopes-and-radioactivity.html

As partículas α possuem carga positiva e são altamente ionizantes e pesadas (possuem dois prótons e dois nêutrons), o que provoca danos ao tecido. É essa característica que possibilita o seu uso na medicina nuclear, como um radioterapêutico, por exemplo.[26,27] As partículas β são moderadamente ionizantes, podendo ser aplicadas na medicina nuclear em terapia e diagnóstico de doenças. Além das radiações α e β, também se pode mencionar os elétrons Auger com potencial aplicação em terapia.[28] Apesar do alcance moderado, o pósitron (β^+) possui um papel fundamental na medicina de diagnóstico; isso porque, o choque entre um pósitron (β^+) e um elétron (β^-), resulta no aniquilamento de ambas as partículas. De acordo com a lei da conservação de energia, as suas massas são convertidas em dois fótons (chamados, radiação de aniquilamento) na faixa de energia dos raios γ que se movem em direções opostas. Este fenômeno, chamado Aniquilação elétron-pósitron é usado para o diagnóstico por imagem empregando câmaras γ.[29] De forma similar, temos a radiação γ que atravessa facilmente a matéria; justamente por causa dessa última característica que essa radiação pode ser usada para fornecer informações internas do organismo, pois penetra a pele

e tecido moles. Quando essa radiação é coletada por um detector externo, ela possibilita a construção de imagens que são utilizadas em radiodiagnóstico.[26] Na Figura 4, a tabela periódica dos elementos da vida, encontra-se destacado em cinza os vários radioisótopos que podem ser aplicados na medicina nuclear em terapia e/ou diagnóstico de doenças e disfunções.

Os elementos que emitem radiação podem ser gerados por transmutações naturais (fissão e fusão nuclear) ou não-natural (cíclotrons e aceleradores – Figura 8), o que implica na produção de radiação e energia. Além da aplicação na medicina, os elementos radioativos são muito importantes em diversas áreas como a conservação de alimentos, inspeção industrial, acompanhamento de reações químicas e combustíveis em naves espaciais.[11] Nesse trabalho será discutido a sua aplicação em medicina nuclear.

Figura 8- Reator Nuclear de Angra (esquerda) e Cíclotron (acelerador de partículas) no HCFMUSP-SP (direita).



Fonte: http://blog-superinteressante.blogspot.com/2014/03/reator-nuclear.html e http://inrad.hc.fm.usp.br/portal-inrad/cicloton.

1.3 Medicina de Diagnóstico

Os radiofármacos são compostos sem atividade biológica que têm na sua composição um radionuclídeo. A sua utilização permite identificar uma doença de forma não-invasiva (diagnóstico) e, posteriormente, tratar o doente.[30] Segundo o World Nuclear Association,[31] são realizados 40 milhões de procedimentos no mundo por ano, empregando a medicina nuclear, e a demanda por radioisótopos está aumentando em até 5% ao ano. Na Tabela 2, encontram-se alguns dos principais radioisótopos aplicados na medicina nuclear de diagnóstico.

Tabela 2 - Alguns radioisótopos utilizados na Medicina Nuclear de diagnóstico.[26]

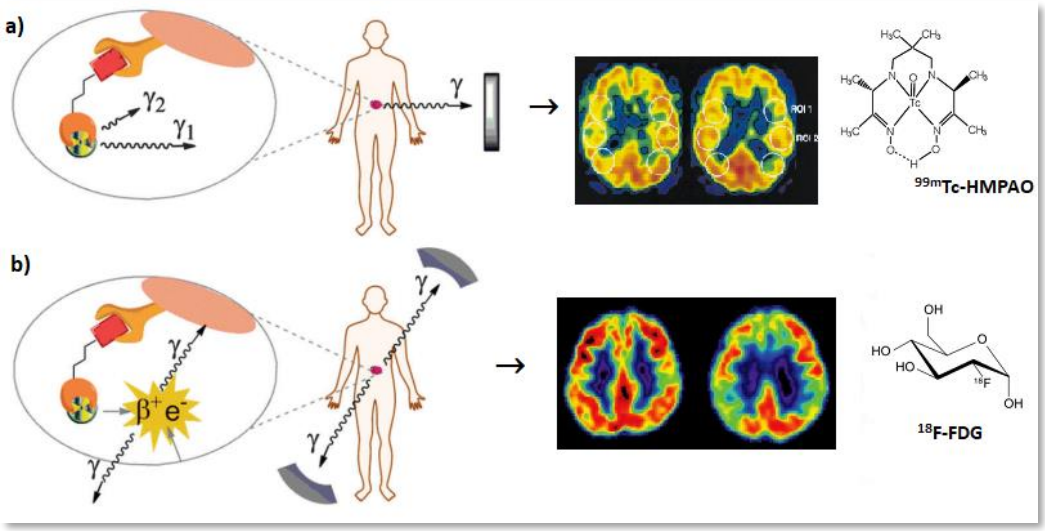
Radioisótopo	Tempo de meia-vida	Produção	Energia da radiação	Decaimento	Aplicação em MN
^{18}F	109 min	Ciclotron	511 keV	β^+	PET
^{64}Cu	12,7 h	Ciclotron	278,2 keV	β^+	PET
^{68}Ga	1,1 h	Gerador ^{68}Ge/^{68}Ga	836,02 keV	β^+	PET
^{86}Y	14,7 h	Cíclotron	535 keV	β^+	PET
^{67}Ga	78,2 h	Ciclotron	6,26 keV	γ	SPECT
^{99m}Tc	6. 0 h	Gerador Mo/^{99m}Tc	140 keV	γ	SPECT
^{111}In	67,3 h	Cíclotron	245,35 keV	γ	SPECT

Conforme mencionado, a utilização de radioisótopos para diagnóstico é possibilitada pela emissão de radiação eletromagnética, tanto advinda do núcleo quanto por reação de aniquilamento de pósitron. Dentre as técnicas utilizadas na medicina de diagnóstico que empregam radioisótopos são destacadas duas modalidades de tomografia: a tomografia por emissão de pósitron (PET, do inglês, *Positron-emission tomography*), que utiliza o princípio Aniquilação elétron-pósitron; e a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT, do inglês, *Single-photon emission computed tomography*), que ocorre através da detecção da emissão direta de raios γ. Na Figura 9, são mostrados dois exemplos de diagnósticos utilizando SPECT e PET.[26] Na imagem 9a, empregado para o uso do SPECT, é ilustrado o funcionamento do radiofármaco ^{99m}Tc-HMPAO para obtenção de imagens que possibilitam a realização de estudos de perfusão sanguínea cerebral.[32] Na figura 9b, é ilustrado o mecanismo de ação do radiofármaco ^{18}F-FDG, cujo radionuclídeo emissor de β^+ possui tempo de meia-vida de 109 min e é um dos mais utilizados na técnica de PET para obtenção de imagens. Na imagem, a análise foi prescrita para verificar demência.[26,33]

Por questões econômicas (custos dos radioisótopos/radiofármacos, equipamentos de imagem, proteção radiológica, etc.), as imagens por SPECT, utilizando emissores de radiação γ, são realizados em maior número. O principal radioisótopo utilizado para esses fins é o tecnécio-99m, o qual forma complexos com diversos tipos de moléculas quelantes. Esses radiocomplexos permitem a obtenção de imagens de diversos órgãos, tais como: fígado,

coração, rins, cérebro, ossos, entre outros.[30,34]

Figura 9 - Técnicas para diagnósticos de doenças utilizando 9 a) SPECT e b) PET.



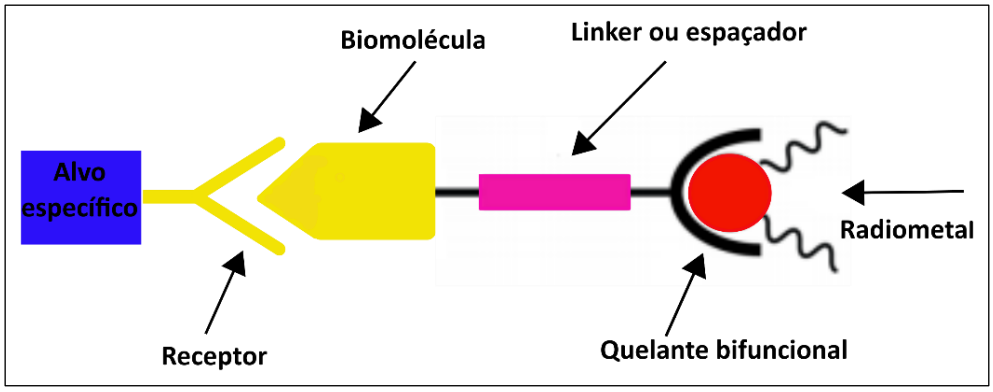
Adaptado de: RAMOGIDA, C. F.; ORVIG, C. *Chemical Communications* 2013, *49* (42), 4720.

Existem fatores importantes, além do tipo de radiação, para a escolha de um radiofármaco. Dentre eles, destacam-se: a especificidade por um órgão, a forma de produção e logística, o custo, a baixa toxicidade, o tempo de meia-vida do radionuclídeo apropriado para a realização do exame e, por fim, um processo de eliminação biológica eficiente.[30] Essas características são importantes para que o exame seja feito nas melhores condições possíveis.

A classificação dos radiofármacos utilizados para diagnóstico são duas: os radiofármacos de perfusão (ou 1ª geração) que não possuem especificidade, são transportados no sangue e atingem o órgão alvo na proporção do fluxo sanguíneo e são distribuídos de acordo com o seu tamanho e carga da molécula;[35] e os radiofármacos específicos (ou 2ª geração), que possuem especificidade e são direcionados por moléculas biologicamente ativas, como anticorpos e peptídeos, que se ligam a receptores celulares ou são transportados para o interior de determinadas células.[35]

Uma estratégia para obter um bom radiofármaco inorgânico com uma maior especificidade é a utilização de um quelato bifuncional (BFC, do inglês, *bifunctional chelate*). O BFC é um ligante que possui dupla função de se ligar a um radiometal e conter um sítio para derivatização; ou seja, um sítio de ligação que pode sofrer uma reação química e incorporar-

se a uma biomolécula ou vetor direcionador para um alvo específico. Em geral, um radiofármaco com um quelante bifuncional contem quatro componentes (Esquema 2): i) vetor de direção ou biomolécula (proteína, açúcar, anticorpo, etc.); ii) radiometal (emissão de radiação para gerar imagem ou efeito terapêutico); iii) quelato (um ligante com sítios de ligação necessário para coordenar-se ao radiometal); e iv) *linker* ou espaçador (conecta o quelato à biomolécula). O vetor de direção ou biomolécula possui forte afinidade de ligação com os receptores de superfície do local de interesse; esse local pode ser um tumor, órgão, tecido, etc.[26,36] A ligação entre quelato/espaçador ou quelato/biomolécula é realizada por meio de uma ligação covalente e é chamada de bioconjugação.[37] Essas reações podem ocorrer em grupos funcionais como ácidos carboxílicos, aminas, ésteres, etc.



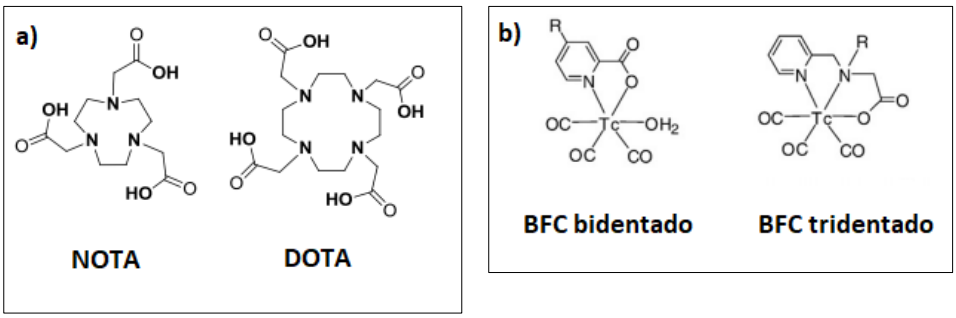
Esquema 2 - Esquema da especificidade de um quelante bifuncional por um alvo específico.

Adaptado de: https://www.ideals.illinois.edu/bitstream/handle/2142/98332/WHITTENBERG-DISSERTATION-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Um bom BFC é aquele que é capaz de formar um quelato-complexo estável com alta estabilidade termodinâmica e inércia cinética.[37] Uma propriedade importante que o BFC deve apresentar é estabilidade em condições fisiológicas e, portanto, não deve interagir com o meio biológico.[34] A carga efetiva do complexo também deve ser levada em consideração, uma vez que pode influenciar na biodistribuição do radiofármaco e, portanto, no comportamento farmacocinético geral do mesmo.[26] Na Figura 10, são ilustrados alguns exemplos. Na figura 10a, são apresentados os BFCs macrociclos já conhecidos, NOTA e DOTA, e, na figura 10b, tem-se os exemplos de quelantes bifuncionais com denticidade bidentada e tridentada

coordenados ao radiometal tecnécio-99m. Há diversos exemplos na literatura de radiometais coordenados a ligantes com características de quelantes bifuncionais.[37] Nesse trabalho será discutido a aplicação desse tipo de ligante para o tecnécio-99m.

Figura 10 - a) Exemplos dos quelante bifuncional macrociclos utilizados na preparação de radiofármacos, e b) exemplos de quelantes bifuncional com denticidade bidentado e tridentado.[34]



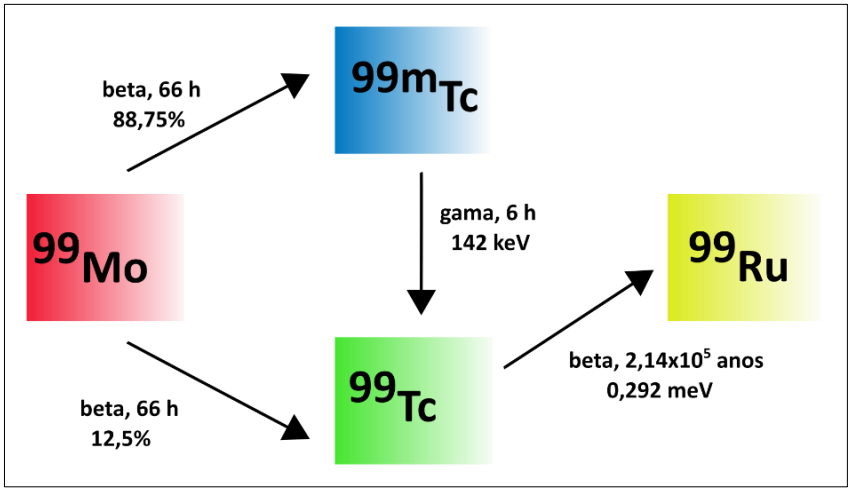
1.4 Tecnécio e Rênio

O elemento tecnécio, cujo nome é derivado da palavra grega "*technikos*" (artificial) é um metal de transição que pertence ao grupo 7, e encontra-se entre o manganês e o rênio, no segundo período dos elementos de transição. Seu estado de oxidação pode variar entre -1 e +7, e sua configuração eletrônica é $[Kr]4d^5 5s^2$. O tecnécio foi o primeiro elemento artificial a ser descoberto, em 1937, na Itália, pelos cientistas Carlo Perrier e Emilio Segrè. Eles investigavam o molibdênio que havia sido exposto a radiação de alta energia, encontraram o tecnécio presente e o isolaram. O tecnécio desempenha um papel importante nos cuidados da saúde moderna: isso porque quase 80% dos radiofármacos atualmente disponíveis na medicina de diagnóstico são compostos por esse radionuclídeo, que possui propriedades nucleares próximas às ideais, fazendo do ^{99m}Tc (tecnécio-99 metaestável) o radioisótopo mais utilizado na medicina nuclear.[37]

Devido à ausência de isótopos estáveis, a sua química é muito menos explorada que a do Mn e do Re.[34] O Tc possui 25 isótopos conhecidos, variando de ^{86}Tc a ^{118}Tc, todos com ampla diferença nos tempos de meia-vida.[38] Dentre esses, o isótopo radioativo ^{99m}Tc é extensivamente utilizado na medicina. Ele possui propriedades apropriadas para geração de

imagens (SPECT), tais como: i) o tempo de meia vida de 6 h, que fornece tempo suficiente administração e biodistribuição, sem ter que usar quantidades excessivas de radiofármaco, e ii) energia de emissão de raios γ de 142 keV, que é suficientemente energética para penetrar tecidos biológicos, permitindo a visualização dos órgãos internos por câmeras de cintilação, sem expor os pacientes a altos níveis de radiação[38]

O desenvolvimento dos geradores de $^{99}Mo/^{99m}Tc$ no final dos anos 50, tornou o tecnécio-99m amplamente disponível para o uso na medicina. Para a obtenção de ^{99m}Tc, há dependência da disponibilidade do ^{99}Mo (que é produto natural da fissão do ^{235}U), conforme esboço no Esquema 3. No processo de transmutação, o ^{99}Mo sofre decaimento β, gerando o ^{99m}Tc (88,75 %) e, em escala menor, o isótopo ^{99}Tc (12,5 %). Após 6 horas, metade dos átomos de ^{99m}Tc terão decaído para ^{99}Tc com a emissão de raios γ. O isótopo ^{99}Tc possui tempo de meia-vida de $2{,}14 \times 10^5$ anos e emite radiação β de 0,292 meV, transmutando-se a ^{99}Ru.[39,34]



Esquema 3 - Decomposição do molibdênio-99 a Tecnécio-99m.[34]

Adaptado de: ABRAM, U.; ALBERTO, R. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2006, *17* (8),1486–1500.

Os geradores $^{99}Mo/^{99m}Tc$ comercialmente disponíveis funcionam com uma coluna de cromatografia de alumina, que tem uma forte afinidade pelos íons de MoO_4^{2-}, enquanto o produto do decaimento nuclear, ^{99m}Tc-pertecnetato ($^{99m}TcO_4^-$), pode ser prontamente eluído por soluções salinas. Tal procedimento fornece um suprimento quase contínuo do radionuclídeo pai (^{99}Mo) para a obtenção do radionuclídeo filho (^{99m}Tc). Esse sistema permite o fornecimento diário de ^{99m}Tc nas clínicas de medicina nuclear, sendo que a quantidade

diminui a cada dia em função do decaimento radioativo do ^{99}Mo. Deste modo, é procedimento padrão as clínicas receberem um novo gerador a cada semana. No Esquema 4 encontra-se ilustrado um gerador $^{99}Mo/^{99m}Tc$.[34]

Esquema 4 - Gerador de $^{99}Mo/^{99m}Tc$ e obtenção de tecnécio-99m e a preparação na química radiofarmacêutica.

Adaptado de: ABRAM, U.; ALBERTO, R. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2006, *17* (8),1486–1500 e https://pt.slideshare.net/williamjhoneferreiradias/radiologiarevisoaula1-130805121215phpapp01

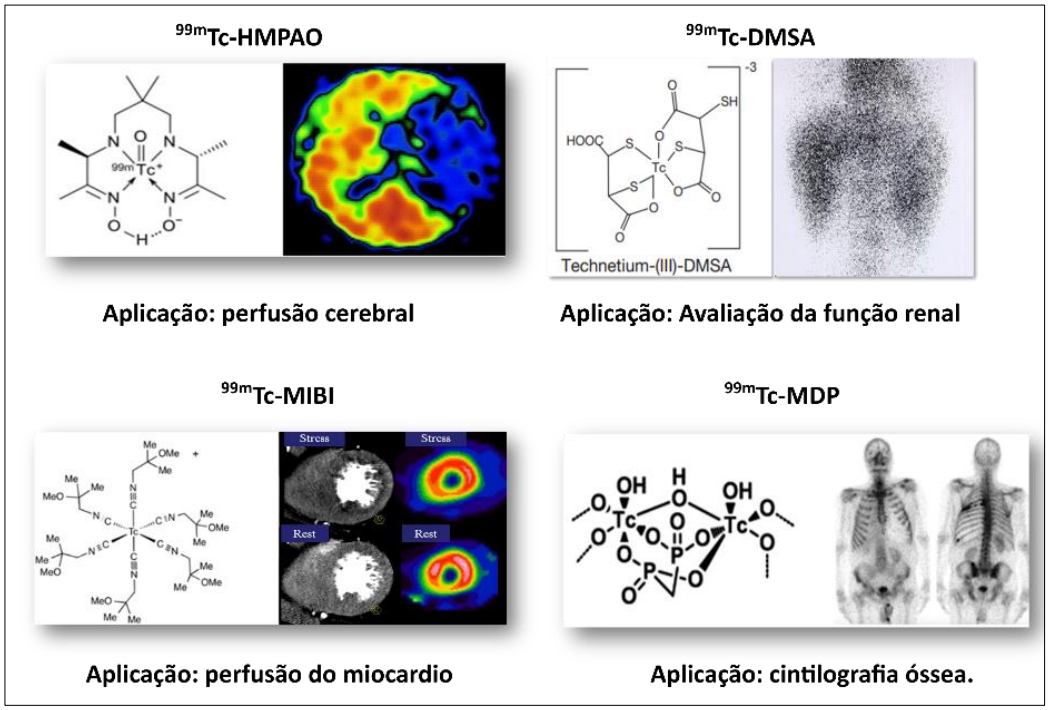
Por fim, para que o radiofármaco seja obtido com a estrutura desejada, a solução de $Na^{99m}TcO_4$ é adicionada a um frasco contendo o ligante e/ou quelante bifuncional e um agente redutor e estabilizador, "kit instantâneo" (Esquema 4). Após passar pelo controle de qualidade da radiomarcação, o radiofármaco pode ser administrado no paciente que passará pelo exame de diagnóstico.

Os radiofármacos que empregam o tecnécio-99m apresentam diferentes estados de oxidação do radiometal. Na Figura 11 há diferentes estruturas de complexos de ^{99m}Tc utilizados como agentes de diagnóstico por imagem: o ^{99m}Tc-MDP (MDP = metilenodifosfato), ^{99m}Tc-HMPAO (HMPAO = hexametil propilenoamina oxima), o ^{99m}Tc-MIBI (MIBI = metoxiisobutilisonitrila) e, por fim, o ^{99m}Tc-DMSA (DMSA = ácido dimercaptosuccínico).

Atualmente, muitos dos radiofármacos em desenvolvimento~~s~~ utilizam o $^{99m}Tc(I)$.[39, 40] A química desses compostos é baseada no fragmento cineticamente inerte, *fac*-$\{^{99m}Tc(CO)_3\}^+$, com configuração eletrônica d^6 e baixo spin, o que evita a perda de ligantes dissociativos ou substituições associativas por ligantes concorrentes em sistemas biológicos.[34] O

$[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Br$ é solúvel em água, pode ser facilmente preparado a partir de ^{99m}Tc-pertecnetato sob condições redutoras e os ligantes H_2O são facilmente substituídos por vários tipos de ligantes. O complexo $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ é excepcionalmente estável e não se decompõe sob condições muito alcalinas ou muito ácidas.[41]

Figura 11 - Estruturas de radiofármacos comerciais utilizados na química de diagnóstico.[34, 32, 42, 43, 44, 45]



Para fins sintéticos, o rênio é normalmente utilizado como um substituto do ^{99m}Tc. O Re é um congênere não radioativo do tecnécio, o que possibilita a síntese de complexos isoestruturais ao mesmo. O Re é um metal da terceira série de transição, possui número atômico 75 e estrutura eletrônica $[Xe]4f^{14}5d^5 6s^2$. Seu estado de oxidação pode variar entre +7 e -1. O Re foi o último elemento não radioativo a ser descoberto.

O fenômeno de contração lantanídica garante que os complexos de rênio e tecnécio sejam muito semelhantes em termos de suas características físicas (tamanho, lipofilicidade, etc.). No entanto, os complexos de Re são mais difíceis de sofrer processos redox e são cineticamente mais inertes (demoram mais para reagir e/ou para decompor) do que seus análogos de tecnécio.[41,46] O rênio também é utilizado na medicina nuclear, e os radionuclídeos ^{186}Re e ^{188}Re são aplicados em radionuclídeoterapia.[47]

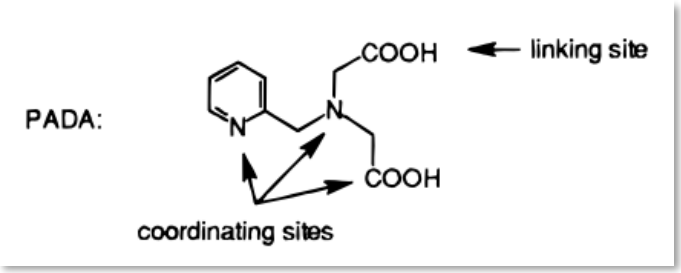
Em diagnóstico, a química de coordenação, com compostos “frios” (compostos não radioativos) é um fator importante no desenvolvimento de radiofármacos. Sínteses prévias, como com os complexos “frio” de rênio, permitem o entendimento da química estrutural e biológica dos complexos “quentes” (compostos radioativos) de tecnécio. O uso de fragmentos de complexos como os de oxorrênio (V), Re=O, e do tricarbonilrênio(I), $\{Re(CO)_3\}^+$, tem se mostrado relevante no importante desenvolvimento de candidatos a radiofármacos.[41]

1.5 Motivações e critérios para a escolha do ligante

Quando um novo complexo é sintetizado, é esperado que o metal esteja fortemente coordenado ao ligante para formar complexos estáveis. Dessa forma, alguns fatores como os sítios de ligação e denticidade do ligante são importantes para a estabilidade dos radiocomplexos.[48,49] A diversidade dos tipos de ligantes possibilita a formação de complexos com diferentes tamanhos, cargas e hidrofilicidade. Tais características permitem diversos estudos; por exemplo, a correlação entre a estrutura-atividade com as propriedades físico-químicas de um radiocomplexo e a influência na biodistribuição do radiofármaco.[41]

Estudos indicam que ligantes que possuem ao menos um grupo amina e um grupo funcional capaz de ligar à biomoléculas, contribuem para uma maior estabilidade e funcionalidade para o radiocomplexo.[49] Um exemplo de ligante estável e eficiente com função quelante bifuncional a ser considerado é a picolinamina-ácido *N,N*-diacético (PADA), que fornece três locais de coordenação e um grupo para a ligação covalente a uma biomolécula[48] (Figura 12).

Figura 12 - Estruturas do ligante tridentado PADA.[48]

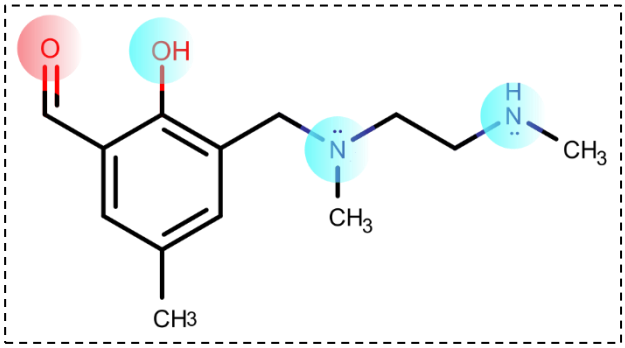


A denticidade do ligante é outro fator crítico a se considerar, isso porque o efeito quelato faz com que os complexos polidentados sejam termodinamicamente mais estáveis

que os seus correspondentes monodentados. A substituição de um ligante monodentado por um ligante polidentado é geralmente mais lenta.[50] Estudos também demostram que complexos tridentados apresentam uma farmacocinética mais favorável.[49]

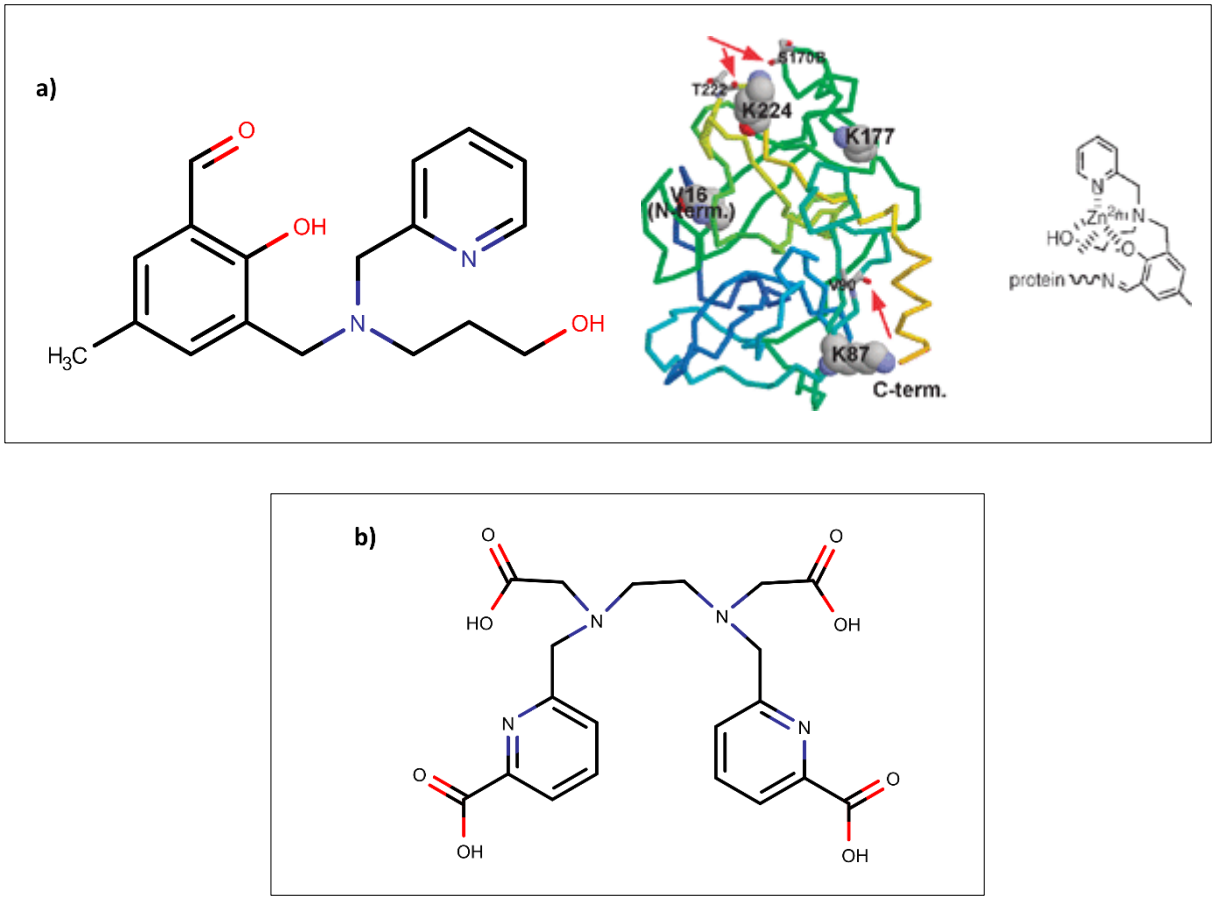
Considerando os desafios nesta área de pesquisa, se propôs nesse trabalho de mestrado a síntese do ligante inédito 2-hidroxi-5-metil-3-((metil(2-(metilamino)etil)amino) benzaldeído (HL) e o seu cloridrato (HL·HCl) correspondente, com os potenciais sítios de coordenação e o sítio para bioconjungação, conforme estrutura na Figura 13. Com o novo ligante HL e seu cloridrato, foram realizadas as sínteses dos complexos de rênio (I) e tecnécio-99m (I), utilizando os complexos precursores $[M(OH_2)_3(CO)_3]X$ (M= Re(I) e $^{99m}Tc(I)$ e X = Br ou Cl).

Figura 13 - ligante HL e seus sítios de coordenação (em azul) e sítio para bioconjugação (em vermelho).



Na literatura, compostos similares são utilizados na química bioinorgânica. Esses compostos compartilham do fragmento aromático ou do grupo diamino do ligante HL preparado durante este trabalho. Na Figura 14a, o quelante tridentado derivado do 3-clorometil-5-metilsalicilaldeído, coordenado ao metal Zn(II), é utilizado na bioconjugação com aminoácidos GlyGly.[51] Este é um exemplo de ligante tridentado em associação com um grupo funcional que realiza bioconjugação. Na Figura 14b, o ligante H_4octapa é utilizado em radiofármacos de ^{111}In.[52] Este é um exemplo de utilização do fragmento diamino como quelante. O nosso grupo de pesquisa GQIEB (Grupo de Química Inorgânica Estrutural e Biológica – IQSC/USP) também utiliza, atualmente, desses precursores, com os quais alcançamos resultados promissores em testes biológicos.

Figura 14 - Exemplo de ligantes na literatura que utilizam o mesmo fragmento aromático utilizado na síntese do ligante HL.



2 OBJETIVOS

Objetivos Gerais

Síntese e caracterização de complexos metálicos hexacoordenados contendo o ligante inédito 2-hidroxi-5-metil-3-((metil(2-(metilamino)etil)amino) benzaldeído (HL) e o precursor $[M(OH_2)_3(CO)_3]^+$(M = ^{99m}Tc(I) e Re(I)), e a realização da marcação radioquímica.

Objetivos Específicos

Seção I – Síntese e caracterização do ligante HL e do complexo de rênio.

1. Sintetizar o ligante HL a partir do composto 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido e da *N, N'*- (dimetil)etilenodiamina;

2. Sintetizar o complexo de rênio (I) com o novo ligante HL preparado previamente;

3. Caracterizar os compostos obtidos pelos métodos de: análise elementar, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, espectroscopia de RMN de ^{1}H e ^{13}C, espectrometria de massas, condutimetria, espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e difração de raios X de monocristal;

4. Realizar a simulação computacional e para o estudo da estrutura eletrônica dos compostos de coordenação;

Seção II - Marcação com o tecnécio-99m.

5. Realizar a radiomarcação do complexo com o ^{99m}Tc e determinar a sua pureza radioquímica.

6. Caracterizar os compostos obtidos por cromatografia liquida de alta eficiência (CLAE), eletroforese e coeficiente de partição para analisar a lipofilicidade do radiocomplexo;

SEÇÃO I

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiais

Na tabela 3 são apresentados os reagentes utilizados no desenvolvimento da etapa de síntese do ligante HL e do complexo de rênio.

Tabela 3 - Produtos químicos utilizados na síntese do ligante e complexo de Re.

Reagente	Teor	Procedência
2-hidroxi-3-clorometil -5metilbenzaldeído	-	Síntese descrita na tese Dra. Viviana Prado.[53]
Acetato de etila	99,50%	Synth
Acetonitrila	99,90%	J.T Baker
Bicarbonato de sódio	99-100,5%	Quemis
Boc	99,00%	Sigma Aldrich
Bromopentacarbonilrenio(I)	98%	Sigma-Aldrich
Carbonato de sódio	99,50%	Synth
Cloreto de acila	99,00%	Sigma Aldrich
Cloreto de sódio	99,00%	Synth
Clorofórmio deuterado	98,80%	Synth
Dimetilsulfóxido-D6	99,90%	Cambridge Isotope Lab
Éter Etílico	97%-98%	Chemis
Hexano	98,50%	Chemis
Metanol	99,80%	Synth
N, N'-(dimetil)etilenodiamina	-	Fluka AG
Peneira molecular 4A	-	Fluka Analytical
Sulfato de magnésio	98,0-102,0%	Synth
trietilamina	$\geq$ 99%	Sigma-Aldrich

3.2 Instrumentação e Caracterização dos materiais

Os espectros de absorção na região **IV** (FTIR) foram obtidos em um espectrofotômetro Shimadzu IRPrestige-21, com resolução de 4 cm^{-1}, com uma janela espectral de 400 a 4000 cm^{-1}, no laboratório GQIEB. As amostras foram preparadas em pastilhas de KBr na proporção aproximada de um miligrama do composto para cem miligramas de KBr. Os espectros foram plotados no programa Origin 8.6.

Os espectros de **RMN** dos compostos foram adquiridos nos equipamentos da marca Agilent Tecnologies, modelo 500/54 Premium Shielded, 500 MHz e modelo 400/54 Premium Shielded, 400 MHz para as análises de ^{1}H, ^{13}C, HSQC, DEPT-135 e COSY na central analítica do IQSC-USP. Também foram utilizados os equipamentos da marca Bruker Avance III 400MHz e Bruker Avance III 500MHz na central analítica do IQM-Unicamp. Os espectros de RMN ^{1}H e ^{13}C foram internamente referenciados em relação ao TMS. Utilizou-se o programa MestreNova para a apresentação dos espectros. Os solventes utilizados foram clorofórmio e dimetilsulfóxido deuterados.

Os espectros de absorção eletrônica **UV-Vis** foram obtidos em um espectrofotômetro de feixe duplo Shimadzu, modelo UV-1800, no laboratório de pesquisa GQIEB. Utilizou-se nos experimentos cubetas de quartzo de 10 mm de caminho ótico e capacidade de 3 mL. O espectro foi plotado no programa Origin 8.6.

A medição de **condutimetria** do complexo foi realizada em MeOH, no condutivímetro Orion 3 Star Series no nosso laboratório de pesquisa GQIEB. Utilizou-se uma massa de 2,52 mg em 5 mL de MeOH com concentração $1{,}0 \times 10^{-3}$ mol/L.

Os dados de **difração de raios X** foram coletados em um difratômetro Bruker Apex II Duo, equipado com sistema Oxford de baixa temperatura e duas microfontes disponíveis (Cu e Mo) da central analítica do IQSC-USP. As soluções e refinamentos das estruturas foram realizados utilizando-se o sistema integrado de programas para *Windows* para solução, refinamento e análise de dados da difração de raios X em monocristal, *WinGX.* Os programas SHELXS 97 e SHELXL 2014 foram utilizados para as soluções e refinamentos, respectivamente.

As análises por espectrometria de massas com ionização em modo positivo (ESI-MS) foram medidas com equipamento Synapt Waters, modelo Xevo - ESI/Q-TOF da central analítica do IQM-Unicamp. Utilizou-se uma massa de 0,5 mg em dissolvido em MeOH.

3.3 Cálculos Computacionais

Todos os cálculos realizados empregaram o pacote de programas Orca (v. 4.1.1).[54,55] Para o cômputo da relaxação das estruturas, empregou-se o nível de teoria PBE/def2-TZVPP,[56,57] fazendo-se uso da correção de forças de dispersão de Grimme (D3BJ),[58,59] bem

como utilizando como função auxiliar de ajuste de forças de Coulomb def2/J[60] e resolução de identidade com método de integração em cadeia (RIJK).[61,62] Para assegurar um critério de convergência mais rigoroso, bem como reduzir o ruído numérico de cada etapa de cálculo SCF (*self-consistent field*, etapa de cálculo de campo auto-consistente que permite iterar várias vezes um determinado valor de densidade eletrônica até convergência deste), empregou-se um corte de 10^{-9} Eh (1 Eh = 27,211 eV) e uma grade de integração Lebedev de 590 pontos (Lebedev, 1992) para o descritor angular do funcional, bem como empregou-se o método de Gauss-Chebyshev[63] para integração do descritor radial.

Após a relaxação, prosseguiu-se para o cálculo de hessianas, o qual permitiu confirmar a localização de um mínimo global pela inexistência de frequência imaginária. Já as propriedades espectrométricas foram calculadas em diferentes níveis de teoria a título de comparação e melhor compreensão da resposta de cada teoria quando comparado aos valores experimentais. O espectro IV foi obtido ao mesmo nível de teoria empregado na etapa de relaxação; já para o espectro de UV-Vis, empregou-se métodos tempo-dependentes de DFT (TDDFT)[64] ao nível B2PLYP-D3/DKH-TZVP[58], em que se fez uso de correções relativísticas empregando a aproximação de Douglas-Kroll-Hess.[65] Empregou-se como bases auxiliares de ajuste de forças de Coulomb a função de base relativística segmentada SARC[66] e a função de base def2-TZVPP/C com bases auxiliares tipo def2-QZVPP/C para métodos correlacionais,[67] o número de estados de transição eletrônica calculados foi determinado em 40 raízes. Por fim, as medidas dos valores de deslocamento químico (δ_{ppm}) de próton e carbono, obtidos no cálculo de tensores de blindagem magnética, empregou o método GIAO,[68,69,70] com tolerância de convergência a 10^{-10} Eh em diferentes níveis de teoria: PBE/def2-TZVPP,[71,57] PBE0/def2-QZVPP,[56,57] M06L/def2-TZVPP[72,57] e M06/def2-TZVPP,[73,57] todos utilizando as mesmas funções de bases e auxiliares empregados nos métodos TDDFT. Contudo, os valores mais próximos e coerentes com os dados experimentais foram os valores realizado com o nível de teoria M06L e são esses os valores apresentados nesse trabalho. Todas as medidas de δ_{ppm} assumiu a estrutura do TMS como referência.

Todos os resultados espectrométricos que permitem elaboração de gráficos e perfis espectrais foram plotados empregando ferramentas desenvolvidas em linguagem Python3.7 (van Rossum, 1995.) empregando a biblioteca MatPlotLib,[74] sendo os valores teóricos corrigidos mediante emprego de escalonamento relativo quando necessário (o

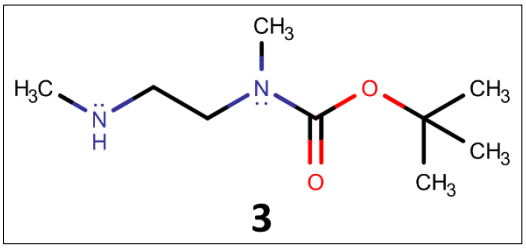
escalonamento relativo empregado no presente trabalho obedeceu a seguinte função: f(x) = x*(1-x*[1-fator]/1000); em que fator corresponde ao valor que melhor ajusta o perfil do espectro calculado ao espectro experimental) – para fins de comparação todos os valores medidos foram normalizados (a normalização empregada no presente trabalho obedeceu a seguinte função: f(x) = [x-min{f(x)}]/[max{f(x)}- min{f(x)}]). As espécies empregadas no presente trabalho foram nomeadas como ligante HL, cloridrato (HL·HCl), complexo de Re(I), [(ReBr(CO)$_3$(HL)], e complexo de ^{99m}Tc, [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)]; as figuras geradas para representar as estruturas estudadas foram montadas empregando o programa PyMOL[75] e no programa de edição de imagem Inkscape.

3.4 Métodos de síntese

3.4.1 Síntese do ligante HL

Foram realizadas várias tentativas de síntese com o intuído de obter o ligante em apenas uma etapa, mas todos os produtos brutos eram de difícil purificação; portanto, a síntese do ligante foi realizada em 3 etapas. Primeiramente foram obtidos os compostos **3** e **5**, sendo estes os produtos brutos da etapa 1 e etapa 2, respectivamente. Na etapa 3 foram obtidos o ligante 2-hidroxi-5-metil-3-((metil(2-(metilamino)etil)amino) benzaldeido (**7**), proposto neste trabalho, e o seu sal correspondente (**6**). As numerações das moléculas podem ser visualizadas abaixo em métodos e acompanhadas nos mecanismos a seguir no texto,

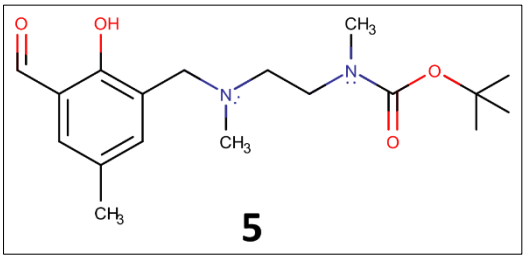
Etapa 1: Monoproteção da *N, N'*-(dimetil)etilenodiamina com o Boc e obtenção do composto (3)



1 equiv. (1,310 g - 6,0 mmol) do precursor Boc dissolvido em 8,88 mL de diclorometano (DCM) foi adicionado a uma solução contendo 3,3 equiv. (1,745 g - 20,0 mmol) do precursor *N,N'*-(dimetil)etilenodiamino em 21,50 mL DCM a 0° C e mantido sob agitação e atmosfera inerte (N_2) por 16 h. Após este período, o solvente foi removido, e o produto sólido redissolvido em acetato de etila e lavado com solução saturada de NaCl na proporção de 1:1. Em seguida, o produto foi seco em $MgSO_4$ anidro, filtrado e

rotoevaporado. Obteve-se, ao fim, 1,064 g (5,6 mmol) de um óleo transparente com 94,15% de rendimento. **Fórmula:** $C_9H_{20}N_2O_2$ **MM** g/mol: 188,2673. **^{1}H-RMN (500 MHz, $CDCl_3$)** δ[ppm]: 3,33 (m, 2H); 2,87 (s, 3H); 2,72 (^3J= 6,6 Hz, t, 2H); 2,44 (s, 3H) e 1,45 (s, 15,64H).

Etapa 2: Substituição Nucleofílica Bimolecular (S_N2) e obtenção do composto (5)

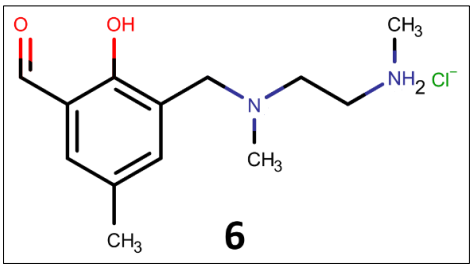


Foi preparada uma solução com 0,830 g (4,5 mmol) do precursor 2-hidroxi-3-clorometil-5-etilbenzaldeido em 10,0 mL de DCM. Essa solução foi adicionada gota-a-gota a 0°C em 1,064 g (5,6 mmol) da *N,N'*-(dimetil)etilenodiamina monoprotegida **(3)** e 0,715 g (6,8 mmol) de Na_2CO_3 em 30,0 mL de acetonitrila (MeCN). A mistura foi mantida sob agitação por 18 horas em atmosfera inerte. Após esse período, o produto foi extraído duas vezes em acetato de etila e lavado com solução saturada de NaCl com volume equivalente com o material de síntese. Na sequência, o composto foi seco em $MgSO_4$ anidro, filtrado, e o solvente foi removido. O produto foi redissolvido em DCM e rotoevaporado novamente com o intuito de remover todo o acetato de etila. Obteve-se 1,412 g (4,2 mmol) de óleo amarelado com rendimento de 93,3%. **Fórmula:** $C_{18}H_{28}N_2O_4$ **MM** g/mol: 336,4259. **^{1}H-RMN (500 MHz, $CDCl_3$)** δ[ppm]: 10,32 (m, 1H); 7,41 (s, 1H); 7,10 (m, 1H); 3,71 (s, 2H); 3,45 (m, 2,40); 2,87 (m, 4,50H); 2,62 (s, 3H); 2,37 (s, 3H); 2,27 (s, 3H) e 1,45 (s, 12,5H).

Etapa 3 a) - Ácido Clorídrico Anidro (em éter)

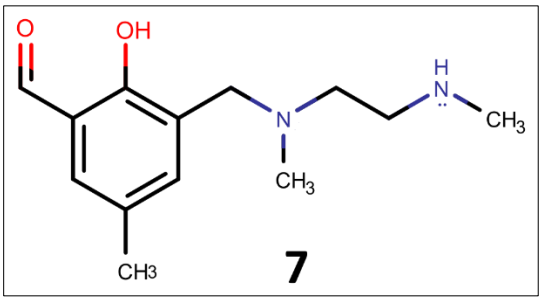
Em um frasco de vidro com tampa, foram adicionados 55,40 mL de éter dietilico e 400 mmol (16,20 mL) de metanol. Depois, em uma proveta, foi medido 400 mmol do cloreto de acila (28,42 mL). Com uma seringa, adicionou-se lentamente a 0° grau o cloreto de acila ao frasco. Após a adição, o frasco foi devidamente fechado e selado com parafilme.

Etapa 3 - b) - Desproteção da *N, N'*-(dimetil)etilenodiamina do Ligante e Obtenção do HL·HCl (6)



O produto da etapa 2 **(5)** (1,412 g – 4,2 mmol) foi dissolvido em 12 mL de DCM e, a este, foi adicionado, gota-a-gota, 10 mL de HCl anidro em éter a 0° C. A mistura foi mantida sob agitação constante por 4 horas. Após esse período, o solvente foi removido. O sal resultante foi dissolvido em 2 mL de DCM e precipitado com adição gota-a-gota de éter em excesso. Obteve-se 1,030 g (3,8 mmol) do cloridrato de cor bege claro com rendimento de 90,5%. **Fórmula:** $C_{13}H_{21}ClN_2O_2$ **MM** g/mol: 272,7710. **IV (pastilha de KBr)** ν [cm^{-1}]: 3375, 3209, 2962, 1651, 2679, 2430, 1650, 1449, 1270 e 1170. **^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$)** δ[ppm]: 10,02 (s, 1H), 7,70 (d, ^4J= 1,6 Hz, 1H), 7,68 (d, ^4J= 1,6 Hz, 1H), 4,30 (s, 2H), 3,39 (s, 4H), 2,20 (s, 3H), 2,71 (s, 3H), 2.59 (s, 3H). **^{13}C-RMN (400 MHz, $CDCl_3$)** δ[ppm]: 196,96, 157,38; 141,18; 135,26; 129,72; 121,68; 118,63; 55,21; 53,38; 44,19; 43,12; 32,97 e 20,12. **ESI-MS (+):** Massa exata total (teórica): 272,1291 *m/z*. Massa exata (teórica): $[M - Cl]^+$ = 237,1603 *m/z*. Massa acurada (experimental): $[M - Cl]^+$ = 237,1600 *m/z*.

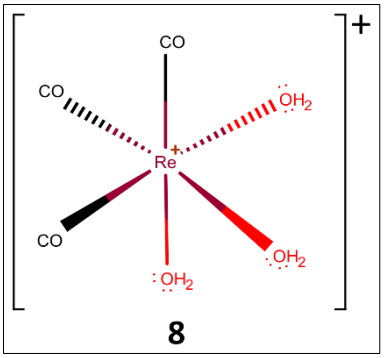
Etapa 3 c) Neutralização e obtenção do ligante HL (7)



Nesta etapa, 1,030 g (3,8 mmol) do cloridrato **(6)** foi dissolvido em metanol, neutralizado com $NaHCO_3$ e extraído em DCM na proporção 1:1. A fase orgânica foi seca com $MgSO_4$ anidro, filtrado, rotoevaporado e seco sob pressão reduzida. Obteve-se 0,803 g (3,4 mmol) um óleo marrom viscoso com rendimento de 89,5%. **Fórmula:** $C_{13}H_{20}N_2O_2$. **MM** g/mol: 236,3101. **IV (pastilha de KBr)** ν [cm^{-1}]: 3421, 3226, 2941, 2845, 2789, 1651, 1458, 1228, 1153. **^{1}H-RMN (400 MHz, $CDCl_3$)** δ[ppm]: 10,26 (s, 1H), 7,40 (d, ^4J= 1,7 Hz, 1H), 7,13 (d, ^4J= 1,7 Hz, 1H), 3,63 (s, 2H), 2,79 (t, ^3J= 6,3 Hz, 2,25H), 2,63 (t, ^3J= 6,3 Hz, 2,25H), 2,45 (s, 3H), 2,29 (s, 3H) e 2,27 (s, 3H). **^{13}C-RMN (400 MHz, $CDCl_3$)** δ[ppm]: 192,49; 159,3; 136,89; 128,91; 128,08; 124,82; 122,34; 58,29; 56,37; 48,96; 42,0; 36,37; e 20,27. **UV-Vis:** λ (nm) 339; 257; 218.

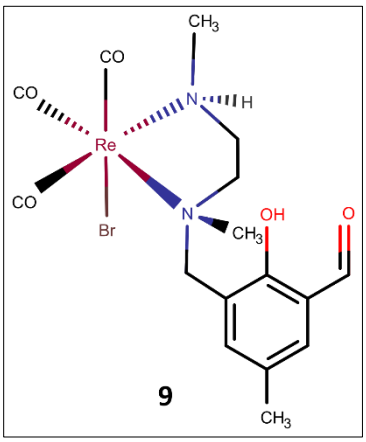
3.4.2 Síntese complexo de rênio (I)

Obtenção do complexo precursor de $[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$:



Em um balão de 50 mL foi adicionado 1g (2,50 mmol) do complexo neutro octaédrico, $[Re(CO)_5Br]$, obtido comercialmente e 10 mL de H_2O destilada. O balão foi tampado e colocado em um reator de micro-ondas (Monowave 300) em 100 Watts, a 180 graus por 10 minutos. Após esse tempo, o balão foi retirado do reator e foi agitado com a finalidade de homogeneizar a solução. Esse procedimento foi repetido por mais 2 vezes por mais 10 min cada. Depois a solução foi rotoevaporada e seca sob pressão reduzida. Foi obtido 0,9187 g (2,27 mmol) de um pó cristalino branco com rendimento de 90,9%. **Fórmula:** $C_3H_6BrO_6Re$. **MM** g/mol: 404,1871. **IV (pastilha de KBr)** ν [cm^{-1}]: 3448, 2029, 1944, 1897, 1604, 632. **UV-Vis: λ (nm)** 327; 278; 252; 225.

Obtenção do complexo de rênio:



Em temperatura ambiente e atmosfera inerte, foi adicionado a um balão 1 equiv. (0,2020 g – 0,50 mmol) do sal $[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$, 2 equiv. de base trietilamina (0,1019 g – 1,0 mmol) e 2 mL de MeOH. Em seguida foi adicionado gota-a-gota uma solução contendo 1 equiv. do ligante HL (0,118 g – 0,50 mmol) em 2 mL de MeOH. A solução resultante foi mantida sob agitação constante por 24 h, período no qual a solução passou da coloração amarelo forte para amarelo claro. Ao fim do período, a solução foi rotoevaporada e redissolvida em uma quantidade mínima de MeOH onde se observou a formação de um precipitado branco. O filtrado foi colocado na geladeira e, após 12 h, mais precipitado branco havia se formado; esse sólido foi separado por filtração. Foi obtido 0,1260 g (0,215 mmol) com rendimento de 43%. **Fórmula:** $C_{16}H_{20}BrN_2O_5Re$. **MM** g/mol: 586,4514. **IV (pastilha de KBr)** ν [cm^{-1}]: 3441, 3240, 2971, 2924, 2854, 2021, 1905, 1882, 1647, 1462, 1041. **1H-RMN (400 MHz, CDCl3)** δ[ppm]: 11,37 (s, 1H); 9,87 (s, 1H); 7,42 (d, ^4J= 1,8 Hz, 1H); 7,39 (d, ^4J= 1,8 Hz, 1H); 4,86 (d, ^2J= 13,5Hz, 1H); 4,35 (d, ^2J= 13,5Hz, 1H);

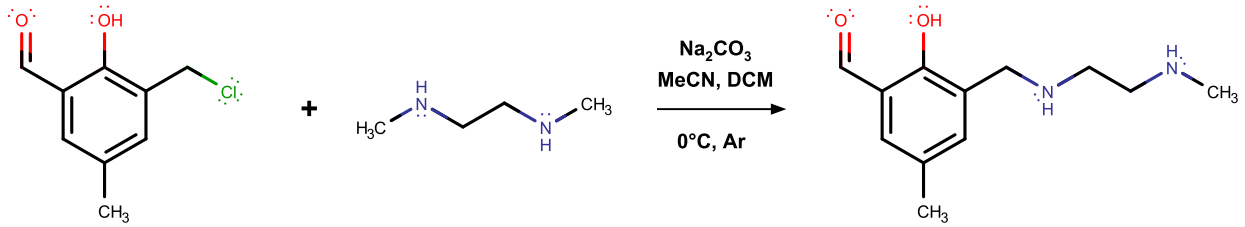
3,57 (m, 1H); 3,47 (td, $^{3}J_{e,f}$ = 3,4 Hz, $^{2}J_{e,e'}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{e,f'}$ = 13,0 Hz, 1H); 2,24 (ddd, $^{2}J_{e',e}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{e',f}$ = 1,4 Hz, $^{3}J_{e',f'}$ = 3,0 Hz, 1H); 3,32 (dtd, $^{2}J_{f,f'}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{f,e}$ = 3,4 Hz, $^{3}J_{f,e'}$ = 1,4 Hz, $^{3}J_{f,K}$ = 3,4 Hz, 1H); 2,85 (qd, $^{2}J_{f',f}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{f',e}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{f',e'}$ = 3,0 Hz, $^{3}J_{f',k}$ = 13,0 Hz, 1H); 2,35 (s, 3H); 3,10 (s, 3H), 3,08 (s, 3H). **^{13}C-RMN (400 MHz, CDCl3)** δ[ppm]: 196,55; 159,05; 142,84; 134,87; 128,97; 120,74; 120,50; 58,76; 57,79; 53,82; 51,59, 44,90; e 20,21. **Condutimetria** (2,52 mg em 5m): 40,11 µS/cm T (°C) = 21,5 em MeOH (carga neutro). **ESI-MS:** Massa exata total (teórica): (^{187}Re) 586,0113 *m/z*. Massa exata (teórica): $[M - Br]^{+}$ = 507,0930 *m/z*. Massa acurada (experimental): $[M - Br]^{+}$ = 507,0923 *m/z*. **UV-Vis: λ (nm)** 351; 256; 226; 234; 214.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ligante

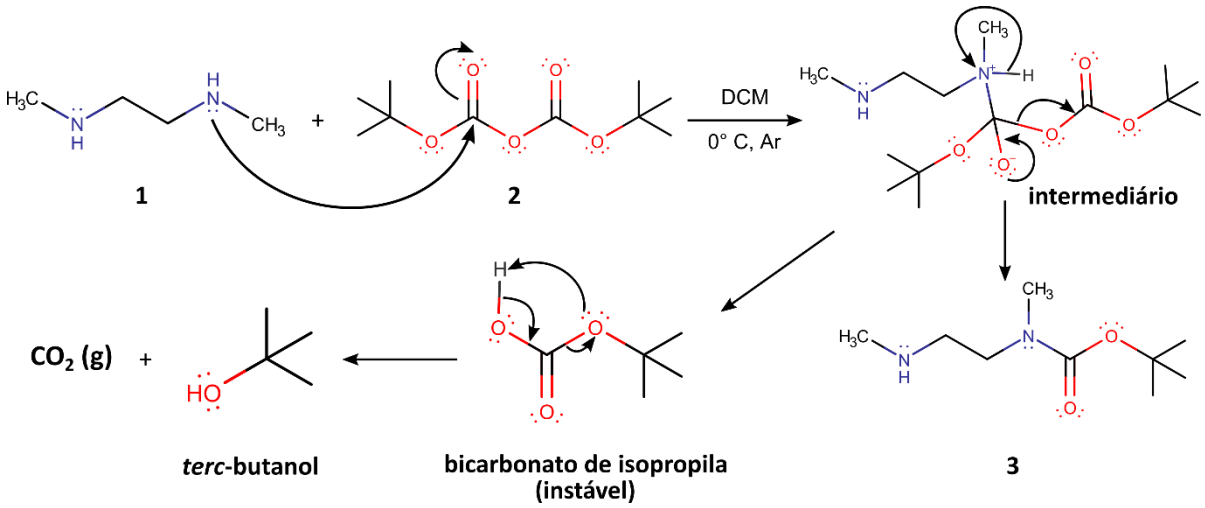
4.1.1 Proposta de reação

A princípio a reação foi idealizada utilizando 1 equiv. do *N,N'*-(dimetil)etilenodiamina, 1 equiv. do composto 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeído e 1,5 equiv. de Na_2CO_3 (Esquema 5). Esse procedimento de síntese foi proposto e descrito no projeto inicial desse trabalho, mas a reação apresentou muitos subprodutos de difícil remoção. Para se chegar à síntese do ligante puro, foram feitas diversas tentativas de reações, tais como: reações modificando a quantidade de *N,N'*-(dimetil)etilenodiamina, reações com excesso de *N,N'*-(dimetil)etilenodiamina e excesso de solvente, reações sem o Na_2CO_3, reações utilizando o Cs_2CO_3 como base, para testar o "efeito césio",[76] entre outras. Vale ressaltar que a síntese do ligante proposto é inédita na literatura e, depois de algumas tentativas, a síntese do ligante foi realizada em três etapas, de acordo com os mecanismos propostos nos esquemas a seguir:



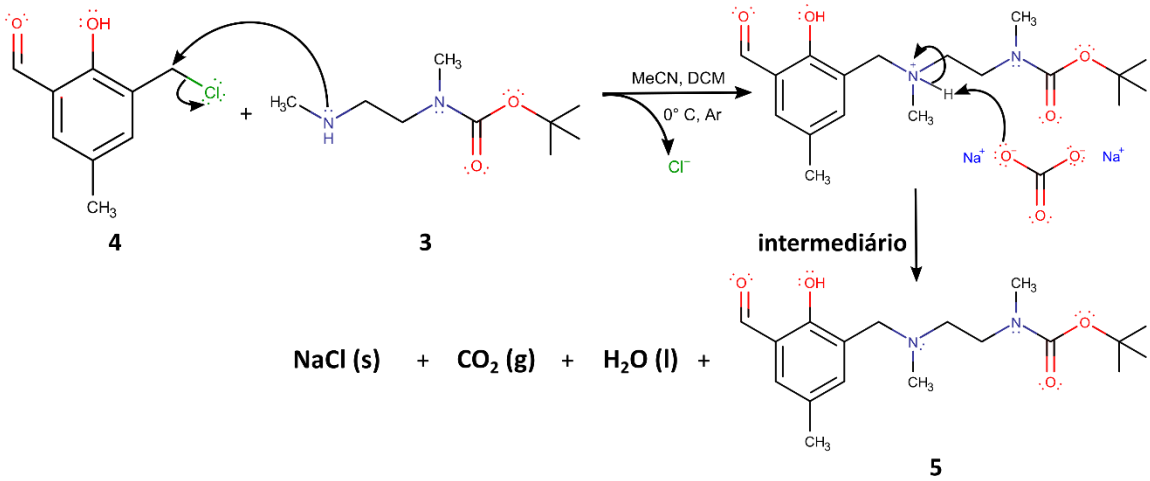
Esquema 5 - Síntese do Ligante em uma única etapa.

Na **primeira etapa** (Esquema 6), a amina monoprotegida **(3),** foi obtida a partir da reação de adição nucleofílica da base *N,N'*-(dimetil)etilenodiamina **(1)** no dicarbonato de di-terc-butila **(2)**, o Boc. O par de elétrons do nitrogênio da amina ataca o grupo carbonila do Boc, levando à formação da amina monoprotegida e a formação do bicarbonato de isopropila. Este último é instável e se decompõem em CO_2(g) e *terc*-butanol. O par de elétrons do nitrogênio protegido se torna menos básico e menos nucleofílico por estar envolvido na ressonância com os pares de elétrons da dupla ligação do grupo carbonila do Boc. Assim, apenas um nitrogênio da molécula 3 fica disponível para a reação S_N2 subsequente.



Esquema 6 - Síntese do ligante 1ª Etapa – monoproteção da N,N'-(dimetil)etilenodiamina.

Na **segunda etapa** da síntese (Esquema 7), após a obtenção da amina monoprotegida **(3)**, foi realizada a reação S_N2, onde o par de elétrons do nitrogênio disponível ataca o carbono ligado ao cloro do 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido **(4)** pela face oposta do eixo de ligação C-Cl. Há também a formação de $NaCl_{(s)}$, $CO_{2(g)}$ e $H_2O_{(l)}$ resultante da reação com Na_2CO_3, utilizado com o objetivo de: a) neutralizar o HCl liberado na reação e b) deslocar o equilíbrio da reação para a formação do produto. A substituição ocorreu conforme previsto e o composto **(5)** pôde ser sintetizado com pureza e rendimento satisfatórios (94,2%).

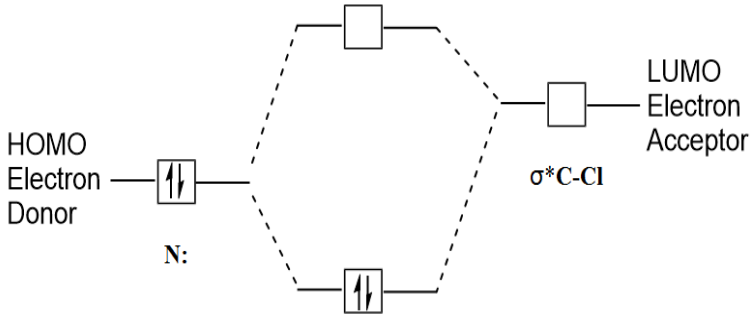


Esquema 7 - Síntese do ligante 2ª Etapa Substituição nucleofílica bimolecular (S_N2).

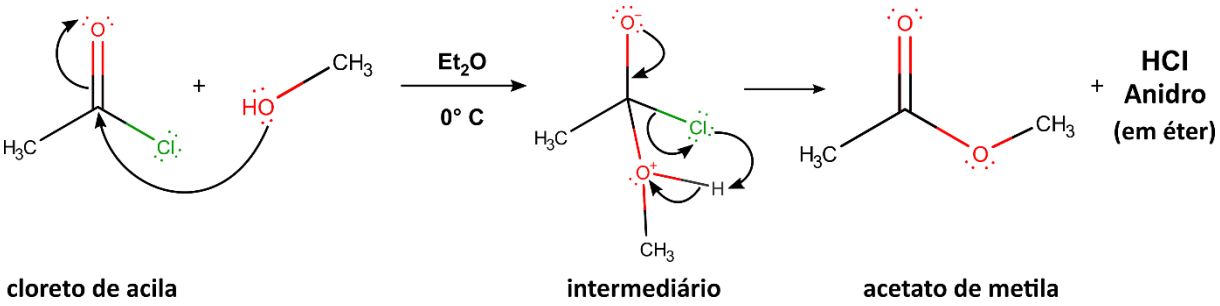
Na Figura 15, é ilustrado um diagrama de orbitais moleculares (OMs) qualitativo para

a reação do tipo S_N2. Essa reação ocorre por meio da doação de densidade eletrônica de um orbital preenchido do nucleófilo, no caso o par de elétrons do nitrogênio (HOMO), para um orbital de fronteira vazio do eletrófilo, o orbital antiligante C-Cl (LUMO).

Figura 15- Diagrama de OM qualitativo do HOMO e LUMO do Ligante.



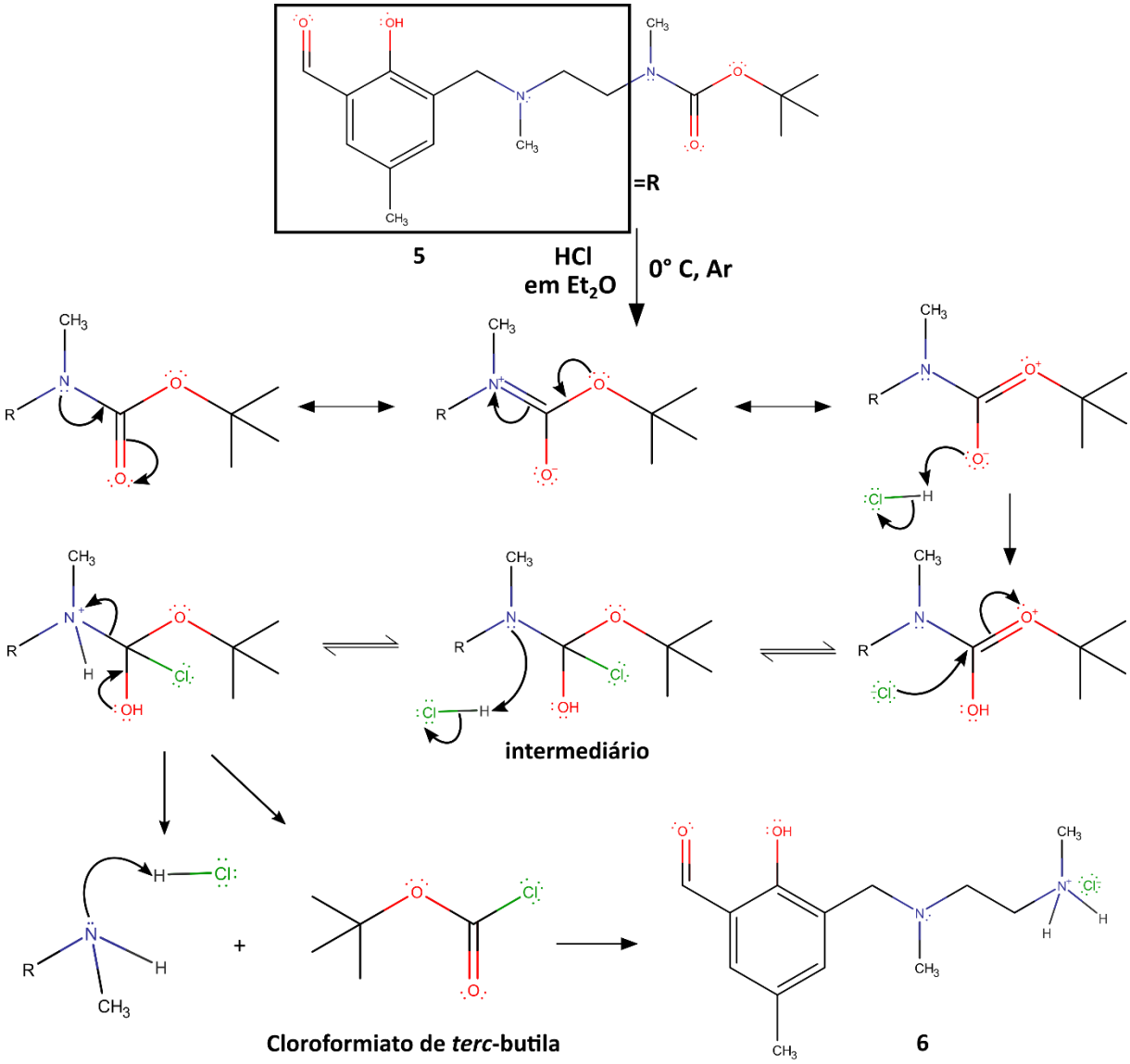
Na **terceira etapa** (3a) ocorre a preparação do HCl anidro (em éter), conforme apresentado no Esquema 8. Esse composto é essencial para o processo de formação do ligante HL.



Esquema 8 - Síntese do ligante – 3ª Etapa a-) Preparação do HCl anidro (em éter).

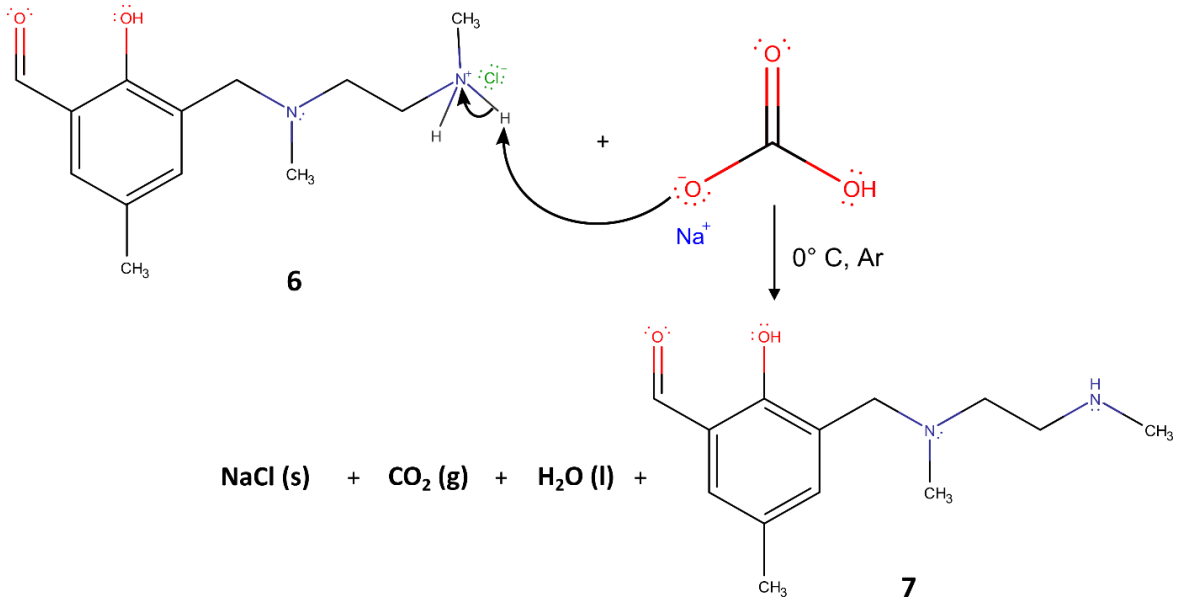
Em sequência, na Etapa 3b, ocorre a desproteção da amina, onde o composto **(5)**, ao reagir com o HCl anidro (em éter), forma um sal de amônio quaternário **(6)** e cloroformiato de *terc*-butila. No processo de formação do sal, é importante considerar os híbridos de ressonância entre os pares de elétrons do azoto e dos átomos de oxigênio do grupo protetor, conforme ilustrado no Esquema 9. Um dos híbridos, em particular, é ilustrado com um dos oxigênios contendo uma carga negativa; esse oxigênio é protonado pelo ácido (HCl) presente na reação. Devido aos grupos eletronegativos e ao efeito indutivo retirador de elétrons, o carbono do grupo carbonil torna-se mais eletrofílico e suscetível à ataques nucleofílicos;

assim, o íon cloreto do ácido clorídrico ataca o carbono carbonílico formando um intermediário de reação. Nota-se que o cloreto, de forma mais incomum, age como um nucleófilo; isso se dá devido ao mesmo estar em meio etéreo, meio no qual ele não é solvatado eficientemente. Assim sendo, os seus pares de elétrons ficam mais disponíveis para uma adição nucleofílica. A reação continua com o rompimento da ligação N-C e com o desprendimento de uma molécula de cloroformiato de *terc*-butila. Simultaneamente, a amina secundária reage com o ácido clorídrico, formando um sal orgânico, cujo contra-íon é o cloreto. O mecanismo dessa etapa é ilustrado abaixo:



Esquema 9 - Síntese do ligante – 3ª Etapa b-) Desproteção e formação do cloridrato.

Após sua formação, o cloridrato **(6)** é neutralizado com bicarbonato de sódio, ocorrendo, dessa maneira, à formação do ligante HL **(7)** – 2-hidroxi-5-metil-3-((metil(2-metilamino)etil) amino)benzaldeido. Deve-se mencionar que o ligante preparado pode atuar como ligante tridentado, onde o oxigênio (O), e os dois nitrogênios (N e N') são doadores σ (Esquema 10).



Esquema 10 - Síntese do ligante – 3ª Etapa c-) Neutralização e obtenção do ligante HL.

4.1.2 Caracterização do Ligante

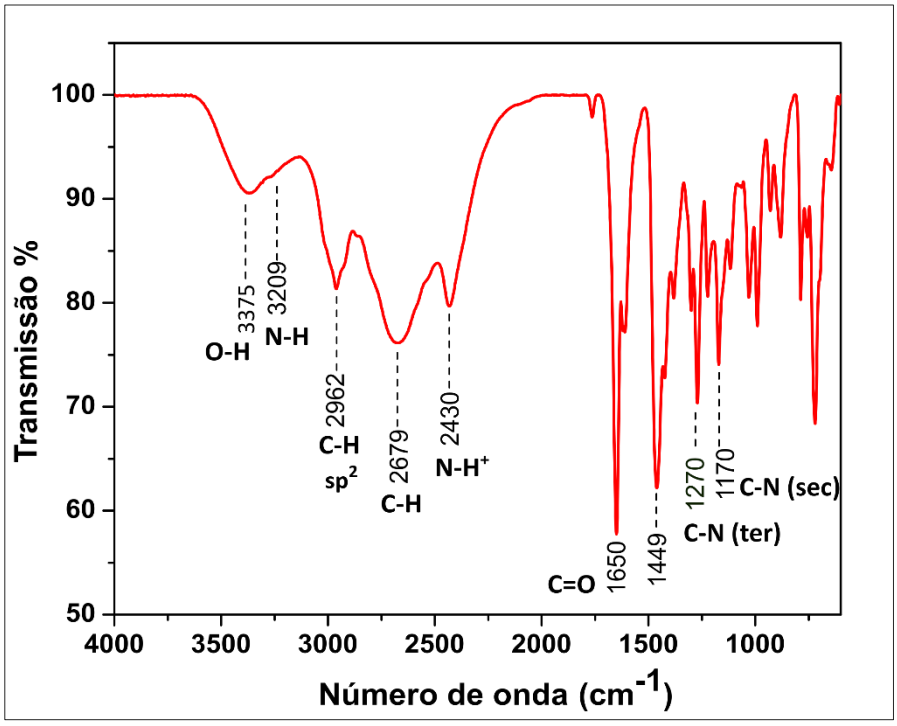
Para as caracterizações da primeira e da segunda etapa da síntese do ligante, foram feitas apenas análises por ^{1}H-RMN. Para a terceira etapa, a obtenção do cloridrato e do ligante HL, foram feitas análises por Infravermelho, RMN de ^{1}H, ^{13}C e HSQC, MS-ESI e absorção no UV-Vis, esta última com intuito de comparação com o complexo. Com a finalidade de corroborar os resultados experimentais, também foram realizadas simulações computacionais para as absorções no infravermelho e ressonância magnética nuclear de ^{1}H e ^{13}C para o HL·HCl e para o ligante HL. Os cálculos por UV-vis e estrutura eletrônica foram realizados apenas para o ligante HL.

i-) Infravermelho:

Os espectros do HL·HCl e do ligante HL apresentaram o mesmo perfil de bandas e, de

modo semelhante, foram atribuídas as bandas ao espectro do ligante HL (Figura 17) que apresentou absorções ligeiramente deslocadas para maiores números de onda comparado ao cloridrato (Figura 16). No entanto, conforme indicado pela literatura, para cloridratos, no caso o HL·HCl, há uma banda de intensidade média entre 2700 a 2350 cm^{-1} oriunda de estiramentos N-H. Para o sal em estudo, essa banda é observada em 2430 cm^{-1}.[77] Uma observação pertinente referente à análise do cloridrato é que este produto apresenta caráter higroscópico e, portanto, não foi possível a análise em pastilha de KBr. Por esta razão, a medida foi realizada em modo de refletância total atenuada (ATR, do inglês *Attenuated total reflection*), e os sinais se apresentaram ligeiramente mais largos se comparados ao IV do ligante HL em pastilha de KBr.

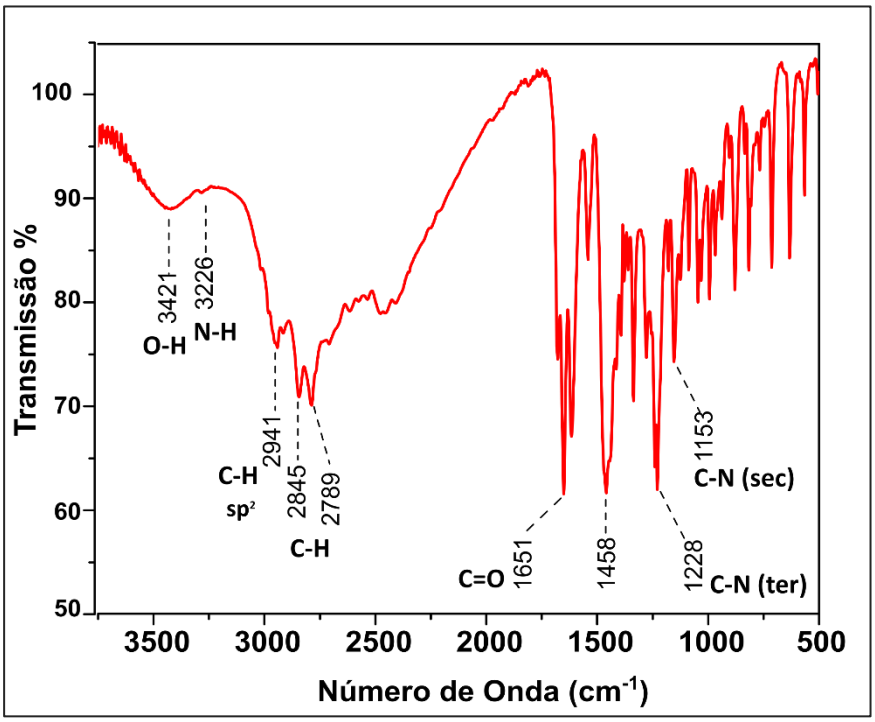
Figura 16 - Espectro de absorção na região do IV do cloridrato (ATR).



No espectro da Figura 17, observa-se bandas de forte intensidade em 1651, 2845 e 2789 cm^{-1} atribuídas, respectivamente, ao estiramento C=O do aldeído e estiramentos C-H alifáticos. Nota-se também a banda de estiramento do grupo O-H em 3421 cm^{-1}, que apresenta um sinal largo de baixa intensidade. Semelhante ao cloridrato, um ombro muito discreto é observado em 3226 cm^{-1}, provavelmente referente ao estiramento N-H. Por fim, vê-se duas bandas em 1228 e 1153 cm^{-1} que são atribuídas a deformação C-N das aminas terciaria e

secundaria, respectivamente.[77] Nota-se, também, uma banda em 1458 cm^{-1}; nessa região de número de ondas, encontra-se absorções que podem ser decorrentes de: i) da deformação angular no grupo etileno ($-CH_2-CH_2-$), ii) estiramento C=C de aromáticos, iii) deformação N-CH_3.[77]

Figura 17 - Espectro de absorção na região do IV do ligante HL (pastilha de KBr).



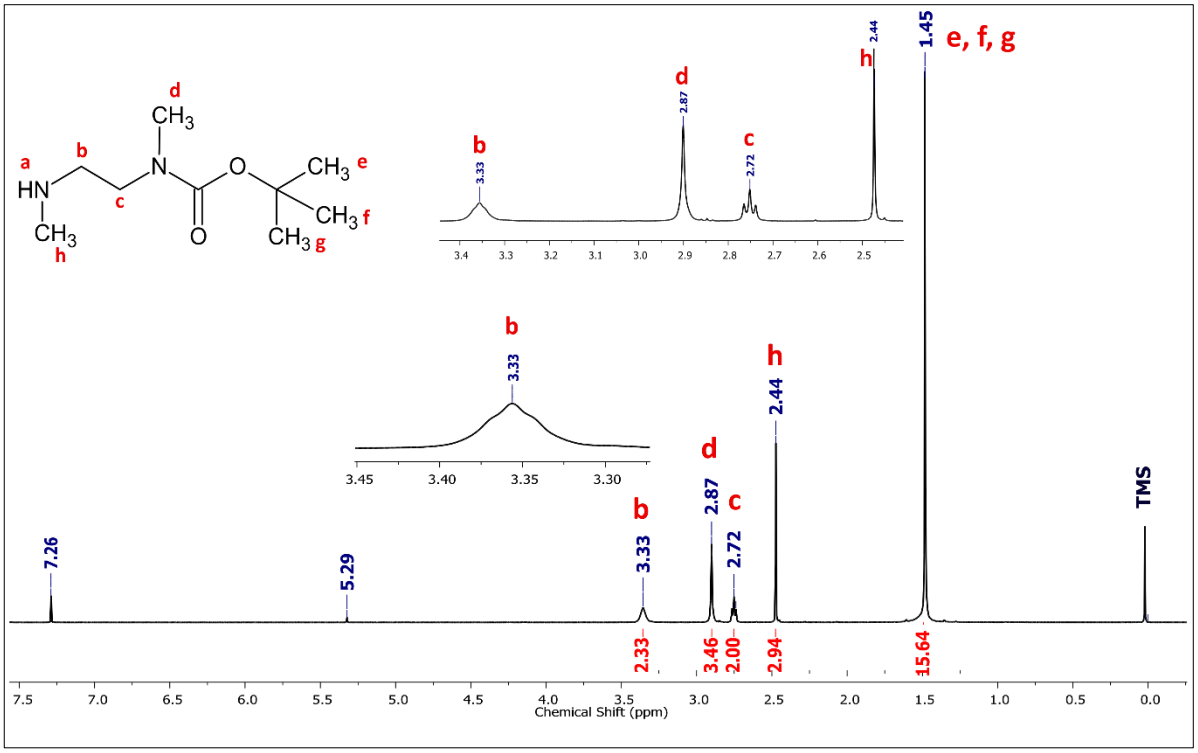
A simulação computacional do espectro de absorção na região do IV do ligante HL e seu cloridrato apresentaram uma boa correlação com os espectros experimentais, conforme mostrado nas Figuras 52 e 53 no Anexo C. A simulação para o ligante HL indicou que a pequena banda em 3226 cm^{-1} é referente ao estiramento N-H, conforme indicado na literatura.[77] Também foi possível verificar as bandas em 1458, 1228 e 1153 cm^{-1}, que foram sugeridas pela simulação como sendo vibrações de deformação do grupo etileno e das deformações C-N (amina terciaria) e C-N (amina secundária), respectivamente. Essas atribuições coincidem com as atribuições encontradas na literatura para absorções nessas regiões.[77] É importante ressaltar que, quanto mais baixa a simetria de uma molécula, maior será o número de absorções observadas no espectro. Em outras palavras, devido à baixa simetria, os modos vibracionais não são degenerados e, portanto, apresentam energias diferentes, resultando em um número maior de absorções.[78] Logo, sendo essa molécula do grupo de ponto C_1, justifica

as muitas absorções observadas no espectro da Figura 17 acima. Em conclusão, os espectros de absorção no IV mostraram-se coerentes com a estrutura proposta.

ii-) Ressonância Magnética Nuclear:

A Figura 18 apresenta o espectro do produto bruto de ^{1}H-RMN da Etapa 1 da monoproteção do diamino. Neste espectro, observa-se um sinal tripleto em 2,72 ppm atribuido ao H^{c} do fragmento etileno, com valor de integral 2 e ^{3}J=6,6 Hz. No mesmo fragmento, encontra-se o H^{b} referente ao grupo metileno ($N-CH_2$) com deslocamento químico em 3,33 ppm e valor de integral 2,33. Contudo a multiplicidade do sinal deste hidrogênio não está bem definida no espectro, apesar de seu desdobramento sugerir um sinal tripleto. Uma possível justificativa para esse desdobramento incerto é a influência do momento quadrupolar do ^{14}N, que pode causar uma relaxação rápida com transições amplas nos núcleos de hidrogênios vicinais.[79]

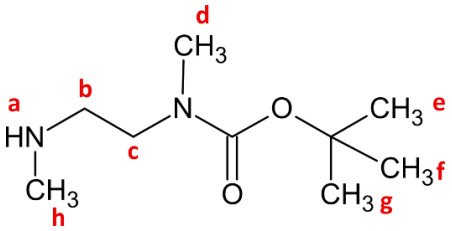
Figura 18 - Espectro ^{1}H-RMN do composto 3 - Monoproteção da amina ($CDCl_3$ em 400MHz).



Na região de 2,44 ppm, observa-se um simpleto do núcleo do H^{h} referente ao grupo

metil (N-CH_3) com valor de integral 3 e em 2,87 ppm observa-se a ressonância do H^d também referente a grupo metil (N-CH_3). Nota-se que o sinal desse metil, H^d, apresenta um deslocamento químico maior que o do outro grupo metil ligado à amina desprotegida, isso pode ser devido a esse metil estar mais próximo do grupo do Boc que apresenta alta densidade eletrônica. Por fim, os deslocamentos químicos dos grupos metilas do Boc, H^e, H^f e H^g, são apresentados em 1,45 ppm valor de integral 15,64. Abaixo encontra-se a Tabela 4 com os dados de ressonância da Etapa 1.

Tabela 4 - Dados de ^{1}H-RMN do composto 3 - Monoproteção da amina ($CDCl_3$, 400 MHz).



Núcleo ^{1}H	δ (ppm), multiplicidade, integral
b	3,33, m, 2,00
c	2,72, (^4J=1.6), t, 2,00
d	2,87, s, 3,46
e, f, g	1,45, s, 15,64
h	2,44, s, 3,00

A Figura 19 apresenta o espectro do produto bruto de ^{1}H-RMN da Etapa 2 – Substituição nucleofílica bimolecular (S_N2). Esse espectro apresenta alguns desdobramentos indefinidos devido as condições da síntese, onde um excesso de amina monoprotegida com o Boc é adicionado à reação. Dessa forma, é possível que algumas ressonâncias sejam provenientes de algum resíduo desse reagente. Entretanto, de forma geral, todos os hidrogênios foram atribuídos, e todos os valores de integral mostraram-se coerentes com o número de hidrogênios. Um dos sinais que evidenciam a ocorrência da reação S_N2 é a ressonância do H^d, correspondente ao grupo metileno (Ar-CH_2) em 3,71 ppm com integral 2. São observadas também as ressonâncias provenientes do precursor aromático, cujo espectro de ^{1}H-RMN encontra-se na Figura 48 em Anexo A desse trabalho.

Nota-se um sinal multipleto correspondente ao H^a ligado ao aldeído (H-C=O) em 10,32 ppm com valor de integral de 1. Na região de 7,41 a 7,10 ppm, observam-se os sinais dos núcleos de H^c e H^b do anel aromático (Ar-H) com valores de integral de 1,00 para ambos. Em 2,62 e 2,27 ppm, encontram-se os H^h e H^i com sinais de simpleto dos grupos metil (N-CH_3) com valor de integral 3. O grupo metileno (Ar-CH_2), conforme esperado, apresenta um maior deslocamento químico com um sinal de simpleto em 3,71 ppm e integral de valor 2. Os sinais

do grupo etileno entre as aminas, H^e e H^f, e os sinais dos hidrogênios do Boc, H^j, H^k e H^l, apresentaram valores de integral discretamente alterados. É importante ressaltar que nesse espectro também se observam as ressonâncias de diclorometano em 5,28 ppm (s) e acetato de etila 4,11 (q), 2,04 (t) e 2,25 (s) ppm, que são solventes utilizados na síntese e purificação desse composto. A Tabela 5 abaixo apresenta os dados de ressonância da Etapa 2.

Figura 19 - Espectro ^{1}H-RMN do composto 5 - S_N2 ($CDCl_3$ em 400MHz).

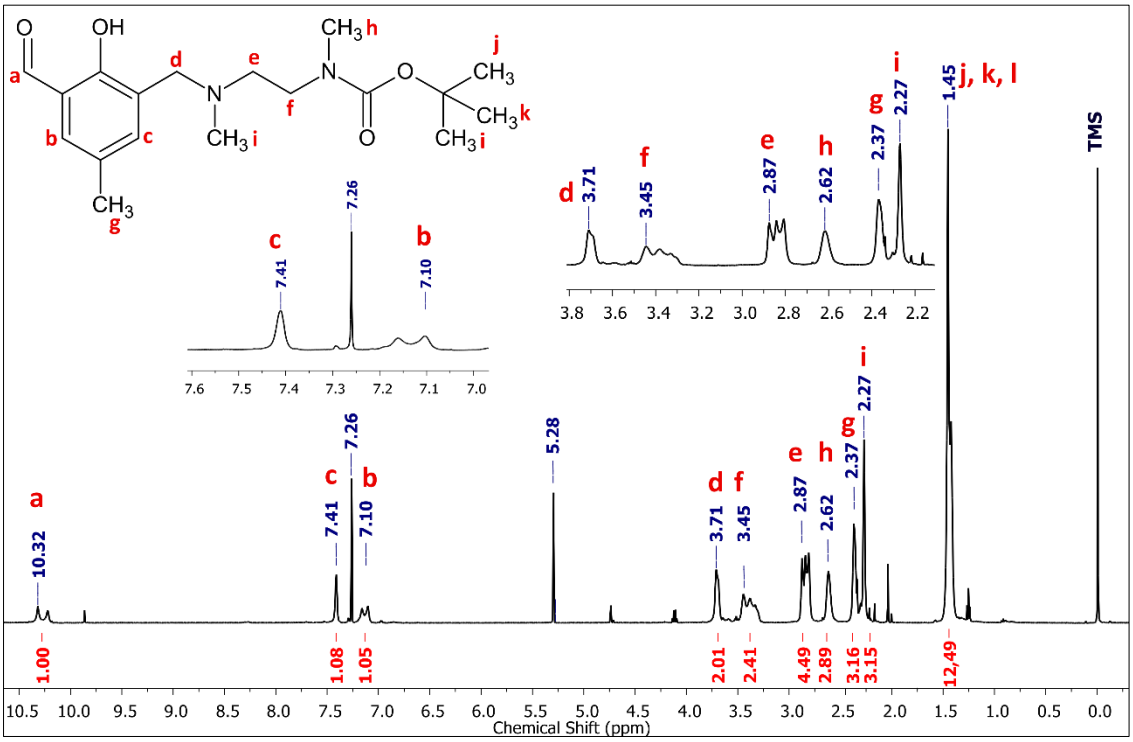
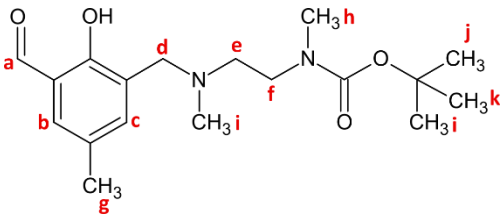


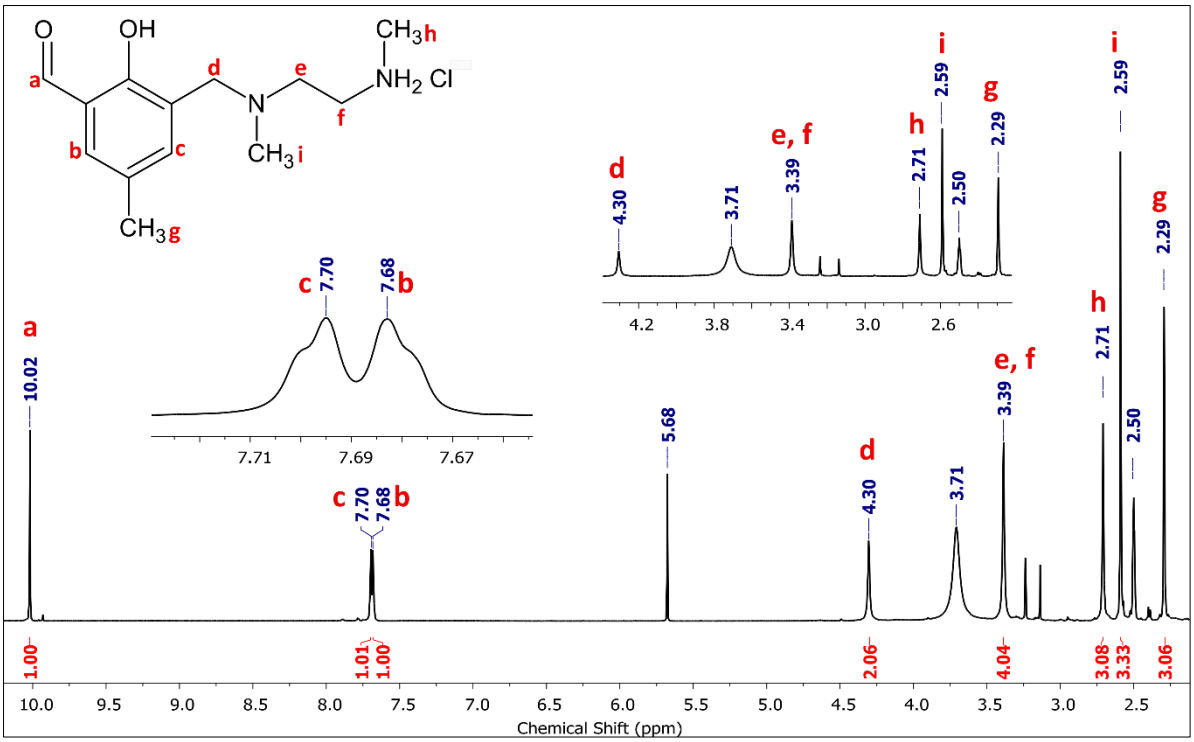
Tabela 5 - Dados de ^{1}H-RMN do composto 5 - S_N2 ($CDCl_3$, 400 MHz).



Núcleo ^{1}H	δ (ppm), multiplicidade, integral
a	10,32, m, 1,00
b	7, 10, m, 1,00
c	7,41, s, 1,00
d	3,71, s, 2,00
e	2,87, m, 4,49
f	3,45, m, 2,41
g	2,37, s, 3,00
h	2,62, s, 3,00
i	2,27, s, 3,00
j, k, l	1,45, s, 12,49

A Figura 20 apresenta o espectro de ^{1}H-RMN da penúltima etapa da síntese do ligante, onde é obtido o cloridrato (HL·HCl). Essa análise foi a única realizada com dimetilsulfóxido-D6, pois o sal não foi solúvel em $CDCl_3$. Observa-se o sinal simpleto correspondente ao H^a ligado ao aldeído (H-C=O) em 10,02 ppm com valor de integral de 1. Na região de 7,70 a 7,68 ppm, observam-se os sinais dos núcleos de H^c e H^b do anel aromático (Ar-H) com valores de integral de 1,00 para ambos. Em 2,29 ppm, há um simpleto do grupo metil (Ar-CH_3) com valor de integral 3. O H^d do grupo metileno (Ar-CH_2), conforme esperado, apresenta um maior deslocamento químico com um sinal de simpleto em 4,30 ppm e integral de valor 2. Os hidrogênios do grupo etileno entre as aminas, H^e e H^f (N-CH_2), apresentam o mesmo deslocamento químico em 3,39 ppm e sinal simpleto, com valore de integral de 4. Apesar de inesperado, esse deslocamento será mais bem discutido na apresentação do espectro de HSQC. Na Tabela 6 encontra-se os dados de RMN referente a essa análise.

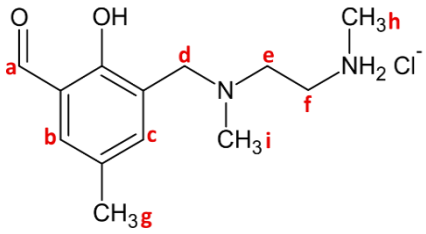
Figura 20 - Espectro ^{1}H-RMN do cloridrato (dimetilsulfóxido-D6 em 400MHz).



Por fim, os sinais dos H^h e H^i dos grupos metil ligados ao nitrogênio das aminas (N-CH_3) aparecem em 2,71 e 2,59 ppm como simpletos de integral 3, respectivamente. Os sinais do núcleo de hidrogênio para o grupo fenol (Ar-OH) e N-H não foram visíveis; uma possível

justificativa para isso é o caráter ácido desses hidrogênios que faz com que suas vizinhanças não sejam bem definidas. É importante mencionar que os sinais que aparecem em 5,68 (s), 3,71(s) e 3,16(s) ppm são sinais do solvente DCM, água e metanol, respectivamente, ainda presentes no cloridrato.

Tabela 6 - Dados de ^{1}H-RMN do cloridrato (dimetilsulfóxido-D6, 400 MHz).



Núcleo ^{1}H	δ (ppm), multiplicidade, integral
a	10,02, s, 1,00
b	7, 68 (^{4}J=1.6), d, 1,00
c	7,70 (^{4}J=1,6), d, 1,00
d	4,30, s, 2,00
e, f	3,39, s, 4,00
g	2,29, s, 3,00
h	2,71, s, 3,00
i	2,59, s, 3,00

No espectro de RMN ^{13}C na Figura 21, observa-se os sinais de todos os carbonos do cloridrado. As atribuições realizadas confirmam, portanto, a formação HL·HCl proposto. Logo abaixo do espectro encontra-se a Tabela 7 com os deslocamentos químicos desses carbonos.

Figura 21 - Espectro RMN ^{13}C do cloridrato (DMSO-D6 em 400MHz).

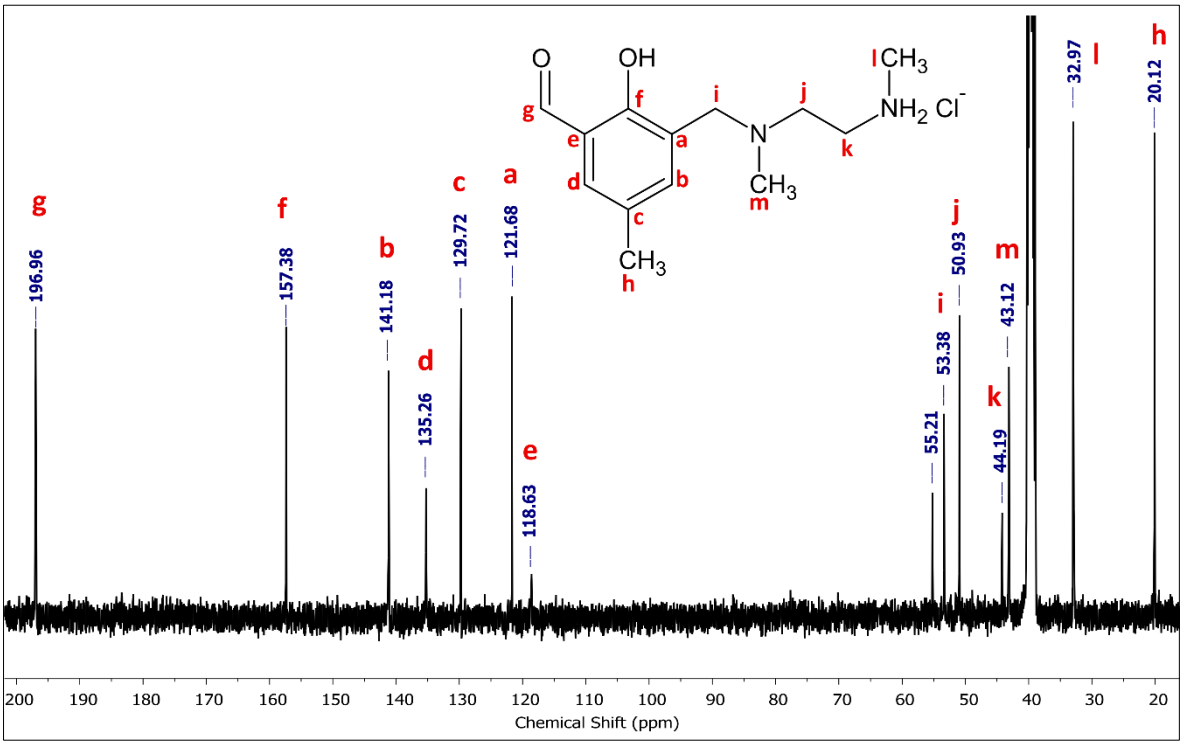
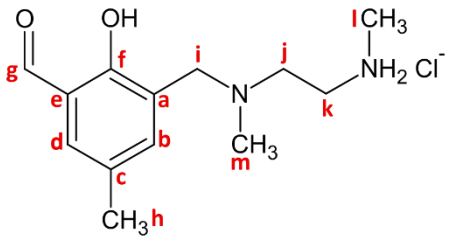


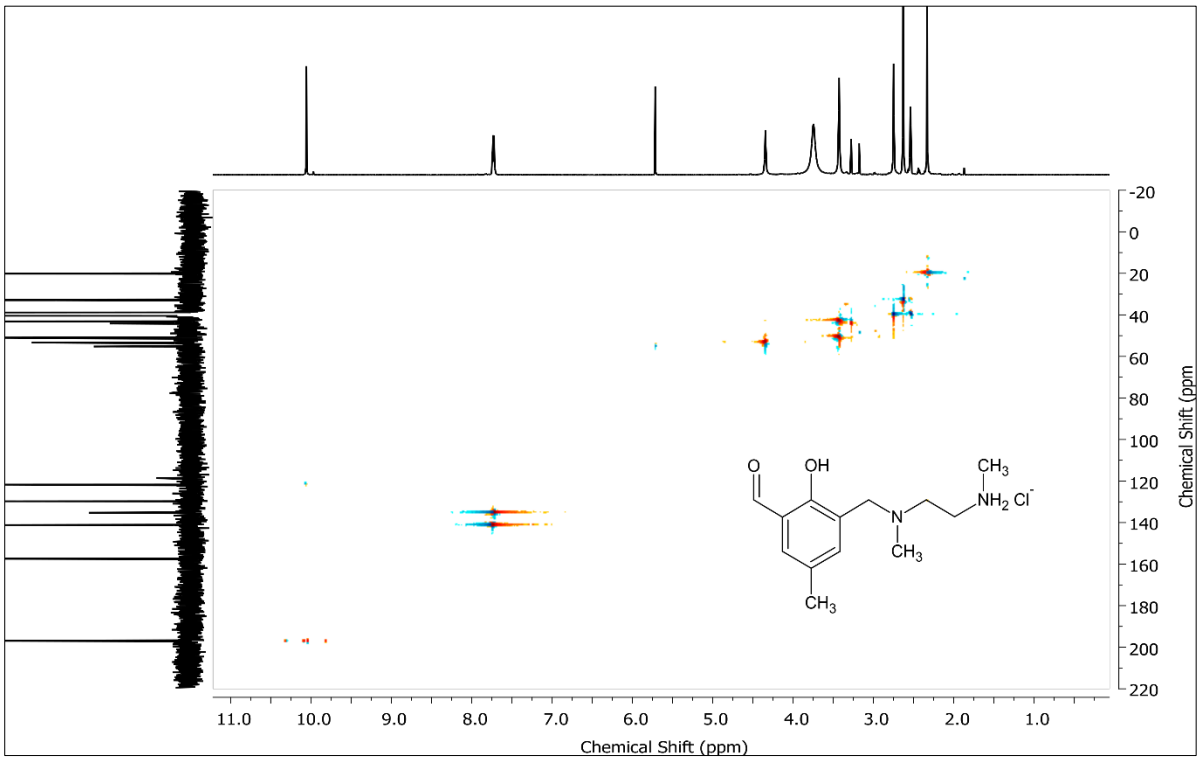
Tabela 7 – Dados de RMN ^{13}C do Cloridrato ($CDCl_3$, 400 MHz).



Núcleo ^{13}C	δ (ppm)	Núcleo ^{13}C	δ (ppm)
a	121,68	**h**	20,12
b	141,18	**i**	53,38
c	129,72	**j**	50,93
d	135,26	**k**	44,19
e	118,63	**l**	32,97
f	157,38	**m**	43,12
g	196,96		

Com a finalidade de complementar os resultados das análises anteriores, foi realizada a análise para o HL·HCl por RMN HSQC (do inglês, *Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy*), que correlaciona os núcleos de ^{1}H e ^{13}C. Na Figura 22, conforme esperado, todos os hidrogênios do sal encontram seus carbonos correspondentes. A análise também confirmou que o sinal em 4,30 ppm no espectro de hidrogênio é de fato oriundo do grupo etileno, de acordo com a correlação desse sinal com os dois sinais do espectro de RMN ^{13}C dos carbonos correspondentes. Uma imagem ampliada dessa região encontra-se no Anexo G – Figura 57.

Figura 22 - Espectro RMN HSQC do Cloridrato (DMSO-D6 em 400MHz).



Por fim, a Figura 23 apresenta o espectro de ^{1}H-RMN do ligante HL (Etapa 3c). Neste espectro, há um sinal simpleto correspondente ao H ligado ao aldeído (H-C=O) em 10,26 ppm com valor de integral 1. Na região de 7,40 a 7,13 ppm, observam-se os sinais dos núcleos de H^c e H^b do anel aromático (Ar-H), respectivamente, com valores de integral de 1,00 para ambos. Em 2,46 ppm, há um simpleto do grupo metil (Ar-CH_3) com valor de integral para 3. O grupo metileno (Ar-CH_2) apresenta um sinal de simpleto em 3,63 ppm e integral de valor 2. Os hidrogênios do grupo etileno (N-CH_2) apresentam deslocamentos químicos de 2,79 e 2,63 ppm com valores de integral de 2, respectivamente, e desdobramento tripleto. Por fim, os sinais dos dois grupos metil ligados ao nitrogênio das aminas (N-CH_3) aparecem como um simpleto cada, porém, discretamente sobrepostos em 2,29 e 2,27 ppm respectivamente com valor de integral de 6. Igualmente no espectro de ^{1}H-RMN do HL·HCL, os sinais do núcleo de hidrogênio para o grupo fenol (Ar-OH) e N-H não foram identificados. É importante mencionar que os sinais que aparecem em 1,26 (t); 2,05 (s) e 4,13 (q) ppm são sinais do solvente acetato de etila ainda presente no ligante. Abaixo, encontra-se a Tabela 8 com os dados de deslocamento químicos presente na molécula do ligante HL. Com exceção dos hidrogênios do grupo etileno, o espectro não apresenta diferença significativa com o espectro do cloridrato.

Figura 23 - Espectro ^{1}H-RMN do ligante HL ($CDCl_3$ em 400MHz).

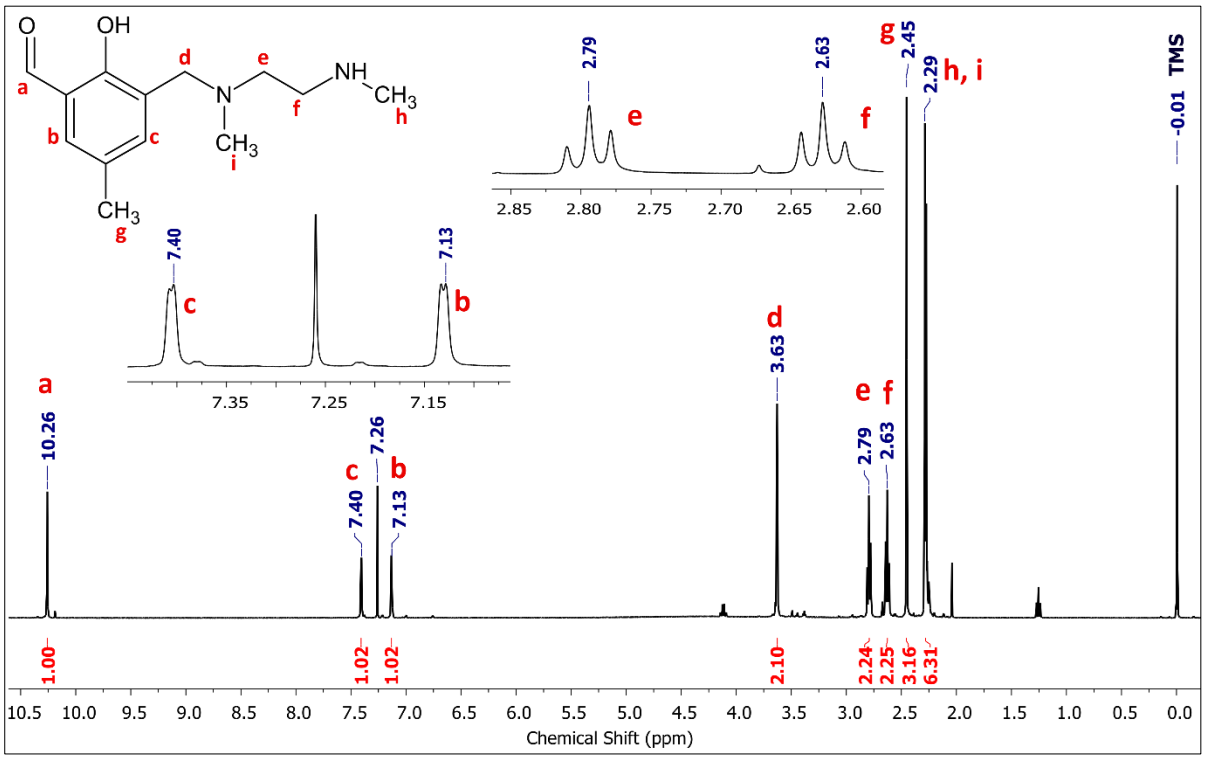
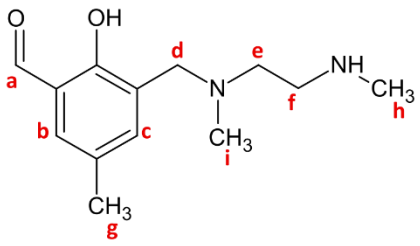


Tabela 8 – Dados de ^{1}H-RMN do ligante HL ($CDCl_3$, 400 MHz).



Núcleo ^{1}H	δ (ppm), multiplicidade, integral
a	10,26, s, 1,00
b	7, 13 (^{4}J=1,7), d, 1,00
c	7,40 (^{4}J=1,7), d, 1,00
d	3,63, s, 2,00
e	2,79 (^{3}J=6,3), t, 2,00
f	2,63 (^{3}J=6,3), t, 2, 00
g	2,44, s, 3,00
h	2,29, s, 3,00
i	2,27, s, 3,00

No espectro de RMN ^{13}C na Figura 24, observa-se todos os sinais de todos os carbonos da molécula, confirmando a formação do ligante proposto. Os valores de deslocamentos químicos também são descritos na Tabela 9.

Figura 24 - Espectro ^{13}C-RMN do ligante HL ($CDCl_3$ em 400MHz).

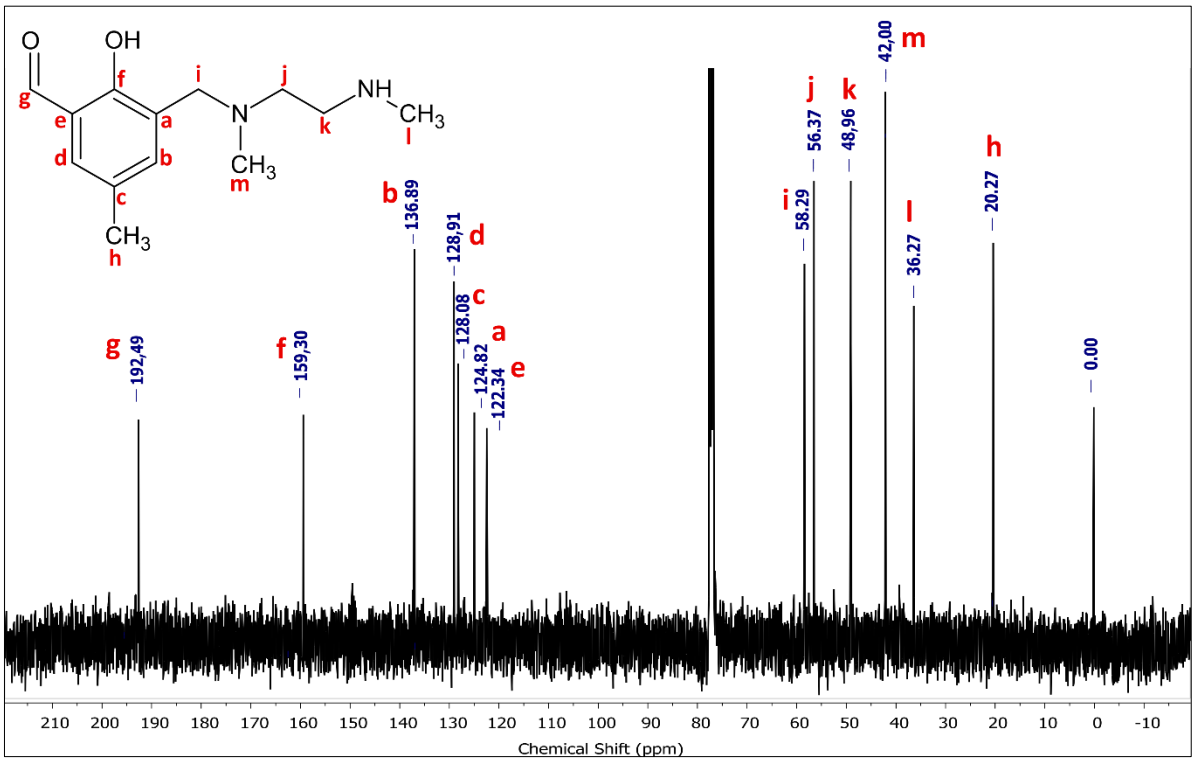
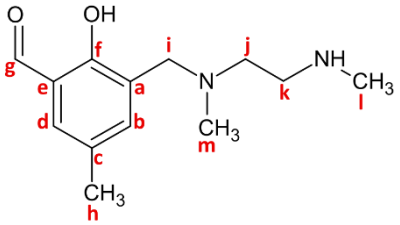


Tabela 9 – Dados de RMN ^{13}C do ligante HL ($CDCl_3$, 400 MHz).



Núcleo ^{13}C	δ (ppm)	Núcleo ^{13}C	δ (ppm)
a	124,82	**h**	20,27
b	136,89	**i**	58,29
c	128,08	**j**	56,37
d	128,91	**k**	48,96
e	122,34	**l**	36,37
f	159,30	**m**	42,00
g	192,49		

Também foi realizada a simulação computacional de RMN ^{1}H e ^{13}C para o HL·HCl e para o ligante final HL. As tabelas com a comparação das ressonâncias experimental e teórica encontram-se nos Anexos D e E ao final desse trabalho. Os valores dos deslocamentos químicos calculados obtidos não apresentaram valores idênticos aos valores experimentais; contudo, seguiram um mesmo padrão quando comparados. Um fato importante a ser considerado é a presença das ressonâncias dos dois hidrogênios ácidos O-H e N-H presente nas moléculas analisadas (no caso do sal, a presença de duas ligações N-H, por ser um sal quaternário). Essa ocorrência é muito interessante, pois, experimentalmente, esses hidrogênios apresentam dinâmica de troca rápida, o que faz com que estes geralmente não apareçam no espectro experimental e, quando aparecem, apresentam picos alargados. No cálculo computacional, a dinâmica de troca não é considerada e, portanto, as ressonâncias desses hidrogênios são evidenciadas.

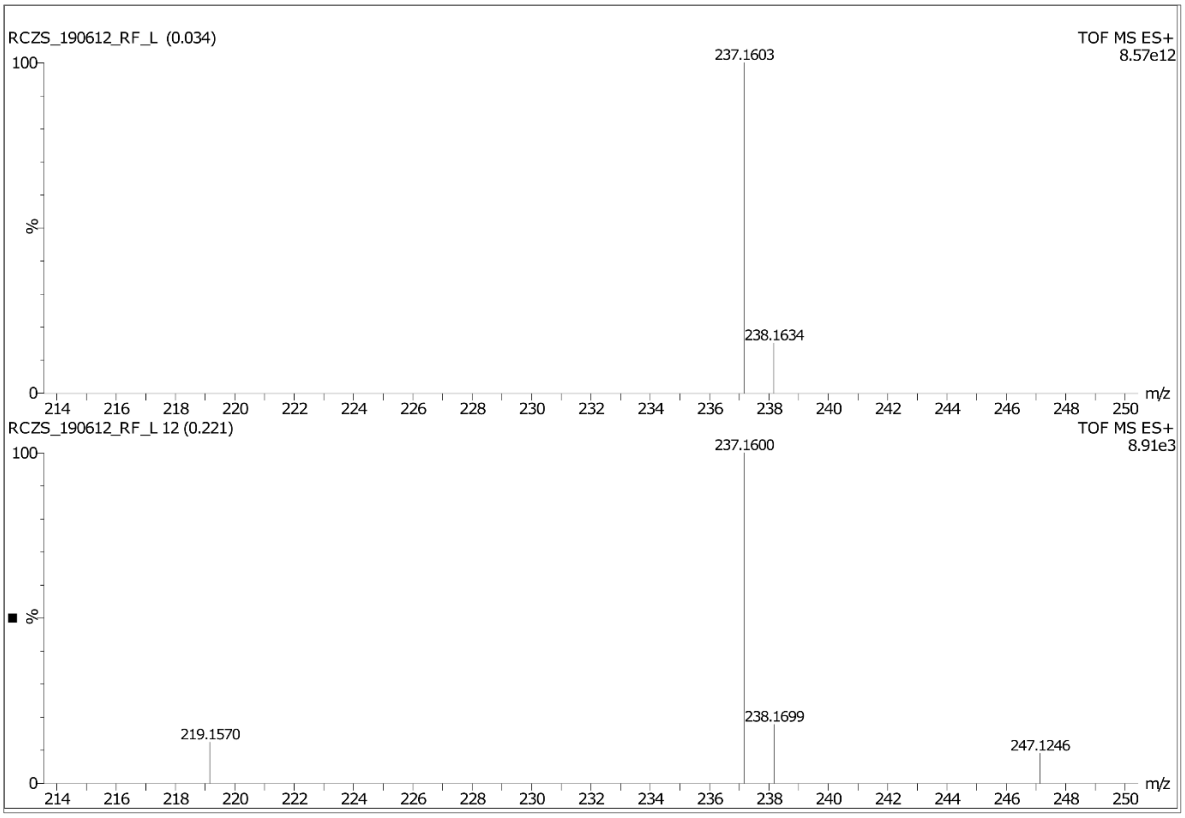
iii-) Espectrometria de Massas (MS-ESI):

O HL·HCl obtido também foi analisado por espectrometria de massas (ESI-MS), no modo positivo, em MeOH. O espectro forneceu a informação sobre a razão massa/carga (*m/z*) do composto, conforme mostrado na Figura 25. O espectro na parte superior apresenta o modelo isotópico teórico e, no espectro abaixo, é mostrado o espectro experimental.

A análise de MS-ESI do sal obtido apresentou um pico base com razão massa/carga de 237,1600 m/z e a massa exata teórica do cloridrato apresenta m/z de 272,1291. Essa alteração entre a m/z da molécula teórica com o íon experimental pode ser atribuída à perda do íon

Cl^-, $[M – Cl]^+$, que em metanol tende a se dissociar. Outro indício que o íon cloreto não está presente no íon molecular é que o Cl^- apresenta um padrão isotópico fácil de reconhecer e, na sua presença, seria exibido um par de linhas separadas por 2 Da e em abundância relativa de 3:1 do pico base *m/z*,[80] o que visualmente não é notado.

Figura 25 - Espectro MS-ESI do cloridrato teórico (superior) e experimental (inferior).



Conforme mostrado nos espectros, a massa acurada apresentou valor de 237,1600 m/z e a massa exata teórica é 237,1603 m/z. Com esses valores, foi realizado o cálculo de grau de exatidão (*degree of accuracy)* para esta análise, conforme a fórmula a seguir, e o valor apresentado foi de 1,26 ppm, sendo este um valor bem abaixo da faixa aceitável em publicações em revista cientificas.[81] O erro da medida é calculado a partir massa monoisotópica (massa calculada a partir da massa exata do isótopo mais abundante). Na Figura 26, encontra-se ilustrado a proposta do processo de ionização para o cloridrato.

$$\Delta m\ (erro\ da\ medida, Da) = m_{acurada}\ - m_{exata}$$

$$\Delta m = |237{,}1600 - 237{,}1603| = 0{,}0003\ Da$$

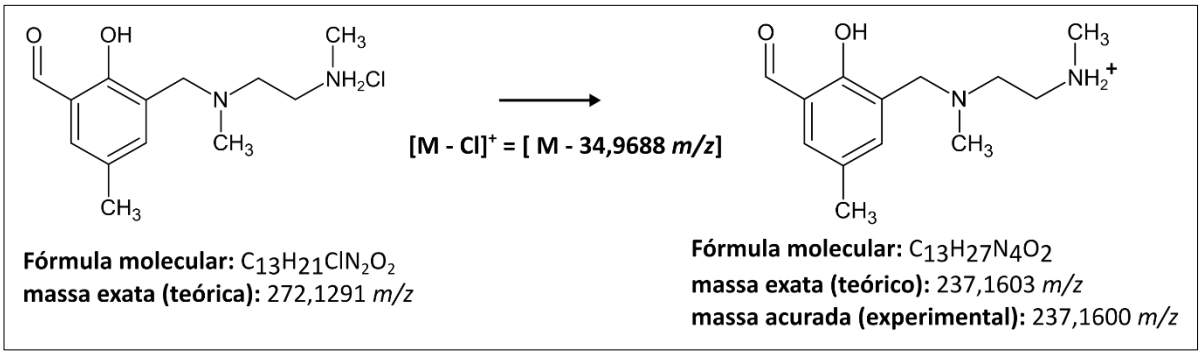
Onde:

m_{exata} = massa exata (teórica)

$m_{acurada}$ = massa acurada (experimental)

$$Grau\ de\ exatidão = 10^6\ x \frac{\Delta m}{m_{exata}} = 1{,}26\ ppm$$

Figura 26 – Proposta de processo de ionização MS-ESI para o cloridrato.



iv-) Espectroscopia no UV-Vis:

Para nível de comparação com o espectro de absorção no UV-Vis do complexo, que será mostrado mais a frente neste trabalho, foi medido o espectro de absorção no UV-Vis experimental e a simulação calculada do espectro do ligante. As simulações foram feitas a partir das funções do tipo *time-dependent density functional theory* (TDDFT), as quais permitiram observar quais transições eletrônicas ocorrem no ligante. O espectro calculado apresenta bandas que são constituídas por várias transições eletrônicas; contudo, é importante destacar que as transições cujas contribuições para o espectro são menores que 20% não foram consideradas. O espectro encontra-se na Figura 27, onde a linha vermelha é o espectro experimental e a linha azul é o espectro simulado. No Anexo K, na Figura 64, encontra-se uma imagem ampliada dos MOs envolvidos nas transições eletrônicas.

As energias dos orbitais destacados são apresentadas em valores de eV. A primeira banda de alta intensidade é observada próxima de 218 nm, o qual apresenta como transição

eletrônica dominante HOMO→LUMO+1 com caráter π → π *. A segunda banda de intensidade média encontra-se por volta de 257 nm, correspondendo à transição dominante HOMO-3→LUMO, e também apresenta caráter π → π *. Em geral, em todas as transições eletrônicas observadas nesse espectro, os elétrons saem de estados mais deslocalizados e vão para estados mais localizados. Finalmente, a última banda de menor intensidade é observada por volta de 339 nm e é proveniente da transição HOMO→LUMO com caráter π → π *. Esses são os orbitais de fronteira e, portanto, os orbitais reativos na molécula. A Tabela 10 encontra-se os dados das transições eletrônicas.

Figura 27 - Espectro de UV-Vis do ligante HL experimental e teórico, com energias em eV.

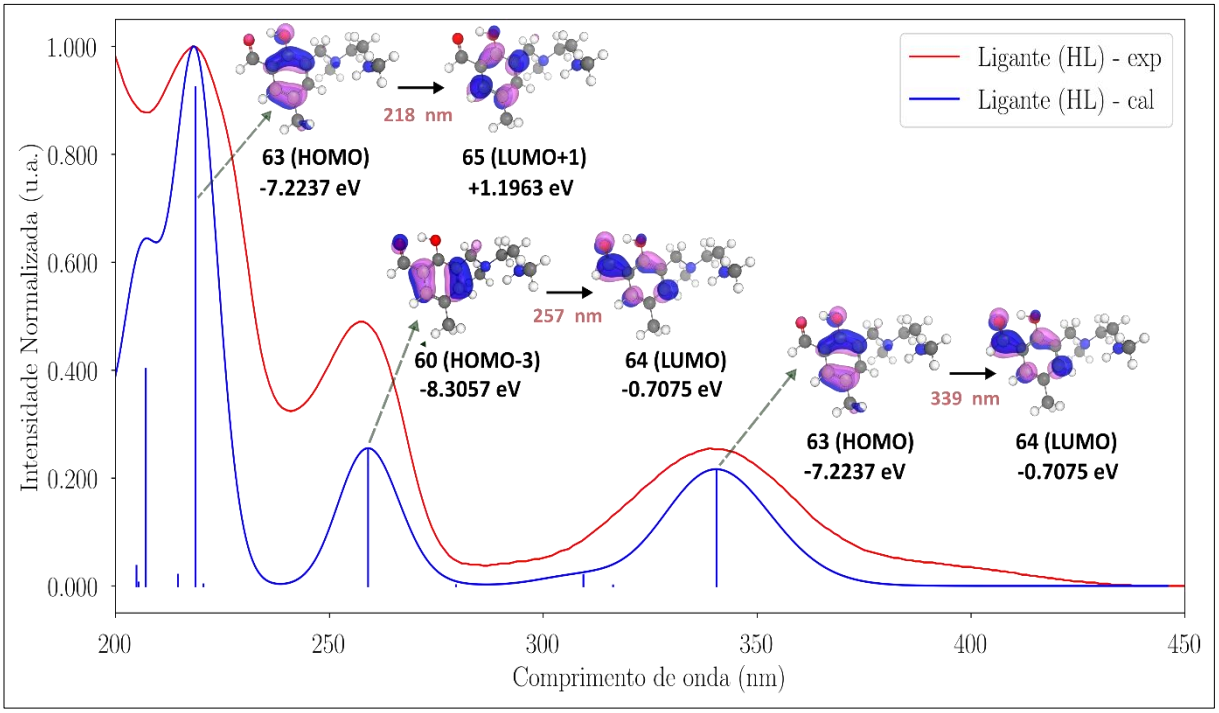


Tabela 10 - Dados das transições eletrônicas para o espectro de UV-Vis do ligante HL.

Estado	Transição	Caráter da transição (sugerido)	Comprimento de onda experimental (nm)
01	63 **HOMO** → 64 **LUMO**	π → π *	339
03	60 **HOMO-3** → 64 **LUMO**	π → π *	257
06	63 **HOMO** → 65 **LUMO +1**	π → π *	218

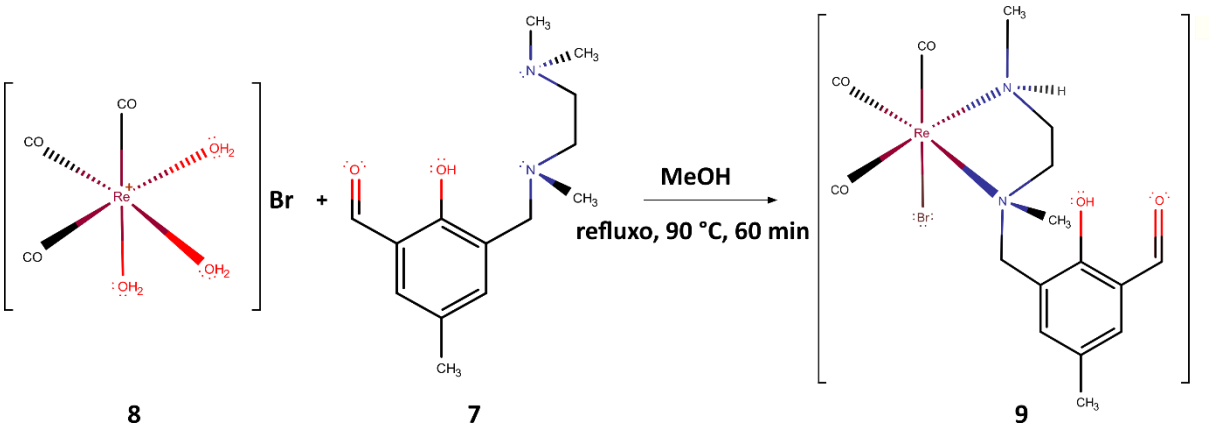
4.2 Complexo

4.2.1 Reação de Complexação

No mecanismo de síntese do complexo de rênio, era esperado que ocorresse uma reação de substituição, onde os ligantes aqua do complexo precursor, $[Re(OH_2)_3(CO)_3]^+$, fossem substituídos pelos três átomos σ-doadores (N, N' e O) dos sítios de ligação do ligante HL. Apesar do ligante possuir três potenciais átomos doadores, os nossos resultados mostraram que o metal se coordenou de forma bidentada (somente pelas aminas), permanecendo, portanto, o oxigênio fenólico protonado e não coordenado, diferente da expectativa de coordenação tridentada facial.

Conforme destacado no Esquema 11, é esperado que as ligações Re-CO do fragmento *fac*-$\{Re(CO)_3\}^+$ não sejam quebradas, pois estas ligações são fortes devido ao caráter de retrodoação metal-ligante (ligantes CO são π aceptores) e ao fato de o Re^+ e o CO serem um ácido e uma base macios. Em contrapartida, em razão da inércia do núcleo *fac*-$\{Re(CO)_3\}^+$, os ligantes aqua são facilmente substituídos por grupos funcionais de ligantes com caráter mais básicos; por exemplo, as aminas.[49,48]

Outras informações adicionais para entender melhor as propriedades estruturais dos complexos são os aspectos termodinâmicos e cinéticos da reação. De acordo com a literatura, a formação do complexo em estudo, $[ReBr(CO)_3(HL)]$, é termodinamicamente favorável por apresentar grupos aminas, que são doadores σ fortes e que estabilizam o fragmento *fac*-$\{M(CO)_3\}^+$ (M = Re(I) e $^{99m}Tc(I)$),[49,48] e também por se coordenar a um ligante polidentado, o que atribui, não só uma maior estabilidade termodinâmica, mas também cinética. O complexo é também cineticamente inerte devido à alta Energia de Estabilização do Campo Ligante (EECL), por ser um complexo de metal d^6 spin-baixo.[82] Os fatores eletrônicos e estéreos também influenciam na reatividade, considerando que o raio do metal Re é menor devido aos efeitos de contração lantanídica sofridos na 3ª serie de transição e, portanto, comparável ao raio do Tc.[83]



Esquema 11 - Síntese do complexo de rênio.

.

4.2.2. Caracterização do complexo

Para a caracterização do complexo foram realizadas as análises por IV, RMN ^{1}H, UV-Vis e difração de raios X. Para este último, devido má qualidade dos cristais, o valor do fator R1 (fator referente a concordância perfeita das intensidades calculadas e observadas no cristal)[84] ficou acima do aceitável, não sendo possível a obtenção das tabelas de ângulos e distancias de ligação para a discussão; contudo, foi realizado o refinamento da estrutura cristalina e foi obtida a tabela com os dados cristalográficos do complexo.

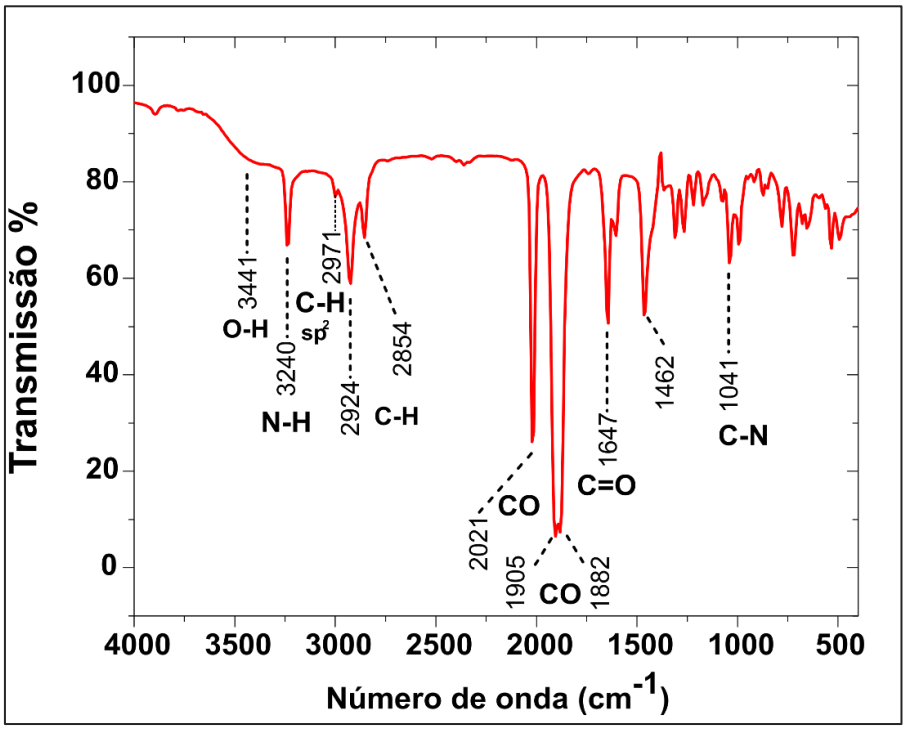
i-) Infravermelho:

A análise do espectro de absorção no IV do complexo foi de grande importância, pois se pôde verificar a presença das bandas do ligante HL e o aparecimento de novas absorções, sendo uma forte evidência para a formação do complexo em estudo. Na Figura 28, observa-se a permanência da banda de forte intensidade do aldeído em 1647 cm^{-1} e das bandas em 2924 e 2854 cm^{-1} atribuídas, respectivamente, aos estiramentos C=O e C-H. Nota-se também uma banda discreta em 3441 cm^{-1}, atribuída ao estiramento da ligação O-H do fenol. Dois aspectos que evidenciam a ocorrência da complexação entre o ligante HL e o metal é o aparecimento das bandas de estiramento N-H de amina secundária e de estiramento dos grupos carbonil. O estiramento N-H é observado como uma banda estreita e de intensidade média em 3240 cm^{-1} e atribuído ao N-H da amina secundária coordenada ao Re, onde, diferentemente do

espectro do ligante, demonstra que o ambiente químico desse grupamento é bem definido e sem possibilidade de ligação de hidrogênio. O aparecimento das bandas de estiramento, um simétrico e dois assimétricos, dos grupos carbonil são observados em 2019, 1905 e 1880 cm^{-1}, respectivamente, confirmando a presença dos três ligantes CO faciais no complexo recém-sintetizado.[77] Diferente do espectro do ligante HL e seu cloridrato, foi observada apenas uma banda de intensidade média na região de deformação C-N, em 1041 cm^{-1}, e essa ocorrência pode ser devido a coordenação dos grupamentos aminas. Por fim, vê-se uma banda em 1462 cm^{-1} que, conforme discutido anteriormente, podem ser decorrentes da deformação angular do grupo etileno ($-CH_2-CH_2-$), uma banda C=C de estiramento de aromáticos ou uma banda de deformamação $N-CH_3$.[77]

A simulação computacional do espectro de aborção no IV do complexo de rênio apresentou uma boa correlação com o espectro experimental, conforme mostrado na Figura 54 - Anexo C. As bandas das carbonilas, que são o diferencial mais importante entre o espectro do complexo e do ligante, foram calculadas com valores de absorção similares ao espectro experimental, evidenciando a formação do complexo. Um fato interessante a ser considerado é que a estrutura do complexo hexacoordenado apresenta isomeria *fac*. Com o intuito de comparação, foi realizado uma simulação computacional para o complexo hexacoordenado precursor, $[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$, considerando as duas isomerias: facial *(fac)* e meridional (*mer)* para as carbonilas (vide estrutura e espectro simulado nas Figuras 55 e 56 no Anexo C). Pôde-se verificar que as absorções para o complexo com simetria *mer* apresentam bandas mais distantes uma das outras e menos intensas quando comparada com o espectro experimental e teórico do *fac*-tricarbonil (vide espectro experimental do complexo $[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$ na Figura 49 no Anexo B), sendo esta, condizente para a formação do complexo com isomeria *fac*.

Figura 28 - Espectro de Absorção na região do IV do complexo de rênio (pastilha de KBr).



ii-) Ressonância Magnética Nuclear ^{1}H:

Na Figura 29, apresenta-se o espectro de ^{1}H-RMN do complexo de rênio sintetizado. De forma geral, observa-se a complexação do ligante ao metal. Neste espectro, diferentemente do valor de deslocamento químico do ligante HL, observa-se o sinal em 9,87 ppm para o H^{a} correspondente ao aldeído (H-C=O), com valor de integral de 1. Em 11,37 ppm, observa-se o sinal do fenol no H^{j} com integral 1. Este mesmo sinal é observado no espectro de ^{1}H-RMN do precursor do ligante, 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido (em Anexo A – Figura 48), sendo este um forte indício de que o oxigênio do grupo fenol não se coordenou ao rênio. Na região de 7,42 e 7,39 ppm, observam-se os sinais dos núcleos de H^{c} e H^{b} do anel aromático (Ar-H) com valores de integral de 1 e desdobrados como dupletes com J = 1.8 Hz para ambos. Os deslocamentos químicos, as multiplicidades e valores de integrais dos hidrogênios encontram-se na Tabela 11.

Figura 29 - Espectro ^{1}H-RMN do complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).

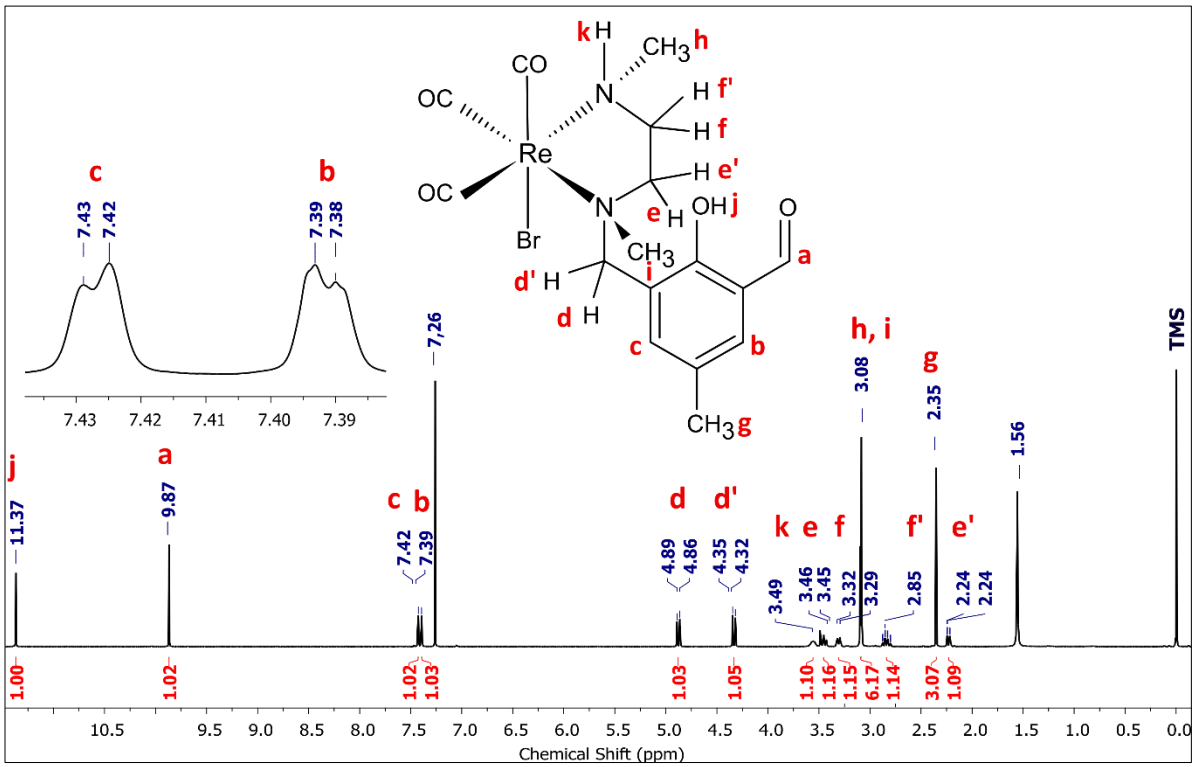
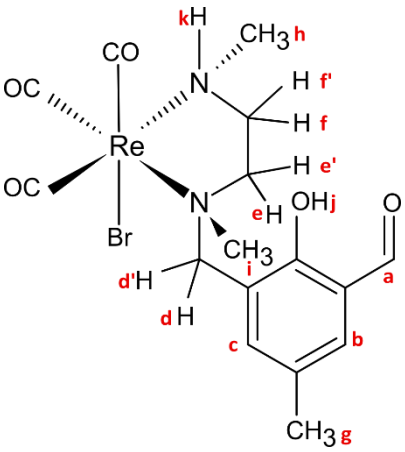


Tabela 11 – Dados de ^{1}H-RMN do complexo de rênio ($CDCl_3$, 400 MHz).



Núcleo ^{1}H	δ (ppm), multiplicidade, integral
a	9,87, s, 1,00
b	7,39 (^{4}J= 1,8 Hz), d, 1,00
c	7,42 (^{4}J= 1,8 Hz), d, 1,00
d	4,86 (^{2}J= 13,5 Hz), d, 1,00
d'	4,35 (^{2}J= 13,5 Hz), d, 1,00
e	3,47 ($^{3}J_{e,f}$ = 3,4, $^{2}J_{e,e'}$ = 13,0, $^{3}J_{e,f'}$ = 13,0 Hz), td, 1,00
e'	2,24 ($^{2}J_{e',e}$ = 13,0, $^{3}J_{e',f}$ = 1,4, $^{3}J_{e',f'}$ = 3,0 Hz), ddd, 1,00
f	3,32 ($^{2}J_{f,f'}$ = 13,0, $^{3}J_{f,e}$ = 3,4, $^{3}J_{f,e'}$ = 1,4 Hz, $^{3}J_{f,k}$ = 3,4 Hz), dtd, 1,00
f'	2,85, ($^{2}J_{f',f}$ = 13,0, $^{3}J_{f',e}$ = 13,0, $^{3}J_{f',e'}$ = 3,0, $^{3}J_{f',k}$ = 13,0 Hz), qd, 1,00
g	2,35, s, 3,00
i	3,10, s, 3,00
h	3,08, s, 3,00
j	11,37, s, 1,00
k	3,57, m, 1,00

Os hidrogênios do metileno (Ar- CH_2) e do grupo etileno do complexo, se comparados com os mesmos grupos presente no ligante, foram os que apresentaram as diferenças mais significativas, o que evidencia a ideia de uma complexação em modo bidenteado (apenas pelas aminas). Devido ao novo ambiente químico em decorrência da coordenação, eles são agora hidrogênios diastereotópicos e, portanto, não são mais quimicamente equivalentes. O H^d e $H^{d'}$ do grupo metileno (Ar-CH_2), conforme esperado, são mais deslocados e se apresentaram como dois dupletos em 4,88 e 4,32 ppm com *J* = 13,5 Hz com integral total de 2.

Os hidrogênios do grupo etileno ligados às aminas quirais (N-CH_2-CH_2-N), apresentaram os sinais mais complexos. Os H^e, $H^{e'}$, H^f e $H^{f'}$ apresentaram sinais em 3,47, 2,24, 3,32, 2,85 ppm, respectivamente, e desdobramentos distintos para cada um. As ressonâncias apresentaram valores de integral 1 e se correlacionam com os hidrogênios do grupo etileno. Os acoplamentos e desdobramentos desses hidrogênios serão mais bem discutidos mais a frente no texto.

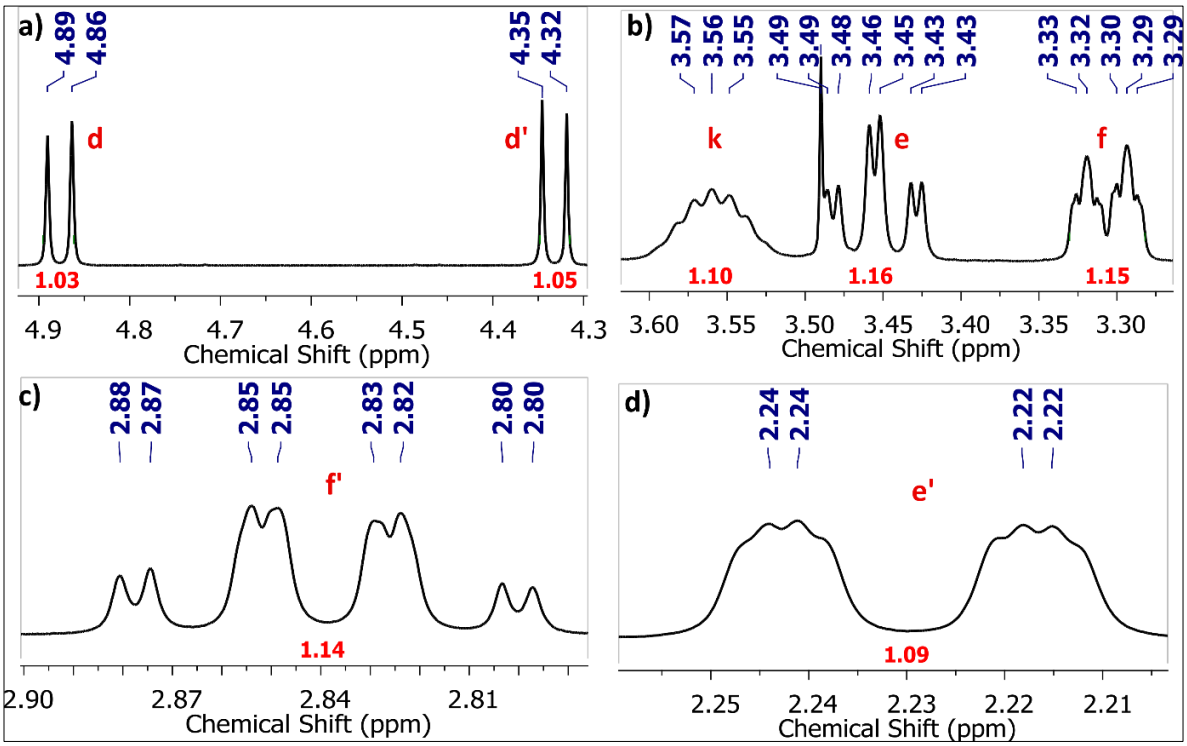
Os sinais dos dois grupos metila ligados ao nitrogênio da amina (N-CH_3), os H^h e H^i, aparecem como um simpleto cada um, em 3,10 e 3,08 ppm. Contudo, os sinais encontram-se levemente sobrepostos, e quando integrados juntos, apresentam integral com valor 6. Há também um sinal de simpleto para o H^g do grupo metil (Ar-CH_3) em 2,35 ppm com valor de integral 3. Por fim, é observado o sinal do H^k (N-H) em 3,49 ppm. Essa ressonância se mostra com um desdobramento de multipleto largo, provavelmente devido ao acoplamento com os H^f e $H^{f'}$ (N-CH_2) e H^h (grupo metil), identificado no espectro de RMN COSY. A ressonância do solvente H_2O aparece nesse espectro em 1,55 ppm.

Na Figura 30, é apresentada a região ampliada que se encontram os hidrogênios diastereotópicos do complexo: **a)** H^d e $H^{d'}$; **b)** referente aos hidrogênios H^k, H^e e H^f; **c)** referente ao hidrogênio $H^{f'}$ e **d)** referente ao hidrogênio $H^{e'}$. A atribuição das integrais e as correlações desses hidrogênios diastereotópicos foram realizadas através da interpretação dos espectros de RMN HSQC, COSY e DEPT-135, que confirmam a presença da estrutura do complexo proposto; contudo, a dinâmica espacial desses hidrogênios que influencia nos desdobramentos não está totalmente elucidada, mas esses desdobramentos serão melhor discutidos a seguir no texto.

Conforme observado na molécula do complexo, os hidrogênios e, e', f, f' apresentam, em teoria, desdobramento de duplo duplo dupleto (ddd), mas devido a sobreposição de

algumas ressonâncias e acoplamentos com outros hidrogênios próximos ao grupo etileno, alguns sinais não apresentam, experimentalmente, esse desdobramento. Outro fator a ser considerado é que esses hidrogênios se encontram em uma conformação de anel rígido de 5 membros formados devido à coordenação das duas aminas ao metal; por isso, a mobilidade desses hidrogênios é reduzida e seus ambientes químicos bem definidos.

Figura 30 - Espectro ^{1}H-RMN do complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).



Os hidrogênios diastereotópicos do fragmento etileno do complexo apresentam desdobramentos diferentes uns dos outros, conforme mostrado; contudo, as suas constantes de acoplamento nas diferentes ressonâncias se equivalem. O **H^{e}** apresenta ressonância em 3,47 ppm e apresenta um desdobramento de tripleto de dupleto, com valores de constantes $^{3}J_{e,\,f}$ = 3,4 Hz e $^{2}J_{e,\,e'}$ = 13,0 Hz e $^{3}J_{e,\,f'}$ = 13,0 Hz. O **H$^{e'}$** apresenta sinal em 2,24 ppm e um desdobramento de ddd com $^{2}J_{e',\,e}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{e',\,f}$ = 1,4 Hz e $^{3}J_{e',\,f'}$ = 3,0 Hz. Nota-se que para o acoplamento entre $H_e/H_{e'}$ e $H_{e'}/H_e$ as constantes se equivalem. Para a identificação dos valores de acoplamento do $H^{e'}$ foi utilizado o programa INMR. O **H^{f}** apresenta sinal em 3,32 ppm com um desdobramento de dupleto de tripleto de dupleto e com valores de constantes $^{2}J_{f,\,f'}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{f,\,e}$ = 3,4 Hz, $^{3}J_{f,\,e'}$ = 1,4 Hz e $^{3}J_{f,\,k}$ = 3,4 Hz. Por fim, o **H$^{f'}$**, com deslocamento químico em

2,85 ppm, apresenta um desdobramento de quarteto de dupleto, que possui intensidade relativa de pico 1:3:3:1. Os valores de constante para este hidrogênio são $^{2}J_{f',f}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{f',e}$ = 13,0 Hz, $^{3}J_{f',e'}$ = 3,0 Hz, $^{3}J_{f',k}$ = 13,0 Hz. Novamente, nota-se que as constantes de acoplamento entre os hidrogênios em ressonâncias diferentes são equivalentes. Uma característica desses hidrogênios é a ocorrência de um fenômeno cinético em regime intermediário lento; ou seja, esses hidrogênios não comutam entre si com facilidade.[85] Para uma melhor compreensão desse fenômeno, seria necessário um estudo mais aprofundado, onde se mede vários espectros de RMN em uma janela ampla de temperatura. Dessa forma, com o aumento de temperatura, essa comutação seria mais rápida, modificando os sinais de ressonância e, talvez, facilitando a atribuição das mesmas. Na Tabela 12 a seguir, encontram-se os dados para a comparação das ressonâncias do ligante HL e do complexo são apresentados.

Tabela 12 – Comparativo entre os dados de ^{1}H-RMN do ligante HL e do complexo de rênio.

Ligante HL		Complexo de Re	
Núcleo ^{1}H	**δ (ppm), multiplicidade, integral**	**Núcleo ^{1}H**	**δ (ppm), multiplicidade, integral**
a	10,26, s, 0,96	**a**	9,87, s, 1,00
b	7,13 (^{4}J=1.8), d, 1,00	**b**	7,39 (^{4}J=1.8 Hz), d, 1,00
c	7,40 (^{4}J=1,8), d, 1,00	**c**	7,42 (^{4}J=1,8 Hz), d, 1,00
d	3,643, s, 2,00	**d**	4,86 (^{2}J=13,5 Hz), s, 1,00
		d'	4,35 (^{2}J=13,5 Hz), s, 1,00
e	2,79 (^{3}J=6,3), t, 2,00	**e**	3,47 ($^{3}J_{e,f}$ = 3,4, $^{2}J_{e,e'}$ = 13,0, $^{3}J_{e,f'}$ = 13,0 Hz), td, 1,00
		e'	2,24 ($^{2}J_{e',e}$ = 13,0, $^{3}J_{e',f}$ = 1,4, $^{3}J_{e',f'}$ = 3,0 Hz), ddd, 1,00
f	2,63 (^{3}J=6,3), t, 2, 00	**f**	3,32 ($^{2}J_{f,f'}$ = 13,0, $^{3}J_{f,e}$ = 3,4, $^{3}J_{f,e'}$ = 1,4 Hz, $^{3}J_{f,k}$ = 3,4 Hz), dtd, 1,00
		f'	2,85, ($^{2}J_{f',f}$ = 13,0, $^{3}J_{f',e}$ = 13,0, $^{3}J_{f',e'}$ = 3,0, $^{3}J_{f',k}$ = 13,0 Hz), qd, 1,00
g	2,45, s, 3,00	**g**	2,35, s, 3,00
h	2,29, s, 3,00	**h**	3,10, s, 3,00
i	2,29, s, 3,00	**i**	3,08, s, 3,00
	Não é visualizado no espectro	**j**	11,37, s, 1,00
	Não é visualizado no espectro	**k**	3,57, m, 1,00

Uma das principais evidências de complexação é o aparecimento dos hidrogênios com desdobramentos diferentes; por exemplo, no ligante HL, o fragmento metileno (CH_2-Ar) é apresentado como um simpleto em 3,63 ppm e, no complexo, esse sinal é apresentado como dois dupletos em 4,86 e 435 ppm. Outro fator é o aparecimento de hidrogênios

diastereotópicos, que devido a complexação, apresentam ambientes químicos diferentes. Foram realizados diversos tipos análises de RMN com o objetivo de entender melhor os acoplamentos presentes no espectro de ^{1}H e certificar a formação do complexo em estudo. As atribuições das ressonâncias só foram possíveis devido a esse amplo estudo realizado. Os resultados dessas análises serão mostrados a seguir. Na Figura 31, é apresentado o espectro de ressonância magnética nuclear de ^{13}C referente ao complexo de rênio, onde todos os carbonos foram atribuídos. De acordo com a literatura, os carbonos referente ao núcleo *fac*-$\{Re(CO)_3\}^+$ aparecem geralmente entre 188 e 200 ppm no espectro de ^{13}C-RMN,[40, 86] mas devido ao rênio possuir momento de quadrupolo alto, os núcleos de ^{13}C relaxam muito rápido, o que causa o alargamento do sinal.[87] Para uma melhor visualização desses sinais, seria necessário uma amostra mais concentrada e um maior tempo de aquisição. Na tabela 13, é apresentado os deslocamentos químicos do carbono no RMN ^{13}C.

Figura 31 – Espectro de RMN ^{13}C do complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).

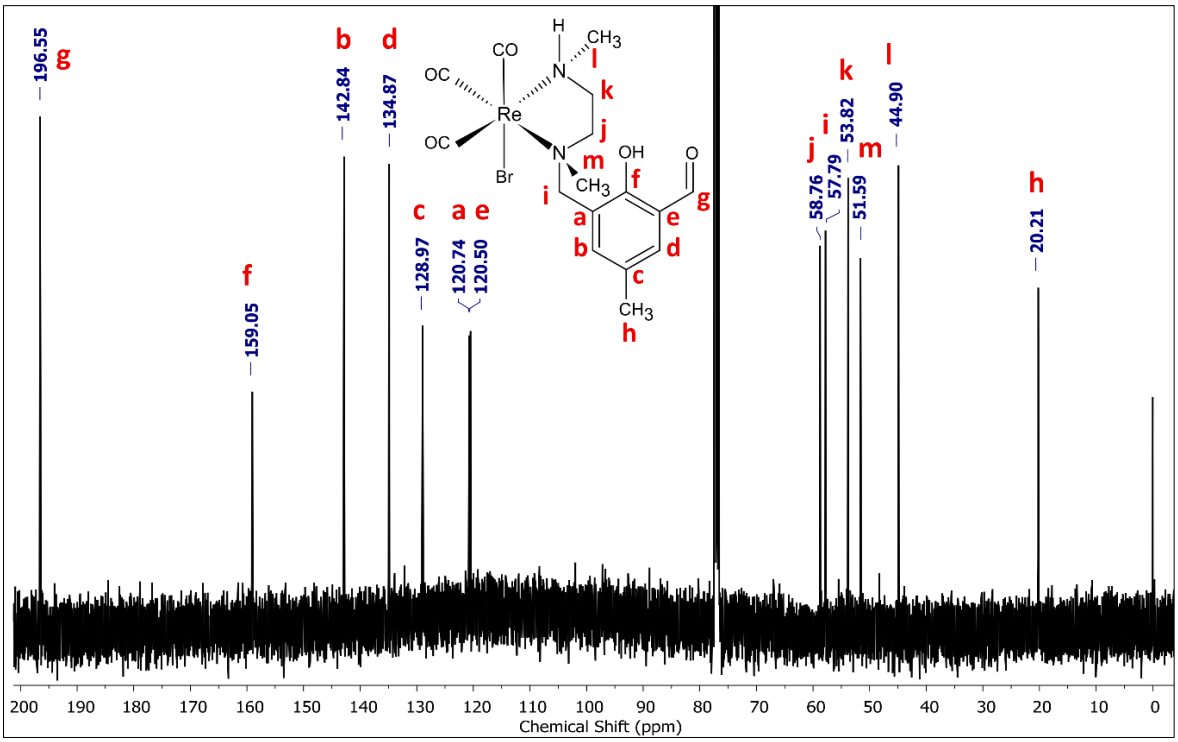
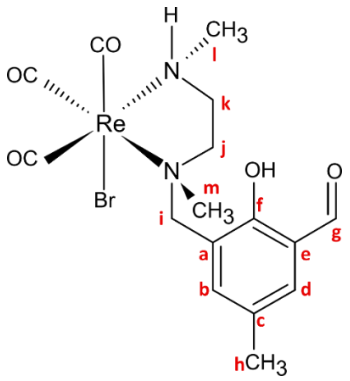


Tabela 13 – Dados de RMN ^{13}C do complexo de rênio ($CDCl_3$, 400 MHz).



Núcleo ^{13}C	δ (ppm)	Núcleo ^{13}C	δ (ppm)
a	120,74	**h**	20,21
b	142,84	**i**	57,79
c	128,97	**j**	58,76
d	134,87	**k**	53,82
e	120,50	**l**	44.90
f	159,05	**m**	51.59
g	196,55		

Na Tabela 14, os dados dos deslocamentos químicos de RMN ^{13}C do ligante HL e do complexo são mostrados de forma comparativa. Observa-se que, de modo geral, os sinais do complexo são levemente deslocados quando comparados com as ressonâncias do ligante, e isso também é observado nos espectros de ^{1}H-RMN.

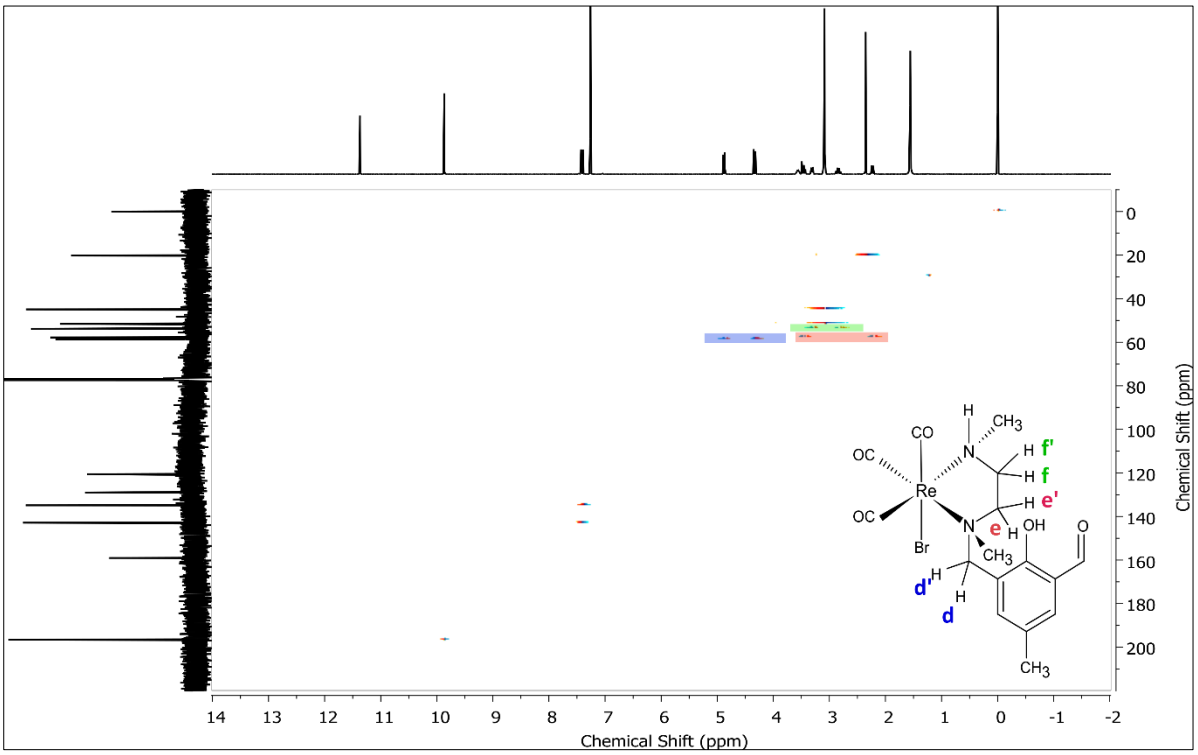
Tabela 14 – Comparativo entre os dados de RMN ^{13}C do ligante HL e do complexo de rênio.

Ligante HL		complexo de Re	
Núcleo ^{13}C	**δ (ppm)**	**Núcleo ^{13}C**	**δ (ppm)**
A	124,82	**a**	120,74
B	136,89	**b**	142,84
C	128,08	**c**	128,97
D	128,91	**d**	134,87
E	122,34	**e**	120,50
F	159,30	**f**	159,05
G	192,49	**g**	196,55
H	20,27	**h**	20,21
I	58,29	**i**	57,79
J	56,37	**j**	58,76
K	48,96	**k**	53,82
L	36,27	**l**	44.90
M	42,00	**m**	51.59

Na Figura 32, encontra-se o espectro de correlação de RMN HSQC que foi de extrema importância para a atribuições de todos hidrogênios do ^{1}H-RMN aos seus respectivos carbonos do RMN ^{13}C, principalmente os hidrogênios diastereotópicos. No espectro de ^{1}H-RMN os H^{e} e $H^{e'}$ não apresentam sinais vizinhos (H^{e}=3,46 ppm e $H^{e'}$=2,25 ppm), e essa atribuição foi realizada após a correlação apresentada no RMN de HSQC. De forma similar, as atribuições das

ressonâncias H^f e $H^{f'}$ só foram possíveis após essa correlação. Os hidrogênios diastereotópicos estão ilustrados com uma faixa colorida no espectro abaixo: azul para os H^d e $H^{d'}$; vermelhos para os H^e e $H^{e'}$, e verde para os H^f e $H^{f'}$. No Anexo G – Figura 56, encontra-se a ampliação da região colorida do espectro abaixo para maior clareza.

Figura 32- Espectro RMN HSQC complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).



No espectro de RMN COSY (do inglês, *Correlated Spectroscopy*) na Figura 33, pôde-se correlacionar os espectros ^1H *versus* ^1H e, dessa maneira, verificar quais hidrogênios interagem um com o(s) outro(s) na presente molécula. Na Tabela 15, encontra-se a relação dos acoplamentos mais relevantes: os hidrogênios do grupo etileno (em azul) e da amina secundária (em verde) que, desde o início, foram motivo de muitas dúvidas nas suas atribuições e no modo com o qual estão desdobrados. As imagens ampliadas da região onde se encontram os hidrogênios diastereotópicos se encontra ao final desse texto, no Anexo H – Figuras 57 e 58.

Figura 33 - Espectro RMN COSY complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).

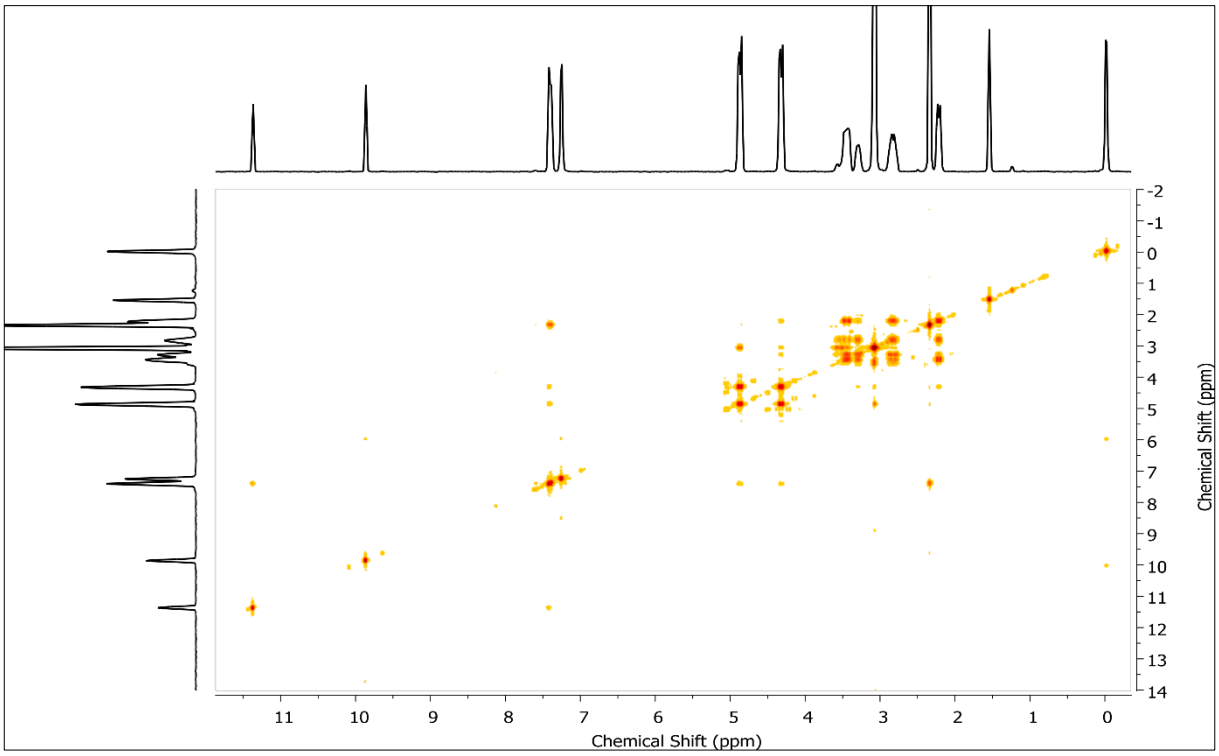
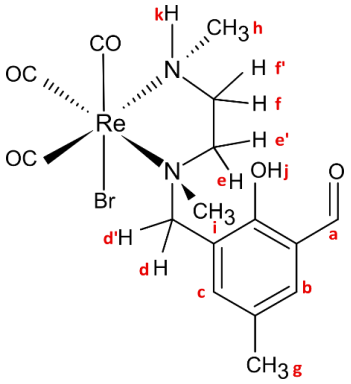


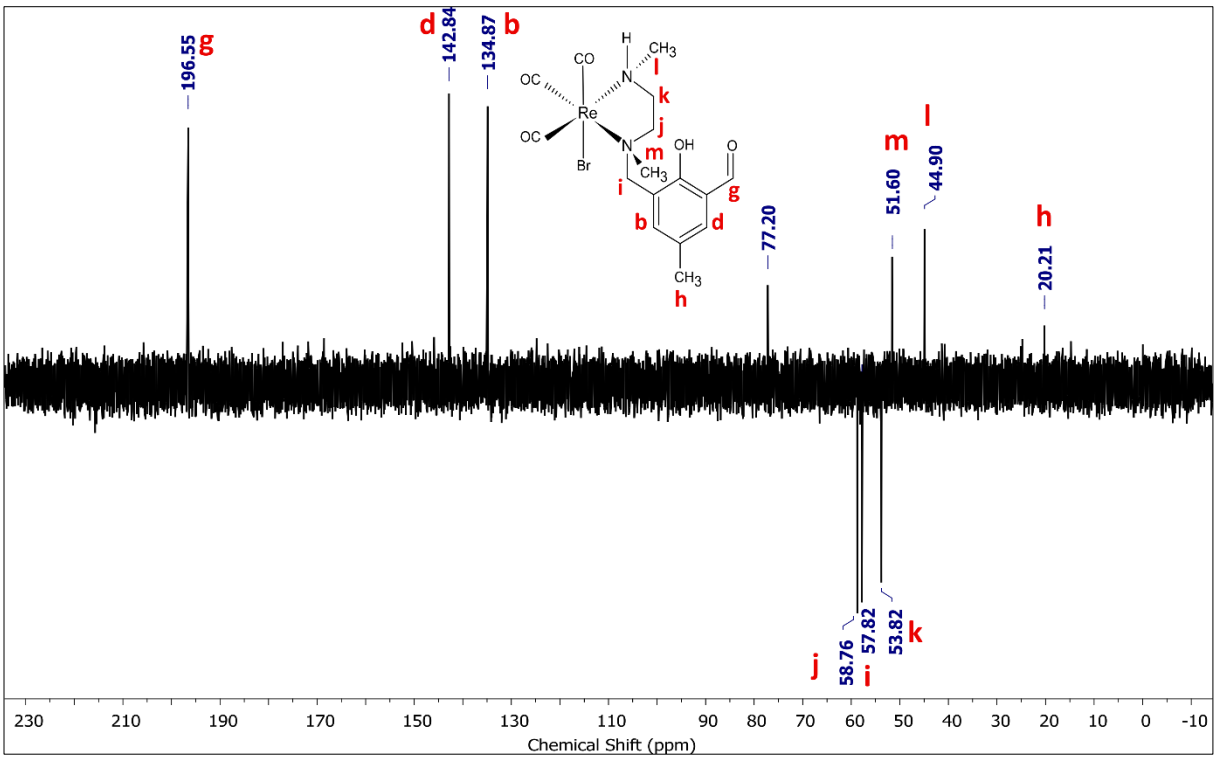
Tabela 15 - Acoplamentos dos hidrogênios diastereotópicos (azul), da amina secundária (verde).



Hidrogênios	H^e	$H^{e'}$	H^f	$H^{f'}$	H^h
H^k					
H^e					
$H^{e'}$					
H^f					
$H^{f'}$					

Na Figura 34 é mostrado o espectro de RMN DEPT-135 que pôde nos confirmar, como esperado, a presença dos metilenos e dos grupos metil presente no complexo. É importante lembrar que carbonos quaternários não aparecem no espectro de DEPT-135; portanto, os carbonos C^a, C^c, C^e e C^f não se encontram no espectro abaixo. Com os estudos de RMN foi possível a identificação, atribuição das integrais, e a identificação dos desdobramentos e acoplamentos presente na estrutura do complexo, evidenciando a formação do mesmo.

Figura 34 - Espectro RMN DEPT-135 do complexo de rênio (CDCl3 em 400MHz).



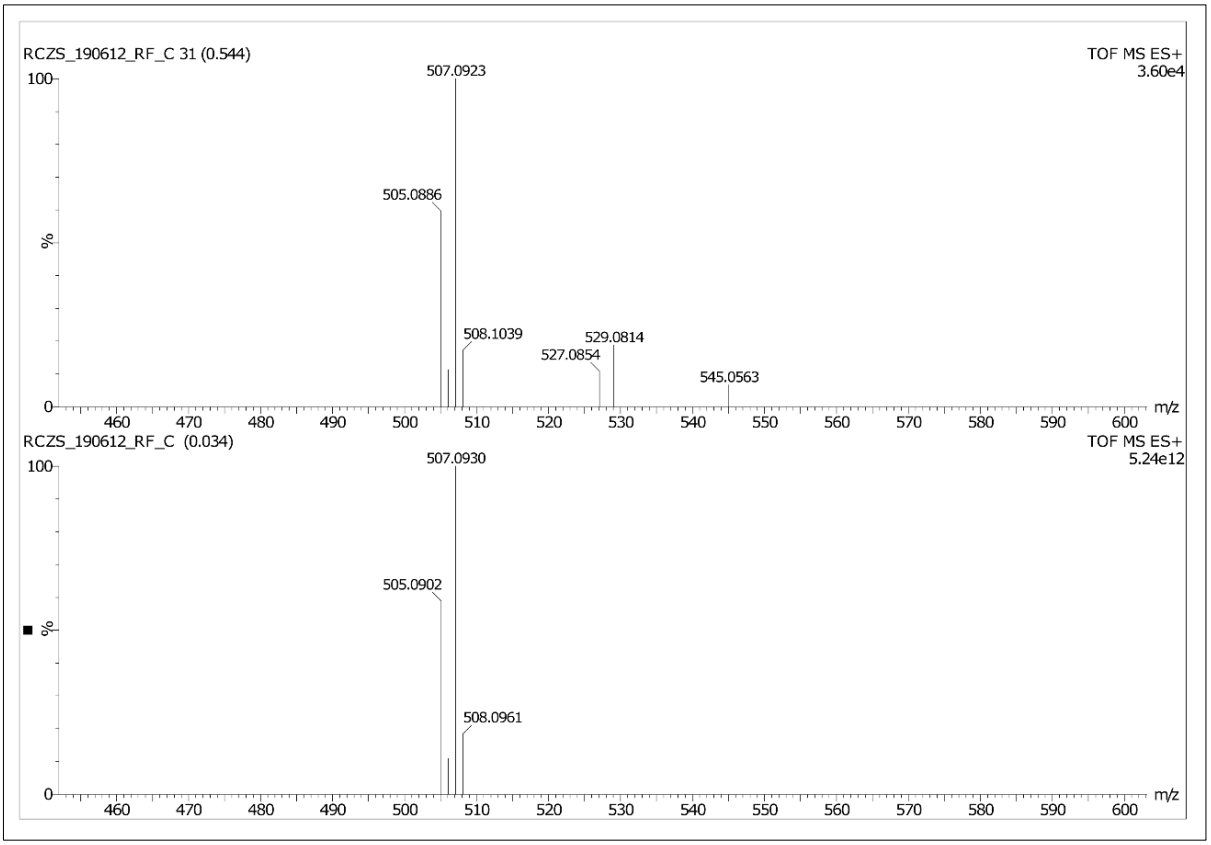
Por fim, foi realizado a simulação computacional de RMN ^{1}H e ^{13}C para o complexo de Re e as tabelas com a comparação das ressonâncias experimentais e teóricas encontram-se no Anexo F. Igualmente como ocorrido com a simulação para o ligante HL e para o seu cloridrato, os valores dos deslocamentos químicos teóricos obtidos não são idênticos aos valores apresentados experimentalmente. No entanto, o cálculo apresenta as mesmas quantidades de ressonâncias e seguem o mesmo padrão dos valores de ressonâncias apresentadas experimentalmente. Um fato importante a ser considerado é a presença das ressonâncias para os três grupos carbonila (CO) no ^{13}C-RMN nos dados da simulação teórica. Experimentalmente, essas ressonâncias apresentam os maiores valores de deslocamentos químicos e, quando observados, apresentam intensidade bem baixa. As simulações computacionais de RMN foram coerentes com os valores deslocamentos químicos esperados para as ressonâncias experimentais, o que atribui confiabilidade à simulação.

iii-) Espectrometria de Massas (MS-ESI):

O complexo em estudo foi analisado por ESI-MS no modo positivo, em MeOH. O

espectro forneceu informações sobre a massa do composto, conforme Figura 35, onde o espectro superior na imagem é o experimental, enquanto o espectro inferior se refere ao modelo isotópico calculado. É de relevância ressaltar que na natureza há dois isótopos do rênio: o ^{187}Re (62,6%) e o ^{185}Re (37,4%); portanto, o pico mais alto no espectro deve corresponder ao ^{187}Re, cuja atribuição será discutida, e o pico que antecede este corresponde ao isótopo ^{185}Re que, devido a menor abundancia, possui intensidade menor também.

Figura 35 - Espectro de Massas (ESI-MS) do complexo de rênio experimental (superior) e teórico (inferior).

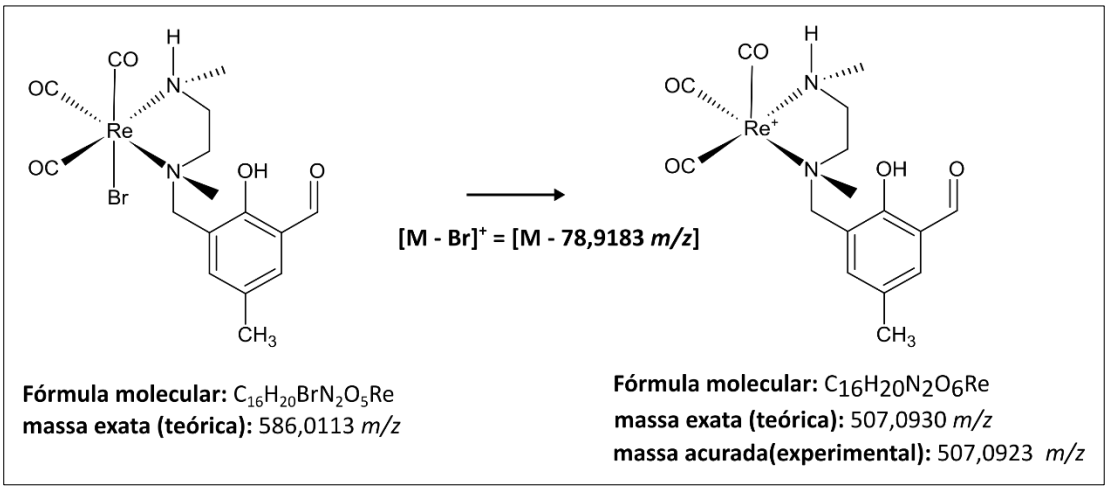


O espectro do produto obtido apresenta um pico principal relacionado ao ^{187}Re com razão massa/carga (m/z) de 507,0923 e ao seu lado esquerdo, encontra-se o pico do ^{185}Re em 505,0886 m/z. A alteração da massa monoisotópica teórica de 586,0113 m/z com a experimental de 507,0923 (m/z) pode ser atribuída à perda de um íon Br^-, $[M - Br]^+$, durante a ionização da molécula,[41] resultando no íon molecular apresentado. Nota-se que ao perder um Br^- a espécie complexa fica positivamente carregada e é então detectada em modo positivo. Assim, os sinais experimentais em m/z 505,0902 e em 507,0923 estão em boa

concordância com os valores esperados para a espécie $[C_{16}H_{20}N_2O_5Re]^+$ - ou seja, quando o complexo perde um íon Br^-.

De acordo com a figura 36, a massa acurada é 507,0923 m/z e a massa exata teórica é 507,0930 m/z. Dessa maneira, foi realizado o cálculo de grau de exatidão, com a mesma fórmula do item 4.1.2 desse trabalho, e esse apresentou valor de 1,38 ppm. O erro da medida é calculado a partir massa monoisotópica. Na Figura 36, encontra-se a proposta do processo de ionização para o complexo de rênio.

Figura 36 – Proposta de processo de ionização MS-ESI para o complexo de rênio.

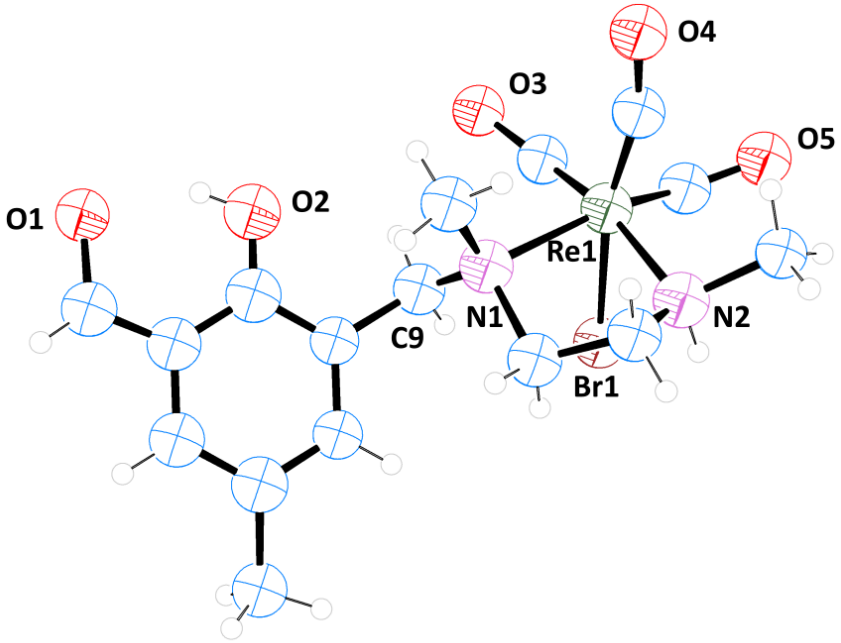


iv-) Difração de raios X

Foram realizadas diversas tentativas de recristalização logo após a síntese do complexo, utilizando várias combinações de solventes, assim como utilizando solventes puros. Os monocristais foram obtidos em metanol por evaporação lenta. Foram realizadas várias medições de DRX dos monocristais obtidos; entretanto, na maioria das vezes, não foi possível o refinamento do modelo devido à baixa qualidade dos mesmos. Por fim, foi realizado o refinamento isotrópico onde se obteve a estrutura do complexo sintetizado. Entretanto, o refinamento anisotrópico não foi estável, resultando em um alto valor do parâmetro R1, não sendo possível obter valores precisos das distâncias e ângulos entre os átomos na estrutura cristalina. A imagem da estrutura cristalina referente ao refinamento isotrópico do complexo de rênio encontra-se na Figura 37. Outras imagens de diferentes perspectivas da estrutura

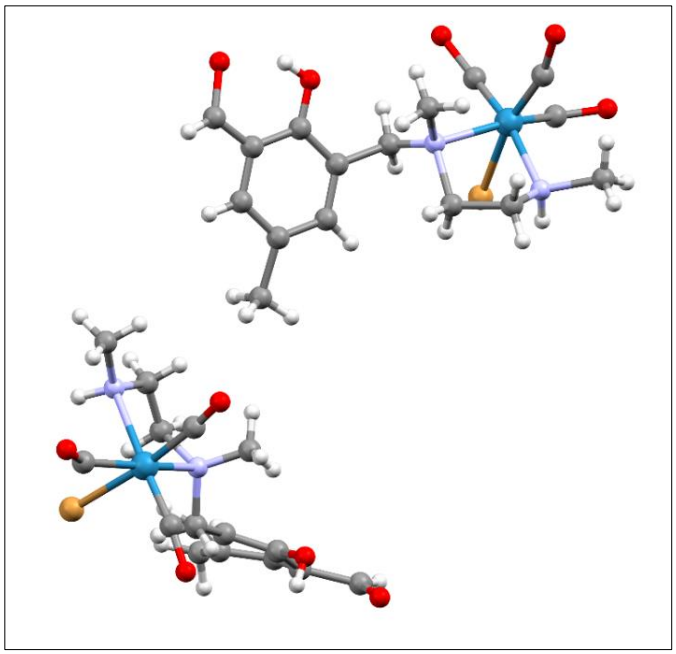
cristalina e da célula unitária encontram-se no Anexo J.

Figura 37 - Representação ORTEP 50% de probabilidade do complexo de rênio.



A estrutura cristalina do complexo apresenta grupo espacial P2/n e duas moléculas do complexo na unidade assimétrica, as quais são apresentadas na Figura 38 gerada pelo software Mercury. Como se pode observar, a unidade assimétrica contém o metal Re (I) coordenado às aminas do ligante HL e ao íon brometo, resultando em um complexo com carga neutra, conforme predito pela análise de condutimetria (item 3.2). Mesmo sem os dados precisos de ângulos e distâncias de ligação, é possível obter algumas informações da estrutura cristalográfica. Conforme mostrado na Figura 37, é evidenciado que os átomos de oxigênio formam ligação de hidrogênio (por exemplo, O do aldeído e O-H do fenol). É observada também a posição dos hidrogênios diastereotópicos presentes na molécula, confirmando a interação desses com os hidrogênios vicinais e geminais, o que corrobora os resultados de RMN. Conforme observado, cada um desses hidrogênios possui uma vizinhança diferente devido à configuração espacial do complexo; isso justifica os acoplamentos visto nos espectros de RMN apresentados. Conforme mencionado, a estrutura apresentada encontra-se apenas com refinamento isotrópico, contudo é irrefutável a geometria de coordenação e formação do complexo em estudo. Os dados cristalográficos do monocristal encontram-se na Tabela 29 do Anexo I, ao final desse texto.

Figura 38- Representação Mercury do complexo de rênio.

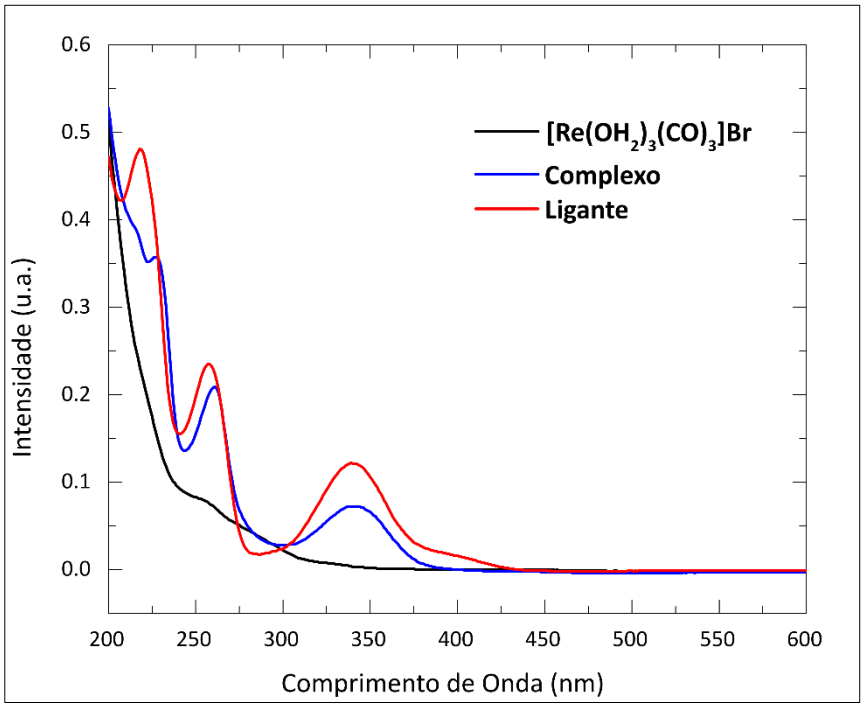


v-) Estrutura eletrônica e Espectroscopia eletrônica de UV-Vis:

Com intuito de corroborar as análises dos espectros experimentais no UV-Vis, foram realizadas simulações computacionais, onde se calculou as energias dos orbitais moleculares e se atribuiu quantitativamente as transições eletrônicas do complexo de rênio e a energia em que elas ocorrem em eV (eletronvolts). Para melhor compreensão dos resultados e das simulações realizadas, é mostrado, na Figura 39, a sobreposição dos espectros experimentais de UV-Vis do ligante HL, do complexo de rênio e do complexo precursor $[Re(OH_2)_3(CO)_3]Br$. Vale notar que os espectros foram medidos com soluções em MeCN com as mesmas concentrações para que as intensidades das absorções sejam comparáveis.

Na figura 39, para o espectro do complexo precursor (curva preta), observa-se bandas de baixa intensidade na região do UV. O fato de as transições estarem localizadas na região do UV sugere uma alta EECL, típica de complexos de metal d^6. Na curva azul, encontra-se o espectro do complexo de rênio. A complexação causa deslocamentos discretos das absorções do ligante para regiões de menor energia e o surgimento de uma quarta absorção (próxima a 218 nm).

Figura 39 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o complexo de rênio, ligante puro HL e o sal *fac*[Re(H2O)3(CO)3]Br.



Após a obtenção dos dados da estrutura cristalina do DRX, foram realizados os cálculos computacionais. Dessa maneira, foi possível otimizar a estrutura para a obtenção das informações de estrutura eletrônica do complexo e ligante proposto. Os dados dos métodos, otimizações e funcionais utilizados para os cálculos estão descritos no item 3.3. Na Figura 40, pode-se visualizar a sobreposição do espectro experimental e calculado no UV-Vis, e na imagem seguinte (Figura 41), é possível verificar em tamanho ampliado dos orbitais moleculares envolvidos nas transições eletrônicas.

Conforme observado nas imagens abaixo, 5 transições eletrônicas foram encontradas com contribuição maior que 20% (conforme descrito em métodos, item 3.3, foram consideradas apenas transições eletrônicas que apresentaram contribuição maior de 20% para a absorção). Na tabela 16, encontram-se resumidos os dados dessas transições. As transições eletrônicas foram atribuídas com base nos MOs calculados e se pôde notar que as transições 136 → 140 (351 nm) e 133 → 140 (256 nm) ocorrem nos orbitais moleculares do ligante, demostrando um caráter π → π*. Essas transições são similares as transições do espectro de UV-Vis do ligante na Figura 24 e envolve MOs semelhantes. As transições seguintes, de maior

energia, começam a apresentar participação dos orbitais do metal, conforme observado nas transições 139 → 141 (234 nm) e 136 → 14 (226 nm). Para essas transições, sugere-se um caráter de transferência de carga dos tipos MLCT (do inglês, *metal-to-ligand charge transfer*) e LMCT (do inglês, *ligand-to-metal charge transfer*), respectivamente. Por fim, observa-se a transição de maior energia, 139 → 144 (em 214 nm), onde se observa no MO uma transição com possível caráter MLCT.

Tabela 16 - Dados das transições eletrônicas para o espectro de UV-Vis do complexo de rênio.

Estado	Transição	Caráter da transição (sugerido)	Comprimento de onda (nm)
01	136 **HOMO-3** → 140 **LUMO**	π → π*	351.13
11	133 **HOMO-6** → 140 **LUMO**	π → π*	256.35
19	136 **HOMO-3** → 141 **LUMO+1**	LMCT	226.51
25	139 **HOMO** → 141 **LUMO+1**	MLCT	234.35
30	139 **HOMO** → 144 **LUMO+4**	MLCT	214.31

Figura 40 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o complexo de rênio experimental e teórico.

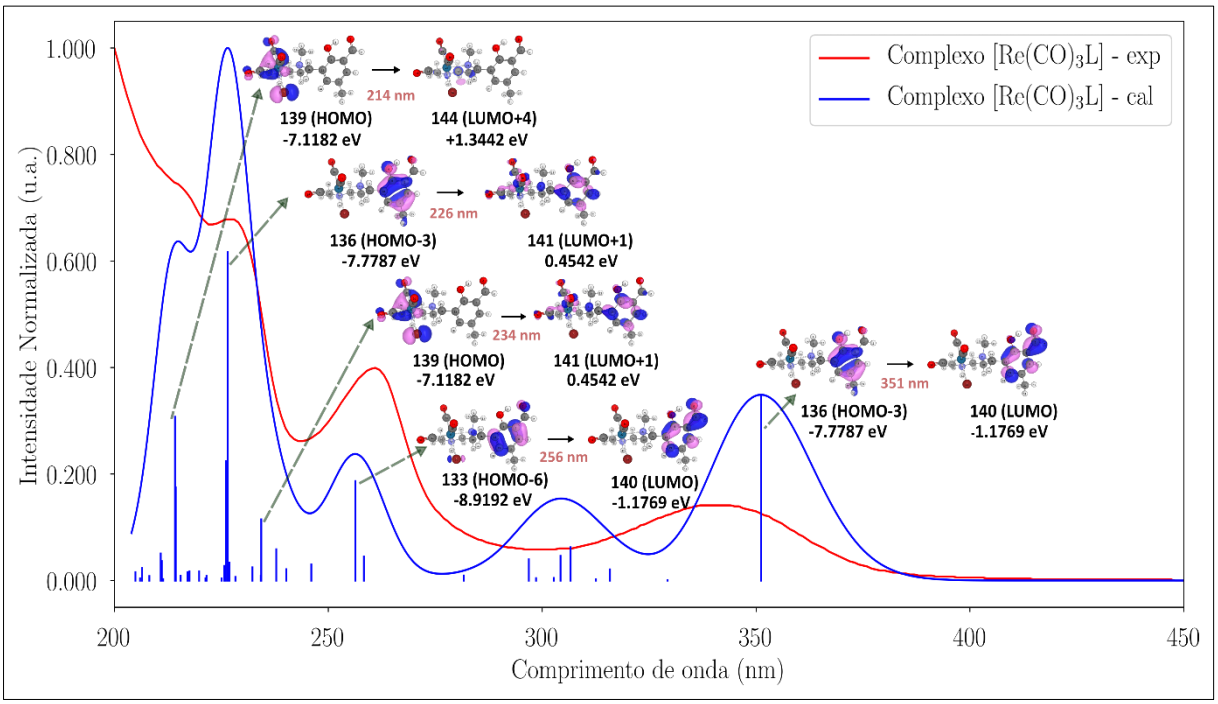
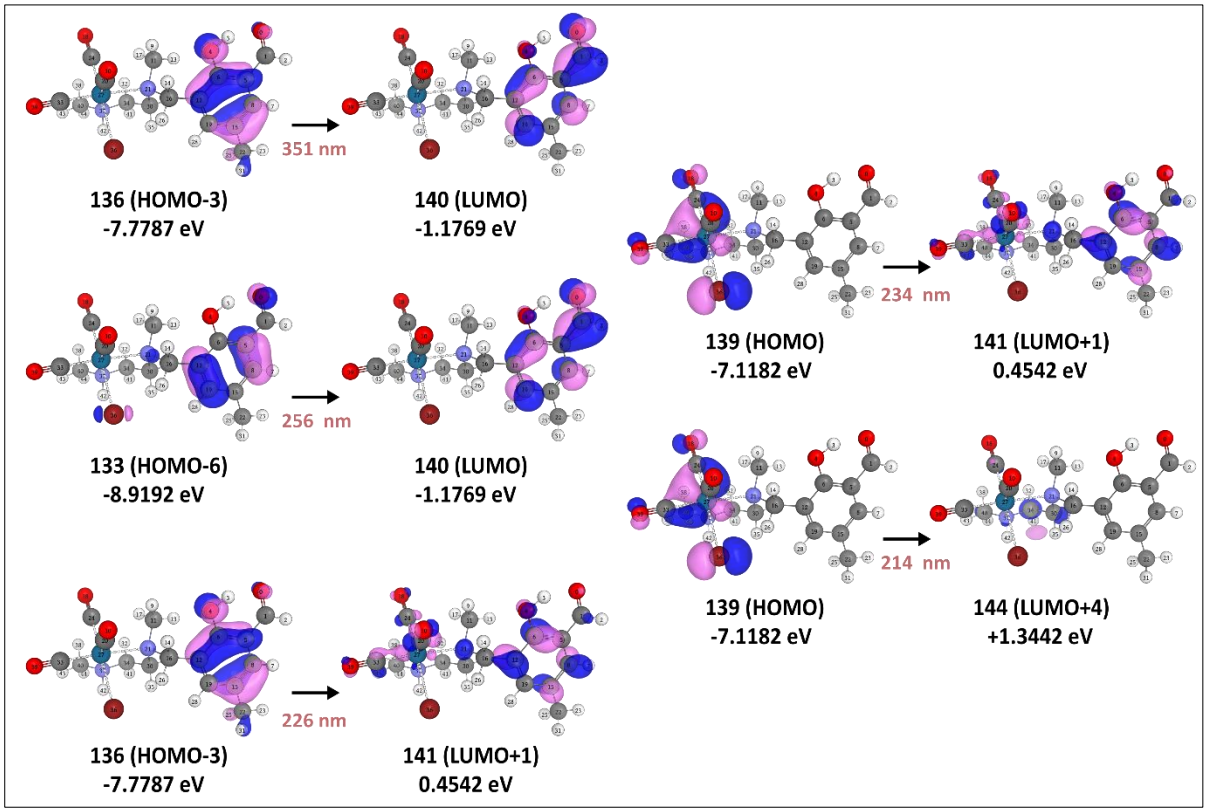


Figura 41 – Ampliação dos estados e orbitais moleculares (MOs) envolvidos nas transições eletrônicas do complexo de rênio.



Alguns fatos podem ser considerados para a discussão do espectro de absorção no UV-vis calculado em relação ao experimental. No espectro calculado, na região de 300 nm, há uma banda de menor intensidade que não é visível no espectro experimental. No espectro experimental, entre 310 e 290 nm, aproximadamente, há um vale, e este se encontra acima da linha de base, sugerindo que possa haver uma banda coalescida, em concordância com o espectro calculado. Por este motivo, foi realizada a deconvolução do espectro experimental (Figura 62 em Anexo K) a fim de verificar a presença de alguma banda nessa região. No espectro deconvoluido do complexo, pôde-se notar o aparecimento de uma banda difusa (linha tracejada amarela) entre 350 a 210 nm. O máximo dessa banda se aproxima do máximo da transição calculada em 234 nm, o que sugere que essa banda deconvoluida possa ter participação nessa transição eletrônica e, portanto, ainda não esclarecendo a banda em 300 nm do espectro calculado.

O aparecimento da banda no espectro de UV-Vis calculado na região de 300 nm pode ser explicado pelo fato de que, para a simulação dos espectros, foram utilizadas 40 raízes para

a determinação do número de estados de transição eletrônica, e essa quantidade excessiva de raízes pode gerar artefatos no espectro (por exemplo, maiores intensidades ou transições inexistentes). Mesmo assim, tendo considerado os aspectos supramencionados, os cálculos realizados foram importantes para a determinação e atribuição das bandas no espectro. Dúvidas referente ao caráter de transição poderiam ter sido esclarecidas com maior precisão; para tal, seriam necessários cálculos mais aprofundados que demandariam um maior tempo e processamento computacional. No entanto, é evidente a boa correlação entre os espectros teórico e experimental.

5 CONSIDERAÇÕES

O ligante HL e o seu cloridrato foram obtidos com sucesso e com rendimento de 90%. A princípio era esperado que a reação ocorresse em uma única etapa, contudo, devido à baixa pureza do material obtido, a síntese foi realizada em três etapas que envolveram: a monoproteção do precursor diamino com o Boc, uma S_N2 e uma etapa de desproteção, onde obteve-se o HL·HCl e o ligante HL. As caracterizações realizadas confirmam a formação do produto proposto, que pode ser utilizado na complexação com outros metais em diversas aplicações na química.

O complexo de rênio também foi obtido satisfatoriamente, com rendimento de 43%. Inicialmente, esperava-se obter o complexo de rênio coordenado aos três sítios de ligação do ligante HL tridentado, (O, N e N'); entretanto, formou-se o complexo coordenado apenas pelas aminas, permanecendo o oxigênio fenólico não coordenado. As caracterizações realizadas, em especial o estudo de RMN, demostraram de maneira muito esclarecedora a sua formação. Não foi possível uma discussão aprofundada sobre os ângulos e distâncias de ligação pela análise de DRX realizada devido aos defeitos do cristal; entretanto, a obtenção da imagem da estrutura cristalina do complexo, juntamente com a tabela com os dados cristalográficos, confirma de forma ainda mais contundente a formação do complexo e a sua geometria de coordenação. Os cálculos dos espectros de absorção no UV-Vis e a obtenção dos orbitais moleculares envolvidos auxiliaram na discussão das transições eletrônicas presentes no espectro experimental, com os quais se pôde sugerir o caráter de transferência eletrônica para as transições. Por fim, a análise de MS-ESI de alta resolução confirmou, com precisão, a massa dos compostos. Dessa forma, foi finalizada a primeira parte desse trabalho com ênfase nas sínteses do ligante e complexo inéditos na literatura, conforme proposto para esse projeto.

SEÇÃO II

6 PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materiais

Na tabela 17, são apresentados os produtos químicos utilizados nas marcações e análises pós marcação presente nesse trabalho.

Tabela 17 - Produtos químicos utilizados na marcação com o ^{99m}Tc.

Reagente	Teor	Procedência
Ácido clorídrico 1 M	-	Synth
Ácido Trifluoroacético (TFA)		Merck
Borano carbonato de sódio	-	Concedido pelo Dr. António M. R. Paulo
Boro-hidreto de sódio	-	Sigma Aldrich
Carbonato de sódio	99,50%	Vetec
Frasco a vácuo	-	Hypofarma
Pertecnetato de sódio	-	Gerador $^{99}Mo/^{99m}Tc$
Solução salina	-	Hypofarma
Solução tampão carbonato pH 8,5		Preparada no Lab
Solução tampão PBS pH 7		Preparada no Lab
Tartarato de sódio e potássio	-	Synth
Tetraborato de sódio. $10H_2O$	-	Sigma Aldrich

6.2 Instrumentação e Caracterização dos materiais

As etapas deste trabalho que envolveram o uso de materiais radioativos foram realizadas sob a supervisão do Dr. Fábio L. N. Marques, no Instituto de Radiologia da Faculdade de Medicina-USP no Hospital das Clínicas – SP (HC-FMUSP).

Análise por HPLC

As radiomarcações foram analisadas em dois equipamentos de HPLC (High performance liquid chromatography). Para análise dos produtos das marcações, da avaliação de estabilidade do $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ e dos produtos das reações em micro-ondas, foi utilizado um cromatógrafo da Shimadzu, controlado pelo software Class P, equipado com um

analisador de cintilação em fluxo da Perkin Elmer - Radiomatic 610TR, controlado pelo software ProFSA. Para as análises de avaliação e comparação de tempo de retenção (TR) entre a amostra "fria" de rênio e "quente" de tecnécio-99m, foi utilizado o Sistema HPLC 1260 Infinity II LC System (Agilent, Holanda).

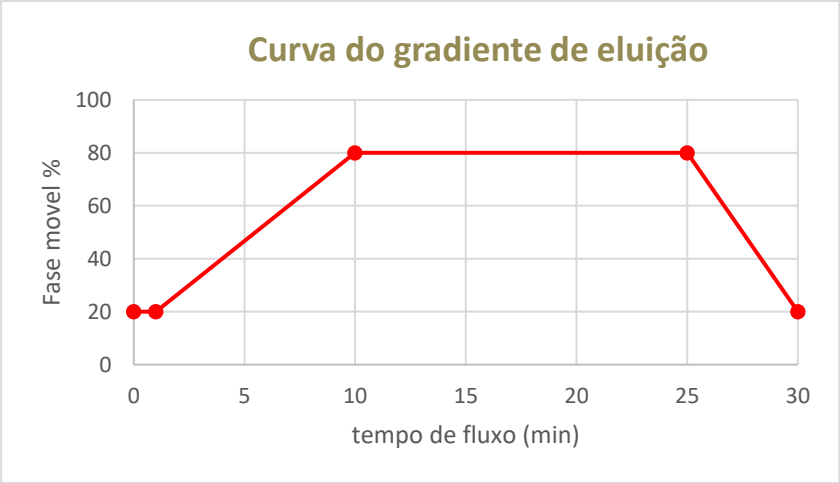
As condições gerais utilizadas nas análises para ambos os HPLCs para as radiomarcações foram:

Coluna: Synergi-Hydro-RP 80 Å (250 mm x 4.6 mm x 4µm) ® Phenomenex

Detecção na região do UV: 254 nm para os ligantes e complexos de Re.

Fase móvel: Foram utilizadas as fases móveis: (A) Solução aquosa de TFA 0,1 % e (B) solução em acetonitrila de TFA 0,1%. As proporções utilizadas nas corridas cromatográficas foram: 80% da fase (A) de 0 a 1 minuto, seguido de aumento gradual da proporção da fase (B), de 1 a 10 minutos, até atingir a proporção 20:80% (A:B); em seguida, seguiu-se em modo isocrático de 10 a 25 minutos com a mesma proporção e, de 25 a 30 minutos, retornou-se à condição inicial. Na Figura 42 é ilustrado o perfil de gradiente da eluição realizada.

Figura 42 - Curva de gradiente da eluição utilizada no HPLC.



Contador Gama Automático

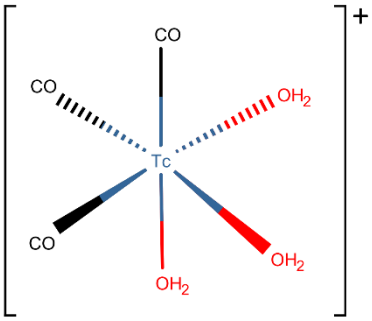
Amostras sólidas (tiras de papel impregnada com material radioativo) ou líquidas (coeficiente de partição) tiveram a radioatividade mensurada em um detector de radiação, do tipo poço com cristais de NaI(Tl), Hidex, Finlândia.

Radiomarcações

Todos os procedimentos que envolveram a manipulação de fontes radioativas não-seladas foram realizados de acordo com as regras de proteção com mínima exposição à radiação e cuidados apropriados. As manipulações das soluções de ^{99m}Tc foram feitas usando barreira de proteção de chumbo. Os frascos contendo as soluções radioativas foram mantidos em contentores de chumbo com a espessura adequada e manipulados com pinças longas. A atividade máxima das soluções foi de 7,4 GBq (200 mCi).

6.3 Métodos de síntese

Preparação do complexo [^{99m}Tc] Tecnécio-triaqua-tricarbonil – [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$



10

Em um frasco de vidro, do tipo penicilina, foram adicionados 5,5 mg de boroidreto de sódio, 4 mg de carbonato de sódio e 20 mg de tartarato de sódio e potássio. O frasco foi fechado com rolha de borracha e lacrado com cinta de alumínio. Através de um sistema de agulhas, o frasco foi saturado com monóxido de carbono (CO), com o fluxo de gás sendo mantido por 30 minutos. Em seguida foram adicionados 1 mL de solução de pertecnetato de sódio, com atividade entre 30 e 35 mCi, e a solução foi aquecida durante 30 minutos à temperatura de 100 °C. Após esse período, deixou-se a solução esfriar a temperatura ambiente. A solução final apresentou pH = 11, e o valor foi ajustado para pH 8,5 ou 7. Para pH 8,5, adicionou-se 200 µL de uma solução tampão carbonato e 100 µL de HCl 1 M; para pH = 7, adicionou-se 120 µL de HCl 1 M. No Esquema 13 é apresentado um esquema geral de preparação do complexo de tecnécio, [$^{99m}TcCl(CO)_3(HL)$], com as diferentes adições de solução tampão: carbonato (pH 8,5) ou PBS (pH 7).

Estudo da estabilidade do complexo [^{99m}Tc] Tecnécio-99m-triaqua-tricarbonil – [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$

Para o estudo de estabilidade foi utilizada a solução com pH = 7 resultante da etapa anterior de preparação do [$^{99m}Tc(OH_2)^3(CO)_3]^+$. A solução foi dividida em 2 frascos do tipo penicilina (A e B). A amostra A ficou reservada em temperatura ambiente e a amostra B foi

aquecida por 30 minutos. Ambas as amostras foram armazenadas em condições ambientes por 6 horas e, após esse período, injetadas no HPLC.

Preparação do complexo [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)] pH 8,5

Em dois frascos de vidro, do tipo penicilina, um com 1 mg e o outro com 5 mg do ligante HL, foram adicionados 150 µL de solução de [^{99m}Tc(OH$_2$)$_3$(CO)$_3$]$^+$ pH 8,5 e 200 µL de solução tampão carbonato pH 8,5. Os vidros foram tampados com tampa de borracha e lacrados com uma cinta de alumínio. As soluções foram aquecidas durante 30 minutos à temperatura de 70°C e, depois, foram deixados para esfriar à temperatura ambiente e, em seguida, injetada no HPLC.

Preparação do complexo [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)] pH 7

Em dois frascos de vidro do tipo penicilina, um com 1 mg e o outro com 5 mg do ligante HL, foram adicionados 150 µL de solução de [^{99m}Tc(OH$_2$)$_3$(CO)$_3$]$^+$ pH 7 e 200 µL de solução tampão PBS pH 7. Os vidros foram tampados com tampa de borracha e lacrados com uma cinta de alumínio. As soluções foram aquecidas durante 30 minutos à temperatura de 70 °C e, posteriormente, foram deixadas para esfriar à temperatura ambiente e, em seguida, injetada no HPLC.

Preparação do complexo [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)] pH 7 com aquecimento em micro-ondas

Em um frasco de vidro, do tipo penicilina, foi adicionado 150 µL de solução de [^{99m}Tc(OH$_2$)$_3$(CO)$_3$]$^+$ pH 7, 1 mg do ligante HL, e 200 µL de solução tampão PBS pH 7. O vidro foi tampado com tampa de borracha. A solução foi irradiada no reator de micro-ondas (100 W) e em seguida foi injetada no HPLC. Esse procedimento foi realizado quatro vezes, variando as condições de tempo e temperatura: 1 minuto~~s~~ e 5 minutos, nas temperaturas de 37 °C e 70°C.

Eletroforese em papel do complexo [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)] (pH 7 e 1 mg)

A eletroforese foi realizada em uma cuba para eletroforese horizontal previamente lavada com água Mili-Q e preenchida com solução eletrolítica de PBS (1 M, pH 7,4). Fitas de papel Whatman n° 1 com 1,5x28 cm foram umedecidas na própria mistura de soluções e fixadas na cuba; uma gota do radiocomplexo foi depositada no meio da fita e a uma tensão de

280 V foi mantida por 1,5 horas. As fitas foram secas, cortadas em segmento de 1,0 cm, e a radioatividade foi medida em um contador de radiação gama tipo poço. Os resultados são apresentados como porcentagem (%) de radioatividade total por distância (cm) da fita.

Determinação do log P (pH 7 e 1 mg)

A lipofilicidade do composto [$^{99m}TcCl(CO)_3(HL)$] foi avaliada pela determinação do coeficiente de partição (*log* $P_{o/w}$) no sistema bifásico *n*-octanol/PBS 0,1 M (pH 7,4), usando o método de múltiplas extrações. Uma mistura de 1 mL de PBS 1 M (pH ≈ 7,4) e 1 mL de *n*-octanol foram mantidos sob agitação em vortex por 1 min. 100 µL do produto radiomarcado foram adicionados, e a mistura foi agitada novamente em vortex por 1 min. A mistura resultante foi centrifugada por 2 minutos. Três alíquotas de 100 µL de cada fase (triplicata), aquosa e orgânica, foram coletadas e tiveram a radioatividade medida em contador tipo poço de radiação γ. O coeficiente de partição ($P_{o/w}$) foi calculado da seguinte forma:

$$P_{o/w} = C1/C2$$

Onde:

C1 = radioatividade na fase orgânica (*n*-octanol)

C2 = radioatividade na fase aquosa (PBS 1M)

O resultado do logaritmo do quociente com *log* $P_{o/w}$ e representa a lipofilicidade do composto, onde:

Log de P < 0, a substância apresenta um caráter hidrofílico.

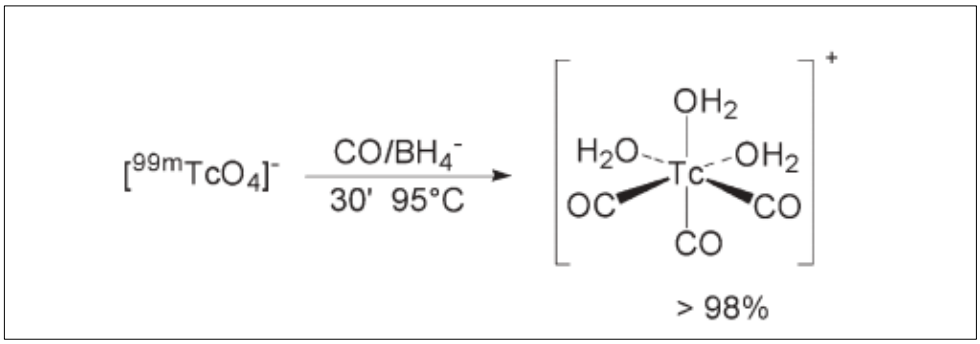
Log de P = 0, a substância apresenta um caráter hidrofílico e lipofílico.

Log de P > 0, a substância apresenta um caráter lipofílico.[88]

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

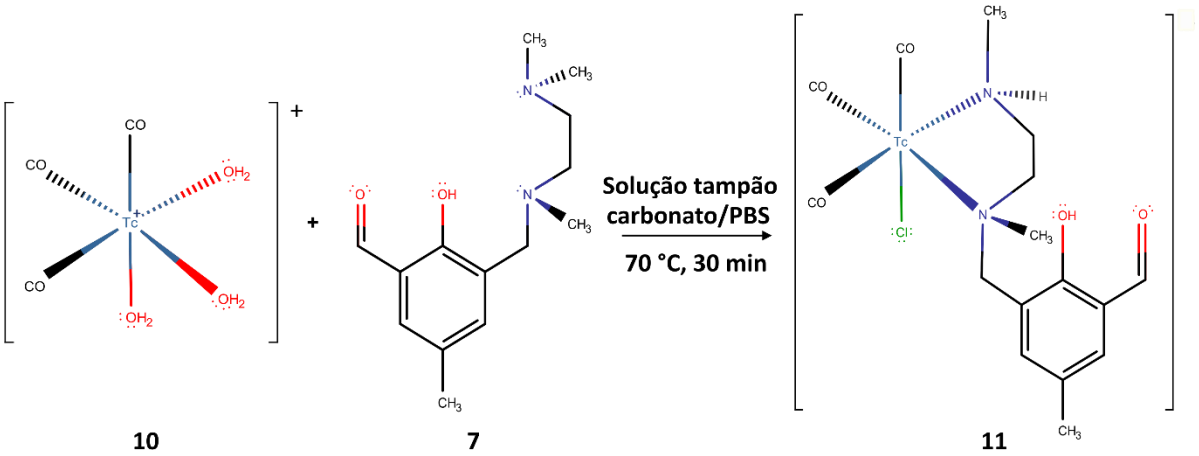
Para uma melhor compreensão dos resultados, é interessante abordar previamente algumas características estruturais do radiocomplexo. Para a preparação do complexo precursor é utilizada uma solução salina e sais redutores, que promovem a redução do $^{99m}TcO_4^-$ para [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$, conforme ilustrado no Esquema 12. Nota-se que, diferente da preparação do complexo precursor de rênio, na preparação do ^{99m}Tc-tricarbonil não há íons Br^-

presentes nos reagentes precursores, e sim íons Cl^- provenientes da solução salina. Dessa maneira, o complexo precursor de $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ terá o cloreto como contra-íon.



Esquema 12 - Preparação do complexo precursor $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$.

A preparação do complexo $[TcCl(CO)_3(HL)]^+$ ocorre pela substituição de duas moléculas de H_2O do complexo $[Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ pelos grupos amina do ligante, conforme demonstrado no Esquema 13.



Esquema 13 - Esquema de preparação geral dos complexos ^{99m}Tc.

Conforme descrito na literatura, a reação do precursor $[Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ com um ligante bidentado neutro resulta em um complexo, também neutro, de composição geral $[^{99m}TcCl(CO)_3(L)]$;[41,89,90] sendo assim, o complexo sintetizado nesse trabalho possui a fórmula $[TcCl(CO)_3(HL)]$. O cloreto coordenado ao ^{99m}Tc pode ser substituído por outros ligantes permitindo a coordenação com moléculas de solvente como H_2O, MeOH e MeCN, por exemplo. Em meio biológico, o ligante Cl^- tende a ser lentamente trocado, e isso pode levar, em certos casos, à reatividade cruzada em outros locais de coordenação no meio fisiológico.[41]

Isso pode resultar em um tempo de permanência desfavorável do radiocomplexo no organismo, o que pode ser uma desvantagem para a farmacocinética de radiocomplexos bidentados.[38] Contudo, diversos trabalhos se mostraram promissores com ligantes bidentados.[90, 91] Uma outra alternativa utilizada é a substituição prévia do Cl^- por uma biomolécula, o que confere uma maior especificidade do radiocomplexo.[82,92]

Por fim, uma outra característica importante deste radiocomplexo em estudo é que, além da sua aplicação como possível radiofármaco, ele também possui um sítio para bioconjugação; ou seja, ele também pode funcionar como um quelato bifuncional (BFC, do inglês, *bifunctional chelate),* que se liga ou é propositalmente direcionado para um alvo biológico específico, conforme já discutido no item 1.3 desse trabalho. Contudo, a síntese e a bioconjugação em biomoléculas não foram realizadas nesse trabalho, sendo essa uma etapa futura desse projeto.

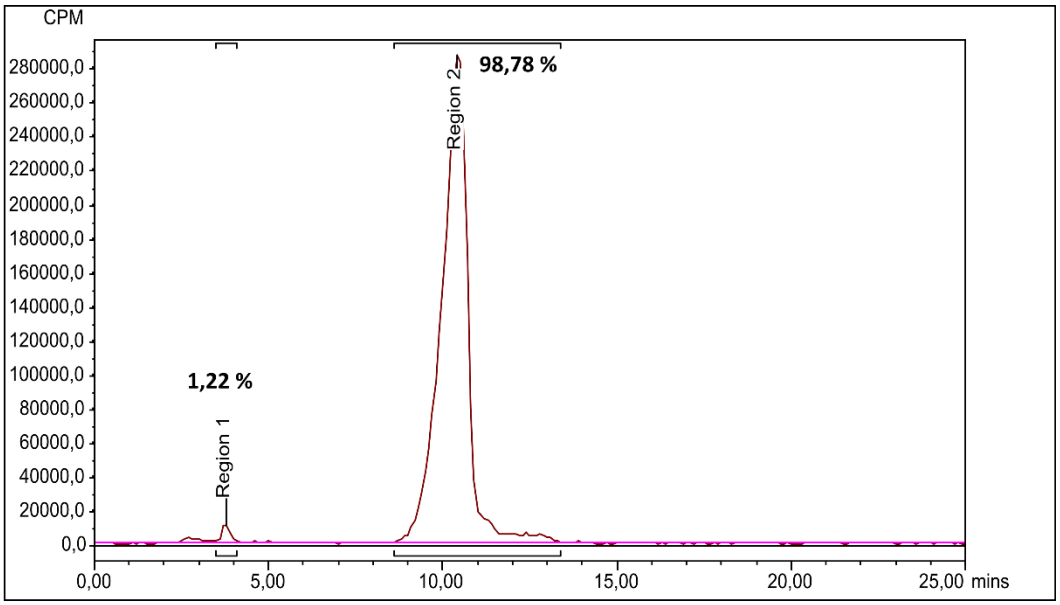
7.1 Avaliação da marcação do radiocomplexo e pureza radioquímica

7.1.1 Avaliação da Síntese do $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Cl$

O complexo precursor, $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Cl$, utilizado na marcação, foi preparado seguindo protocolo previamente descrito na literatura,[34,41] e ilustrado no Esquema 13. A eficiência da marcação foi avaliada por cromatografia líquida de alta eficiência. Na Figura 43, pode-se observar o perfil cromatográfico para o precursor $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Cl$ que apresentou pureza radioquímica de 98,78 %.

O ^{99m}Tc-tricarbonil foi obtido com 98,78% de rendimento e com tempo de retenção de 10,40 min. O pertecnetato ($^{99m}TcO_4^-$) saiu com tempo de retenção de 3,80 min. O controle da pureza radioquímica do precursor é importante pois, durante o processo da reação de redução do $^{99m}TcO_4^-$ para $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$, pode ser formado subprodutos de reação ocasionado por efeito de pH, temperatura, luz, produtos de reações incompletas, agentes redutores e/ou oxidante presentes, entre outros. Esses subprodutos podem interferir na marcação com o ligante.[30] Durante esse processo de síntese duas impurezas radioquímicas podem ser formadas: o pertecnetato-99m, proveniente da não redução do metal, e o óxido de tecnécio $[^{99m}TcO_2]$, resultante da redução do radiometal que não se coordenou.[93]

Figura 43 - Radiocromatograma do complexo precursor [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3$]Cl.

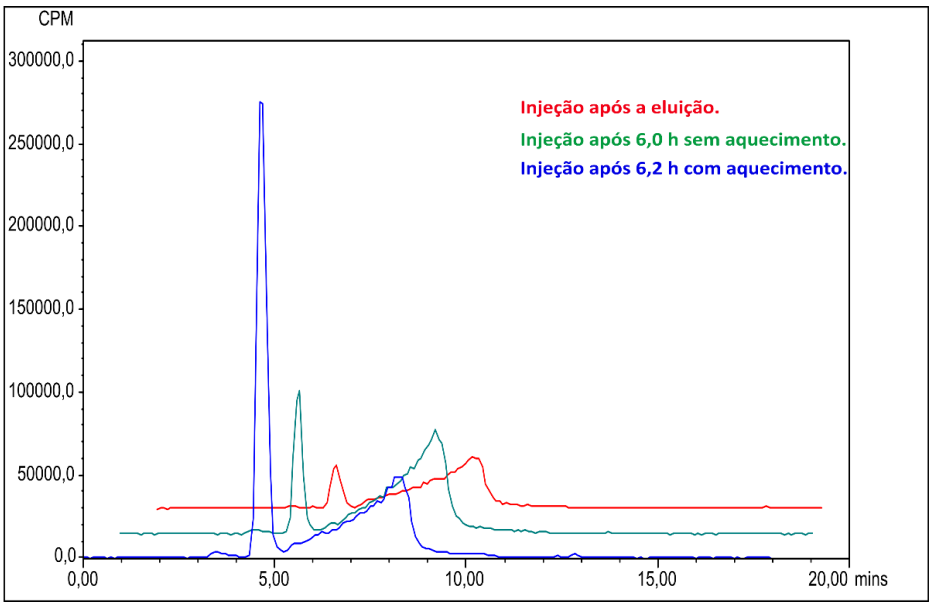


Foi realizado também um estudo de estabilidade da reação de redução do $^{99m}TcO_4^-$ para [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$, avaliando o efeito da temperatura no complexo precursor. Na Tabela 18, pode-se observar os valores da concentração dos produtos envolvidos na reação. Nota-se que, após 6 horas de reação, houve uma diminuição da concentração de [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$, sendo este convertido novamente a $^{99m}TcO_4^-$. Não se sabe ao certo o motivo pelo qual ocorre essa reação inversa, mas este comportamento foi observado em todos os estudos de estabilidades realizados com ^{99m}Tc-tricarbonil. Também é observado que, com o aumento da temperatura, a concentração de [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ diminui; é possível que o oxigênio presente no eluente cause a oxidação do radiocomplexo, convertendo-o em $^{99m}TcO_4^-$ novamente. Na Figura 44, encontram-se ilustrados os radiocromatogramas desses estudos de estabilidade. O cromatograma em vermelho se refere ao momento logo após a reação de redução de $^{99m}TcO_4^-$ para [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$, o verde se refere à injeção após 06 horas de marcação e sem aquecimento, e o azul se refere à injeção após 06 horas e vinte minutos com aquecimento de 80° C.

Tabela 18 - Estabilidade da marcação do $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Cl$.

pH	tempo após a eluição (h)	temperatura	Proporção Relativa %	
			$[^{99m}TcO_4^-]$ (TR = 5,2 min)	$[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Cl$ (TR= 9,1 min)
11	0	25° C	13,2	86,8
7	06:00	25° C	20,76	79,24
7	06:20	80° C	50,41	49,59

Figura 44 - Avaliação da estabilidade da marcação do $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Cl$.



7.1.2 Avaliação da Síntese do $[^{99m}TcCl(CO)_3(HL)]$

Após o controle da pureza do precursor, foi realizada a marcação do $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ com o ligante HL a 25 °C. Os parâmetros avaliados na marcação foram a variação de massa e pH. Os resultados podem ser vistos na Tabela 19, e os radiocromatogramas encontram-se nos Anexos L.

Ao se sintetizar um possível radiofármaco, é desejável que a quantidade do ligante a ser utilizado seja pequena, diminuindo a possibilidade de efeitos tóxicos do ligante. Embora os complexos que foram preparados com maior massa de ligante (5 mg) tenham fornecido o maior rendimento de marcação, a reação realizada com 1 mg em pH = 7 também apresentou um bom resultado, atingindo quase 80% de pureza radioquímica. Essa massa e valor de pH foram considerados para as marcações seguintes.

Tabela 19 - Parâmetros de avaliação para as marcações do complexo [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)].

pH	massa	Proporção Relativa %		
		[^{99m}TcO$_4^-$] (TR entre 3,5 a 4,30)	[^{99m}Tc(OH$_2$)$_3$(CO)$_3$]Cl (TR entre 10,0 e 10,50)	[^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)] (TR entre 13,1 a 13,7)
7	1 mg	6,44	14,3	79,26
7	5 mg	8,37	11,62	80,0
8,5	1 mg	9,13	20,06	70,81
8,5	5 mg	9,60	7,23	83,17

Devido a impossibilidade da caracterização físico-química convencional (IV, RMN, EM, PF, etc) para os complexos de ^{99m}Tc, tendo em vista de serem obtidos na concentração de 10^{-9} M, e que todos os isótopos do tecnécio são radioativos, a caracterização estrutural do complexo foi realizada por análise de eletroforese, para determinação de carga, e co-injeção no HPLC dos complexos [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)] e [ReBr(CO)$_3$(HL)], este último tendo sido previamente caracterizado pelos métodos clássicos de análise. A comunidade cientifica aceita que, com a concordância nos tempos de retenção observados em detector de radiação e UV-Vis, respectivamente, pode-se afirmar pela similaridade das estruturas.[40] Na Figura 45, são apresentados os cromatogramas dos complexos. Na parte superior, está mostrado o cromatograma do complexo frio de Re, com registro no comprimento de onda de 254 nm e, na parte inferior, o complexo quente de ^{99m}Tc, registrado no detector de radiação.

Na Figura 46, encontra-se a sobreposição dos cromatogramas obtidos em diferentes detectores acoplados ao HPLC: UV-Vis em 254 nm para o complexo de rênio e de radiação γ para o complexo de ^{99m}Tc, ambos nas mesmas condições cromatográficas (descritas no Item 8.2). A diferença no valor dos tempos de retenção observada, sendo 19,54 min para o complexo “frio” e 18,79 min para o “quente’, pode ser justificado por efeito de massa, tendo em vista que a concentração da espécie radioativa é da ordem de $1x10^5$ menor que o complexo de Re. Além disso o detector de radiação tem uma sensibilidade e resposta muito maior que o do UV, e pode iniciar a detecção antecipadamente. Dessa maneira, pode-se dizer que os complexos se equivalem. O pico em 4,25 min é referente ao tempo de retenção do ^{99m}TcO$_4^-$, sugerindo portanto, que o precursor pertecnetato não tenha sido totalmente reduzido a [^{99m}Tc(OH$_2$)$_3$(CO)$_3$]$^+$.

Figura 45- Cromatogramas dos complexos [ReBr(CO)$_3$(HL)], analisado por UV-Vis a 254 nm (superior) e [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)] (inferior).

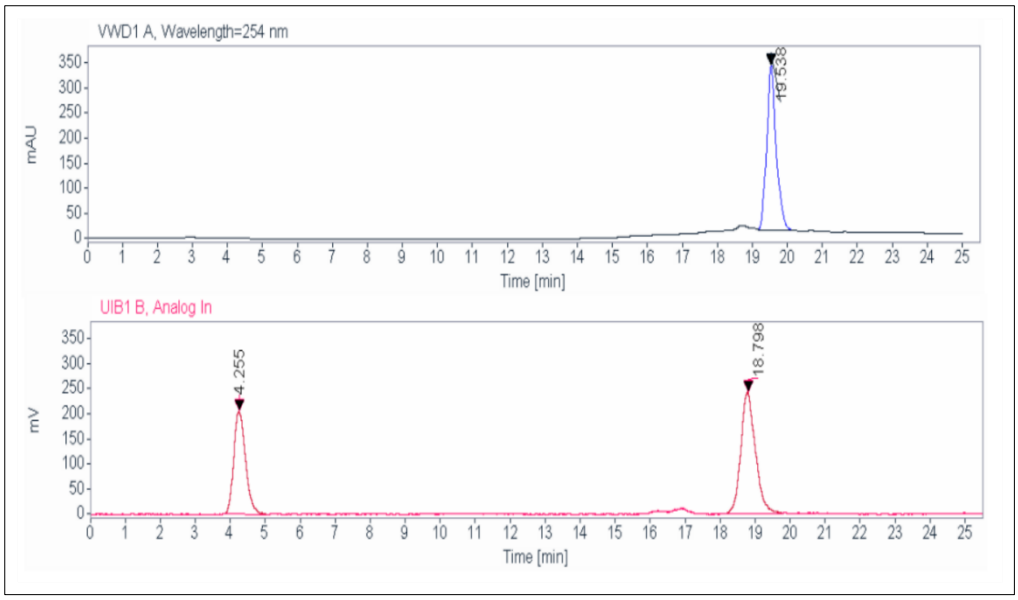
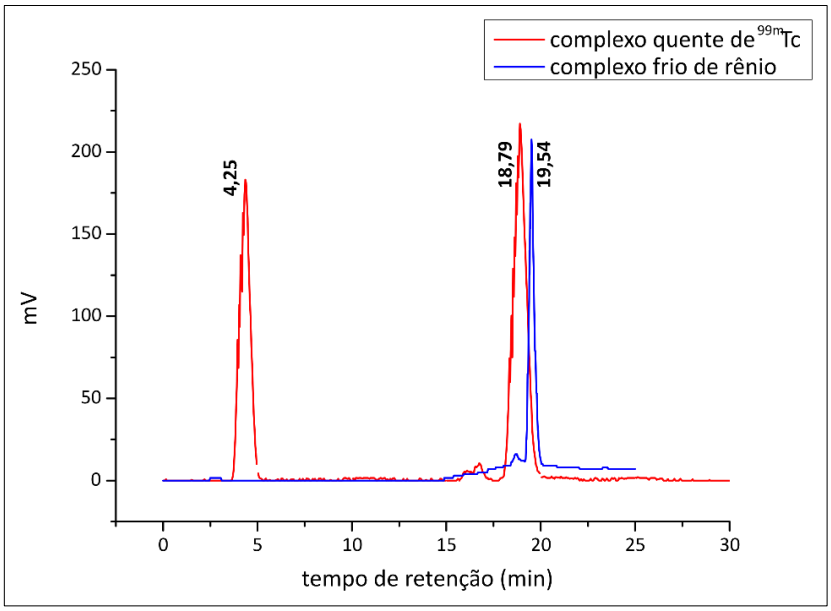


Figura 46 - Sobreposição dos radiocromatogramas dos complexos de ^{99m}Tc e Re.



Também foi realizada a marcação mantendo a massa de 1 mg e pH = 7 com irradiação em micro-ondas, variando a temperatura e tempo de irradiação, com o intuito de verificar se há um aumento da pureza radioquímica e para avaliar se essas marcações ocorrem a temperatura do corpo humano. Na Tabela 20 se encontram os dados da marcação. Os radiocromatogramas encontram-se no Anexo M desse trabalho. Conforme esperado, tanto a

variação de temperatura quanto a variação no tempo de irradiação por micro-ondas influenciam na concentração final do complexo de ^{99m}Tc em estudo; com o aumento da temperatura e do tempo de irradiação, ocorreu também um aumento da eficiência de marcação.

Tabela 20 - Avaliação para as marcações do complexo [$^{99m}TcCl(CO)_3(HL)$] em microondas.

tempo de Irradiação T (°C)		Proporção Relativa %		
		[$^{99m}TcO_4^-$] (TR entre 3,6 a 3,7)	[$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]Cl$ (TR entre 9,6 a 10,3)	[$^{99m}TcCl(HL)(CO)_3$] (TR entre 13,1 a 13,2)
1 min	37° C	2,37	76,51	21,12
1 mim	70° C	3,79	23,48	72,74
5 min	37° C	4,56	51,86	43,58
5 min	70° C	5,94	15,18	78,88

Não foi possível a avaliar a estabilidade do complexo marcado para este trabalho; contudo, pôde-se realizar a avaliação de alguns fatores físico-químicos como o pH, a lipofilicidade e carga da molécula, que são de extrema importância para a síntese de fármacos. Essas características interferem diretamente no comportamento das moléculas no organismo. O pH pode interferir de forma significativa na eficiência da marcação e pode ocasionar a formação de complexos com estruturas químicas e comportamentos diferentes do esperado na sua biodistribuição.[93] Entretanto, para que ocorra a absorção, o radiofármaco precisa atravessar a membrana biológica, sendo a lipofilicidade do fármaco um dos principais parâmetros para avaliação dessa propriedade. Os fármacos que apresentam características lipossolúveis tendem a sofrer melhor absorção que os fármacos hidrossolúveis, pois a penetrabilidade de moléculas lipossolúveis na membrana celular é maior.[94] Com a finalidade de conhecer o meio ao qual o complexo em estudo possui melhor afinidade, foram realizados testes de coeficiente de partição (*log* P), e pôde-se observar um caráter lipofílico da radiomolécula [$^{99m}TcCl(CO)_3(HL)$]. A lipofilicidade do radiocomplexo foi determinada e o resultado é apresentado na Tabela 21. Determinou-se para este complexo *log P* igual a 0,32, confirmando uma tendência ao caráter lipofílico desse potencial radiofármaco.

Tabela 21 - Determinação da lipofilicidade do complexo precursor [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$].

n-Octanol	Atividade (cpm)
Fração 1	1478234
Fração 2	1487268
Fração 3	1504738
Média	**Ão = 1490080**
Água (PBS pH 7,4)	
Fração 1	708340
Fração 2	690673
Fração 3	722975
Média	**Ãa = 707329,3**
$\log P = \frac{\tilde{A}_o}{\tilde{A}_a}$ $log\ P$ = **0,32**	

A carga de um radiofármaco também é uma característica importante a ser considerada, isso porque moléculas com carga são mais polares que as neutras, interferindo, portanto, na afinidade de ligação nos sítios biológicos. Conforme caracterização realizada com o complexo congênere de rênio, que apresenta condutividade zero, é bastante provável que o radiocomplexo com o tecnécio também não apresente carga.

Com o intuito de avaliar a presença de carga na radiomolécula, foi realizada análise de eletroforese. A eletroforese é uma técnica utilizada no controle de qualidade de radiofármacos[93] e auxilia na separação de moléculas inorgânica de acordo com a sua carga, enquanto é aplicado um potencial de aproximadamente 280 V.[95] Para fins de avaliação e comparação, foi realizada a análise para as moléculas: $^{99m}TcO_4^-$, usado como referência e possui perfil eletroforético conhecido; complexo precursor [$^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ e o complexo em estudo [$^{99m}TcCl(CO)_3(HL)$]. No texto encontram-se as Figuras 47, 48 e 49 mostrando o perfil de carga das radiomoléculas.

Na eletroforese, a taxa de migração é diretamente proporcional à carga, e a migração da espécie catiônica está voltada para o cátodo, enquanto que a da espécie aniônica está voltada para o ânodo.[95] Considerando essas informações, os complexos seguiram um perfil eletroforético esperado. O pertecnetato, na Figura 47, que possui carga -1, seguiu em direção

ao ânodo. Já na Figura 48, o complexo precursor $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ se deslocou para o cátodo. Nesta figura aparece também o perfil eletroforético do $^{99m}TcO_4^-$; isso significa que este composto está presente na solução. Por fim, na Figura 49, temos o perfil de eletroforese do complexo em estudo $[^{99m}TcCl(CO)_3(HL)]$, que possui o pico com um máximo na distância zero, confirmando a sua neutralidade, conforme esperado, já que o complexo de rênio também não apresenta carga. Nesta figura também é observado o pico de impureza do $^{99m}TcO_4^-$.

Figura 47 - Perfil de eletroforese do $^{99m}TcO_4^-$ (em solução de PBS).

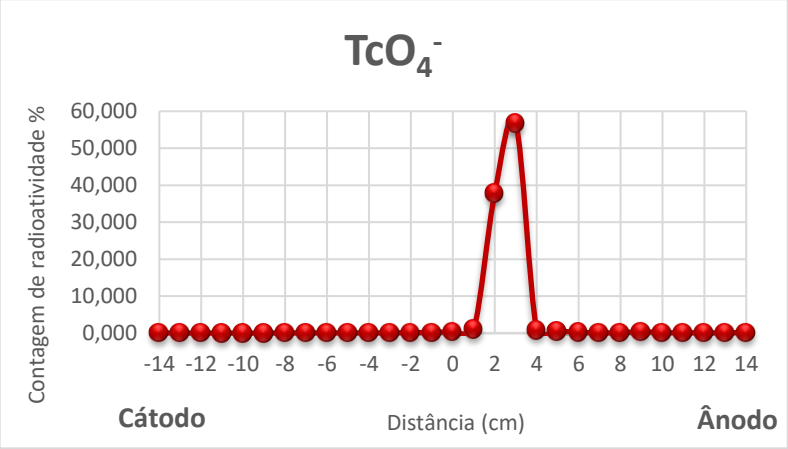


Figura 48- Perfil de eletroforese do $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ (em solução de PBS).

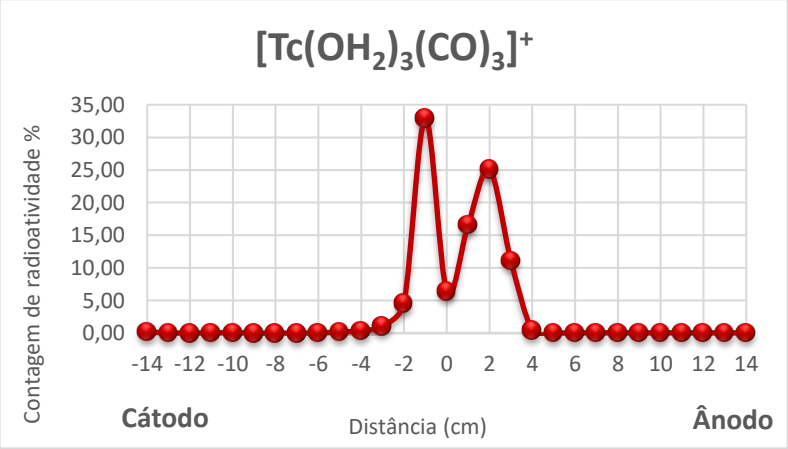
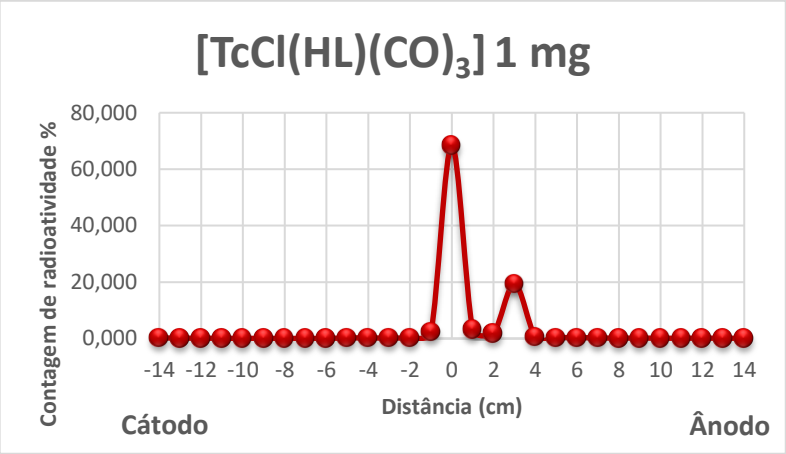


Figura 49- Perfil de eletroforese do [^{99m}TcCl(HL)$_2$(CO)$_3$] (em solução de PBS).



Por fim, as análises para o radiocomplexo realizadas foram condizentes com as caracterizações realizadas com o complexo análogo de rênio apresentadas no item 4.2.2 deste trabalho. Os resultados das análises estão de acordo com as características que influenciam na concepção de novos radiofarmacos,[96] sendo este, portanto, um candidato a radiofármaco, conforme proposto nesse trabalho.

8 CONCLUSÕES

A marcação do radiocomplexo de tecnécio-99m, [$^{99m}TcCl(CO)_3(HL)$], foi realizada com sucesso. A pureza radioquímica analisada por HPLC apresentou rendimento próximo aos 80%, considerando as condições de pH = 7 e massa de 1 mg do ligante HL. A utilização de uma massa maior de ligante (5 mg) não melhorou significativamente o rendimento de formação do complexo e esta condição não foi levada adiante. Os resultados das marcações com irradiações em micro-ondas apresentaram rendimentos similares às marcações realizadas com aquecimento convencional, e indicaram que a síntese realizada em uma maior temperatura favorece o aumento do rendimento. A avaliação da estabilidade do complexo precursor, [$^{99m}Tc(OH_2)(CO)_3]^+$, indicou que este sofre degradação com o aumento da temperatura. Não foi possível a realização de ensaios biológicos *in vivo* e *in vitro*; contudo, foram realizadas análises de parâmetros físico-químicos de lipofilicidade e carga dos compostos, e os resultados são adequados para um bom radiofármaco utilizado em diagnóstico de doenças e disfunções. Os resultados obtidos foram coerentes com as análises realizada para o congênere não radioativo de rênio, demostrando a equivalência das estruturas.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Os resultados obtidos até o momento, do ponto de vista da radiomarcação, permitem a continuação do trabalho buscando alcançar os seguintes objetivos:

1- Completar os estudos comparando o sistema de aquecimento por micro-ondas e aquecimento convencional, buscando melhorar o rendimento de marcação;
2- Desenvolver um sistema de purificação, pós-marcação, baseado em mini-colunas (SEP-PAK) para rápida e eficiente purificação do produto para disponibilização para ensaios em sistemas biológicos;
3- Realizar estudos de conjugação do ligante bifuncional HL à biomoléculas (peptídeos e anticorpos), tanto na forma pré-complexada com ^{99m}Tc, quanto na forma livre para posterior marcação;
4- Realizar ensaios em linhagens celulares de tumores para avaliar potencial utilização em diagnóstico, tanto da forma do composto [^{99m}TcCl(CO)$_3$(HL)], quanto na forma conjugada com biomoléculas específicas;
5- Se justificado pelos ensaios em células, desenvolver modelos para estudos em animais.

10 REFERÊNCIAS

1 WILKINSON, G; GILLARD. R. D; MCCLEVERTY, J. A. **Comprehensive coordination chemistry***:* the synthesis, reactions, properties e applications of coordination compounds. Oxford: Pergamon Press, 1987. v. 1.

2 FARIA, R.F. **Química de coordenação**: fundamentos e atualidades. 2. ed. Campinas: Átomo, 2009.

3 TOMA, H. E. **Química de Coordenação, organometálica e catálise***.* São Paulo: Blucher, 2016.

4 BOWMAN-JAMES, K. Alfred Werner revisited: the coordination chemistry of anions. **Accounts of Chemical Research***,* Washington, v. 38, p. 671–678, 2005.

5 WERNER, A. Beitrag zur konstitution anorganischer verbindungen. **Zeitschrift fur Anorganische Chemie,** v. 3, p. 267–330, 1893.

6 FALCONER, I. Corpuscles, electrons and cathode rays: J.J. Thomson and the 'Discovery of the Electron'. **British Journal for the History of Science,** v. 20, p. 241–276, 1987.

7 SHRIVER, D.F.; ATKINS, P.W. **Química inorgânica**. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2003.

8 OCHIAI, E. I. **Bioinorganic chemistry**: a survey. Waltham: Academic Press, 2010.

9 TOMA, H. E. **Química bioinorgânica e ambiental***. São Paulo:* Blucher, 2015.

10 ORVIG, C; ABRAMS, M. J. Medicinal inorganic chemistry: introduction. **Chemical Reviews,** Washington, v. 99, p. 2201–2204, 2002.

11 JONES, L.; ATKINS, P. W. P. **Princípios de química**: questionando a vida moderna e o meio ambiente. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2012.

12 BIOINORGANIC Chemistry. *In*: NATURE.com. [*S. l.*]: Springer Nature, [20--]. Disponivel em: https://www.nature.com/subjects/bioinorganic-chemistry. Acesso em: 21 Set. 2017.

13 BERTINI, I.; GRAY, H. B; LIPPARD, S. J; VALENTINE, J. S. **Bioinorganic chemistry**. Mill Valley: University Science Books, 1994.

14 GUO, Z.; SADLER, P. J. Metals in medicine. **Angewandte Chemie**: international Edition, Weinheim, v. 38, p. 1512–1531, 1999.

15 PRICKER, S. P. Medical uses of gold compounds: past, present and future. **Gold Bulletin,** Heidelberg, v. 29, p. 53–60, 1996.

16 FRICKER, S. P. Metal based drugs: from serendipity to design. **Dalton Transactions,** Cambridge, p. 4903, 2007.

17 FONTES, A. P. S; CÉSAR, E. T; BERALDO, H. A química inorgânica na terapia do câncer. **Quimica Nova,** São Paulo, v. 6, p. 2–7, 2005.

18 BENITE, A. M. C. B. Considerações sobre a química bioinorgânica**. Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiania, v. 4, p. 131–142, 2007.

19 FEITOSA-FILHO, G. S., LOPES, R. D., POPPI, N. T; GUIMARÃES, H. P. Emergências hipertensivas. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 20, p. 305–312, 2008.

20 THOMPSON, K. H. Boon and bane of metal ions in medicine. **Science,** Washington, v. 300, p. 936–939, 2003.

21 EUROPEAN NUCELAR SOCIETY. **Fusion**. Brussels, 2019. Disponível em: https://www.euronuclear.org/info/encyclopedia/f/fusion.htm. Acesso em: 31 maio 2019.

22 IAEA. **Fusion**. Vienna, 2019. Disponível em: http://www-naweb.iaea.org/napc/physics/fusion-basic.htm. Acesso em: 31 mai, 2019.

23 RUTHERFORD, E. Collision of α particles with light atoms . IV. An anomalous effect in nitrogen. **The London, Edinburgh, Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science,** Abingdon, v. 37, n. 222, p. 581–587, 1919.

24 WEINERT, F. Radioactive Decay Law (Rutherford–Soddy). *In*: GREENBERGER, D.; HENTSCHEL, K.; WEINERT, F. (ed.). **Compendium of quantum physics.** Berlin, Heidelberg, 2009. p. 630-632.

25 HALLIDAY, D. ; RESNICK, R. ; WALKER, J. **Fundamentos de física 4**: óptica e física. 9. ed. Rio de Janeiro: Moderna, 2012.

26 RAMOGIDA, C. F; ORVIG, C. Tumour targeting with radiometals for diagnosis and therapy. **Chemical Communications,** Cambridge, v. 49, p. 4720, 2013.

27 IAEA. **Radionuclide therapy, how it works**. Vienna, 2019. Disponível em: https://www.iaea.org/topics/radionuclide-therapy. Acesso em: 31 ago. 2019.

28 CORNELISSEN, B.; VALLIS, K. A. Targeting the nucleus: an overview of auger-electron radionuclide therapy. **Current Drug Discovery Technologies**, Sharjah, v. 7, p. 263–279, 2010.

29 HENDEE, W. R.; RITENOUR, E. R. **Medical imaging physics**. 4. ed. New York: Wiley, 2002.

30 OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; FERREIRA, D.; COELHO, P.; VEIGA, F. Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações. **Revista Brasileira Ciências Farmaceuticas**, São Paulo, v. 42, p. 151–165, 2006.

31 RADIOISOTPES in medicine. *In*: WORLD NUCLEAR ASSOCIATION. London, 2019. Disponivel em: https://www.world-nuclear.org/information-library/non-power-nuclear-applications/radioisotopes-research/radioisotopes-in-medicine.aspx. Acesso em: 9 jul. 2019.

32 OGASAWARA, K**.**, OGAWA, A.; EZURA, M.; KONNO, H.; SUZUKI, M.; YOSHIMOTO, T. Brain single-photon emission CT studies using ^{99m}Tc-HMPAO and ^{99m}Tc-ECD early after recanalization by local intraarterial thrombolysis in patients with acute embolic middle cerebral artery occlusion. **American Journal of Neuroradiology**, Oak Brook, v. 22, p. 48–53, 2001.

33 RABINOVICI, D. G.; GATSONICS, C.; APGAR, C.; CHAUDHARY, K.; GAREEN, I.; HANNA, L.; HENDRIX, J.; HILLNER, B. E.; OLSON, C.; LESMAN-SEGEV, O. H.; ROMANOFF, J.; SIEGEL, B. A.; WHITMER, R. A.; CARILLHO, M. C. Association of amyloid positron emission tomography with subsequent change in clinical management among medicare beneficiaries with mild cognitive impairment or dementia. **JAMA:** the Journal of the American Medical Association, Chicago, v. 321, p. 1286, 2019.

34 ABRAM, U.; ALBERTO, R. Technetium and rhenium: coordination chemistry and nuclear medical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 17, p. 1486–1500, 2006.

35 DILWORTH, J.R.; J. PARROTT, S. The biomedical chemistry of technetium and rhenium. **Chemical Society Review,** Cambridge, v. 27, p. 43-55, 1998.

36 CUTLER, C. S.; HENNKENS, H. M.; SISAY, N.; HUCLIER-MARKAI, S.; JURISSON, S. S. Radiometals for combined imaging and therapy. **Chemical Reviews**, Washington, v. 113, p. 858–883, 2013.

37 LIU, S. Bifunctional coupling agents for radiolabeling of biomolecules and target-specific delivery of metallic radionuclides. **Advanced Drug Delivery Reviews,** Amsterdam, v. 60, p. 1347–1370, 2008.

38 GIELEN, M.; TIEKINK, E. R. T. **Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents:** the use of metals in medicine. Chichester: Wiley, 2005.

39 ZEGLIS, B. M.; HOUGHTON, J. L.; EVANS, M. J.; VIOLA-VILLEGAS, N.; LEWIS, J. S. Underscoring the influence of inorganic chemistry on nuclear imaging with radiometals. **Inorganic Chemistry,** Washington, v. 53, p. 1880–1899, 2014.

40 LIPOWSKA, M.; KLENC, J.; TAYLOR, A. T.; MARZILLI, L. G. fac-99mTc/Re-tricarbonyl complexes with tridentate aminocarboxyphosphonate ligands: Suitability of the phosphonate group in chelate ligand design of new imaging agents. **Inorganica Chimica Acta**, Washington, v. 486, p. 529–537, 2019.

41 ALBERTO, R. Radiopharmaceuticals. *In*: JAOUEN, G., (ed.). **Bioorganometallics:** biomolecules, labeling, medicine. Weinheim: Wiley-VCH Verlag, 2006. p. 97-124.

42 BLANKSTEIN; R.; SHTURMAN; L.D.; ROGERS, I.S.; ROCHA-FILHO J.A.; OKADA, D.R.; SARWAR, A; SONI, A.V.; BEZERRA, H.; GHOSHHAJRA, B.B.; PETRANOVIC, M.; LOUREIRO, R.; FEUCHTNER, G.; GEWIRTZ, H.; HOFFMANN, U.; MAMUYA, W.S.; BRADY, T.J.; CURY, R.C. Adenosine-induced stress myocardial perfusion imaging using dual-source cardiac computed tomography. **Journal of the American College of Cardiology,** San Diego, v. 54, 1072–1084, 2009.

43 PRVULOVICH, E. M; BOMANJI, J. B. Fortnightly review: the role of nuclear medicine in clinical investigation. **British Medical Journal,** London, v. 316, p. 1140–1146, 1998.

44 TSAI, S. Y.; WANG, S. Y.; SHIAU, Y. C.; WU, Y. W. Extramedullary soft tissue involvement and discrepant osseous uptake on tc-99m mdp and ga-67 citrate scintigraphy in a patient with multiple myeloma: a case report and literature review. **Medicine,** Baltimore, v. 94, n, 24, p. e995, 2015.

45 SHUKLA, J; MITTAL, B. Dimercaptosuccinic acid: A multifunctional cost effective agent for imaging and therapy. **Indian Journal of Nuclear Medicine**, Mumbai, v. 30, p. 295, 2015.

46 LONG, N. J; WONG, W. T. **The chemistry of molecular imaging**. Hoboken: Wiley, 2014.

47 NÚÑEZ-MONTENEGRO, A.; CARBALLO, R.; HERMIDA-RAMÓN, J. M.; VÁZQUEZ-LÓPEZ, E. M. Synthesis, characterization, reactivity and computational studies of new rhenium(I) complexes with thiosemicarbazone ligands derived from 4-(methylthio)benzaldehyde. **Polyhedron,** Oxford, v. 30, p. 2146–2156, 2011.

48 ALBERTO, R.; SCHIBLI, R.; EGLI, A.; SCHIBIGER, A. P.; ABRAM, U.; KADEN, T. A. A novel organometallic aqua complex of technetium for the labeling of biomolecules: Synthesis of $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$ from $[^{99m}TcO_4]^-$ in aqueous solution and its reaction with a bifunctional ligand. **Journal of the American Chemical Society**, Washington v. 120, p. 7987–7988, 1998.

49 SCHIBLI, R.; LA BELLA, R.; ALBERTO, R.; GARCIA-GARAYOA, E.; ORTNER, K.; ABRAM, U.; SCHUBIGER, P. A. Influence of the denticity of ligand systems on the in vitro and in vivo behavior of ^{99m}-tc(i) - tricarbonyl complexes : a hint for the future functionalization of biomolecules. **Bioconjugate Chemistry,** Washington, v. 11, p. 345–351, 2000.

50 MIESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. **Inorganic Chemistry**. 5. ed. Boston: Pearson Education, 2014.

51 YASHIRO, M.; KAWAKAMI, Y,; TAYA, J.; ARAI, S.; FIJII, Y. Zn(II) complex for selective and rapid scission of protein backbone. **Chemical Communications,** London, n. 12, p. 1544-1546, 2009.

52 PRICE, E. W.; CAWTHRAY, J.F.; BAILEY, G. A.; FERREIRA, C. L.; BOROS, E.; ADAM, M. J.; ORVIG, C. . H 4 octapa: An Acyclic Chelator for 111 In Radiopharmaceuticals. **Journal of the American Chemical Society,** Washington, v. 134, p. 8670–8683, 2012.

53 PRADO, V. S. **Obtenção de complexos de Ga^{III} e In^{III} com interesse em medicina nuclear a partir do desenvolvimento de ligantes multidentados**. 2017. 351 f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

54 NEESE, F. The ORCA program system. **WIREs Computational Molecular Science**, New York, v. 2, p. 73–78, 2012.

55 NEESE, F. Software update: the ORCA program system, version 4.0. **WIREs Computational Molecular Science**, New York, v. 8, 1–6, 2018.

56 ADAMO, C; BARONE, V. Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: the PBE0 model. **The Journal of Chemical Physics,** Melville, v. 110, p. 6158–6170, 1999.

57 WEIGEND, F; AHLRICHS, R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Cambridge, v. 7, p. 3297–3305, 2005.

58 GRIMME, S.; ANTONY, J.; EHRLICH, S.; KRIEG, H. A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu**.** **The Journal of Chemical Physics,** Melville, v. 132, n. 15, 2010.

59 GRIMME, S; EHRLICH, S; GOERIGK, L. Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory**. Journal of Computational Chemistry,** Hoboken, v. 32, p. 1456–1465, 2011.

60 WEIGEND, F. Accurate Coulomb-fitting basis sets for H to Rn. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Cambridge, v. 8, p. 1057–1065, 2006.

61 NEESE, F.; WENNMOHS, F.; HANSEN, A.; BECKER, U. Efficient, approximate and parallel Hartree-Fock and hybrid DFT calculations. A 'chain-of-spheres' algorithm for the Hartree-Fock exchange. **Chemical Physics,** Amsterdam, v. 356, p. 98–109, 2009.

62 IZSÁK, R; NEESE, F. An overlap fitted chain of spheres exchange method. **The Journal of Chemical Physics,** Melville, v. 135, 2011.

63 KRACK, M; KÖSTER, A. M. An adaptive numerical integrator for molecular integrals**. The Journal of Chemical Physics,** Melville, v. 108, p. 3226–3234, 1998.

64 BATES, J. E; FURCHE, F. Harnessing the meta-generalized gradient approximation for time-dependent density functional theory. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 137, 1–11, 2012.

65 NAJAJIMA, T; HIRAO, K. The Douglas–Kroll–Hess Approach. **Chemical Reviews,** Washington, v. 112, p. 385–402. 2012.

66 PANTAZIS, D. A.; CHEN, X. Y.; LANDIS, C. R.; NEESE, F. All-Electron Scalar Relativistic Basis Sets for Third-Row Transition Metal Atoms. **Journal of Chemical Theory Computational,** Washington, n. 4, p. 908–919, 2008.

67 HELLWEG, A.; HATTIG, C.; HOFENER, S.; KLOPPER, W. Optimized accurate auxiliary basis sets for RI-MP2 and RI-CC2 calculations for the atoms Rb to Rn. **Theoretical Chemistry Accounts**, Heidelberg, v. 117, 587–597, 2007.

68 DITCHFIELD, R. Molecular orbital theory of magnetic shielding and magnetic susceptibility. **The Journal of Chemical Physics,** Melville, v. 56, p. 5688–5691, 2004.

69 HELGAKER, T; JASZUNSKI, M; RUUD, K. Ab initio calculation of the NMR shielding and indirect spin-spin coupling constants of fluoroethylene. **Molecular Physics,** Abingdon, v. 91, p. 881–890, 1997.

70 LONDON, F. Théorie quantique des courants interatomiques dans les combinaisons aromatiques. **Journal de Physique et Le Radium,** Les Ulis, v. 8, p. 397-409, 1937.

71 PERDEW, J. P; BURKE, K; ERNZERHOF, M. Generalized gradient approximation made simple. **Physical Review Letters**, College Park, v. 77, p. 3865–3868, 1996.

72 ZHAO, Y; TRUHLAR, D. G. A new local density functional for main-group thermochemistry, transition metal bonding, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. **The Journal of Chemical Physics,** Melville, v. 125, n. 19, 2006.

73 ZHAO, Y; TRUHLAR, D. G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. **Theoretical Chemistry Accounts**, Heidelberg, v. 120, p. 215–241, 2008.

74 HUNTER, J. D. Matplotlib: a 2D graphics environment. **Computing in Science & Engineering,** Piscataway, v. 9, p. 99–104 2007.

75 SCHRODINGER LLC. **Pymol support**. New York, 2015. Disponível em: https://pymol.org/2/support.html. Acesso em: 9 mai. 2019.

76 SALVATORE, R. N; NAGLE, A. S; KYUNG, W. J. Cesium effect: high chemoselectivity in direct N-alkylation of amines. **Journal of Organic Chemistry**, Washington, v. 67, p. 674–683, 2002.

77 GEORGE, S. **Infrared and raman characteristic group frequencies**. 3. ed. Chichester: Wiley, 2001.

78 COTTON, F. A. **Chemical applications of group theory**. 3. ed. New York: Wiley, 1990.

79 KINTZINGER, J. P; LEHN, J. M. Nuclear relaxation and molecular properties. Part I. 14 N

nuclear quadrupolar relaxation and 1 H line shapes in nitrogen-containing heterocycles. **Molecular Physics,** Abingdon, v. 14, p. 133–145, 1968.

80 CHROMACADEMY. **MS interpretation. General interpretation strategies**. Duluth: Crawford Scientific, 2019. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4323050/mod_resource/content/0/MS_Interpretation_General_Interpretation_Strategies.pdf. Acesso em: 26 jul. 2019.

81 BRENTON, A. G; GODFREY, A. R. Accurate mass measurement: terminology and treatment of data. **Journal American Society for Mass Spectrometry,** New York, v. 21, p. 1821–1835, 2010.

82 MUNDWILER, S.; KÜNDIG, M.; ORTNER, K.; ALBERTO, R. A new [2 + 1] mixed ligand concept based on $[^{99m}Tc(OH_2)_3(CO)_3]^+$: a basic study. **Dalton Transactions**, Cambridge, p. 1320–1328, 2004.

83 MCKELVEY, D. R. Relativistic effects on chemical properties. **Journal of Chemical Education,** Washington, v. 60, p. 112, 1983.

84 R FACTOR. *In*: ONLINE dictionary of crystallography. Chester : International Union of Crystallography, 2019. Disponível em: http://reference.iucr.org/dictionary/R_factor. Acesso em: 28 jun. 2019.

85 CLARIDGE, T. D. W. **High-resolution NMR techniques in organic chemistry**. Amsterdam: Pergamon, 1999.

86 RANASINGHE, K.; HANDUNNETTI, S.; PERERA, I. C.; PERERA, T. Synthesis and characterization of novel rhenium(I) complexes towards potential biological imaging applications. **Chemistry Central Journal**, v. 10, p. 1–10, 2016.

87 WIDDIFIELD, C. M; BAIN, A. D; BRYCE, D. L. Definitive solid-state 185/187Re NMR spectral evidence for and analysis of the origin of high-order quadrupole-induced effects for I = 5/2. **Physical Chemistry Chemical Physics,** Cambridge, v. 13, n. 27, 12413-12420, 2011.

88 LUZ, C. P. **Preparação, caracterização e utilização dos radiofármacos (^{18}F)FAZA e [[99mc](O)HL91] para detecção de hipóxia em cultura de células e em tumores em modelo animal**. 2013. 145 f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Oncologia) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2013.

89 ALBERTO, R. New organometallic technetium complexes for radiopharmaceutical imagng.*In*: KRAUSE, W. (ed.). **Contrast agents III:** radiopharmaceuticals from diagnostics to therapeutics. Berlin, Springer, 2005. P. 1-44. (Topics in current chemistry, v. 252).

90 SCHIBLI, R.; KATTI, K. V.; HIGGINBOTHAM, C.; VOLKERT, W. W.; ALBERTO, R. In vitro and in vivo evaluation of bidentate, water-soluble phosphine ligands as anchor groups for the organometallic fac-$[^{99m}Tc(CO)_3]^+$-core. **Nuclear Medicine and Biology**, Philadelphia, v. 26, p.

711–716, 1999.

91 BOURKOULA, A.; PARAVATOU-PETSOTAS, M.; PAPADOPOULOS, A.; SANTOS, I.; PIETZSCH, H. J. LIVANIOU, E.; PELECANOU, M.; PAPADOPOULOS, M.; PIRMETTIS, I. Synthesis and characterization of rhenium and technetium-99m tricarbonyl complexes bearing the 4-[3-bromophenyl]quinazoline moiety as a biomarker for EGFR-TK imaging. **European Journal of Medicinal Chemistry,** Issy-les-Moulineaux*,* v. 44, 4021–4027, 2009.

92 CONNELL, T. U.; HAYNE, D. J.; ACKERMANN, U.; TOCHON-DANGUY, H. J.; WHITE, J. M.; DONNELLY, P. S. Rhenium and technetium tricarbonyl complexes of 1,4-Substituted pyridyl-1,2,3-triazole bidentate 'click' ligands conjugated to a targeting RGD peptide. **Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals,** Oxford, v. 57, p. 262–269, 2014.

93 MARQUES, F. L. N; OKAMOTO, M. R. Y; BUCHPIGUEL, C. A. Alguns aspectos sobre geradores e radiofármacos de tecnécio-99m e seus controles de qualidade. **Radiologia Brasileira,** São Paulo, v. 34, p. 233–239, 2001.

94 BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman as bases farmacológicas da terapêutica**. São Paulo: Mcgraw-Hill, 2007.

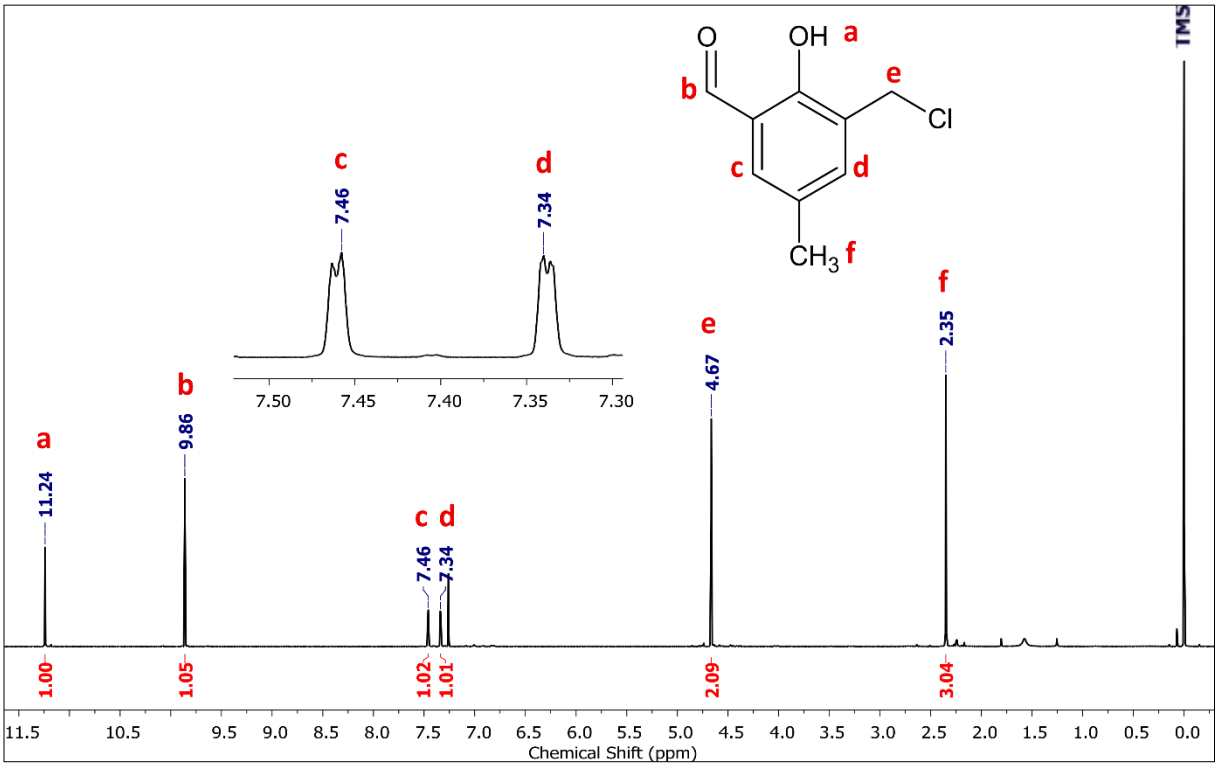
95 ZOLLE, I. (ed.). **Technetium-99m pharmaceuticals:** preparation and quality control in nuclear medicine. 5. ed. Viena: Springer, 2007.

96 SAHA, G. B. **Fundamentals of nuclear pharmacy.** 5. ed. Berlin: Springer, 2003.

ANEXOS

Espectro de Ressonância Magnética Nuclear ^{1}H: 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido (Anexo – A)

Figura 50 – ^{1}H-RMN do precursor 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido.



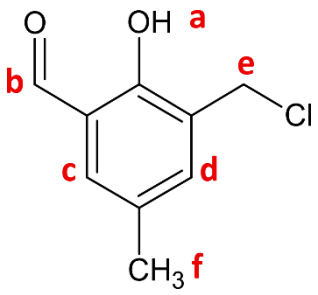
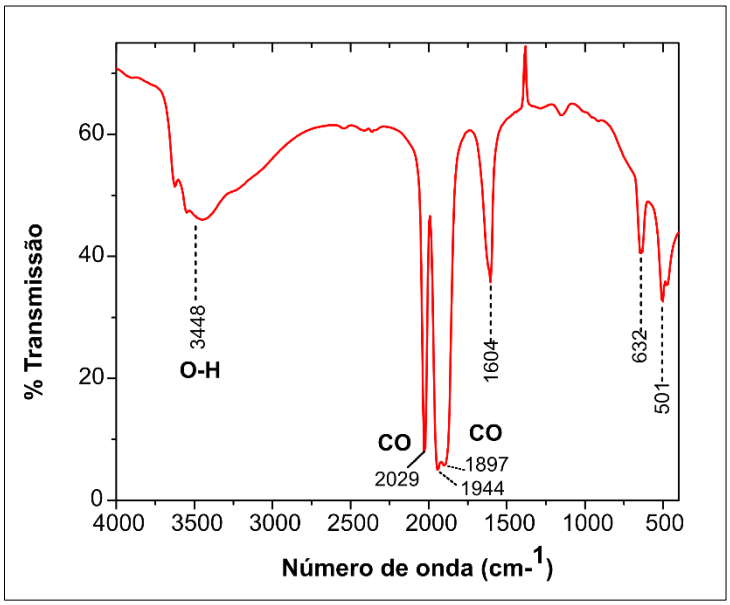


Tabela 22 - Dados do ^{1}H-RMN do precursor 2-hidroxi-3-clorometil-5-metilbenzaldeido ($CDCl_3$, 400 MHz).

Núcleo ^{1}H	δ (ppm), multiplicidade, integral
a	11,24, s, 1,00
b	9,86, S, 1,00
c	7,46 (J=1,8), d, 1,00
d	7,34 (J=1,8), d, 1,00
e	4,67, S, 2,00
f	2,35, s, 3,00

Espectroscopia no Infravermelho – Espectro experimental para o complexo precursor *fac*-[Re(OH$_2$)$_3$(CO)$_3$]Br (Anexo – B)

Figura 51 - Espectro de absorção na região do IV do complexo precursor [Re(OH$_2$)$_3$(CO)$_3$]Br (pastilha de KBr).



Espectroscopia de absorção no Infravermelho - Sobreposição dos espectros experimental e teórico do cloridrato (Anexo – C)

Figura 52 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do IV do cloridrato: teórico e experimental.

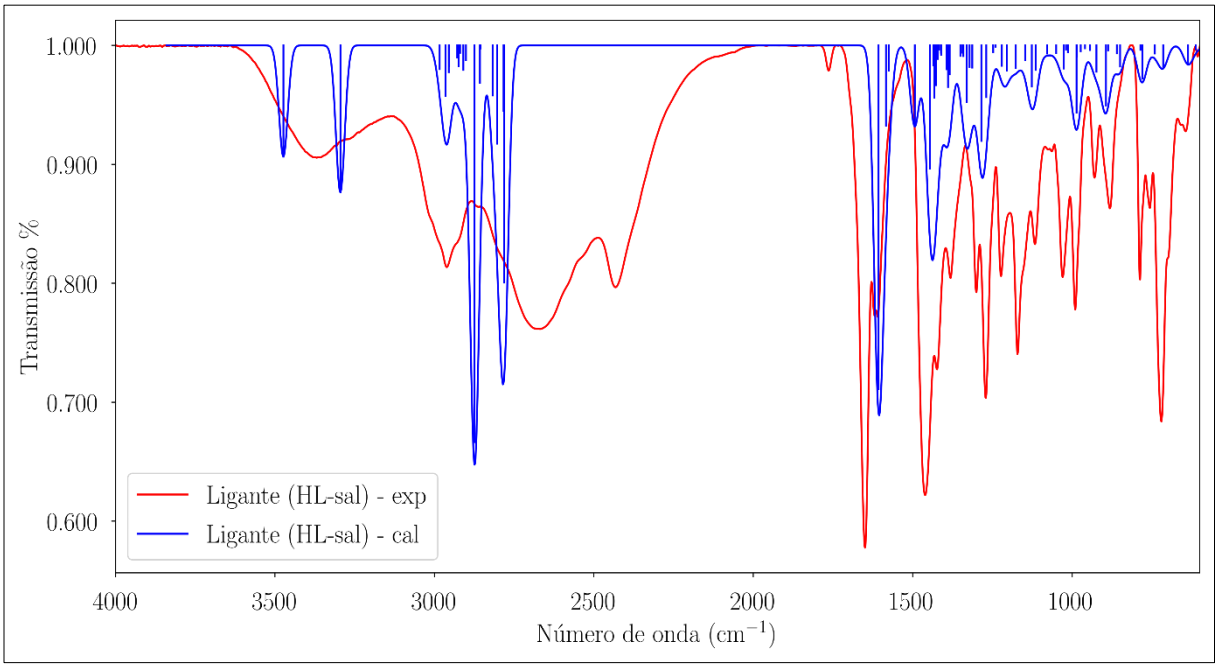


Figura 53 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do IV do ligante HL: teórico e experimental.

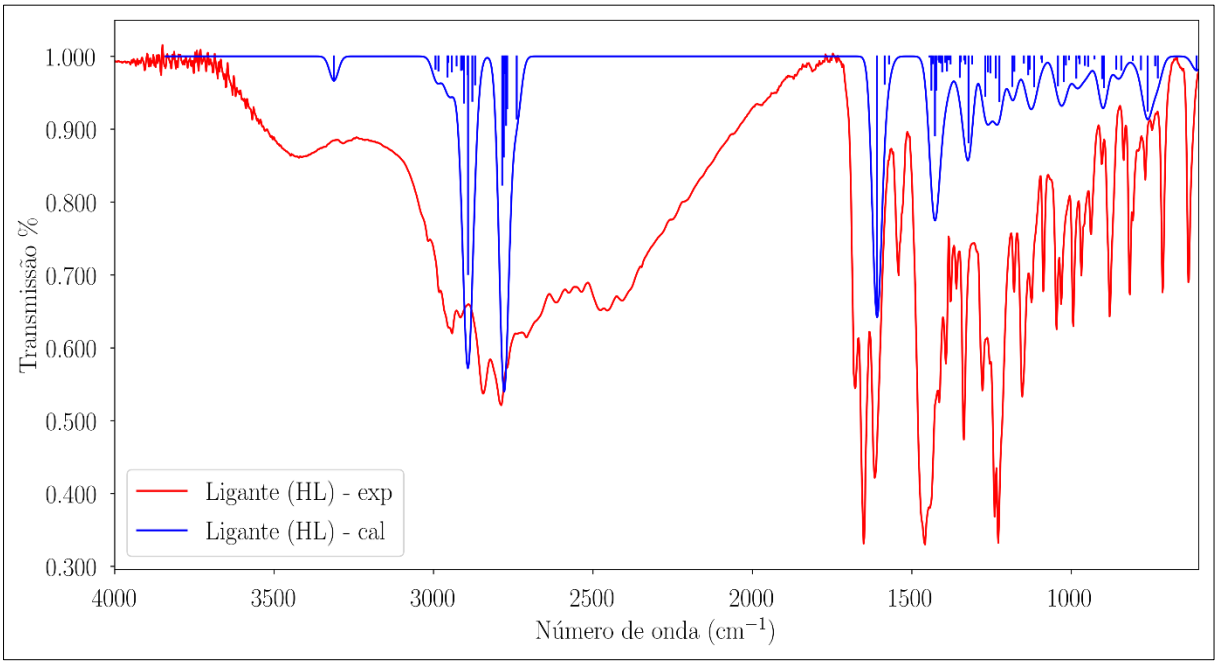


Figura 54 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do IV do complexo de Re: teórico e experimental.

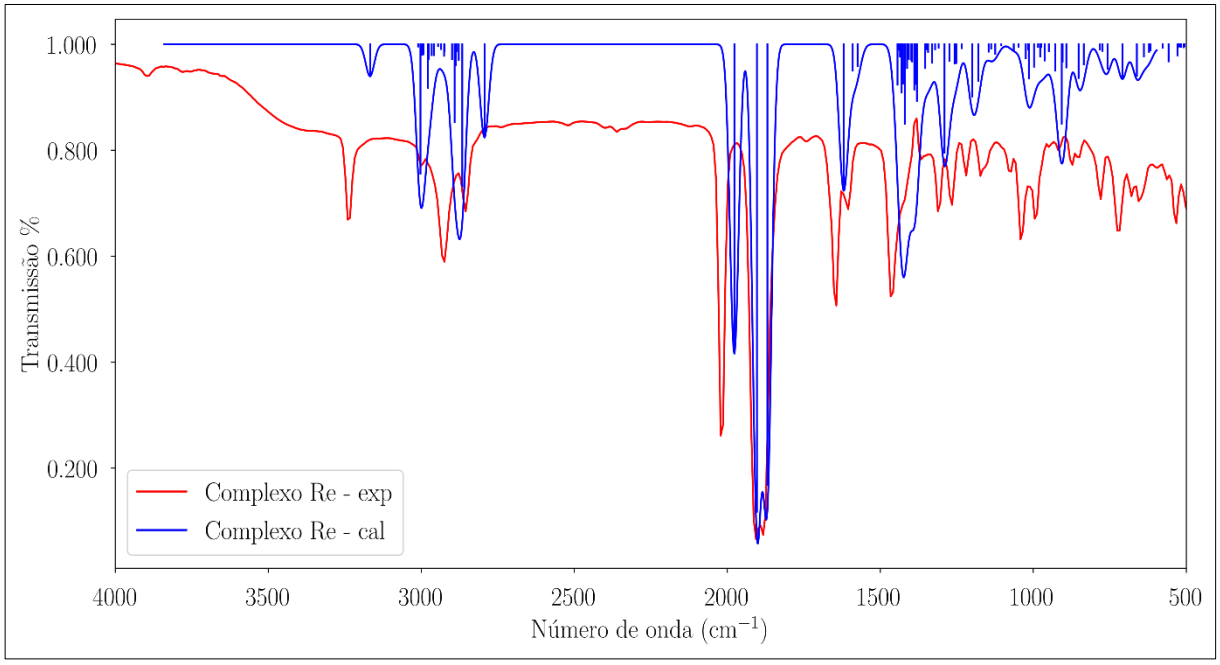


Figura 55 - Sobreposição dos espectros de absorção na região do IV do complexo de Re: teórico e experimental

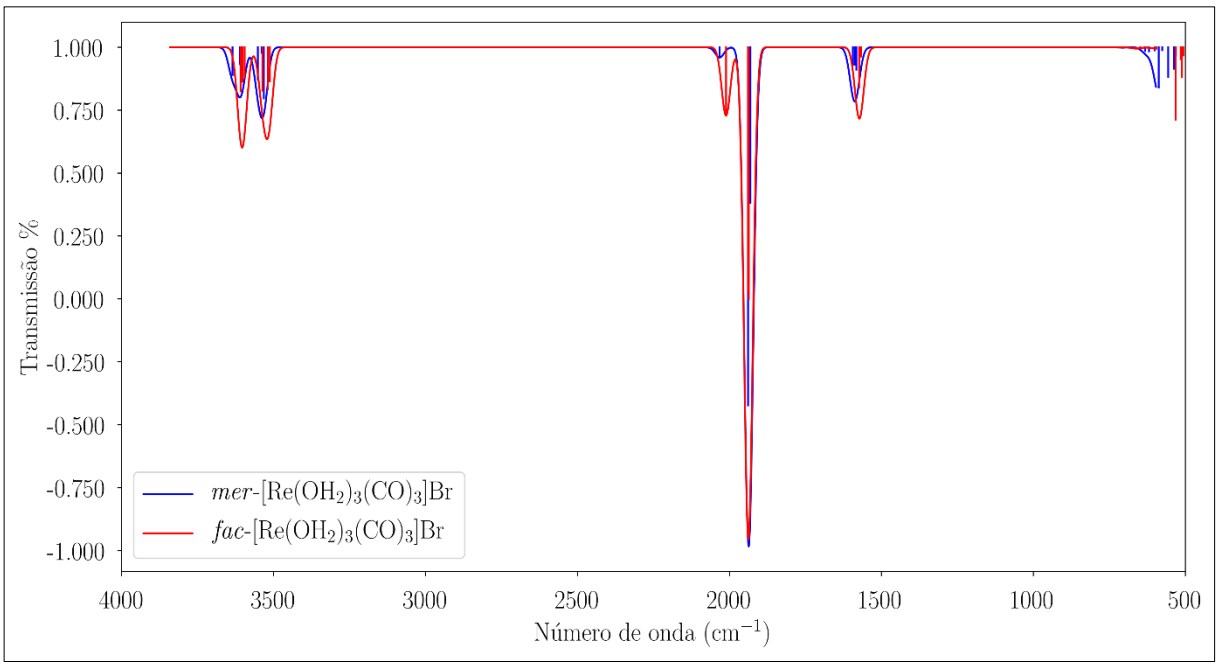
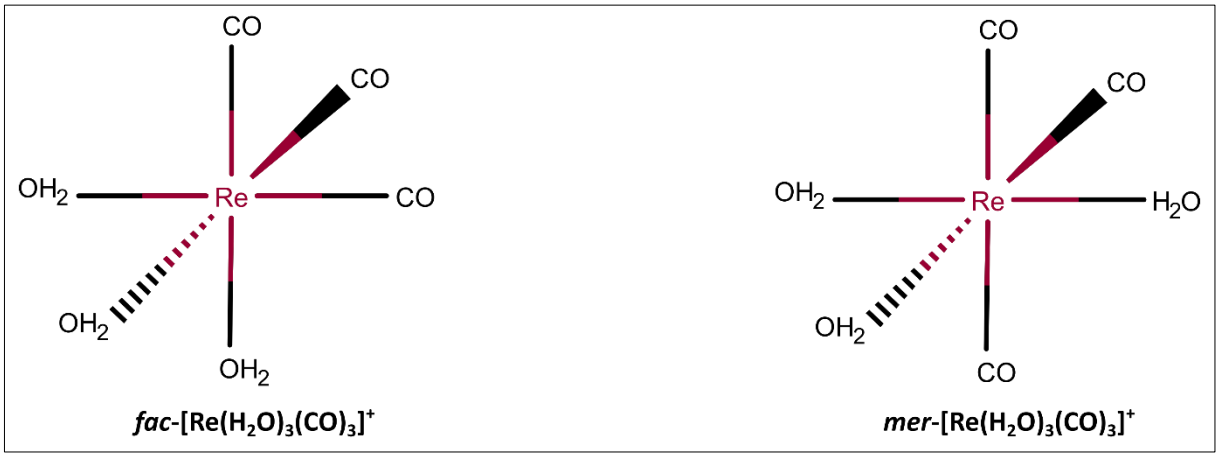
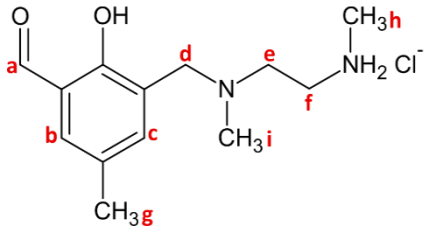


Figura 56 - Estruturas dos isômeros tricarbonil *fac* e *mer*.



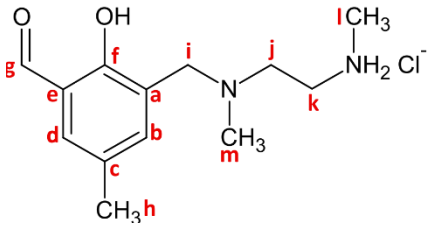
Comparação entre os dados de ressonância magnética nuclear experimental e teórico para cloridrato (Anexo – D)

Tabela 23 - ^{1}H-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do cloridrato.



Núcleo ^{1}H	Shift$_{(exp)}$	Shift$_{(teo)}$
a	10,02	9,77
b	7,68	7,01
c	7,70	9,49
d	4,30	5,08
e	3,39	2,86
f	3,39	3,09
g	2,29	2,58
h	2,71	2,56
i	2,59	2,57
O-H	Não aparece	7,21
N-H	Não aparece	3,5
N-H	Não aparece	18,73

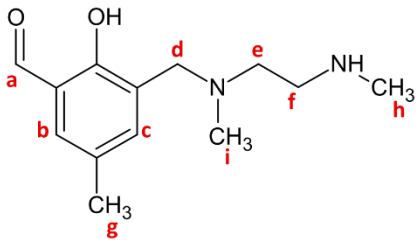
Tabela 24 - ^{13}C-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do cloridrato.



Núcleo ^{13}C	Shift$_{(exp)}$	Shift$_{(teo)}$
a	121,68	168,46
b	141,18	171,042
c	129,72	164,92
d	135,26	155,81
e	118,63	155,79
f	157,38	191,62
g	196,96	200,57
h	20,12	38,95
i	53,38	71,25
j	50,93	76,05
k	44,19	65,83
l	32,97	54,26
m	43,12	66,16

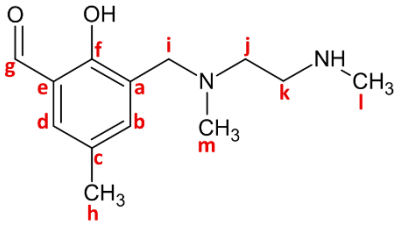
Comparação entre os dados de ressonância magnética nuclear experimental e teórico para ligante HL (Anexo – E)

Tabela 25 - ^{1}H-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do ligante HL.



Núcleo ^{1}H	δ (ppm)$_{(exp)}$	δ (ppm)$_{(teo)}$
a	10,26	9,55
b	7,13	6,34
c	7,40	7,72
d	3,63	3,69
e	2,79	2,56
f	2,63	2,81
g	2,44	2,21
h	2,29	2,57
i	2,27	2,12
N-H	não aparece	1,78
O-H	não aparece	13,80

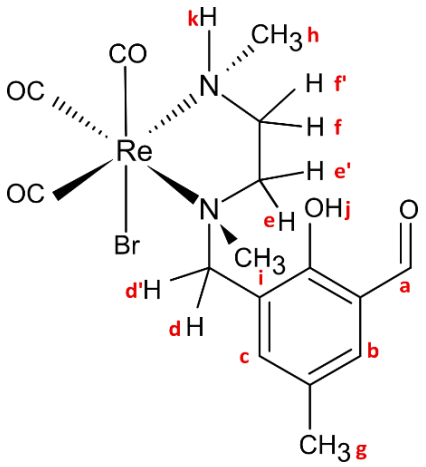
Tabela 26 - ^{13}C-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do ligante HL.



Núcleo ^{13}C	δ (ppm)$_{(exp)}$	δ (ppm)$_{(Teo)}$
a	124,82	130,991
b	136,89	136,825
c	128,08	132,948
d	128,91	135
e	122,34	124,629
f	159,30	167,95
g	192,49	186,747
h	20,27	28,976
i	58,29	60,603
j	56,37	67,122
k	48,96	59,285
l	36,27	41,104
m	42	46,626

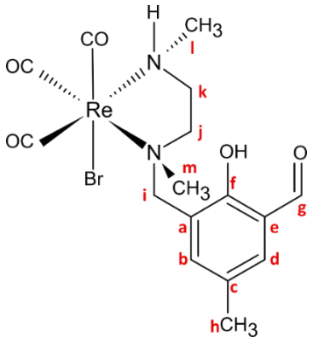
Comparação entre os dados de ressonância magnética nuclear experimental e teórico para complexo (Anexo – F)

Tabela 27 - ^{1}H-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do complexo de Re.



Núcleo ^{1}H	δ (ppm)$_{(exp)}$	δ (ppm)$_{(teo)}$
a	9,87	9,366
b	7,39	6,181
c	7,42	7,27
d	4,86	5,442
d'	4,35	4,316
e	3,47	3,894
e'	2,24	1,726
f	3,32	2,765
f'	2,85	2,73
g	2,35	2,13
h	3,10	2,8
i	3,08	2,87
j	11,37	14,166
k	3,57	4,246

Tabela 28 - ^{13}C-RMN Comparação entre valor das ressonâncias experimental e simulação teórica do complexo de Re.



Núcleo ^{13}C	Shift$_{(exp)}$	Shift$_{(teo)}$	Núcleo ^{13}C	Shift$_{(exp)}$	Shift$_{(teo)}$
a	120,74	123,287	**i**	57,79	68,281
b	142,84	145,24	**j**	58,76	64,916
c	128,97	133,72	**k**	53,82	62,208
d	134,87	139,139	**l**	44,90	45,076
e	120,50	125,527	**m**	51,59	52,266
f	159,05	168,809	**CO**	não aparece	192,433
g	196,55	187,067	**CO**	não aparece	199,946
h	20,21	28,484	**CO**	não aparece	200,525

Espectro de Ressonância Magnética Nuclear HSQC - Complexo rênio

(Anexo – G)

Figura 57 - Ampliação do espectro RMN HSQC do cloridrato ($CDCl_3$ em 400MHz).

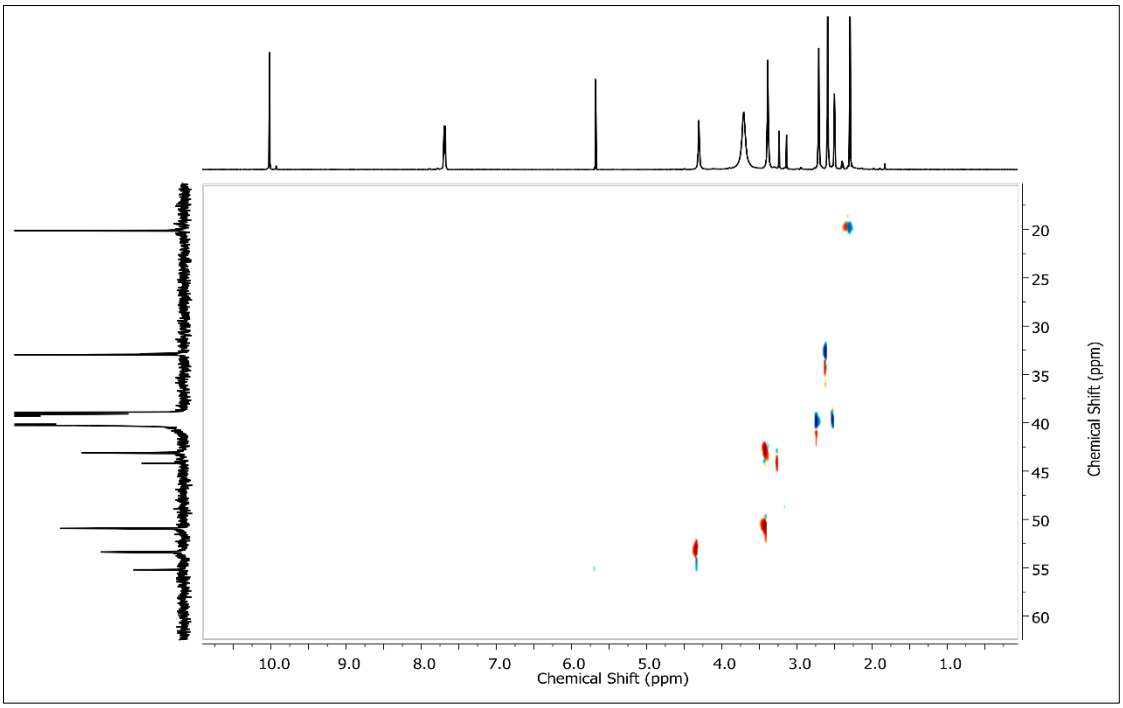
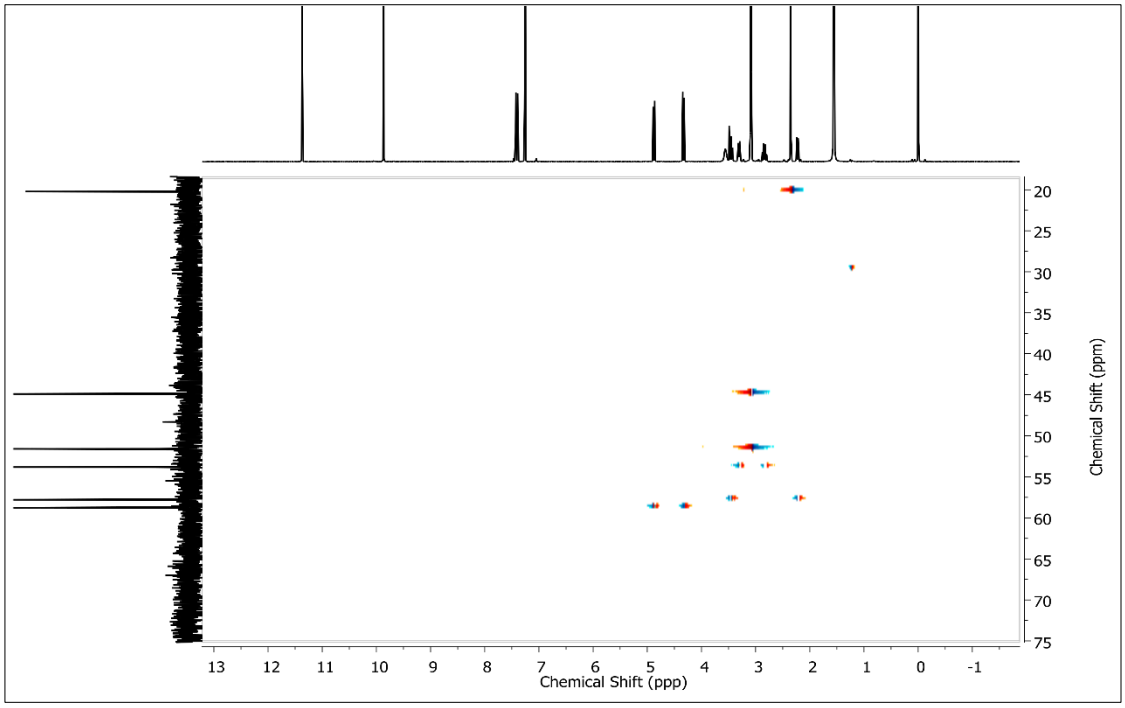


Figura 58 - Ampliação do espectro RMN HSQC complexo de rênio (CDCl3 em 400MHz).



Espectro de Ressonância Magnética Nuclear COSY - Complexo rênio

(Anexo – H)

Figura 59 – Ampliação do espectro RMN COSY complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).

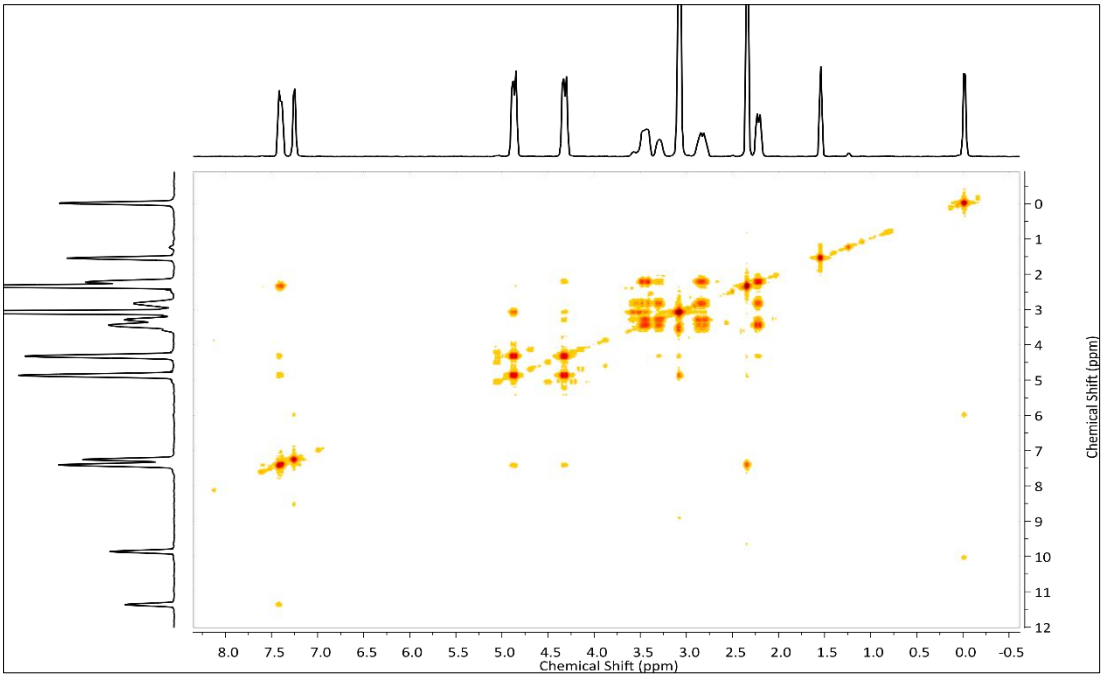
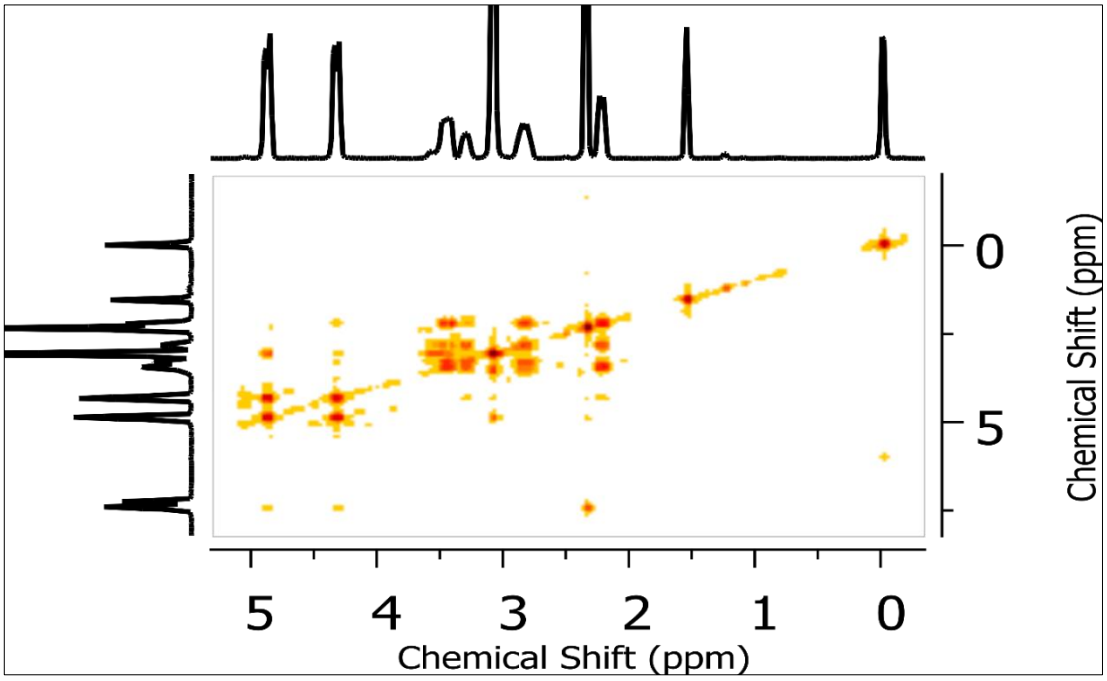


Figura 60- Ampliação do espectro RMN COSY complexo de rênio ($CDCl_3$ em 400MHz).



Difração de raios X - Dados Cristalográficos (Anexo – I)

Tabela 29 - Dados Cristalográficos para o complexo de rênio.

Fórmula empírica	$C_{32}H_{40}Br_2N_4O_{10}Re_2$	
Massa molar (g/mol)	1172.90	
Temperatura (K)	296(2) K	
Comprimento de onda (Mo Kα) (Å)	0.71073	
Sistema Cristalino	Monoclinic	
Grupo espacial	P 2/n	
Dimensão da célula unitária	a = 20.6855(16) Å	α= 90°
	b = 11.2321(8) Å	β= 98.438(2)°
	c = 20.7677(16) Å	γ = 90°
Volume ($Å^3$)	4773.0(6)	
Z	4	
Densidade (calculada) (Mg m^{-3})	1.632 Mg/m3	
Coeficiente de absirção (mm^{-1})	6.788	
F(000)	2240	
Tamanho do cristal	0.080 x 0.030 x 0.030 mm3	
Intervalo de Teta	1.504 to 26.407°.	
Intervalo de hkl	-25<=h<=25, -14<=k<=14, -25<=l<=25	
Reflexões coletadas	164151	
Reflexões independentes	9772 [R(int) = 0.1574]	
Completeness to theta = 25.242°	100.0 %	
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F2	
Dados / restrições / parâmetros	9772 / 24 / 194	
S (Goodness-of-fit)	2.575	
R1 (I > 2σ(I))	0.2305	
wR2 (I > 2σ(I))	0.2745	
Coeficiente de extinção	n/a	
Densidade eletrônica residual máxima e mínima (e $Å^{-3}$)	12.485 e -12.059 e	

Difração de raios X – Imagens célula unitária (Anexo – J)

Figura 61- Representação ORTEP do complexo do complexo de rênio.

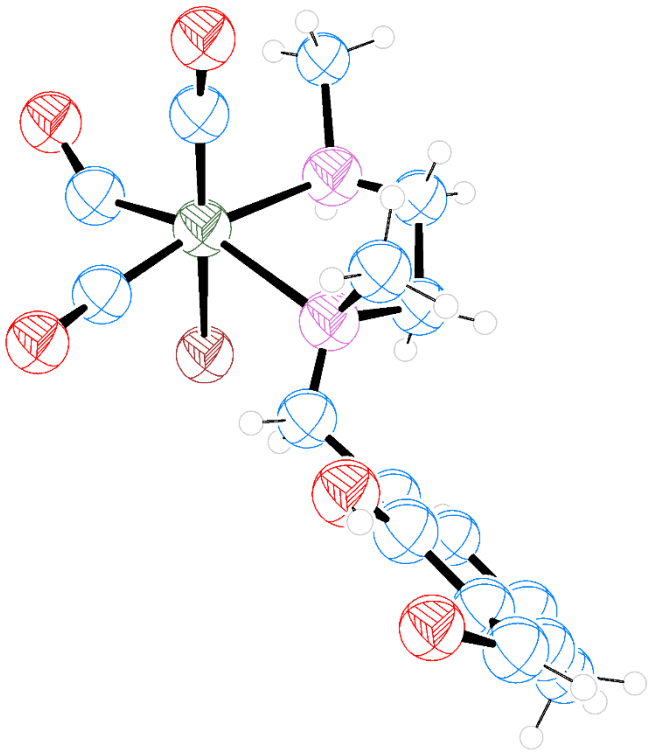
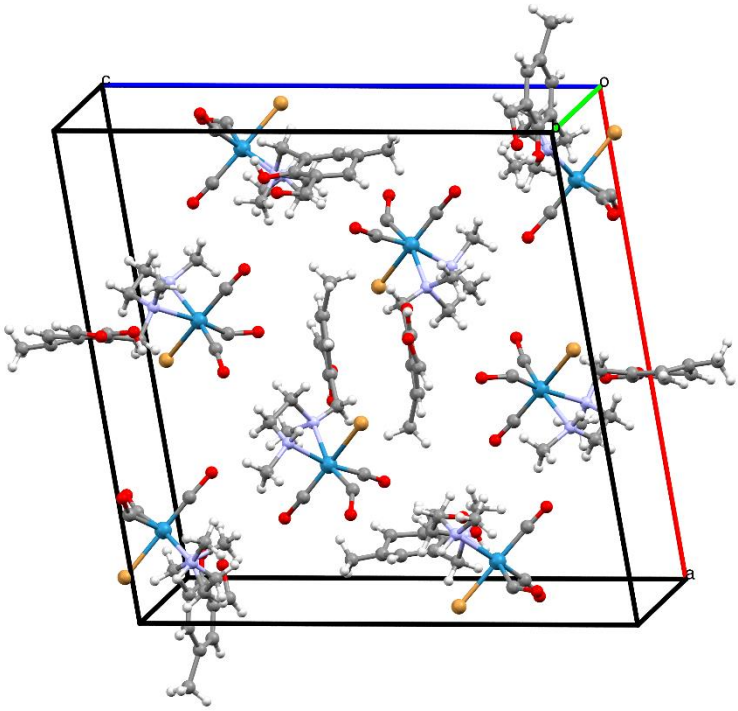


Figura 62- Representação célula unitária do complexo do complexo de rênio.



Espectroscopia de absorção no UV-Vis. – Espectros de deconvolução (Anexo – K)

Figura 63 – Deconvolução do Espectro de do UV-Vis ligante HL.

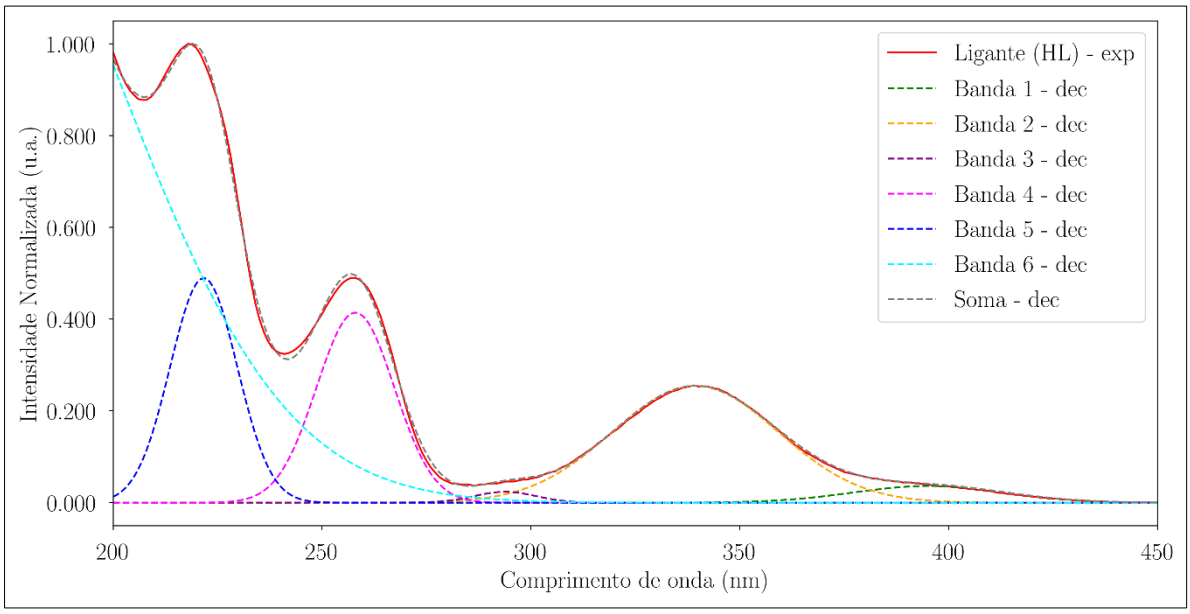


Figura 64 - Deconvolução do Espectro de absorção no UV-Vis do complexo.

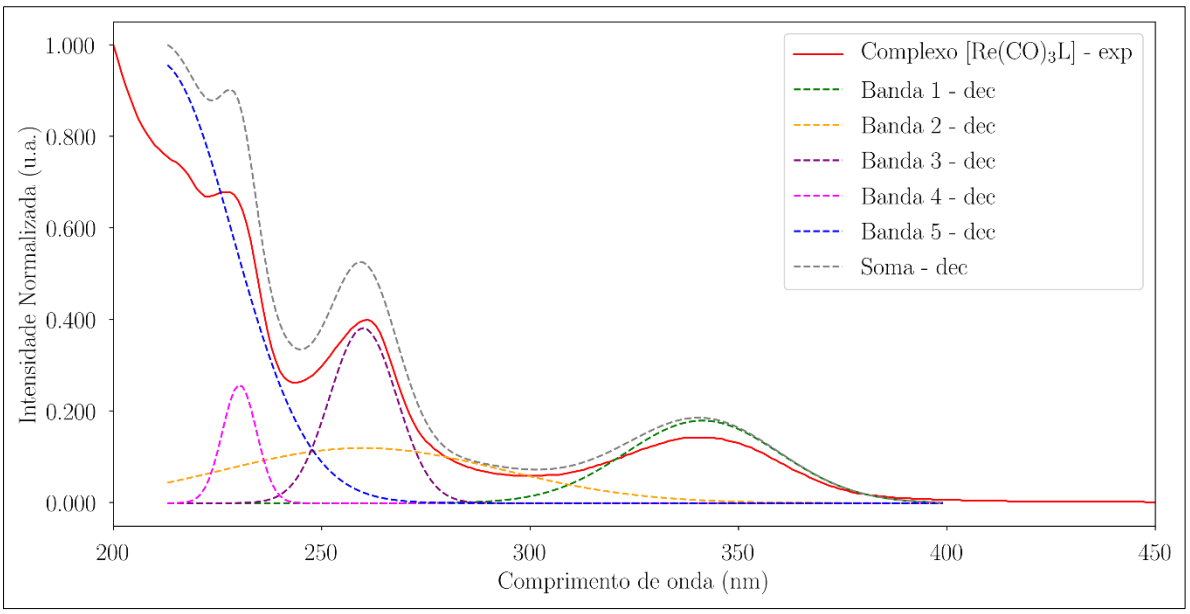


Figura 65 - Deconvolução do Espectro de absorção no UV-Vis do complexo precursor *fac*-[Re(OH$_2$)$_3$(CO)$_3$]Br.

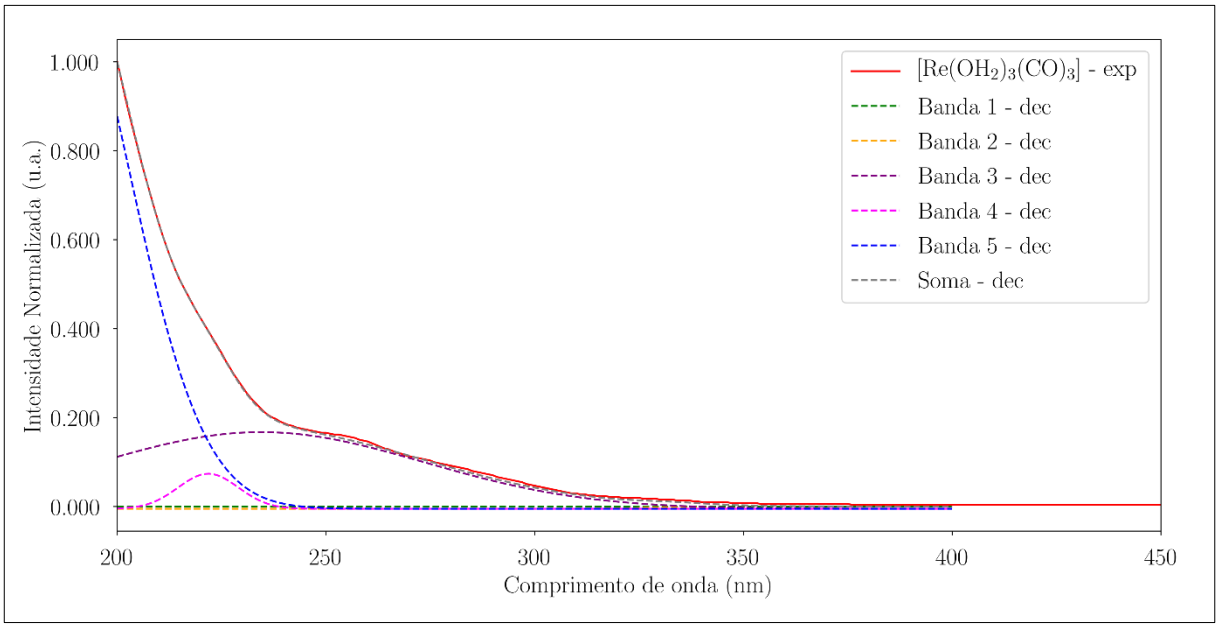
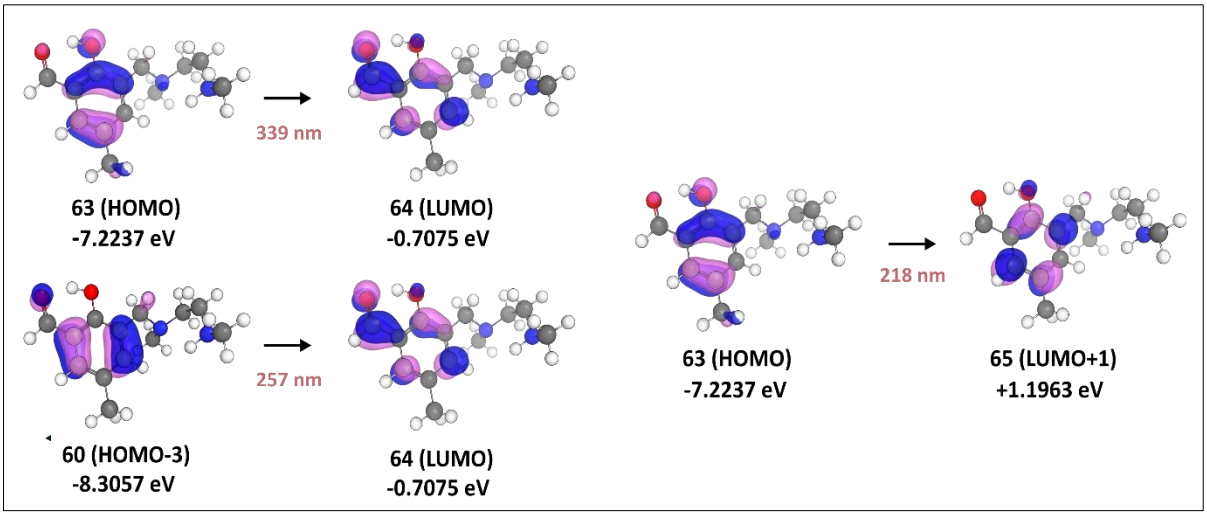


Figura 66 - Ampliação dos estados e MOs envolvidos nas transições eletrônicas do ligante HL



Radiocromatogramas Marcações com variação de massa e pH (Anexo – L)

Figura 67 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7.

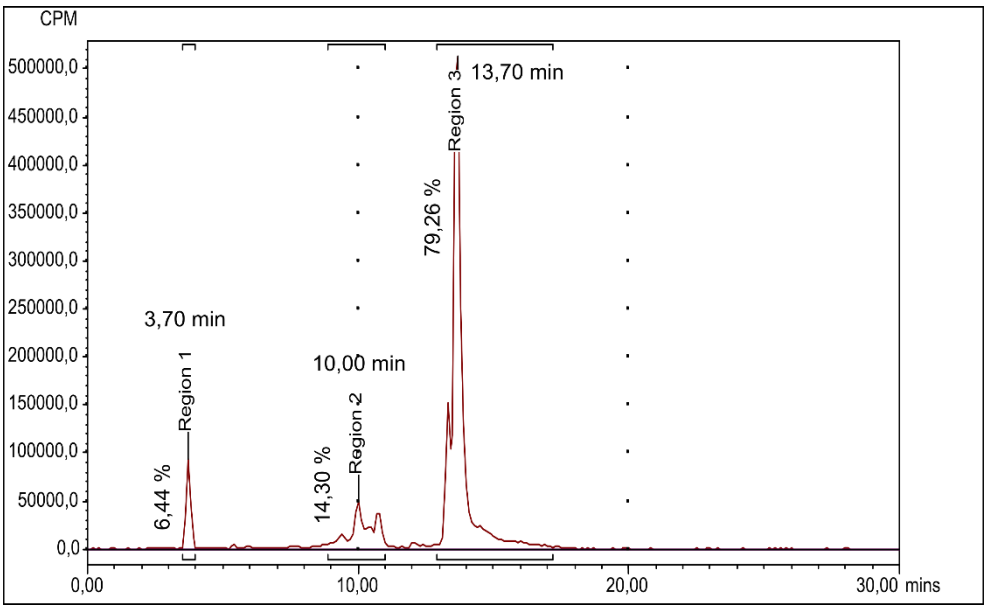


Figura 68 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 5 mg em pH 7.

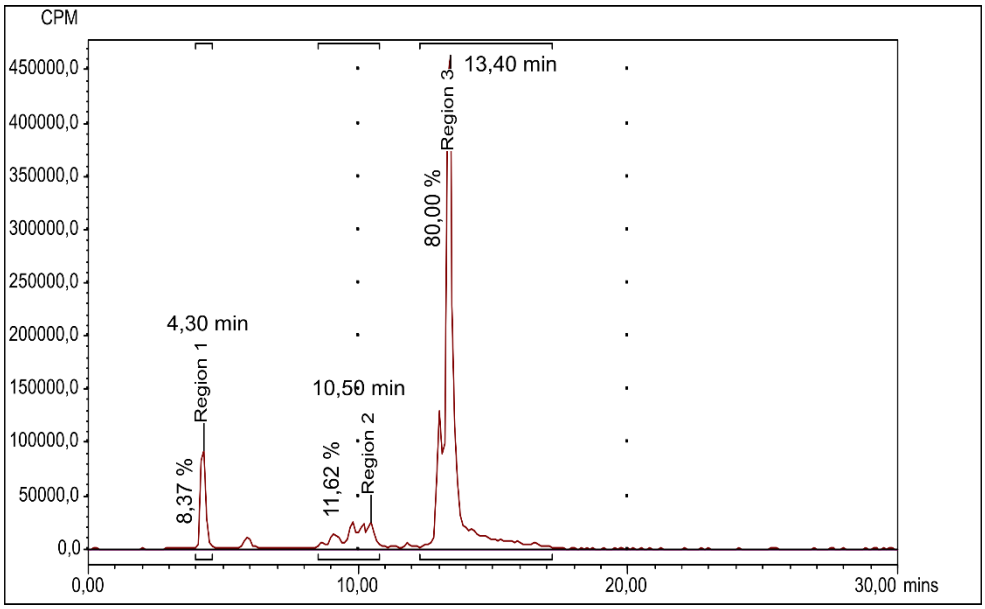


Figura 69 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 8,5.

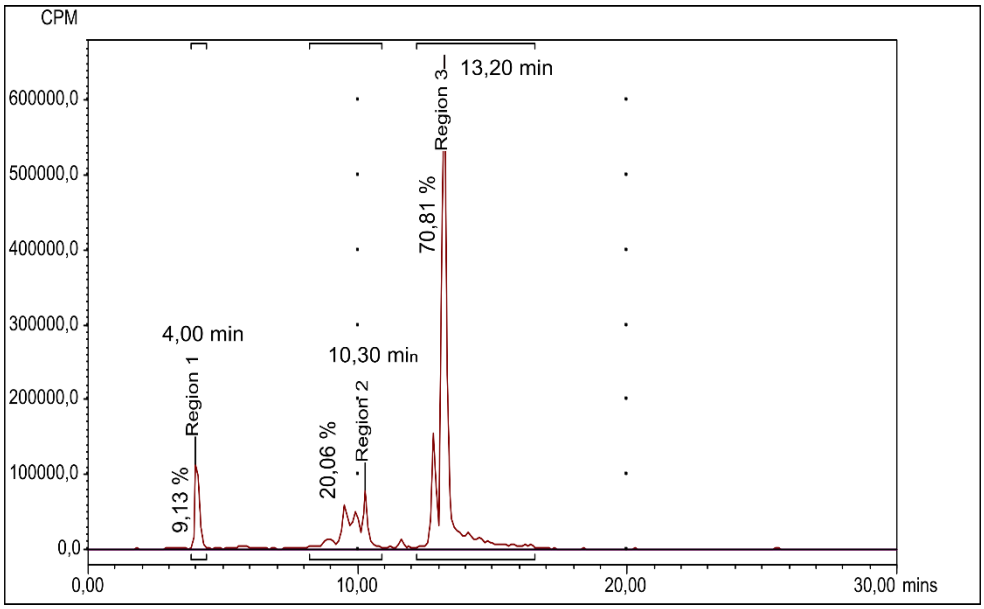
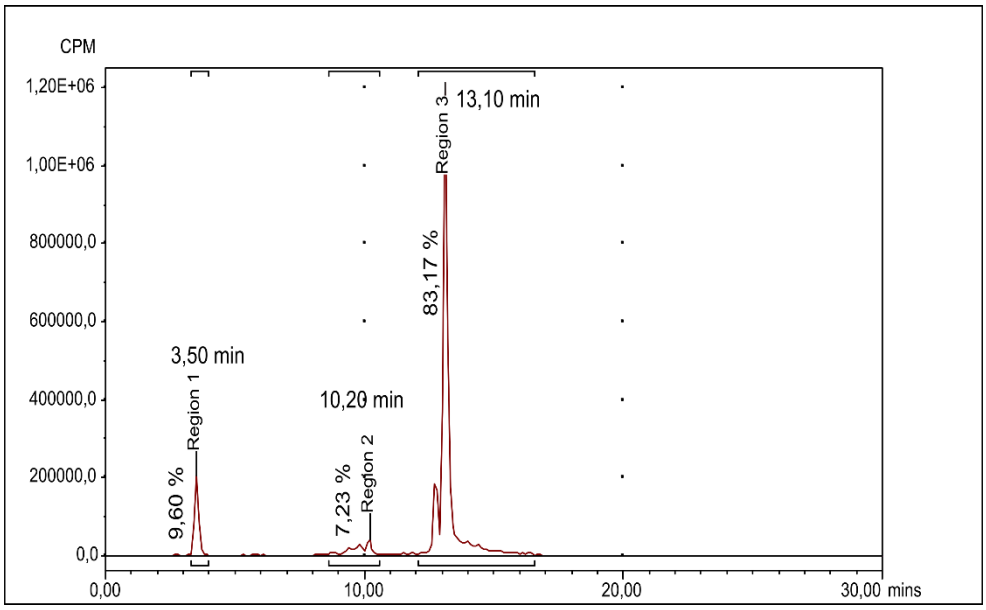


Figura 70 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 5 mg em pH 8,5.



Radiocromatogramas das marcações com irradiação microondas com variação de temperatura e tempo (Anexo – M)

Figura 71 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7 a 37°C com irradiação em microondas de 1 min.

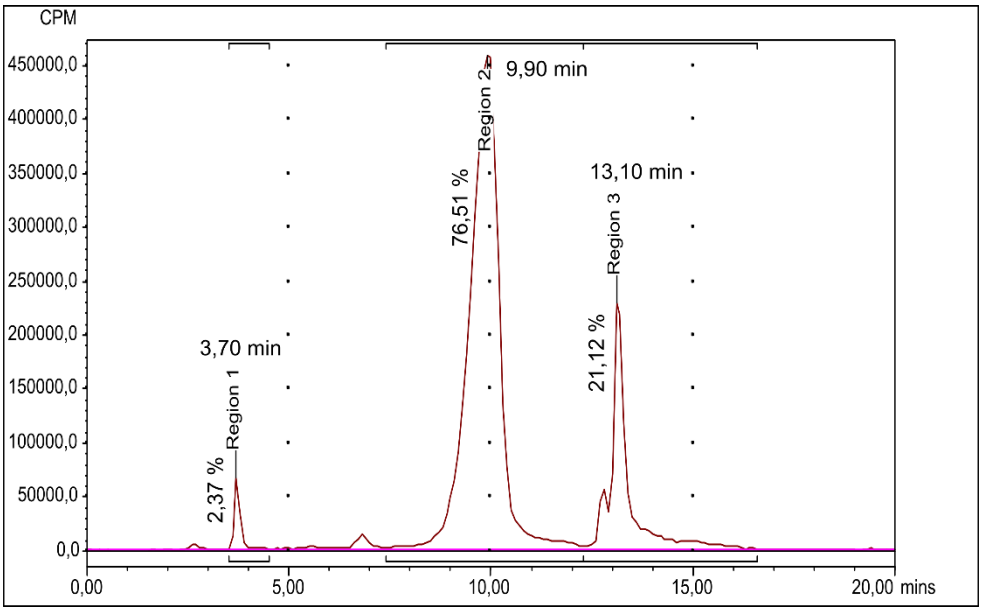


Figura 72 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7 a 70°C com irradiação em microondas de 1 min.

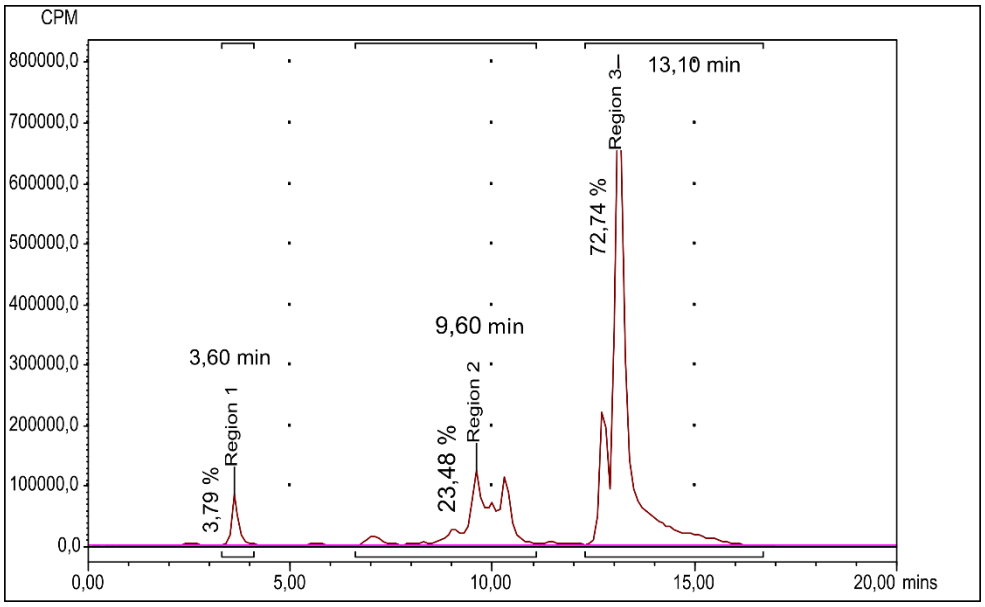


Figura 73 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7 a 37°C com irradiação em microondas de 5 min.

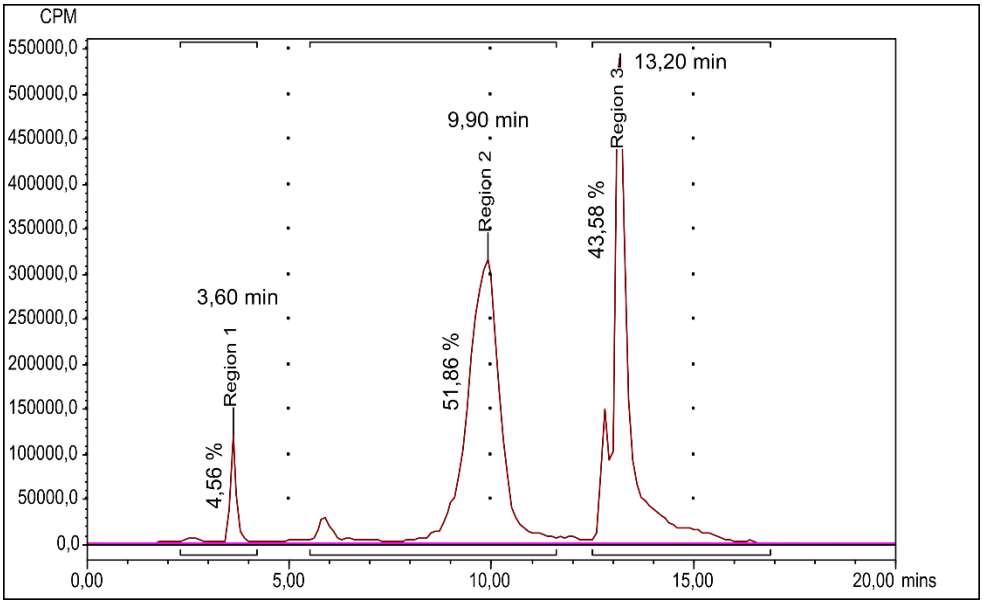
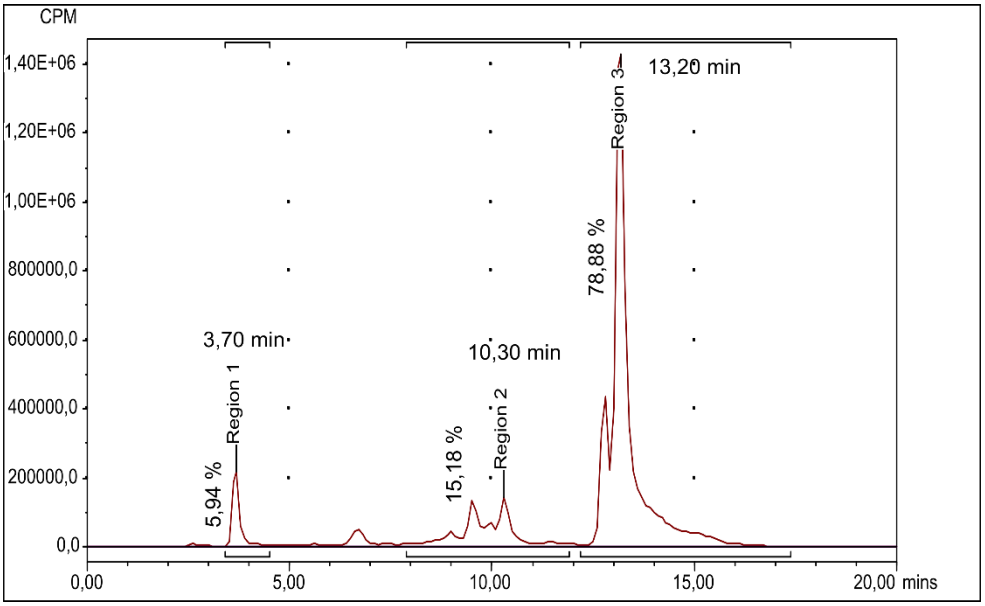



Figura 74 - Radiocromatograma do complexo [^{99m}TcCl(HL)(CO)$_3$] com 1 mg em pH 7 a 70°C com irradiação em microondas de 5 min.