



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E FÍSICA MOLECULAR**

RENAN CAMURÇA FERNANDES LEITÃO

**Complexos de gálio(III) e índio(III) com ligantes hidrazonas
derivados da isoniazida: investigação estrutural, ensaios de
interação com biomoléculas e avaliação das atividades anticâncer e
*anti-Mycobacterium tuberculosis***

**São Carlos – SP
2021**

Renan Camurça Fernandes Leitão

Complexos de gálio(III) e índio(III) com ligantes hidrazonas derivados da isoniazida: investigação estrutural, ensaios de interação com biomoléculas e avaliação das atividades anticâncer e anti-*Mycobacterium tuberculosis*

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Candidato: Renan Camurça Fernandes Leitão

Orientador: Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon

Exemplar revisado

O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

São Carlos – SP

2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura:

Data:

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Leitão, Renan Camurça Fernandes

Complexos de gálio(III) e índio(III) com ligantes hidrazonas derivados da isoniazida: investigação estrutural, ensaios de interação com biomoléculas e avaliação das atividades anticâncer e anti-*Mycobacterium tuberculosis* / Renan Camurça Fernandes Leitão. — São Carlos, 2021.

204 f.

Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon

1. Gálio. 2. Índio. 3. Hidrazonas. 4. Atividade biológica. 5. Química de coordenação. I. Título.



DEDICATÓRIA

*Ao meu avô Isaías, que sempre estará vivo
no meu coração e em minhas memórias.
Meu melhor parceiro no jogo de damas,
meu grande exemplo de força, sinceridade
e amor pela família, meu eterno amor.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Victor Marcelo Deflon, pela orientação no meu projeto de doutorado, por todas as oportunidades que me foram proporcionadas e todos os ensinamentos que contribuíram com a minha formação como químico e pesquisador.

Ao Dr. António Manuel Rocha Paulo, por ter aberto as portas do C²TN para o meu estágio de doutorado em Portugal, pela sua incrível hospitalidade e pelos ensinamentos e contribuições com o meu projeto de pesquisa.

A todos os membros do Grupo de Ciências Radiofarmacêuticas do C²TN, que me acolheram com muito carinho em Portugal e contribuíram imensamente com o meu trabalho de doutorado.

Ao professor Dr. Alzir Azevedo Batista, por me permitir realizar os estudos de interação com biomoléculas em seu grupo de pesquisa na UFSCar, e ao Dr. Gabriel Henrique Ribeiro, pelo acompanhamento nas análises e pela sua amizade.

Ao professor Dr. Pedro Ivo da Silva Maia, pelo suporte com o projeto de pesquisa.

*Ao professor Dr. Fernando Rogério Pavan, pelos ensaios de atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis*.*

Aos técnicos André e Sylvana da Central de Análises Químicas do IQSC, pelas análises de RMN.

Aos membros da banca examinadora, pelas contribuições com o trabalho.

Aos funcionários da secretaria de pós graduação do IQSC, sempre muito atenciosos.

AGRADECIMENTOS

As agências de fomento CAPES e FCT (Portugal), por apoiarem a minha pesquisa.

Aos membros e ex-membros do GQIEB, os quais convivi durante o meu doutorado, Jéssica, Victor Maia, Marcela, Luana, Daniel, Stephanny, Thaís, Gabriela, Jocely e Rafaela, pela amizade e união em todos os momentos.

Ao meu amigo irmão Philippe e toda a sua família, que de longe acompanharam todos os momentos da minha trajetória em São Carlos.

A minha sogra Walquíria, pelo grande carinho e amizade.

Aos meus tios e a minha avó Maria do Carmo, pelo amor e apoio aos meus estudos em São Carlos.

As minhas irmãs Sâmia e Cintia e aos meus sobrinhos Leandro, Maria Clara, Maria Isabella, Lorenzo e Maria Liz, por fazerem parte de minha vida.

A minha melhor amiga e esposa Anna Cecília, pelo seu companheirismo em todos os momentos e amor incondicional.

Aos meus pais Socorro e Edmar, pelo amor e todos os esforços que fizeram para eu realizar os meus sonhos. Amor ∞

Science is magic that works.

Kurt Vonnegut

RESUMO

A busca por novos fármacos baseados em metais é motivada pela reconhecida atividade de íons metálicos em diversos processos biológicos. Dentre os metais explorados na medicina, existe um interesse crescente sobre a investigação de complexos de gálio e índio como agentes anticancer e antibacterianos. Este trabalho descreve a síntese, investigação estrutural e estudos biológicos *in vitro* de novos complexos de gálio e índio com ligantes bases de Schiff. Os ligantes O,N,O-doadores (benzoilacetona isonicotinoil hidrazona (**H₂L1**) e 4-clorobenzoilacetona isonicotinoil hidrazona (**H₂L2**) sintetizados, foram então utilizados para a síntese dos complexos octaédricos de Ga^{III} e In^{III}. Os ligantes e seus respectivos complexos ([Ga(L1)(HL1)] (**GaL1**), [Ga(L2)(HL2)] (**GaL2**), [In(L2)(HL2)] (**InL1**) e [In(L2)(HL2)] (**InL2**), tiveram suas estruturas investigadas pelas técnicas espectroscopia de ressonância magnética nuclear, espectrometria de massas com ionização por “electrospray”, condutimetria, espectroscopia de infravermelho e de UV-Vis, difração de raios X de monocristal, ponto de fusão e análise elementar. Através da marcação dos ligantes com o gálio-67, verificou-se uma maior lipofilicidade para o ⁶⁷**GaL2**, em comparação com o ⁶⁷**GaL1**, através da determinação do Log de P, bem como uma maior estabilidade do ⁶⁷**GaL2** em soro humano e transferrina, embora ambos os compostos tenham mostrado uma considerável diminuição de estabilidade após 24 h de incubação. Estudos de interação *in vitro* dos complexos de Ga^{III} e In^{III} com a albumina do soro humano (HSA), evidenciaram uma interação moderada de todos os complexos com a HSA, através de interações hidrofóbicas espontâneas, onde a maior supressão da HSA foi causada pelos complexos **GaL2** e **InL2**, o que possivelmente pode estar associado a uma maior lipofilicidade do **H₂L2**. Para os estudos de interação com o CT-DNA, os dados obtidos a partir de análises de viscosidade, espectroscopia de dicroísmo circular e de UV-Vis, sugerem uma interação reversível dos complexos com o CT-DNA com modo de ligação nos sulcos, e com uma interação ligeiramente maior observada para os complexos de Ga^{III}. Ensaio de citotoxicidade com as linhagens celulares MCF-7 (câncer de mama), PC-3 (câncer de próstata) e RWPE-1 (não tumoral da próstata), mostraram que os complexos são mais ativos e seletivos contra a linhagem celular MCF-7. Uma maior citotoxicidade foi observada para os complexos com o **H₂L2**, o que foi atribuído a maior lipofilicidade e maior permeabilidade celular do complexo halogenado, como confirmado em testes de acumulação celular dos radiocomplexos (⁶⁷**GaL1** e ⁶⁷**GaL2**). O complexo **InL2** foi o mais ativo entre todos os compostos testados nos ensaios com a MCF-7, com valor de IC₅₀ ~ 3,8 vezes menor que o observado para o fármaco cisplatina (**InL2** = 10,34 ± 1,69 µM; cisplatina = 39,37 ± 1,69 µM). Os ensaios anti-MTB revelaram uma potente atividade biológica dos ligantes livres e dos complexos (onde os complexos **GaL1** e **InL1** foram ligeiramente mais ativos), com valores observados de CIM₉₀ (µg/mL) entre 0,419 ± 0,05 e 1,378 ± 0,21, os quais estão na ordem de 7 a 24 vezes menores que o valor máximo considerado para subseqüentes testes com a MTB (10 µg/mL), portanto, sugerindo uma promissora atividade biológica dos compostos investigados neste trabalho frente a *Mycobacterium tuberculosis*.

Palavras-chave: Gálio; Índio; Base de Schiff; Atividade Biológica.

ABSTRACT

The search for new metal-based drugs is motivated by the recognized activity of metal ions in several biological processes. Among the metals explored in medicine, there is a growing interest in the investigation of gallium and indium complexes as anticancer and antibacterial agents. This work describes the synthesis, structural investigation and *in vitro* biological studies of new gallium and indium complexes with Schiff base ligands. The synthesized O,N,O-donor ligands (isonicotinoyl benzoylacetone (**H₂L1**) and 4-chlorobenzoylacetone isonicotinoyl hydrazone (**H₂L2**), were then used for the synthesis of the Ga^{III} and In^{III} octahedral complexes. The ligands and their respective complexes ([Ga(L1)(HL1)] (**GaL1**), [Ga(L2)(HL2)] (**GaL2**), [In(L1)(HL1)] (**InL1**) and [In(L2)(HL2)] (**InL2**), were investigated by nuclear magnetic resonance spectroscopy, electrospray ionization mass spectrometry, conductimetry, UV-Vis and infrared spectroscopy, single crystal X-ray diffraction, melting point and elemental analysis. By labeling the ligands with gallium-67, it was verified greater lipophilicity for ⁶⁷GaL2, compared to ⁶⁷GaL1, by log P determination, as well as greater stability of ⁶⁷GaL2 in human serum and transferrin, although both compounds have shown a considerable decrease in stability after 24 h of incubation. *In vitro* interaction studies of the Ga^{III} and In^{III} complexes with human serum albumin (HSA) evidenced a moderate affinity of all compounds with HSA, through spontaneous hydrophobic interactions, where the greatest suppression of HSA was caused by the complexes **GaL2** and **InL2**, which can be possible associated to the higher lipophilicity of **H₂L2**. For the CT-DNA interaction studies, the data obtained from the viscosity, circular dichroism and UV-Vis spectroscopy analyses suggest a reversible interaction of the complexes with CT-DNA by groove mode binding, with a slightly greater interaction observed for the Ga^{III} complexes. Cytotoxicity assays with MCF-7 (breast cancer), PC-3 (prostate cancer) and RWPE-1 (non-tumoral prostate cancer) cell lines showed that the complexes are more active and selective against the MCF-7 cell line. A greater cytotoxicity was observed for the complexes with **H₂L2**, which was associated to the greater lipophilicity and greater cell permeability of the halogenated complex, as confirmed by cellular uptake tests with the radiocomplexes (⁶⁷GaL1 and ⁶⁷GaL2). **InL2** complex was the most active among all compounds tested in the MCF-7 assays, with IC₅₀ value ~ 3.8 times lower than that observed for the cisplatin drug (**InL2** = 10,34 ± 1,69 μM; cisplatin = 39,37 ± 1,69 μM). The anti-MTB assays revealed a potent biological activity of the free ligands and complexes (where **GaL1** and **InL1** complexes were slightly more active), with MIC₉₀ (μg/mL) values observed from 0,419 ± 0,05 to 1,378 ± 0,21, which are in the order of 7 to 24 times lower than the maximum value considered for subsequent tests with MTB (10 μg/mL), therefore, suggesting a promising biological activity of the compounds investigated in this work against *Mycobacterium tuberculosis*.

Keywords: Gallium; Indium; Schiff base; Biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tabela periódica biológica. Os elementos representados na cor azul estão presentes na maioria dos seres vivos. Na cor verde, destaca-se os elementos restritos a alguns tipos de organismos. O cromo (Cr), cor cinza, tem sido questionado como elemento essencial devido ao seu efeito carcinogênico (VINCENT, 2017). (*lantanídeos e actinídeos omitidos).	25
Figura 2 - Algumas aplicações de metais na química inorgânica medicinal.	28
Figura 3 - Mecanismo simplificado da ação anticâncer da cisplatina. Influxo da cisplatina no ambiente intracelular através de difusão passiva ou ativa, efluxo da cisplatina e suas reações de hidrólise no citosol (a), representação das ligações cruzadas 1,2-intrafita e 1,3-intrafita da cisplatina com o DNA através da base nitrogenada guanina (b).	30
Figura 4 - Complexos de platina utilizados no tratamento do câncer.	32
Figura 5 - Estrutura química de compostos de gálio com atividade biológica.	40
Figura 6 - Estrutura química de compostos de índio com atividade antitumoral.	44
Figura 7 - Estruturas químicas dos fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da tuberculose.	47
Figura 8 - Estrutura química de compostos de gálio com atividade anti-MTB.	49
Figura 9 - Fotografia de Hugo Schiff, lecionando no dia 24 de abril de 1915.	51
Figura 10 - Estrutura geral das bases de Schiff (a), com a representação da sua reação geral de síntese (b). Estruturas químicas dos grupos hidrazona (c), hidrazina (d) e hidrazida (e).	52
Figura 11 - Representação geral da hipótese deste trabalho.	54
Figura 12 - Curva do gradiente de eluição do método descrito na tabela 6.	65
Figura 13 - Espectro de RMN ¹ H do composto H ₂ L1 em DMSO- <i>d</i> ₆ e frequência de 300 MHz.	75
Figura 14 - Espectro de DEPT-135 do composto H ₂ L1 em DMSO- <i>d</i> ₆	77
Figura 15 - Espectro de RMN ¹³ C do composto H ₂ L1 em DMSO- <i>d</i> ₆ e frequência de 75 MHz.	78
Figura 16 - Espectro de RMN de ¹ H do complexo GaL1 em DMF- <i>d</i> ₇ e frequência de 300 MHz.	79

Figura 17 - Espectros de RMN de ^1H em diferentes temperaturas do complexo GaL1 na região de deslocamento químico dos hidrogênios orto e meta do anel piridina, em DMF- d_7 e frequência de 300 MHz.	81
Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo GaL1 em DMF- d_7 e frequência de 75 MHz.	82
Figura 19 - Espectro de ESI-MS (+) do composto H ₂ L1.....	83
Figura 20 - Espectro de ESI-MS (-) do composto H ₂ L2.....	84
Figura 21 - Espectro de ESI-MS (-) do complexo GaL1.....	85
Figura 22 - Espectro de ESI-MS (-) do complexo InL1.....	86
Figura 23 - Valores de condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) dos complexos de gálio(III) e índio(III) em solução de DMF e temperatura de 20 °C (0, 1 e 24 h).	87
Figura 24 - Espectro de absorção na região do UV-Vis partindo do composto H ₂ L1a (sólido amarelo) em solução de acetonitrila, monitorado ao longo de 12 h.	89
Figura 25 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do composto H ₂ L1f (sólido branco) em solução de acetonitrila, monitorado ao longo de 12 h.	90
Figura 26 - Aumento da deslocalização π por ressonância de um anel aromático através da presença de elétrons não ligantes de um átomo "Y" (Ex: Y = Cl).	91
Figura 27 - Espectro de absorção na região do UV-Vis: (a) composto H ₂ L1a (sólido amarelo) e (b) composto H ₂ L1f (sólido branco) em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 2 h.	92
Figura 28 - Espectro de absorção na região do UV-Vis dos complexos de gálio e índio em solução de DMSO.	94
Figura 29 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo GaL1 em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 24 h.	95
Figura 30 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo InL1 em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 24 h.	96
Figura 31 - Espectro de UV-Vis simulado por DFT do complexo GaL1, com as energias (eV) das principais transições HOMO-LUMO.	98
Figura 32 - Orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, das principais transições eletrônicas do complexo GaL1.	99
Figura 33 - Representação da estrutura molecular do composto H ₂ L1a (C = cinza, O = lilás, N = vermelho, H = branco), obtida por DRX de monocristal.	101
Figura 34 - Estruturas moleculares como elipsoides obtidas por difração de raios X de monocristal: (a) tautômero de cadeia fechada do ligante H ₂ L1 (H ₂ L1f), (b)	

tautômero de cadeia fechada do ligante H ₂ L2 (H ₂ L2f) e (c) tautômero de cadeia aberta do ligante H ₂ L2 (H ₂ L2a). Representação das elipsoides com 50% de probabilidade.	102
Figura 35 - Moléculas do H ₂ L2f vistas ao longo do eixo c, com ênfase para empacotamento unidimensional gerado por simetria ao longo do eixo a (a), expansão gerada através da figura 31(a) de uma molécula de água interagindo por ligações de hidrogênio com três moléculas vizinhas do H ₂ L2f, e seus respectivos dados de ligação (b), expansão gerada através da figura 34(a), destacando as interações de empilhamento entre os anéis pirazol ao longo do eixo a, com dados obtidos de potencial intermolecular (c) e análise de hidratação na cela unitária do H ₂ L2f·H ₂ O (d).	105
Figura 36 - Cella unitária do composto H ₂ L2a vista ao longo do eixo a (a), estrutura molecular do composto H ₂ L2a, com ênfase para o anel de seis membros formado a partir da interação intramolecular N(3)-H(6)...O(2) (b).	107
Figura 37 - Ligações de hidrogênio presentes no composto H ₂ L2a (a), ligações de hidrogênio presentes no composto H ₂ L1a (b), empacotamento cristalino visto ao longo do eixo a para o H ₂ L2a, com distâncias de ligação entre átomos de moléculas vizinhas (c), empacotamento cristalino ao visto ao longo do eixo a para o H ₂ L1a, com distâncias de ligação entre átomos de moléculas vizinhas (d)...	109
Figura 38 - Valores de potencial UNI intermolecular (Kcal.mol ⁻¹) calculados para a rede cristalina dos ligantes H ₂ L2a (a) e H ₂ L1a (b).	110
Figura 39 - Estrutura cristalográfica e molecular como elipsoides do complexo GaL1 obtida por DRX de monocristal. Os átomos de hidrogênio (exceto H3) estão omitidos para facilitar a visualização. Representação das elipsoides com 50% de probabilidade.	112
Figura 40 - Empacotamento do complexo GaL1 em uma cela unitária (a), comparação entre H ₂ L1a e GaL1 do arranjo estereoquímico das ligações C(6)-N(2)-N(3)-C(7)) (b), comparação entre H ₂ L1a e GaL1 do ângulo diedro dos anéis fenil e piridina (c), ângulos selecionados para as ligações envolvendo oxigênio e/ou nitrogênio com o centro metálico de gálio (d).	113
Figura 41 - Ligações de hidrogênio intermoleculares N(1)-H(3)...N(1_a) no arranjo do complexo GaL1 projetadas ao longo do eixo c, estendendo-se em modo <i>zigzag</i> em paralelo ao eixo a, com dados de operação de simetria, ângulo e distâncias de ligação.	115

Figura 42 - Estruturas otimizadas dos complexos de gálio e índio obtidas por cálculos de DFT.....	116
Figura 43 - Poliedros de coordenação dos octaedros distorcidos das estruturas GaL1 (experimental e calculada) e InL1 (calculada), com os valores de comprimentos de ligação (Å).....	118
Figura 44 - Espectro de IV do composto H ₂ L1a (pastilha de KBr).....	120
Figura 45 - Espectro de IV do composto H ₂ L1f (pastilha de KBr).....	122
Figura 46 - Espectros de IV do composto H ₂ L1f, após aquecimento da amostra em diferentes temperaturas (pastilha de KBr).	123
Figura 47 - Espectro de IV do complexo GaL1.	125
Figura 48 - Espectro de IV do complexo InL1.....	127
Figura 49 - Cromatogramas de HPLC (Nucleosil C18 5 µm, A - 0,05% TFA, B - 100% MeCN) dos radiocomplexos (a) ⁶⁷ GaL1 e (c) ⁶⁷ GaL2, e de seus respectivos análogos não radioativos (complexos “frios”) (b) GaL1 e (d) GaL2.	130
Figura 50 - Cromatogramas de HPLC (Nucleosil C18 5 µm, A - 0,05% TFA, B - 100% MeCN) dos radiocomplexos (a) ⁶⁷ GaL1 e (b) ⁶⁷ GaL2, incubados com apo-Tf (37 °C) e analisados por HPLC em diferentes intervalos de tempo.....	133
Figura 51 - Cromatogramas de HPLC (Nucleosil C18 5 µm, A - 0,05% TFA, B - 100% MeCN) dos radiocomplexos (a) ⁶⁷ GaL1 e (b) ⁶⁷ GaL2, incubados em SH (37 °C) e analisados por HPLC em diferentes intervalos de tempo.....	134
Figura 52 - Estrutura molecular da albumina do soro humano (HSA) com a indicação dos domínios, subdomínios, sítios de ligação (Sudlow I e II) e localização do Trp-214.....	136
Figura 53 - Espectros de fluorescência (t = 298,15 K) da HSA (5 µM) em tampão Trisma (10% DMSO) sem e com a adição dos complexos (10-50 µM) (a) GaL2 e (c) InL2. Gráficos F ₀ /F vs. [Q] dos complexos (b) GaL2 e (d) InL2, nas temperaturas de 298,15 e 310,15 K.	138
Figura 54 - Efeito dos complexos de gálio e índio na viscosidade relativa do CT-DNA.....	143
Figura 55 - Estruturas cristalográficas das formas A, B e Z do DNA.	143
Figura 56 - Espectros de dicroísmo circular do CT-DNA [100 µM] em tampão Trisma (10% DMSO) com diferentes concentrações dos complexos (r _i = [complexo]/[CT-DNA]): (a) GaL1, (b) GaL2, (c) InL1 e (d) InL2.....	145

Figura 57 - Espectros de absorção UV-Vis dos complexos em tampão Trisma (10% DMSO) na ausência de DNA (linha pontilhada) e após sucessivas adições de CT-DNA: (a) GaL1, (b) GaL2, (c) InL1 e (d) InL2. (↓) Seta referente ao hipocromismo com o aumento da concentração de DNA. Gráficos [DNA]/Ea-Ef vs. [DNA] no canto superior direito de cada espectro eletrônico.	146
Figura 58 - Acumulação celular dos radiocomplexos de gálio-67 nas linhagens celulares MCF-7 e PC-3.....	150
Figura A1 - Espectro de RMN ¹ H do ligante H ₂ L2 em DMSO- <i>d</i> ₆ e frequência de 300 MHz.....	177
Figura A2 - Espectro de DEPT-135 do ligante H ₂ L2 em DMSO- <i>d</i> ₆	177
Figura A3 - RMN de ¹³ C do ligante H ₂ L2 em DMSO- <i>d</i> ₆ e frequência de 75 MHz..	178
Figura A4 - Espectro de RMN de ¹ H do complexo GaL2 em DMF- <i>d</i> ₇ e frequência de 300 MHz.....	178
Figura A5 - Espectro de RMN de ¹³ C do complexo GaL2 em DMSO- <i>d</i> ₆ e frequência de 75 MHz.....	179
Figura A6 - Espectro de RMN de ¹ H do complexo InL1 em DMF- <i>d</i> ₇ e frequência de 300 MHz.....	179
Figura A7 - Espectro de RMN de ¹³ C do complexo InL1 em DMF- <i>d</i> ₇ e frequência de 75 MHz.....	180
Figura A8 - Espectro de RMN de ¹ H do complexo InL2 em DMF- <i>d</i> ₇ e frequência de 300 MHz.....	180
Figura A9 - Espectro de RMN de ¹³ C do complexo InL2 em DMSO- <i>d</i> ₆ e frequência de 75 MHz.....	181
Figura B1 - Espectros de ESI-MS dos complexos (a) GaL2, modo positivo e (b) InL2, modo negativo.....	182
Figura C1 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do composto H ₂ L2a (sólido amarelo) em solução de acetonitrila, monitorado ao longo de 12 h.....	183
Figura C2 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do composto H ₂ L2f (sólido amarelo) em solução de acetonitrila, monitorado ao longo de 12 h.....	184
Figura C3 - Espectro de absorção na região do UV-Vis: (a) composto H ₂ L2a (sólido amarelo) e (b) composto H ₂ L2f (sólido branco) em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 2 h.....	185
Figura C4 - Espectro de absorção na região do UV-Vis dos ligantes H ₂ L1 e H ₂ L2 em solução de DMSO.....	186
Figura C5 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo GaL2 em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 24 h...	186

Figura C6 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo InL2 em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 24 h...	187
Figura D1 - Espectro de UV-Vis simulado por DFT do complexo GaL2, com as energias (eV) das principais transições HOMO-LUMO.....	188
Figura D2 - Espectro de UV-Vis simulado por DFT do complexo InL1, com as energias (eV) das principais transições HOMO-LUMO.....	188
Figura D3 - Espectro de UV-Vis simulado por DFT do complexo InL2, com as energias (eV) das principais transições HOMO-LUMO.....	189
Figura D4 - Orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, das principais transições eletrônicas do complexo GaL2.....	190
Figura D5 - Orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, das principais transições eletrônicas do complexo InL1.....	191
Figura D6 - Orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, das principais transições eletrônicas do complexo InL2.....	192
Figura F1 - Espectro de IV do tautômero H ₂ L2a (pastilha de KBr).....	196
Figura F2 - Espectro de IV do tautômero H ₂ L2f (pastilha de KBr).....	197
Figura F3 - Espectros de IV do composto H ₂ L2f, após aquecimento da amostra em diferentes temperaturas (pastilha de KBr).....	198
Figura F4 - Espectro de IV do complexo GaL2 (pastilha de KBr).....	199
Figura F5 - Espectro de IV do complexo InL2 (pastilha de KBr).....	200
Figura G1 - Cromatograma de HPLC (Nucleosil C18 5 µm, A - 0,05% TFA, B - 100% MeCN) do tricloreto de gálio-67.....	201
Figura G2 - Cromatograma de HPLC do radiocomplexo ⁶⁷ GaL1, realizado com as condições cromatográficas descritas na tabela G1.....	201
Figura G3 - Curva do gradiente de eluição do método descrito na tabela G1.....	202
Figura H1 - Espectros de fluorescência (t = 298,15 K) da HSA (5 µM) em tampão Trisma (10% DMSO) sem e com a adição dos complexos (10-50 µM) (a) GaL1 e (c) InL1. Gráficos F ₀ /F vs. [Q] dos complexos (b) GaL1 e (d) InL1, nas temperaturas de 298,15 e 310,15 K.....	203
Figura H2 - Efeito do composto laranja de tiazol na viscosidade relativa do CT-DNA.....	204
Figura H3 - Espectro de dicroísmo circular do CT-DNA [100 µM] em tampão Trisma (10% DMSO).....	204

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Reação de condensação para a síntese dos ligantes H ₂ L1 e H ₂ L2.	73
Esquema 2 - Reação de coordenação para a síntese dos complexos de gálio e índio com os ligantes H ₂ L1 e H ₂ L2.	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alguns problemas de saúde causados pela deficiência de metais (essenciais) no corpo humano.	26
Tabela 2 - Comparação entre as propriedades previstas por Dmitri Mendeleev para o “eka-aluminum” em 1871, com as propriedades determinadas experimentalmente por Paul-Emile Lecoq de Boisbaudran em 1875.	33
Tabela 3 - Valores de pK da sequência de hidrólise dos íons Ga^{3+} e In^{3+} (força iônica 0,15 M), com valores de solubilidade (μM) em $\text{pH} = 7,4$. “M” corresponde aos metais gálio ou índio.	35
Tabela 4 - Alguns parâmetros químicos dos íons Fe^{3+} , Ga^{3+} e In^{3+}	36
Tabela 5 - Número estimado de novos casos dos cinco tipos de câncer que tiveram maior incidência em homens e mulheres de todas as idades no ano de 2020. ..	38
Tabela 6 - Condições cromatográficas utilizadas para as análises de HPLC.	65
Tabela 7 - Ligações de hidrogênio para o tautômero $\text{H}_2\text{L2f}\cdot\text{H}_2\text{O}$ com os comprimentos (Å) e ângulos de ligação ($^\circ$).	104
Tabela 8 - Ligações de hidrogênio para o tautômero $\text{H}_2\text{L2a}$ com os comprimentos (Å) e ângulos de ligação ($^\circ$).	110
Tabela 9 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação ($^\circ$) selecionados do complexo GaL1 (dados experimentais) e dos complexos GaL1 e InL1 (dados calculados por DFT).	117
Tabela 10 - Valores calculados e experimentais para as porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes nos ligantes e nos complexos.	129
Tabela 11 - Determinação da lipofilicidade dos radiocomplexos de gálio-67. Valores descritos em cpm (contagem por minuto), obtidos em um contador de radiação γ	132
Tabela 12 - Constantes de supressão Stern-Volmer (K_{sv}) e constantes de taxa de supressão bimolecular (k_q) determinadas para os complexos com HSA em diferentes temperaturas.	139
Tabela 13 - Constantes de ligação (K_b), número de sítios de ligação (n) e os parâmetros termodinâmicos ΔH° (kJ mol^{-1}), ΔS° ($\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$) e ΔG° (kJ mol^{-1}) determinados para os complexos com HSA em diferentes temperaturas.	140
Tabela 14 - Dados obtidos dos espectros de absorção UV-Vis para a interação dos complexos com o CT-DNA, com valores de K_b	147

Tabela 15 - Efeito citotóxico com valores de IC ₅₀ (μM) dos ligantes livres e dos complexos de Ga ^{III} e In ^{III} frente as linhagens celulares MCF-7, PC3 e RWPE-1. IS corresponde ao índice de seletividade.	149
Tabela 16 - Valores de CIM ₉₀ (μg/mL e μM) determinados nos ensaios dos compostos frente a <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv. REMA = Ensaio de microtitulação com resazurina. Valores apresentados como média e desvio padrão (M ± DP) de três ensaios independentes.....	152
Tabela E1 - Dados cristalográficos dos ligantes (H ₂ L2f, H ₂ L2a) e do complexo GaL1.....	193
Tabela E2 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para os tautômeros H ₂ L2f·H ₂ O e H ₂ L2a.....	194
Tabela E3 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para complexo GaL1.....	195
Tabela G1 - Condições gerais da análise de HPLC do radiocomplexo ⁶⁷ GaL1 para os ensaios de estabilidade em SH. Coluna Nucleosil C-18, 5 μm, Fluxo: 0,5 mL/min, Gradiente A (0,05% TFA) e B (100% CH ₃ CN), comprimento de onda de 254 nm e solução do ligante de 1x10 ⁻² mol L ⁻¹	202

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AE - Análise elementar

BS - Bases de Schiff

CD - Circular dichroism (Dicroísmo circular)

CIM - Concentração Inibitória Mínima

cpm - Contagem por minuto

d - Duplete

DEPT - Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (Intensificação sem distorção por transferência de polarização).

DFT - Density functional theory (Teoria do funcional da densidade)

DMEM - Dulbecco's Modified Eagle's medium (Meio Eagle Modificado por Dulbecco)

DMF - Dimetilformamida

DMSO - Dimetilsulfóxido

DNA - Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)

DRX - Difração de raios X

ESI-MS - Electrospray ionization - mass spectrometry (Espectrometria de massas com ionização por "electrospray")

EtOH - Etanol

FDA - Food and Drug Administration

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HPLC - High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia líquida de alta eficiência)

HSA - Human serum albumin (Albumina do soro humano)

IC₅₀ - half maximal inhibitory concentration (metade da concentração inibitória máxima)

INCA - Instituto Nacional do Câncer

INH - Isoniazida

IRM – Imagem por ressonância magnética

IS - Índice de seletividade

IV - Espectroscopia na região do infravermelho

J - Constante de acoplamento

KSFM - Keratinocyte Serum-Free Medium (Meio queratinócito livre de soro)

H₂L1 - benzoilacetona isonicotinoil hidrazona

H₂L₂ - 4-clorobenzoilacetona isonicotinoil hidrazona
m - Multiplete
MeCN - Acetonitrila
MeOH - Metanol
MTB - *Mycobacterium tuberculosis*
OCTs - transportadores de cátions orgânicos poliespecíficos
OMS - Organização Mundial de Saúde
PBS - Phosphate Buffered Saline (Tampão Fosfato Salino)
PF - Ponto de fusão
ppm - Partes por milhão
RMN - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
RR - Ribonucleotídeo redutase
s - Simpleto
SFB - Soro fetal bovino
TB - Tuberculose
TETA - 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetraacético
Tf - Transferrina
TfR - Receptor de transferrina
TR - Tempo de retenção
UV-Vis - Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível
δ - Deslocamento químico
ε - Coeficiente de absorvidade molar
ν - Vibração de estiramento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
1.1 Os metais e a vida	25
1.2 Compostos metálicos na medicina	27
1.2.1 A descoberta da atividade antitumoral da cisplatina e o desenvolvimento da química inorgânica medicinal	28
1.3 Gálio e índio: descoberta e propriedades	33
1.4 Compostos de gálio e índio com atividade anticâncer e <i>anti-Mycobacterium tuberculosis</i>	37
1.4.1 Câncer	37
1.4.2 Compostos de gálio(III) como agentes antitumorais	39
1.4.3 Compostos de índio(III) como agentes antitumorais	43
1.4.4 Tuberculose	45
1.4.5 Compostos de gálio(III) como agentes <i>anti-Mycobacterium tuberculosis</i> ..	48
1.4.6 Compostos de índio(III) como agentes <i>anti-Mycobacterium tuberculosis</i> ..	50
1.5 Ligantes bases de Schiff bioativos	51
1.6 Hipóteses para a obtenção dos complexos de gálio e índio bioativos	53
2 OBJETIVOS	55
3 METODOLOGIA	56
3.1 Síntese dos compostos	56
3.1.1 Reagentes	56
3.1.2 Ligantes	56
3.1.2.1 Benzoilacetona-isonicotinoil-hidrazona (H ₂ L1).....	56
3.1.2.2 4-clorobenzoilacetona-isonicotinoil-hidrazona (H ₂ L2)	57
3.1.3 Complexos.....	58
3.1.3.1 [Ga(L1)(HL1)] (GaL1)	58

3.1.3.2 [Ga(L2)(HL2)] (GaL2)	58
3.1.3.3 [In(L1)(HL1)] (InL1)	59
3.1.3.4 [In(L2)(HL2)] (InL2)	60
3.2 Investigação estrutural dos compostos.....	60
3.2.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	60
3.2.2 Espectrometria de massas com ionização por “electrospray” (ESI-MS)	61
3.2.3 Condutimetria	61
3.2.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) ..	61
3.2.5 Difração de raios X de monocristal (DRX de monocristal).....	61
3.2.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)	62
3.2.7 Ponto de fusão (PF)	62
3.2.8 Análise elementar (AE)	62
3.2.9 Cálculos computacionais.....	63
3.3 Análises de estabilidade e de interação in vitro com biomoléculas	63
3.3.1 Radiomarcção dos ligantes com gálio-67	63
3.3.1.1 Preparação do tricloreto de gálio-67.....	64
3.3.1.2 Radiomarcção dos ligantes	64
3.3.1.3 Análise por HPLC.....	64
3.3.2 Avaliação da lipofilicidade	65
3.3.3 Ensaio de estabilidade em meio aquoso dos complexos de gálio-67 em soro humano e apo-transferrina	66
3.3.3.1 Soro humano (SH)	66
3.3.3.2 Apo-transferrina (apo-Tf).....	66
3.3.4 Ensaio de interação em meio aquoso dos complexos de gálio(III) e índio(III) com albumina e DNA	66
3.3.4.1 Albumina de soro humano (HSA)	67
3.3.4.2 DNA	68

3.3.4.2.1 Viscosidade.....	68
3.3.4.2.2 Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)	69
3.3.4.2.3 Espectroscopia UV-Vis.....	69
3.4 Análises biológicas	70
3.4.1 Acumulação dos complexos de gálio-67 em células cancerígenas	70
3.4.2 Ensaio de citotoxicidade dos complexos de gálio(III) e índio(III)	71
3.4.3 Ensaio da atividade <i>anti-Mycobacterium Tuberculosis</i> (anti-MTB).....	71
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
4.1 Síntese e investigação estrutural em solução.....	73
4.1.1 Síntese dos ligantes e complexos	73
4.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	74
4.1.2.1 Ligantes	74
4.1.2.2 Complexos.....	78
4.1.3 Espectrometria de massas com ionização por “electrospray” (ESI-MS)	82
4.1.4 Condutimetria	86
4.1.5 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) ..	87
4.1.5.1 Ligantes	87
4.1.5.2 Complexos.....	93
4.1.5.3 Simulação computacional por DFT dos espectros de UV-Vis dos complexos	97
4.2 Investigação estrutural no estado sólido	101
4.2.1 Difração de raios X de monocristal (DRX de monocristal).....	101
4.2.1.1 Ligantes	101
4.2.1.1.1 Ligante H ₂ L ₂ - tautômero de cadeia fechada (H ₂ L ₂ f)	103
4.2.1.1.2 Ligante H ₂ L ₂ - tautômero de cadeia aberta (H ₂ L ₂ a)	106
4.2.1.2 Complexos de gálio e índio	111

4.2.1.2.1 Complexo GaL1	111
4.2.1.2.2 Otimização estrutural dos complexos via cálculos computacionais de DFT	115
4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	119
4.2.2.1 Ligantes	119
4.2.2.1.1 Tautômeros de cadeia aberta - H ₂ L1a e H ₂ L2a.....	119
4.2.2.1.2 Tautômeros de cadeia fechada - H ₂ L1f e H ₂ L2f.....	121
4.2.2.2 Complexos de gálio e índio	124
4.2.3 Ponto de fusão (PF)	128
4.2.4 Análise elementar (AE)	129
4.3.1 Radiomarcção dos ligantes com gálio-67	130
4.3.2 Determinação da lipofilicidade.....	131
4.3.3 Ensaio de estabilidade dos complexos de gálio-67 em apo-transferrina	132
4.3.4 Ensaio de estabilidade dos complexos de gálio-67 em soro humano....	134
4.3.5 Ensaio de interação dos complexos de gálio(III) e índio(III) com albumina	135
4.3.6 Ensaio de interação dos complexos de gálio(III) e índio(III) com DNA ..	141
4.3.6.1 Análises de viscosidade	142
4.3.6.2 Análises por espectroscopia de dicroísmo circular (CD)	143
4.3.6.3 Análises por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis).....	145
4.4.1 Ensaio com células tumorais	148
4.4.1.1 Ensaio de citotoxicidade dos complexos de Ga ^{III} e In ^{III} frente as linhagens celulares de câncer de mama (MCF-7) e próstata (PC-3).....	148
4.4.1.2 Análise de acumulação celular dos complexos de gálio-67 nas linhagens celulares MCF-7 e PC-3.....	150
4.4.2 Ensaio com <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> H ₃₇ Rv (MTB)	151

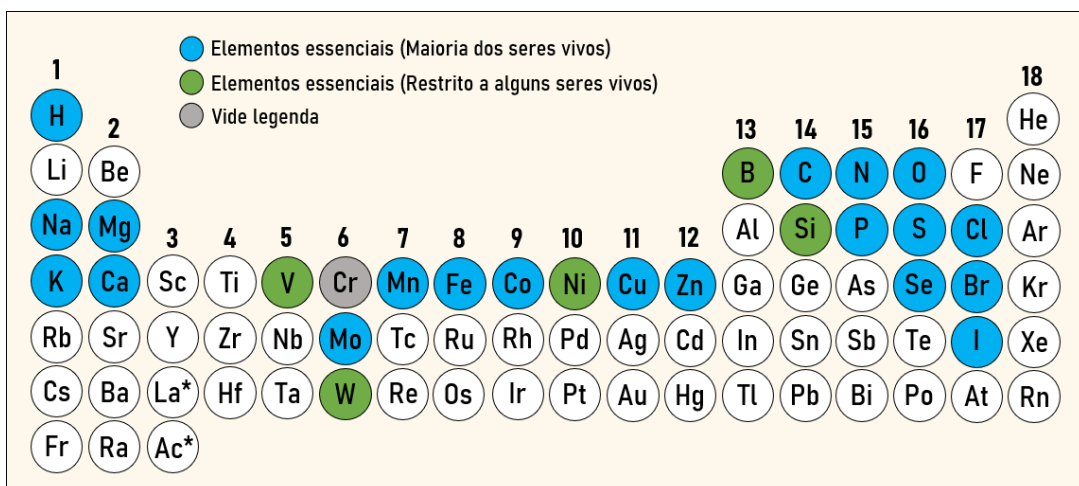
5 CONCLUSÕES.....	154
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	157
Apêndice A - Espectros de RMN	177
Apêndice B - Espectros de ESI-MS.....	182
Apêndice C - Espectros de UV-Vis.....	183
Apêndice D - Cálculos (DFT): Espectros simulados de UV-Vis e representação dos orbitais HOMO e LUMO	188
Apêndice E - DRX de monocristal	193
Apêndice F – Espectros de IV	196
Apêndice G - Marcação com gálio-67	201
Apêndice H - Interação com a albumina e o CT-DNA	203

INTRODUÇÃO

1.1 Os metais e a vida

Embora ainda exista um constante debate referente à classificação de certos elementos como essenciais, não essenciais ou apenas tóxicos para certos organismos vivos, considera-se, especificamente para os seres humanos, a existência de 20 elementos essenciais para a vida (ZORODDU et al., 2019). Destes, apenas 11 correspondem a 99,9% da composição por massa do corpo humano (hidrogênio, carbono, nitrogênio, oxigênio, cálcio e fósforo, sódio, magnésio, enxofre, cloro e potássio), no entanto, com 99,0% da composição sendo atribuída apenas aos elementos C, O, N e H. Aos quatro íons do metais já citados (íons Na^+ , Mg^{2+} , K^+ e Ca^{2+}), que correspondem a maioria do conteúdo de íons metálicos no corpo humano (99,0%), somam-se os metais manganês, ferro, cobalto, cobre, zinco e molibdênio, normalmente designados como elementos traço, dos quais o ferro possui a maior abundância (~5 g em um indivíduo com 80 kg) (DA SILVA; WILLIAMS, 2001; CRICHTON, 2012; CRICHTON; LOURO, 2019). Na **figura 1**, destaca-se na tabela periódica os elementos químicos considerados essenciais para a vida (metais e não metais).

Figura 1 - Tabela periódica biológica. Os elementos representados na cor azul estão presentes na maioria dos seres vivos. Na cor verde, destaca-se os elementos restritos a alguns tipos de organismos. O cromo (Cr), cor cinza, tem sido questionado como elemento essencial devido ao seu efeito carcinogênico (VINCENT, 2017). (*lantanídeos e actinídeos omitidos).



Fonte: Adaptação de Leitão (2021) a partir de MARET, 2016.

Na forma de íons livres ou como complexos, os metais estão envolvidos em processos biológicos fundamentais para a vida. O sódio e o potássio, por exemplo, são necessários para o equilíbrio osmótico, além de atuarem como contra-íons de espécies negativamente carregadas (SIGEL; SIGEL, 2019). Os metais de transição, normalmente associados a proteínas, participam de inúmeras funções, como transferência de elétrons, transporte de oxigênio, fixação de nitrogênio, etc. (MCCLEVERTY, 2003). Mais de 30% das proteínas se ligam a metais (CRANS; KOSTENKOVA, 2020), onde análises do genoma humano mostram a presença de mais de 500 metaloproteínas apenas de ferro (ZORODDU et al., 2019).

O ditado de Paracelsus (1493-1541), médico, alquimista, místico e filósofo suíço: “Todas as coisas são venenosas e nada é sem veneno; apenas a dose garante que algo não seja veneno”, é um perfeito exemplo para falarmos sobre a presença de metais no corpo humano (CRICHTON, 2012). O acúmulo de íons metálicos essenciais e não essenciais nos seres humanos (acúmulo por intoxicação alimentar, fatores genéticos, etc.), está associado a diversas doenças, podendo em alguns casos levar a morte (SIGEL; SIGEL; SIGEL, 2013). Por outro lado, a deficiência de íons metálicos - incluindo os que estão presentes em baixíssimas concentrações no organismo (elementos traço) - também está associada a diversas enfermidades (**tabela 1**).

Tabela 1 - Alguns problemas de saúde causados pela deficiência de metais (essenciais) no corpo humano.

Metal	Efeitos da deficiência no corpo humano
Cálcio	Retardo da maturação esquelética
Magnésio	Câimbras musculares
Manganês	Infertilidade, deformação óssea
Ferro	Anemia, desordens imunológicas
Cobalto	Anemia perniciosa
Cobre	Doenças vasculares, doenças hepáticas, anemia secundária
Zinco	Danos à pele, retardo do crescimento, retardo da maturação sexual

Fonte: Adaptação de Leitão (2021) a partir de KAIM; SCHWEDERSKI; KLEIN, 2013.

Ambos os casos citados (deficiência ou excesso de metais), reforçam a importância de pesquisas na área de química bioinorgânica, visando resolver problemas relacionados à saúde humana.

Com o conhecimento que temos nos dias atuais, entender que a vida depende dos elementos metálicos é uma conclusão óbvia. No entanto, como citam Freisinger e Sigel (2019), as incontáveis reações químicas com a presença de metais em diversos processos biológicos, nos mostram que apenas começamos a “arranhar a superfície da compreensão” sobre os processos altamente complexos que ocorrem com a participação de metais nos organismos vivos. Com o entendimento de tais processos poderemos, por exemplo, explorar as propriedades únicas dos metais para o desenvolvimento de novos compostos para terapias e diagnósticos de doenças (SPENCER; WALDEN, 2018; BERTINI et al., 2007).

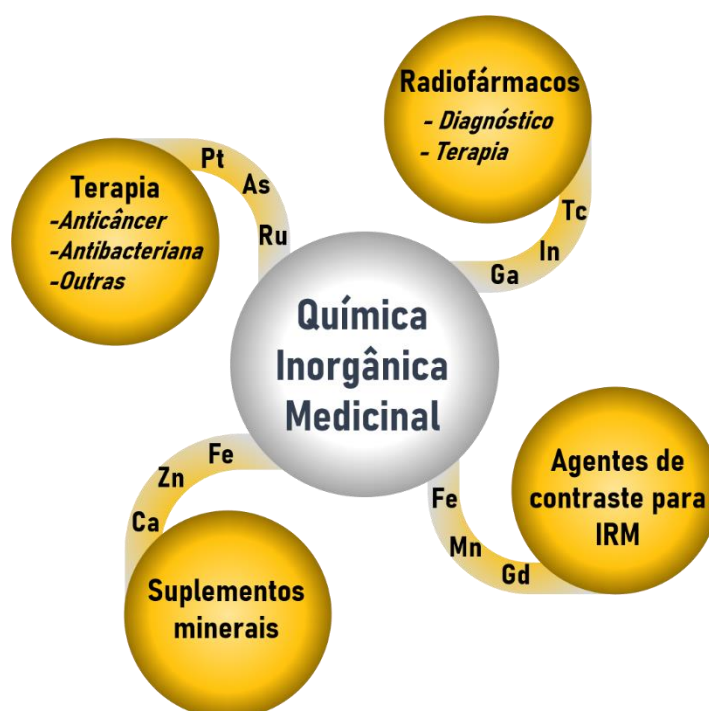
1.2 Compostos metálicos na medicina

O uso de metais visando o tratamento de doenças não é recente, com registros que remontam 5000 anos de história. Os egípcios usaram cobre para esterilizar água por volta de 3000 anos A.C., enquanto o ouro foi utilizado, em uma variedade de compostos, por árabes e chineses, há aproximadamente 3500 anos (ORVIG; ABRAMS, 1999). Na Grécia, sais de magnésio foram mencionados como laxantes por Hipócrates (460-377 A.C), considerado o pai da medicina (SIGEL, 2004). Diante de inúmeros exemplos, o fato é que por muitos séculos compostos inorgânicos foram usados apenas de forma empírica, com pouco ou nenhum conhecimento sobre os seus mecanismos de ação (BERTINI et al., 2007). No entanto, pouco mais de 100 anos atrás, a química inorgânica medicinal começou, como resultado do desenvolvimento científico, a ser desenvolvida de uma forma mais racional. Como exemplos, o dicianoaurato de potássio $K[Au(CN)_2]$ foi utilizado no início do século XX para tratar a tuberculose, enquanto o composto organometálico arsfenamina, desenvolvido por Paul Ehrlich, considerado o pai da quimioterapia, foi utilizado para o tratamento da sífilis (ORVIG; ABRAMS, 1999).

Apesar do uso promissor de compostos metálicos na medicina no início do século XX, foi apenas na década de 60 que a química bioinorgânica, de forte caráter interdisciplinar, tornou-se uma área de pesquisa independente. Isto foi possível devido

ao auxílio de diversas áreas do conhecimento (biologia, física, medicina, etc.), as quais contribuíram para o desenvolvimento de importantes técnicas experimentais. Também se cita os esforços visando a elucidação de mecanismos de reações orgânicas, inorgânicas e bioquímicas (KAIM; SCHWEDERSKI; KLEIN, 2013). Dentre os fatores que incentivaram a aplicação de compostos bioinorgânicos na medicina (**figura 2**), destaca-se a descoberta da atividade antitumoral da cisplatina, que será discutida a seguir.

Figura 2 - Algumas aplicações de metais na química inorgânica medicinal.



Fonte: Autoria própria.

1.2.1 A descoberta da atividade antitumoral da cisplatina e o desenvolvimento da química inorgânica medicinal

"An American journal of almost equal distinction had turned the manuscript down because a referee had commented that it was not noteworthy since so many new drugs with activity were being found". Barnett Rosenberg (ROSENBERG, 1999)

A frase de Barnett Rosenberg (1926-2009) citada acima, refere-se a sua primeira tentativa de reportar a atividade antitumoral do complexo *cis*-diaminodicloretoplatina(II), ou simplesmente cisplatina, **figura 4(a)**, em testes

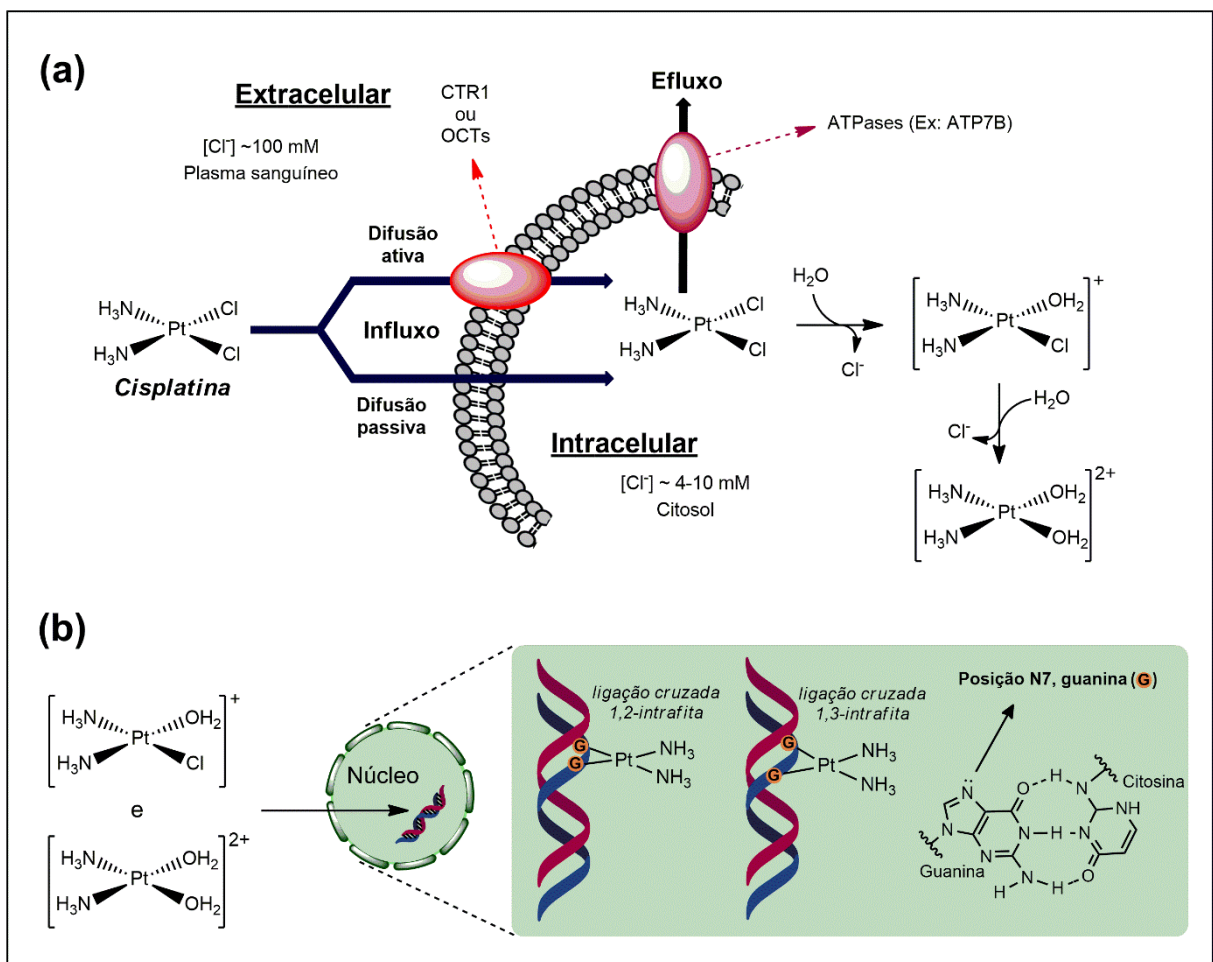
in vivo com camundongos portadores de sarcoma 180 e leucemia L1210. Obviamente, Rosenberg não se convenceu com o revisor da “distinta” revista, já que logo depois submeteu e conseguiu a aceitação do trabalho sob sua liderança na famosa revista Nature, em 1969. (ROSEMBERG et al., 1969). Anos antes (por volta de 1965), ao investigar os efeitos da aplicação de uma corrente elétrica sobre bactérias *E. coli*, em um meio tamponado e com o uso de eletrodos de platina, Rosenberg observou que a divisão celular das bactérias foi inibida. Posteriormente, Rosenberg e o seu grupo descobriram que a inibição da divisão celular não era causada pela corrente elétrica aplicada, mas sim devido a presença de compostos de platina, gerados no experimento a partir dos eletrodos contendo o metal. (ALDERDEN; HALL; HAMBLEY, 2006). Subsequentes estudos em humanos confirmaram a potente atividade anticâncer da cisplatina, onde testes clínicos foram iniciados em 1971 e, em 1978, a FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) aprovou o uso da cisplatina no tratamento de tumores avançados de testículo, ovário e bexiga, o que posteriormente foi estendido para outros tipos de tumores (RIDDELL; LIPPARD, 2018).

Apesar da elevada complexidade em entender-se os inúmeros processos que envolvem a atuação de fármacos no corpo humano (absorção, interações com biomoléculas, toxicidade, etc.), o que explica a ainda existente publicação de novos resultados sobre a ação antitumoral da cisplatina mesmo após mais de 50 anos de sua descoberta, os mecanismos de ação deste fármaco são considerados relativamente bem conhecidos, sendo o DNA o alvo crítico de sua atividade anticâncer (CRICHTON, 2012).

Em uma sucinta descrição dos mecanismos da ação antitumoral da cisplatina (**figura 3**), sabe-se que a mesma acessa o interior da célula por difusão passiva na membrana celular, ou por difusão ativa mediada por transportadores de cobre (Ctr1 e Ctr2) bem como por transportadores de cátions orgânicos poliespecíficos (OCTs). Evidências também indicam que proteínas ATPases do tipo P (transportadoras de cobre) regulam o efluxo da cisplatina (WANG; LIPPARD, 2005; CRICHTON, 2012). No interior da célula, a baixa concentração de íons cloreto no citosol, em relação ao ambiente extracelular, favorece a hidrólise do complexo cisplatina (*cis*-[PtCl₂(NH₃)₂]), levando à formação dos complexos *cis*-[PtCl(H₂O)(NH₃)₂]⁺ e *cis*-[Pt(H₂O)₂(NH₃)₂]²⁺, os quais são mais ativos para a interação com o DNA. O centro metálico de platina liga-se covalentemente à posição N7 das purinas (preferencialmente a guanina devido

ao seu maior caráter nucleofílico), formando majoritariamente ligações cruzadas 1,2-intrafita e 1,3-intrafita. A formação dos adutos Pt-DNA modifica a estrutura da biomolécula, comprometendo várias funções, como a replicação e a transcrição, podendo levar à morte celular programada (apoptose) (ROCHA et al., 2018; ALDERDEN; HALL; HAMBLEY, 2006; WANG; LIPPARD, 2005).

Figura 3 - Mecanismo simplificado da ação anticâncer da cisplatina. Influxo da cisplatina no ambiente intracelular através de difusão passiva ou ativa, efluxo da cisplatina e suas reações de hidrólise no citosol **(a)**, representação das ligações cruzadas 1,2-intrafita e 1,3-intrafita da cisplatina com o DNA através da base nitrogenada guanina **(b)**.



Fonte: Autoria própria.

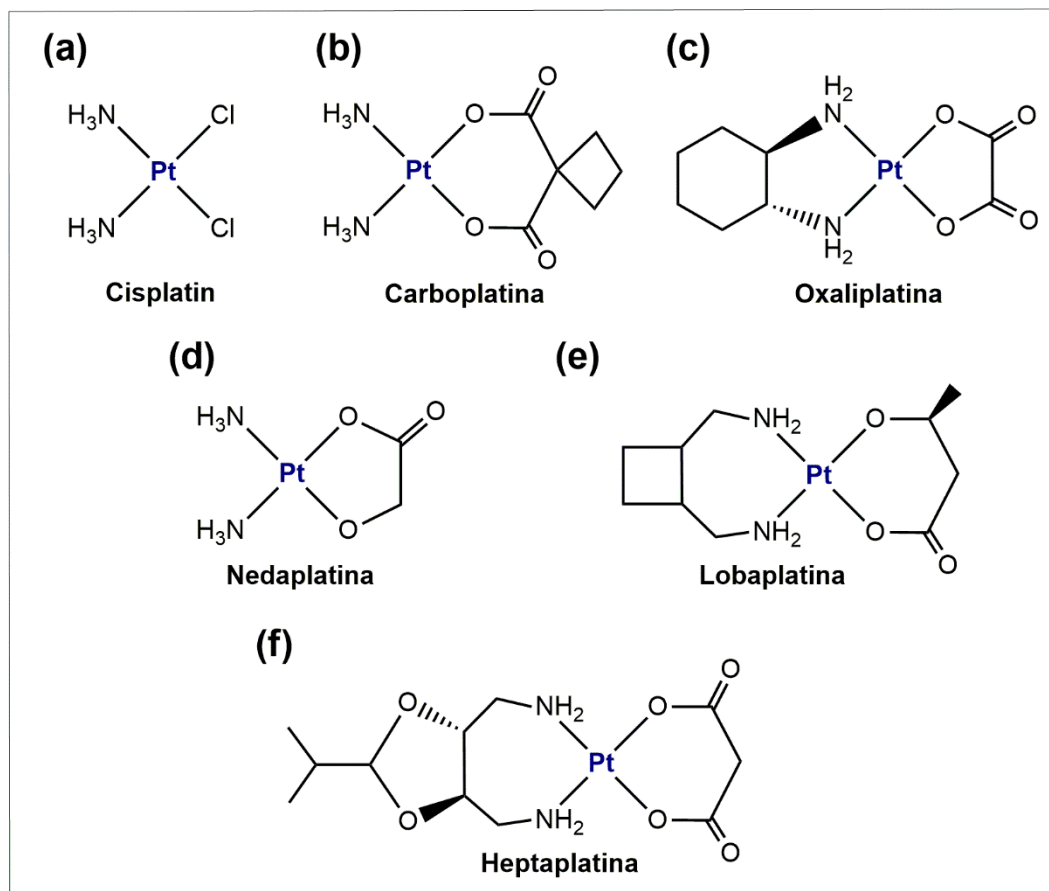
A cisplatina ainda é considerada de grande importância para a quimioterapia do câncer nos dias atuais, sendo utilizada, por exemplo, no tratamento de câncer testicular. Para este tipo de tumor, a cisplatina apresenta cerca de 90% de chances

de cura, podendo este valor chegar próximo aos 100% quando a detecção da doença é realizada em seu estágio inicial de desenvolvimento (WANG; LIPPARD, 2005). Antes da aprovação da cisplatina, a chance de cura do câncer testicular era consideravelmente menor (<10%) (WILSON; LIPPARD, 2014). Isto exemplifica a grande importância deste fármaco no tratamento quimioterápico atual.

Apesar da forte atividade da cisplatina frente a alguns tipos de câncer, diversos efeitos adversos severos (incluindo neurotoxicidade) limitam o seu uso na terapia. Grande parte da cisplatina interage com biomoléculas ao entrar no plasma sanguíneo. Além disso, apenas 5-10% da concentração do fármaco que consegue atingir o ambiente intracelular consegue interagir com o seu principal alvo, o DNA. As interações indesejadas da cisplatina com diversas biomoléculas explicam não apenas a sua elevada toxicidade, mas também o aparecimento de mecanismos de resistência das células tumorais contra este fármaco (GOMEZ-RUIZ et al., 2012). Desta forma, um enorme esforço foi realizado pela comunidade da química inorgânica medicinal, desde a descoberta da atividade anticâncer da cisplatina, pela busca de novos complexos de platina (incluindo complexos octaédricos de Pt^{IV}) menos tóxicos e mais eficientes para o tratamento do câncer (O'DWYER; STEVENSON; JOHNSON, 1999).

Mesmo com a enorme quantidade de novos compostos de platina testados como agentes anticâncer, apenas uma minoria conseguiu avançar para o uso clínico. Os complexos de platina aprovados para o tratamento do câncer em nível mundial incluem, além da cisplatina, a carboplatina e a oxaliplatina (**figuras 4(b) e 4(c)**). A nedaplatina, a lobaplatina e a heptaplatina, foram aprovadas para uso no Japão, China e Coreia do Sul, respectivamente (**figuras 4(d), 4(e) e 4(f)**) (CRICHTON, 2012).

Figura 4 - Complexos de platina utilizados no tratamento do câncer.



Fonte: Autoria própria.

A descoberta da cisplatina e o grande sucesso de sua aplicação como agente antitumoral, pode ser considerado um marco no desenvolvimento da química inorgânica medicinal, afinal, demonstrou-se através da medicina moderna que compostos contendo metais, incluindo os não essenciais, podem ocupar um lugar de destaque na busca por novos medicamentos. Em conjunto com a exploração de novos compostos de platina, uma grande variedade de elementos metálicos tem se mostrado promissores como agentes terapêuticos. Nas últimas duas décadas, complexos metálicos de rutênio, ferro, titânio, paládio, ouro, cobre e gálio, dentre outros, alcançaram a fase de testes clínicos em humanos para o tratamento de diversas doenças (FREI et al., 2020). Seguindo os objetivos deste trabalho, serão discutidas a seguir as características químicas e a aplicação na química inorgânica medicinal de compostos contendo os metais gálio e índio.

1.3 Gálio e índio: descoberta e propriedades

O metal gálio (Ga), foi descoberto no ano de 1875 pelo químico francês Paul-Emile Lecoq de Boisbaudran, como elemento traço presente em amostras de sulfeto de zinco. Utilizando técnicas espectroscópicas recém desenvolvidas, o químico francês observou a presença de bandas espectrais até então desconhecidas, as quais foram atribuídas ao novo elemento. Esta descoberta representa um interessante acontecimento na história da química, uma vez que o químico russo Dmitri Mendeleev já havia previsto a existência do gálio poucos anos antes de sua descoberta (1871). Mendeleev reportou o elemento pelo nome “eka-aluminum”, que significa “abaixo do alumínio”, e descreveu as propriedades esperadas para o elemento (CHITAMBAR, 2018; BERNSTEIN, 2005; RODGERS, 2011). Analisando-se as propriedades previstas por Mendeleev, com os dados experimentais obtidos por Lecoq de Boisbaudran (**tabela 2**), verifica-se uma grande semelhança entre os dados, o que comprova o grande feito de Mendeleev.

Tabela 2 - Comparação entre as propriedades previstas por Dmitri Mendeleev para o “eka-alumínio” em 1871, com as propriedades determinadas experimentalmente por Paul-Emile Lecoq de Boisbaudran em 1875.

	Previsões de Mendeleev para o “eka-alumínio” (1871)	Propriedades do gálio observadas por De Boisbaudran (1875)
Peso Atômico	~68	69,9
Valência	3	3
Densidade, g/cm ³	5,9	5,93
Ponto de Fusão	Baixo	30,1 °C
Volatilidade	Baixo	Baixo
Fórmula do óxido	M ₂ O ₃	Ga ₂ O ₃
Fórmula do cloreto	MCl ₃	GaCl ₃

Fonte: Adaptado de Leitão (2021) a partir de RODGERS, 2011.

Como um sólido, o gálio é um elemento macio, com um coloração branca-azulada. O metal se funde em temperatura ambiente e permanece no estado líquido até a temperatura de 2403°C, sendo assim o elemento que permanece no estado líquido no maior intervalo de temperatura conhecido (RODGERS, 2011; HOUSECROFT; SHARPE, 2012). Presente no mesmo grupo do gálio, o metal índio (In) foi descoberto em 1863 pelos alemães Ferdinand Reich e Hieronymous Theodor Richter, através de amostras de minério de zinco. Assim como o gálio, o índio foi descoberto através de técnicas espectroscópicas, tendo o seu nome derivado da observação da cor azul “índigo” em seu espectro. Constitui-se como um metal macio, brilhante, de coloração branco-prateado, com pontos de fusão e de ebulição de 157 e 2072°C, respectivamente (GUNN, 2014). O gálio e o índio são metais de pós-transição (grupo 13 da tabela periódica) com configurações eletrônicas $[Ar]3d^{10} 4s^2 4p^1$ e $[Kr]4d^{10}5s^25p^1$, respectivamente. Em meio aquoso, esses metais podem estar presentes como íons Ga^{3+} e In^{3+} , sendo classificados como ácidos duros, possuindo uma grande afinidade por átomos de N e O. Estes íons também possuem afinidades por átomos macios, como o enxofre, o que torna a química em solução do Ga^{III} e do In^{III} mais variada que a observada para o Al^{III} . Ressalta-se, no entanto, que o In^{III} possui uma tendência maior que o Ga^{III} de se ligar com mais eficiência a átomos macios, devido ao seu menor caráter de dureza. Além disso, diferentemente do gálio, o índio pode expandir seu número de coordenação de 6 para 7 ou 8 em seus complexos (WADAS et al., 2010; PRADO et al., 2021). Por apresentarem configuração eletrônica d^{10} , os íons Ga^{3+} e In^{3+} (diamagnéticos) possuem energia de estabilização do campo cristalino igual a zero, e, portanto, a geometria de seus complexos será dominada por fatores estéricos dos ligantes (ZHENG et al., 1996; LEWIS; WINDHORST; ZEGLIS, 2019).

Um dos grandes desafios de se trabalhar com sais de Ga^{III} e In^{III} em meio aquoso, especialmente para aplicações biológicas, consiste na formação de espécies polinucleares em uma ampla faixa de valores de pH, como resultado da hidrólise de ambos os íons, onde em meio fisiológico (pH = 7,4) observa-se a formação de precipitados. Na **tabela 3**, apresenta-se os valores de pK calculados para cada espécie de gálio e índio em solução aquosa, com a solubilidade (μM) de cada íon no valor de pH 7,4.

Tabela 3 -Valores de pK da sequência de hidrólise dos íons Ga³⁺ e In³⁺ (força iônica 0,15 M), com valores de solubilidade (μM) em pH = 7,4. “M” corresponde aos metais gálio ou índio.

Sequências de hidrólise		Ga ³⁺	In ³⁺
$[M(H_2O)_6]^{3+} \rightleftharpoons [M(OH)(H_2O)_5]^{+2} + H^+$	pK ₁	3,09	4,49
$[M(OH)(H_2O)_5]^{+2} \rightleftharpoons [M(OH)_2(H_2O)_4]^+ + H^+$	pK ₂	3,55	4,07
$[M(OH)_2(H_2O)_4]^+ \rightleftharpoons [M(OH)_3(H_2O)_3] + H^+$	pK ₃	4,40	4,58
$[M(OH)_3(H_2O)_3] \rightleftharpoons [M(OH)_4(H_2O)_2]^- + H^+$	pK ₄	6,05	9,42
Solubilidade total (μM), pH = 7,4		1	0,06

Fonte: Adaptado de Leitão (2021) a partir de HARRIS; MESSORI, 2002.

Nas condições fisiológicas, o gálio está presente em solução em grande parte como Ga(OH)₄⁻, (ânion galato), com apenas uma pequena porção da espécie neutra Ga(OH)₃. Por esta razão, o Ga^{III} possui uma maior solubilidade em solução aquosa com valor de pH fisiológico em relação ao íon In^{III}, que no mesmo meio existe quase completamente na forma da espécie neutra In(OH)₃ (HARRIS; MESSORI, 2002). No entanto, em soluções aquosas (pH = 7,4) com elevadas concentrações de Ga^{III} (na ordem de mM), verifica-se a formação de precipitado, devido a maior presença da espécie neutra Ga(OH)₃ (HARRIS; MESSORI, 2002; DABROWIAK, 2017). A precipitação das espécies neutras está relacionada com a sua tendência de associação para formar complexos di-, tri- e polinucleares com ligantes hidróxido (OH⁻) e oxo (O₂⁻), os quais são insolúveis (DABROWIAK, 2017).

Tendo em vista os problemas associados a insolubilidade dos compostos de gálio(III) e índio(III) em meio aquoso nas condições fisiológicas, torna-se essencial o desenvolvimento de compostos com ligantes que possam prevenir a precipitação destes metais em solução, evitando assim o comprometimento da aplicação de tais compostos na medicina, como será discutido posteriormente.

Um importante ponto a ser discutido referente a aplicação de compostos contendo Ga^{III} e In^{III} aplicados a medicina, refere-se as similaridades químicas desses

metais com o Fe^{III}. Como verificado na **tabela 4**, os íons desses metais apresentam semelhanças em diversos aspectos, com destaque para os íons Ga³⁺ e Fe³⁺, os quais apresentam valores muito próximos de raio iônico, afinidade eletrônica e eletronegatividade (BERNSTEIN, 1998). Adicionalmente, assim como os íons Ga³⁺ e In³⁺, que possuem configuração eletrônica d¹⁰, o íon Fe³⁺ (d⁵, spin alto) também possui energia de estabilização do campo cristalino igual a zero, o que aproxima ainda mais a química desses íons frente a bioligantes em meio aquoso.

Tabela 4 - Alguns parâmetros químicos dos íons Fe³⁺, Ga³⁺ e In³⁺.

Parâmetro	Unidade	Ga ³⁺	Fe ³⁺ (spin alto)	In ³⁺
Raio iônico (octaédrico)	Å	0,620	0,645	0,800
Raio iônico (tetraédrico)	Å	0,47	0,49	0,62
Potencial de ionização (4º potencial de ionização)	eV	64	54,8	54
Afinidade eletrônica (3º potencial de ionização)	eV	30,71	30,65	28,03
Eletronegatividade (Pauling)	Unidades de Pauling	1,81	1,83	1,78

Fonte: Adaptado de Leitão (2021) a partir de BERNSTEIN, 1998.

Apesar das diversas similaridades entre os íons Ga³⁺, In³⁺ e Fe³⁺, estas espécies se diferem em relação a atividade redox. Em meio fisiológico, o gálio e o índio não participam de reações redox, portanto, permanecendo no estado de oxidação III (HARRIS; MESSORI, 2002), diferentemente do ferro, que desempenha diversas funções fisiológicas através de processos redox, alternando entre as espécies nas quais apresenta os estados de oxidação II e III (KIRCHEVA; DUDEV, 2021).

A semelhança com o íon essencial Fe³⁺, somada a inatividade redox em meio fisiológico, é considerado um ponto chave para a exploração de compostos de gálio como agentes antitumorais e antibacterianos. Pesquisas tem evidenciado que células tumorais e bactérias requerem uma quantidade superior de ferro para se desenvolverem, comparado as células normais (MANZ et al., 2016; CHITAMBAR;

ANTHOLINE, 2013; KANEKO et al., 2007). Desta forma, compostos de gálio têm sido considerados uma promissora estratégia para, ao competirem com ferro em meio biológico, inibirem processos ferro-dependentes necessários ao desenvolvimento de tumores malignos ou bactérias (CHITAMBAR, 2016; CHEN et al., 2007; MITIDIERI et al., 2021; BEST et al., 2020). Embora existam trabalhos na literatura que mostrem a potencialidade de compostos de In^{III} como agentes antitumorais e antibacterianos, ainda são consideradas “praticamente inexploradas” as atividades de compostos com este metal em sua forma não radioativa, ao contrário de compostos com o índio-111, os quais são reconhecidamente explorados na área de radiofármacos (MERLI et al., 2018; BERALDO, 2020).

No livro “General Chemistry”, escrito pelo famoso químico Linus Pauling (1901-1994), encontra-se em breves linhas dedicadas aos metais gálio, índio e tálio a seguinte informação: “*The elements of group IIIb—gallium, indium, and thallium—are rare and **have little practical importance***” (traduzido para o português: “Os elementos do grupo IIIb - gálio, índio e tálio – são raros e **possuem pequena importância prática**”). Não podemos culpar Pauling por tal afirmação, afinal na época em que publicou a última versão de seu livro, no ano de 1970, tais elementos ainda figuravam de forma tímida entre os elementos químicos. Ao analisarmos os dias atuais, tendo como exemplo a aplicação do gálio na medicina, vemos que a afirmação de Pauling já não corresponde à realidade. Apesar de não serem metais essenciais em sistemas biológicos, pesquisas têm evidenciado características importantes de compostos de gálio e, em menor proporção, de índio, para o tratamento de diversas patologias, como será visto a seguir.

1.4 Compostos de gálio e índio com atividade anticâncer e *anti-Mycobacterium tuberculosis*

1.4.1 Câncer

Segundo o Instituto Nacional do Câncer - INCA, câncer é o termo dado para mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas causadas por um conjunto de células de crescimento anormal e incontrolável, capazes de invadir tecidos por todo o corpo de forma agressiva (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2020).

O Relatório sobre 2020 da OMS (Organização Mundial de Saúde) sobre o Câncer, o qual define estratégias para prioridades, investimentos e fornecimento de cuidado para todos, indica que “A resposta global ao câncer tem sido desigual e injusta”, já que há desigualdade no acesso a tratamentos eficazes, o que faz com que países com Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) inferiores tenham taxas de mortalidade mais altas, tornando assim o câncer um sério problema de saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). O relatório ainda afirma que o desenvolvimento de pesquisas em vários domínios é importante para se obter novas alternativas contra essa doença, que podem ser transformadas em políticas e programas para ações preventivas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020), mostrando assim a importância de pesquisas voltadas para o diagnóstico precoce e o tratamento do câncer.

Uma em cada seis mortes em 2018 (9,6 milhões de mortes), foi relacionada a um tipo de câncer, tornando essa doença a segunda maior causa de morte em todo o mundo. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021?). No Brasil, a estimativa da incidência de novos casos de câncer, somente em 2020, foi de 316.280 em mulheres, e 309.750 em homens (INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER, 2021). Entre os cinco tipos de câncer com maior incidência no mundo em 2020, **tabela 5**, o câncer de mama foi o mais incidente em mulheres (2.261.419 novos casos), enquanto para os homens foi verificada uma maior incidência do câncer de próstata (1.414.259 novos casos) levando à morte 375.000 pessoas em todo o mundo em 2020 (SUNG et al., 2021).

Tabela 5 - Número estimado de novos casos dos cinco tipos de câncer que tiveram maior incidência em homens e mulheres de todas as idades no ano de 2020.

Câncer	Número
Todos os tipos	19.292.789
Mama	2.261.419
Pulmão	2.206.771
Colorretal	1.931.590
Próstata	1.414.259
Estômago	1.089.103

Fonte: Adaptado de Leitão (2021) a partir de WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020.

A seguir, será discutida a aplicação de compostos de gálio e índio, como parte dos esforços que vem sendo desenvolvidos por pesquisadores da área da química inorgânica medicinal, na busca por metalofármacos para o tratamento do câncer.

1.4.2 Compostos de gálio(III) como agentes antitumorais

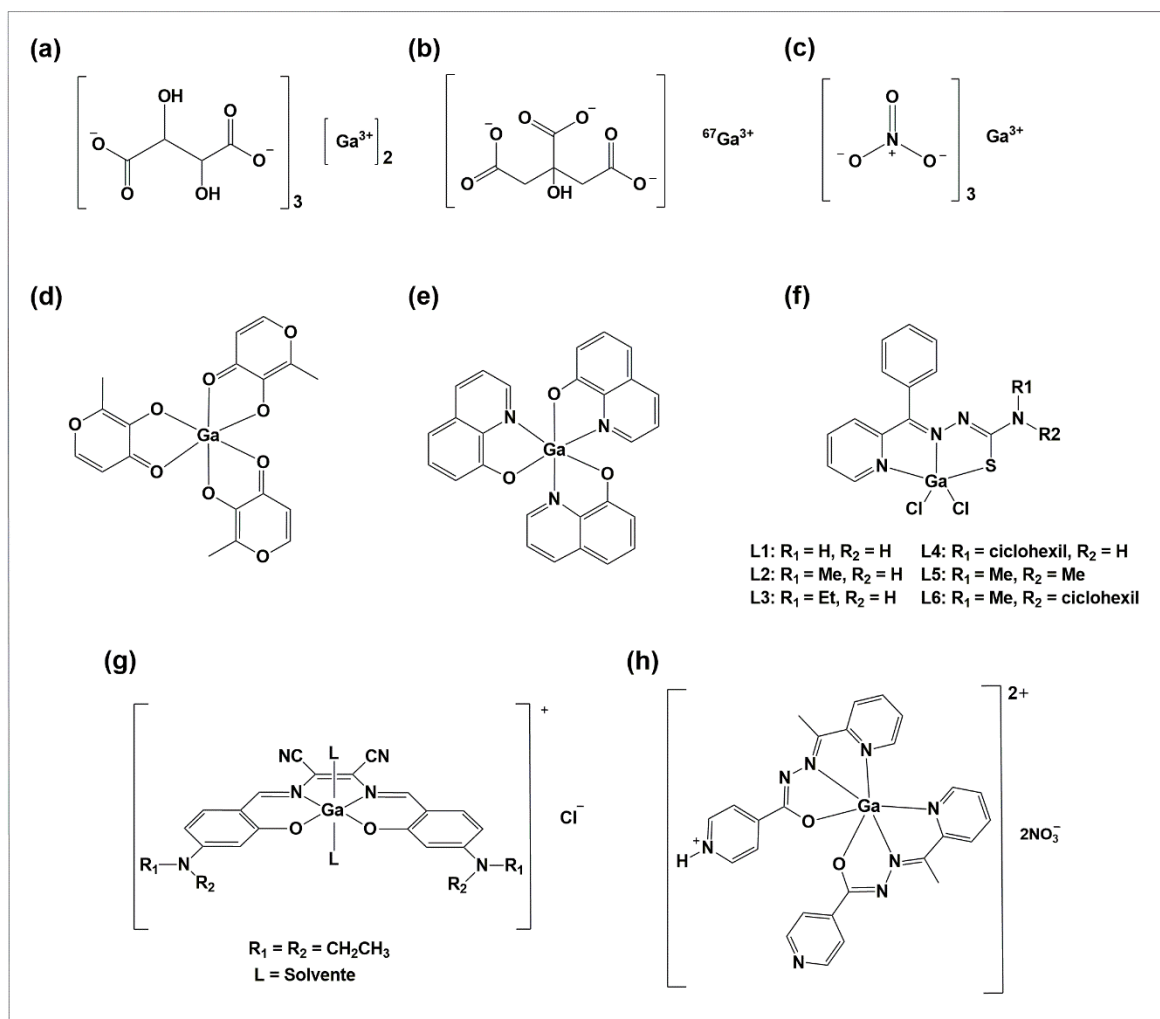
O primeiro estudo associado a atividade terapêutica do gálio foi publicado em 1931 (LEVADITI et al., 1931). Os pesquisadores demonstraram, em experimentos *in vivo*, que o tartarato de gálio, **figura 5(a)**, era capaz de erradicar a sífilis em coelhos, com uma dose única de 30-45 mg de Ga/Kg por via intramuscular, bem como eliminar o *Trypanosoma evansi* em ratos com uma dose de 225 mg de Ga/kg, onde também foi verificada uma baixa toxicidade nos ratos (tolerância de 750 mg Ga/kg). Apesar dos resultados promissores, só décadas depois foram publicadas novas pesquisas medicinais de compostos com gálio (BERNSTEIN, 2005). No final da década de 60, demonstrou-se que o citrato de gálio-67, **figura 5(b)**, poderia se acumular em tumores malignos através de aplicação por via intravenosa (EDWARDS; HAYES, 1969), o que levou, junto a outros estudos, a utilização do gálio-67 como agente de imagem para o diagnóstico de doenças (HOFFER, 1980; CHITAMBAR, 2016).

A demonstrada capacidade do gálio-67 de se acumular em tumores, abriu caminho para novos estudos com compostos de gálio (radioativos e não-radioativos). Em um trabalho publicado em 1971 (HART; ADAMSON, 1971), onde foi investigada a atividade antitumoral de sais do grupo 13, $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$, $\text{In}(\text{NO}_3)_3$ e TlCl_3 , identificou-se que o nitrato de gálio, **figura 5(c)**, era o mais efetivo em inibir o crescimento de diferentes tumores sólidos, seguido pelo sal de índio.

Por ter se sobressaído sobre os outros sais com uma potente atividade antitumoral, o nitrato de gálio foi utilizado em testes clínicos (fases I e II), sendo posteriormente aprovado (início da década de 90) pela FDA para o tratamento de câncer associado a hipercalemia (CHITAMBAR, 2010). No entanto, um dos grandes problemas da utilização do nitrato de gálio como quimioterápico refere-se a sua baixa biodisponibilidade, o que dificulta a sua aplicação oral no corpo humano. Apesar de esforços para a produção de uma formulação oral, o nitrato de gálio foi retirado do mercado em 2016, não por razões relacionadas ao fármaco, mas sim, devido ao

fechamento da empresa farmacêutica (*Genta Incorporated*) que era responsável por sua produção (PÖTSCH et al., 2019).

Figura 5 - Estrutura química de compostos de gálio com atividade biológica.



Fonte: Autoria própria.

Mesmo apresentando limitações, a ação antitumoral do nitrato de gálio serviu como ponto de partida para a investigação de novos compostos de gálio para diferentes tipos de câncer. O cloreto de gálio, é outro sal de Ga^{III} que teve sua atividade anticâncer comprovada. Em um dos exemplos, ensaios em ratos mostraram que, quando administrado por via intraperitoneal, o cloreto de gálio levou a uma diminuição do crescimento do adenocarcinoma CA755. No entanto, assim como o nitrato de gálio, o GaCl_3 apresenta uma baixa biodisponibilidade, impossibilitando a sua aplicação terapêutica (CHITAMBAR, 2012).

A complexação do gálio(III) com quelantes multidentados tem se mostrado uma estratégia eficiente para resolver os problemas associados a farmacocinética e toxicidade apresentada pelos sais de gálio, os quais são susceptíveis a hidrólise em meio fisiológico (KUBISTA et al., 2017; SILVA et al., 2010). Entre os compostos que apresentaram atividade antitumoral em estudos clínicos, destacam-se os complexos tris(3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-onato)gálio(III) e tris(8-hidroxi-quinolinolato)gálio(III), comumente descritos como maltolato de gálio, **figura 5(d)** e KP46 **figura 5(e)**, respectivamente.

O complexo octaédrico maltolato de gálio, é coordenado exclusivamente por átomos de oxigênio, os quais possuem elevada afinidade pelo gálio(III), a partir de três íons maltolatos. Pesquisas demonstraram que o maltolato de gálio possui uma solubilidade moderada em soluções aquosas e lipídicas, com uma boa biodisponibilidade verificada em ensaios com animais e humanos (BERNSTEIN, 2005). O maltolato de gálio mostrou-se significativamente mais ativo do que o nitrato de gálio em estudos *in vitro* frente a diferentes linhagens celulares de carcinoma hepatocelular (CHUA et al., 2006). Chitambar e colaboradores (2007), reportaram que o maltolato de gálio possui elevada citotoxicidade e uma maior acumulação contra diferentes linhagens celulares de linfoma, quando comparado ao nitrato de gálio. No mesmo estudo, também se mostrou que o maltolato de gálio é ativo contra células humanas resistentes ao nitrato de gálio (linfoma/leucemia CCRF-CEM).

O composto KP46, é atualmente considerado o composto antitumoral de gálio mais promissor em análise (PÖTSCH et al., 2019). Assim como o maltolato de gálio, é um composto de coordenação com geometria octaédrica, com o gálio coordenado a três moléculas bidentadas. No entanto, diferentemente do ligante maltolato, o qual se coordena ao gálio(III) exclusivamente por átomos de oxigênio, o ligante do composto KP46 (8-hidroxiquinolinato) se coordena ao metal através de átomos doadores de oxigênio e nitrogênio, **figura 5(e)**. Por si só, o ligante livre 8-hidroxiquinolina possui propriedades anticâncer conhecidas (ELLAHIOUI; PRASHAR; GOMEZ-RUIZ, 2017; NORDENBERG et al., 1990). As propriedades do quelante 8-hidroxiquinolina tornam o KP46 um complexo com propriedades distintas a outros compostos de gálio com atividade antitumoral. Ensaios *in vivo* demonstraram que o KP46 possui uma biodisponibilidade bem superior as dos sais de gálio e, ao ser administrado de forma oral, o composto apresenta uma elevada estabilidade em meio

fisiológico, sendo capaz de atravessar o trato gastrointestinal e chegar à corrente sanguínea praticamente intacto (TIMERBAEV, 2009; CHITAMBAR, 2018). Estudos pré-clínicos *in vitro* já demonstraram uma promissora atividade antitumoral do KP46 frente a linhagens celulares de câncer de pulmão, ovário, mama, cólon e melanoma, com valores encontrados de $IC_{50} < 5 \mu\text{m}$ para tais células. Atualmente o complexo KP46 encontra-se na fase II de testes clínicos (LITECKÁ et al., 2020).

O sucesso na estratégia de coordenar ligantes ao gálio(III) visando melhorar as propriedades farmacológicas de seus compostos, como nos exemplos citados do maltolato de gálio e do KP46, tem atraído cada vez mais a atenção de pesquisadores para a busca de novos compostos de gálio com atividade anticâncer. Observa-se na literatura, a eficácia antitumoral de complexos de gálio(III) com variados tipos de quelantes, por exemplo, ligantes tiosemicarbonatos (QI JINXU et al., 2020) **figura 5(f)**, salen (YIN et al., 2020) **figura 5(g)** e hidrazonatos (DOS SS FIRMINO et al., 2019) **figura 5(h)**.

Como visto anteriormente, a atividade medicinal do gálio está associada à sua similaridade com o ferro. O transporte do Ga^{III} até o ambiente intracelular deve-se em grande parte à sua ligação a proteína transferrina (Tf). Apenas cerca de 30% da Tf que circula no plasma encontra-se ligada ao Fe^{III} (Tf-Fe), o que deixa grande parte da Tf disponível para se ligar a outros íons metálicos, incluindo o Ga^{3+} (CHITAMBAR, 2016). Desta forma, mesmo possuindo uma menor afinidade pela Tf que o Fe^{III} , praticamente todo Ga^{III} presente no plasma consegue se ligar a Tf (LESSA; PARRILHA; BERALDO, 2012). O transporte dos metais ligados a Tf para o interior das células é mediado pela ligação da proteína com o seu receptor (TfR) na membrana celular. Após a absorção celular da TfR por endocitose, o compartimento ácido endossomal (pH ~ 5,5) leva à liberação dos metais no meio pela proteína, que por sua vez é reciclada com o seu receptor pela célula. É importante citar que muitos tumores expressam uma maior quantidade de TfR, o que pode explicar a observação, em estudos com gálio-67, da maior acumulação do gálio em tumores (BERNSTEIN, 2005).

O alvo mais citado na literatura, relacionado à ação antitumoral do gálio no ambiente intracelular, é a enzima ribonucleotídeo redutase (RR) (KIRCHEVA; DUDEV, 2019; CRUMBLISS; BANERJEE, 2021; DABROWIAK, 2017; MERLI et al., 2018; CHITAMBAR, 2012). O mecanismo de ação do Ga^{III} refere-se à sua capacidade de substituir o Fe^{III} presente na enzima, a qual é responsável pela redução de

ribonucleotídeos a desoxirribonucleotídeos necessários para a síntese do DNA (KIRCHEVA; DUDEV, 2019; CRUMBLISS; DABROWIAK, 2017; MERLI et al., 2018; CHITAMBAR, 2012). A RR possui um centro binuclear de ferro, onde a redução do Fe^{III} a Fe^{II} é requerida durante a atividade catalítica da enzima. Desta forma, quando o Ga^{III} (sem atividade redox) substitui o Fe^{III} na RR, a enzima torna-se inativa e a síntese do DNA é comprometida (KIRCHEVA; DUDEV, 2019; DABROWIAK, 2017).

Ressalta-se que a ação antitumoral do gálio através de sua interação com a RR, representa apenas uma pequena parte entre inúmeros mecanismos já evidenciados, frutos da interação direta do Ga^{III} com diferentes biomoléculas, por exemplo, o DNA (CHITAMBAR, 2016). As investigações referentes aos mecanismos da ação antitumoral de complexos de gálio têm mostrado cada vez mais que as vias de sinalização celular são complexas e altamente dependentes das estruturas dos ligantes (YIN et al., 2020). Portanto, novas pesquisas são essenciais para o avanço do uso de compostos de Ga^{III} na terapia do câncer.

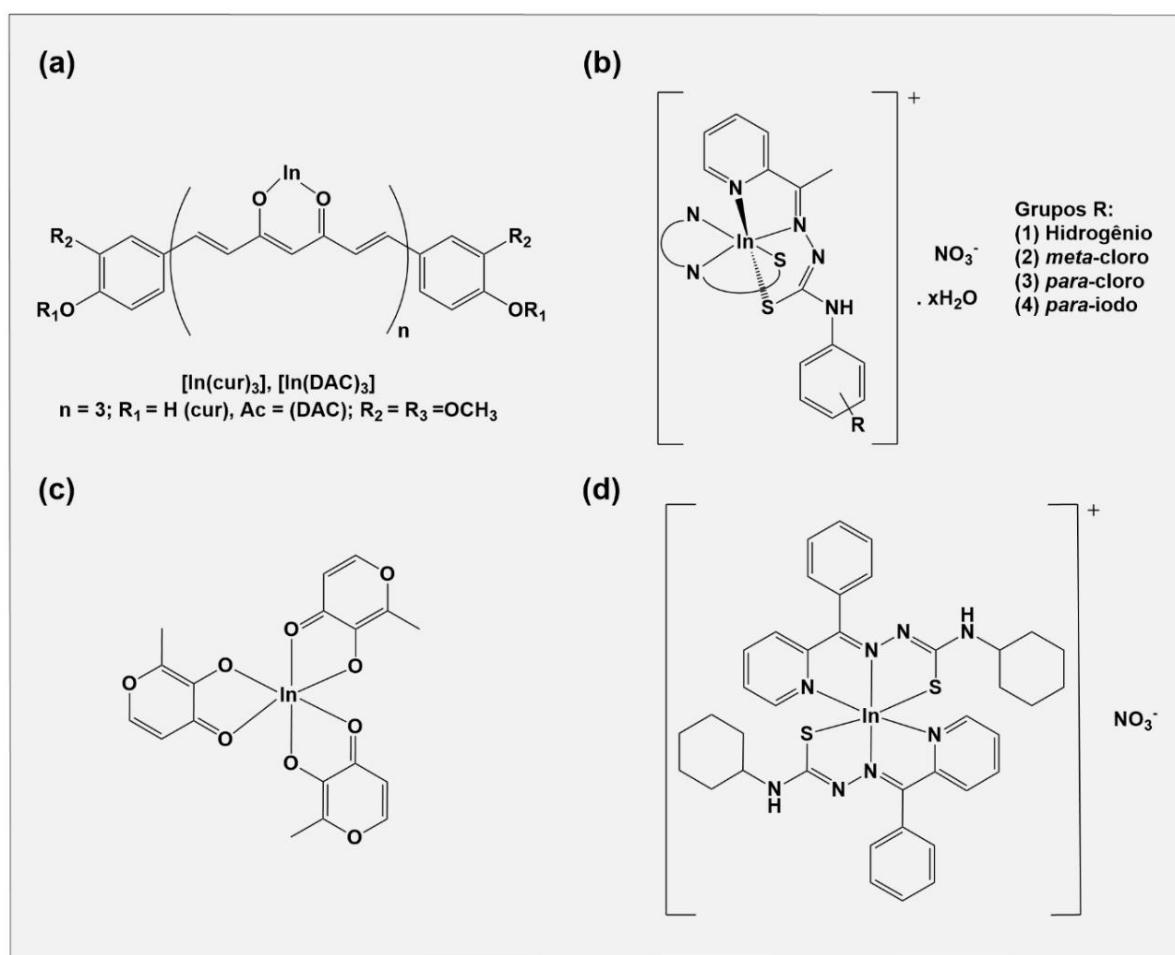
1.4.3 Compostos de índio(III) como agentes antitumorais

A aplicação de complexos de In^{III} como agentes antitumorais ainda se encontra “vários passos atrás” em relação ao que já foi investigado para os complexos de Ga^{III} . Como citado na **seção 1.3**, os estudos relativos à atividade anticâncer de compostos de In^{III} ainda são raros (exceto os de índio-111 aplicados como radiofármacos). No entanto, foram selecionadas algumas evidências disponíveis na literatura sobre o potencial de compostos de índio para a terapia do câncer.

Orvig e colaboradores (MOHAMMADI et al., 2005), analisaram a atividade de complexos de índio com os ligantes β -dicetonatos derivados da curcumina ($[In(cur)_3]$) e diacetilcurcumina $[In(DAC)_3]$, **figura 6(a)**, frente a células tumorais de linfoma (L1210). Os resultados mostraram uma maior citotoxicidade do complexo $[In(cur)_3]$ ($IC_{50} = 5-10 \mu M$), em relação ao complexo $[In(DAC)_3]$ ($IC_{50} = 20-25 \mu M$). O complexo $[In(cur)_3]$ também mostrou-se mais ativo que o seu ligante livre ($IC_{50} = 25-35 \mu M$), indicando um efeito positivo na atividade biológica da curcumina ao ser complexada com o In^{III} . Em um outro estudo (OLIVEIRA et al., 2017), complexos de In^{III} com tiosemicarbonas, **figura 6(b)**, tiveram suas atividades citotóxicas analisadas contra linhagens tumorais de leucemia (HL-60, Jurkat e THP-1), mama (MDA-MB-231 e

MCF-7) e colorretal HCT-116). Em muitos casos, os valores obtidos de IC₅₀ mostraram uma maior atividade dos complexos em relação aos ligantes livres, com destaque para o complexo com o substituinte R(1) = hidrogênio, **figura 5(b)**, o qual além de ter se mostrado citotóxico em concentrações submicromolares contra todas as linhagens tumorais testadas, apresentou valores de índices de seletividade (SI) de 72 e 144 para as células HL-60 e HCT-116, respectivamente, tendo como modelo de células saudias a linhagem Vero (rim de macaco verde africano).

Figura 6 - Estrutura química de compostos de índio com atividade antitumoral.



Fonte: Autoria própria.

Pesquisadores testaram a atividade antitumoral do complexo maltolato de índio (InMal), **figura 6(c)**, frente a linhagem celular MDA-MB-231 (mama) (MERLI et al., 2018). O InMal apresentou valor de IC₅₀ (mM) de 32, valor quase três vez menor que o observado para o complexo maltolato de gálio (GaMal) (IC₅₀ (mM) = 90), também

avaliado no mesmo estudo, e que, como citado anteriormente, é conhecido por apresentar atividade antitumoral. Os autores classificaram o InMal como o complexo mais vantajoso nos ensaios, uma vez que o complexo de índio se mostrou menos citotóxico em relação ao GaMal para células saudáveis analisadas (NIH-3T3, fibroblastos). Assim como o GaMal, o complexo InMal se mostrou estável em meio de cultura, onde análises por HPLC indicaram uma degradação < 10% do complexo após 14 dias de sua dissolução no meio de cultura.

Um complexo octaédrico de In^{III} derivado de uma tiosemicarbazona, **figura 6(d)**, (TAI et al., 2016), teve sua atividade antitumoral testada frente a linhagem celular HepG2 (carcinoma hepatocelular). O complexo mostrou-se bastante efetivo contra as células cancerígenas, com um valor de IC₅₀ = 2,02 ± 0,14 µM. Este valor de IC₅₀ foi cerca de sete vezes menor que o encontrado para o ligante livre, demonstrando que a complexação do ligante com In^{III} levou a um efeito positivo na atividade anticâncer.

Através dos exemplos discutidos acima, verifica-se que complexos de In^{III} tem apresentado interessantes resultados de atividade antitumoral, o que sugere a possível aplicação de tais compostos com agentes anticâncer. Apesar dos poucos estudos relativos à atividade antitumoral dos complexos (não-radioativos) de In^{III}, é provável que, assim com o Ga^{III}, os processos ferro-dependentes sejam o principal alvo da ação antitumoral do In^{III}, uma vez que algumas pesquisas já mostraram que este metal possui uma elevada afinidade pela Tf, além de apresentar tendência de se acumular em tecidos que expressam a TfR em elevadas quantidades, como observado nas células tumorais (BERALDO, 2020).

Desta forma, as evidências da atividade antitumoral do In^{III}, apresentadas em um número ainda discreto de trabalhos, reforçam a importância de novas pesquisas visando explorar o potencial de complexos de In^{III} para a terapia do câncer.

1.4.4 Tuberculose

A tuberculose (TB) é uma das 10 principais causas de morte no mundo, sendo considerada uma doença infectocontagiosa de grande impacto na saúde pública mundial. Segundo dados da OMS, aproximadamente 10 milhões de pessoas

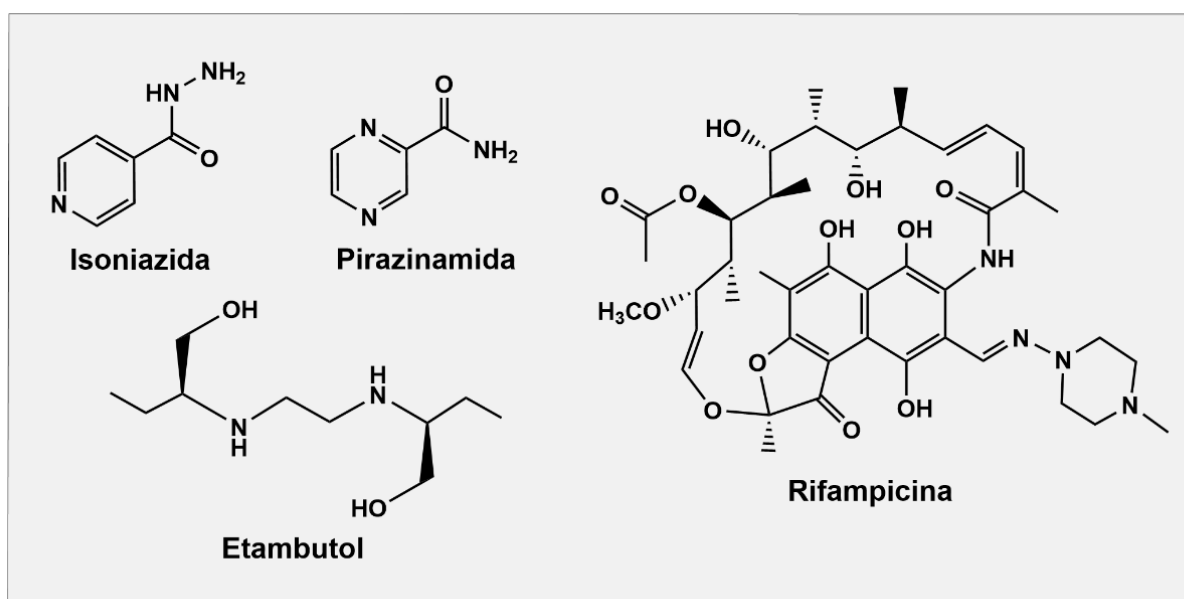
contraíram a TB em 2019, com cerca de 1,4 milhões de mortes causadas por esta doença no mesmo ano (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). O Boletim Epidemiológico - Tuberculose de 2021, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2021), aponta que o Brasil está entre os 30 países com maior incidência de TB no mundo, onde registrou-se 66.819 novas pessoas infectadas em 2020 (31,6 casos por 100 mil habitantes), e cerca de 4,5 mil mortes causadas por esta doença em 2019.

Estes dados, demonstram a importância da instalação de políticas públicas de combate à doença, e a intensificação de pesquisas voltadas à melhoria do diagnóstico e do tratamento de TB, visando o avanço tecnológico almejado como alvo da “Estratégia para o Fim da Tuberculose até 2030” pela OMS (World Health Organization, 2020).

A *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) é o agente etiológico da TB, afetando principalmente o pulmão (WEI et al., 2020). A maioria das pessoas infectadas são assintomáticas e classificadas como portadoras de infecção tuberculosa latente (STERLING et al., 2020). Estima-se que um quarto da população mundial esteja infectada com a TB latente, proporcionando assim um grande reservatório para futuros casos desta doença (GAGNEUX, 2018). A alta taxa de infecção da TB, deve-se ao fato de a MTB sobreviver aerolisada no ar infectando de pessoa para pessoa, onde a sua infecciosidade depende da susceptibilidade deste hospedeiro e de fatores bacterianos, uma vez que o grau de infecciosidade tende a aumentar de acordo com o grau de positividade para a TB (CHURCHYARD et al., 2017).

No tratamento clínico da TB, usa-se uma combinação dos fármacos, considerados de “primeira linha” (rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol (**figura 7**)). Embora o tratamento com estes fármacos tenha uma boa efetividade de cura, de até 95%, o aparecimento de cepas da MTB multirresistente aos medicamentos utilizados (rifampicina e isoniazida) tem diminuído consideravelmente a efetividade no tratamento da TB, com as chances de cura podendo cair para 65% em áreas menos desenvolvidas. A situação torna-se agravada principalmente em países com um elevado número de pessoas portadoras do HIV (sigla em inglês para o Vírus da Imunodeficiência Humana), as quais são mais susceptíveis a TB (SILESHI et al., 2021; REYNOLDS; HEYSELL, 2014).

Figura 7 - Estruturas químicas dos fármacos de primeira linha utilizados no tratamento da tuberculose.



Fonte: Autoria própria.

A utilização de medicamentos adicionais para tais casos, os quais são conhecidos como fármacos de “segunda linha”, surge com uma alternativa para o tratamento da TB. Entre os fármacos de segunda linha estão ácido aminossalicílico, tioamidas, etionamida, protionamida, rifabutina, rifapentina, cicloserina, capreomicina e várias fluoroquinolonas (FERNANDES; SALGADO; SANTOS, 2017). No entanto, têm sido reportados problemas associados ao alto custo, maior toxicidade e menor efetividade dos fármacos de segunda linha (REYNOLDS; HEYSELL, 2014).

Parte dos esforços para a contenção da epidemia de TB estão focados no tratamento de casos latentes, já que a TB é uma doença curável e de longo tratamento com múltiplas drogas (VILCHÈZE; JACOBS JR, 2019). O longo tratamento anti-MTB pode ocasionar à amplificação da resistência à droga (DHEDA et al., 2017). Outros problemas como o uso indevido, a administração incorreta e o abandono precoce do tratamento vêm sendo relatados como causas do aparecimento de TB resistente à medicamentos (NGUYEN, 2016).

Em adição as cepas da MTB multirresistentes, estão os casos de TB classificados como extensivamente resistentes, quando além da resistência aos fármacos de primeira linha, rifampicina e isoniazida, a MTB também apresenta

resistência a qualquer fluoroquinolona e a pelo menos um dos três fármacos de segunda linha injetáveis, amicacina, canamicina ou capreomicina (COLL et al., 2018; AGYEMAN; OFORI-ASENSO, 2017; VELAYATI et al, 2009).

Desta forma, são urgentes os esforços para o avanço de tratamentos eficazes contra as formas resistentes a medicamentos contra a tuberculose (REID et al., 2019), e pesquisas na área da química inorgânica medicinal podem oferecer estratégias interessantes na busca por novos fármacos anti-MTB, seja a partir da elucidação de funções desempenhadas por metaloproteínas alvo, ou mesmo, como no presente trabalho, através do desenvolvimento de metalofármacos ativos contra a MTB (LOPES; CARVALHO; SOUSA, 2020).

1.4.5 Compostos de gálio(III) como agentes anti-*Mycobacterium tuberculosis*

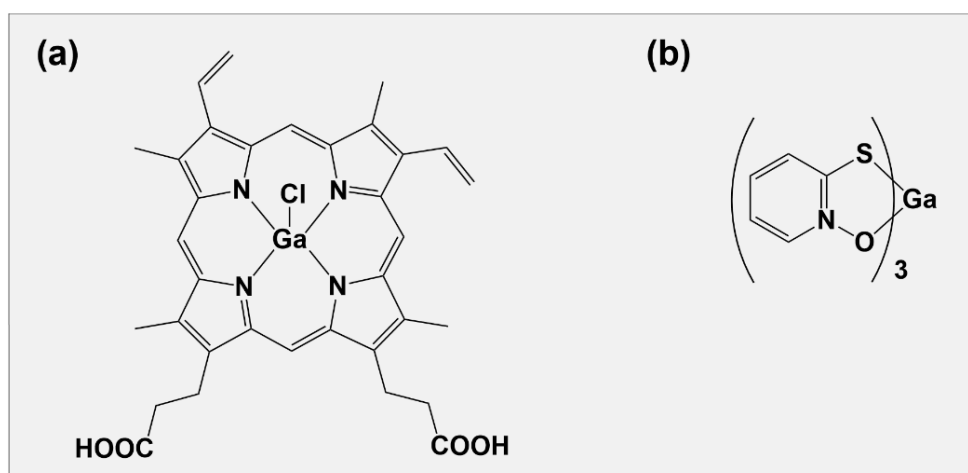
Inúmeros trabalhos na literatura reportam uma eficiente capacidade de compostos de Ga^{III} no combate a diversos tipos de bactérias (HIJAZI et al., 2018; CRUNKHORN, 2018; DA SILVA et al., 2009; BONCHI et al., 2014). Entre as diversas bactérias que já se mostraram sensíveis à ação do gálio está a *Mycobacterium tuberculosis*, e a aplicação de compostos de Ga^{III} frente a esta bactéria será o foco da discussão a seguir.

Olakanmi, Britigan e Schlesinger (2000) mostraram que o Ga(NO₃)₃ foi capaz de inibir o crescimento de diferentes cepas da MTB *in vitro* em baixas concentrações (1,25-2,5 µM para inibir 50% das bactérias), tanto no ambiente extracelular (meio de cultura), como em macrófagos humanos cultivados. Em um segundo estudo do mesmo grupo utilizando-se um modelo *in vivo* (camundongos BALB/c) (OLAKANMI et al., 2013), reportou-se que o Ga(NO₃)₃ foi capaz de inibir a MTB em diversos órgãos, com uma concentração comprovadamente tolerada de 10 mg/kg. Adicionalmente, mostrou-se que o Ga^{III} inibiu a atividade enzimas ferro-dependentes requeridas pela MTB (Ribonucleotídeo redutase e aconitase). Esses dois estudos citados, representam não apenas potencial do Ga^{III} para o tratamento da tuberculose, mas também evidenciam a correlação entre a atividade MTB do Ga^{III} com a capacidade deste metal de alterar o metabolismo do ferro necessário a MTB.

A investigação de novos complexos de gálio surge como uma alternativa interessante na busca por novos fármacos anti-MTB. De fato, cita-se na literatura um

aumento de atividade do Ga^{III} quando complexado com a protoporfirina (GaPP) (**figura 8(a)**) frente a diversas bactérias, incluindo espécies *Mycobacterium* (ABDALLA et al., 2015).

Figura 8 - Estrutura química de compostos de gálio com atividade anti-MTB.



Fonte: Autoria própria

Gambino e colaboradores (MACHADO et al., 2014) avaliaram a atividade anti-MTB de um complexo octaédrico de Ga^{III}, com o ânion 1-óxido de piridina-2-tiolato atuando como ligante bidentado através de átomos doadores de O e S, **figura 8(b)**. Os ensaios foram realizados com a cepa H₃₇Rv (pan-susceptível) e com outras cinco cepas (resistentes a isoniazida e a rifampicina) isoladas clinicamente. O complexo de gálio [Ga(mpo)₃] apresentou valor de MIC₉₀ (µg mL⁻¹) = 0,48 nos ensaios com a cepa H₃₇Rv, sendo mais ativo que outros dois complexos com o mesmo ligante coordenado ao Fe^{III} e ao Bi^{III}, e que apresentaram valor de MIC₉₀ = 0,66 e 1,47 µg mL⁻¹, respectivamente. O valor de MIC₉₀ do complexo [Ga(mpo)₃] foi bem próximo ao observado no mesmo estudo para a rifampicina (0,4 µg mL⁻¹), e de menor valor (mais ativo) que alguns fármacos de 2^a linha, como a capreomicina (2,0 µg mL⁻¹). Adicionalmente, o complexo [Ga(mpo)₃] mostrou atividade semelhante frente a todas as 5 cepas resistentes a isoniazida e a rifampicina, reforçando assim a potencial atividade do composto como agente anti-MTB.

Embora existam pontos a serem elucidados sobre os mecanismos de ação anti-MTB do Ga^{III}, as pesquisas tem mostrado que a similaridade entre o Ga^{III} e o Fe^{III},

considerada como crucial para a atividade antitumoral do gálio, é também considerada o principal fator responsável pela atividade antibacteriana do gálio. Em uma investigação com diferentes metais de estados de oxidação II e III, o Ga^{III} foi o que se mostrou mais eficiente em se ligar à sideróforos (moléculas sintetizadas e secretadas por bactérias para capturar o Fe^{III}, com elevada afinidade de ligação. Considerando tal afinidade, e o fato de o ferro ser essencial para o crescimento e a sobrevivência de quase todas as bactérias aeróbicas (SRITHARAN, 2016), torna-se claro que novas pesquisas com compostos de Ga^{III} são de grande importância na busca por novos agentes anti-MTB.

1.4.6 Compostos de índio(III) como agentes anti-*Mycobacterium tuberculosis*

Compostos de In^{III} têm sido reportados como ativos frente a diversas bactérias (JIN et al., 2011; TAJBAKSHI et al., 2008; WANG et al., 2017; MAGADLA et al., 2019). No entanto, a investigação do In^{III} como agente anti-MTB ainda é quase inexistente. Em um raro estudo visando esta aplicação (DAVID et al., 2005), analisou-se a ação do complexo [In(TETA)]⁻ (TETA = 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-1,4,8,11-tetraacético) contra a *Mycobacterium tuberculosis* (H₃₇Rv). Após identificarem, por métodos radiométricos, uma elevada redução da viabilidade celular da MTB (99%) causada pelo [In(TETA)]⁻, na concentração de 116 µM, os autores decidiram verificar a capacidade de inibição de crescimento da MTB pelo complexo. Verificou-se uma concentração inibitória mínima de 3,6 µM do [In(TETA)]⁻ para inibir 99% das bactérias (MIC₉₉), enquanto para o ligante livre (TETA) e sal In(NO₃)₃, foi necessária uma concentração aproximadamente 30 vezes maior (116 µM), indicando assim um aumento considerável na atividade anti-MTB como efeito da complexação do ligante TETA com o In^{III}.

O estudo citado acima, somado a rara presença de investigações de compostos de In^{III} contra a MTB, exemplifica a importância de se explorar a aplicação de complexos com este metal, como parte da urgente busca por novos medicamentos para a terapia da tuberculose.

1.5 Ligantes bases de Schiff bioativos

As bases de Schiff (BS) estão entre as classes de compostos orgânicos mais investigadas, tendo sido reportadas pela primeira vez no século XIX (1864), pelo químico alemão Hugo Schiff (1834-1915), **figura 9** (TIDWELL, 2008).

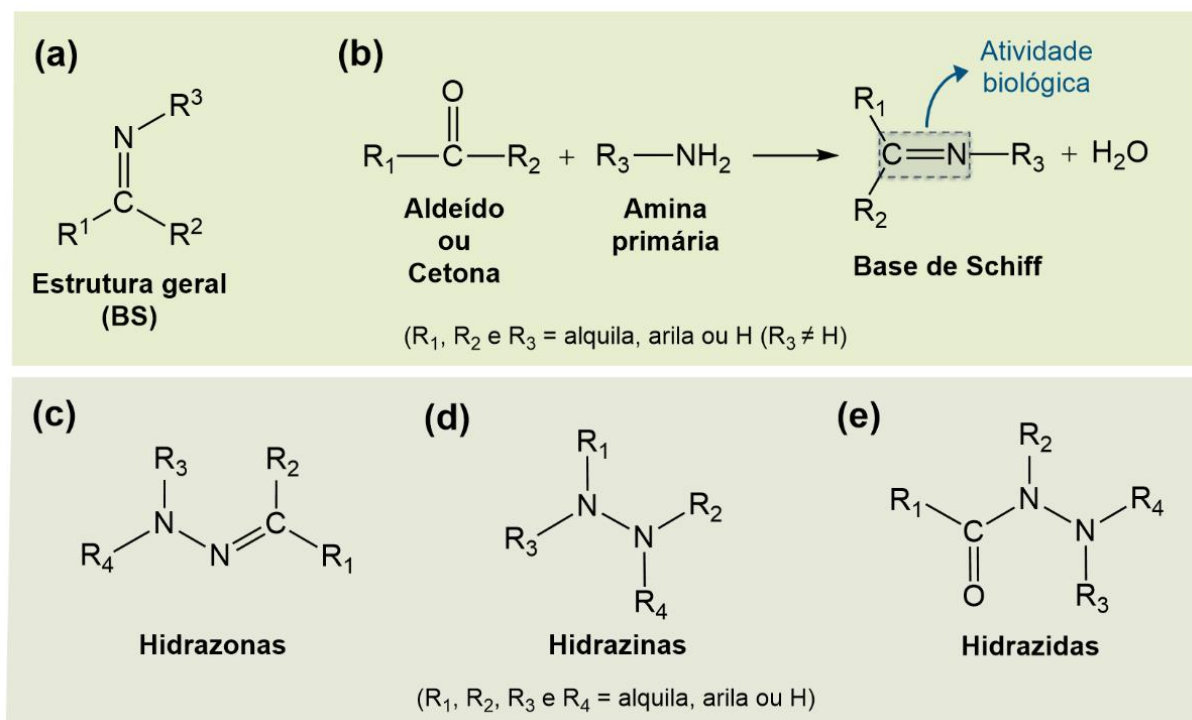
Figura 9 - Fotografia de Hugo Schiff, lecionando no dia 24 de abril de 1915.



Fonte: TIDWELL, 2008.

De forma geral, uma BS possui fórmula $R_1R_2C=N-R_3$, **figura 10(a)**, e são sintetizadas a partir da reação de condensação de um aldeído, ou cetona, com uma amina primária, **figura 10(b)** (MALIK et al., 2018). Entre suas diversas aplicações, as bases de Schiff são conhecidas por apresentarem atividades biológicas frente a um amplo número de patologias (AL RASHEED et al., 2020; DA SILVA et al., 2011). Considera-se a ligação C=N do grupo imina um ponto chave na atividade biológica das bases de Schiff, onde, por exemplo, o átomo de nitrogênio pode atuar formando ligações de hidrogênio com centros ativos de constituintes celulares, podendo assim levar a inativação de processos biológicos (KAJAL et al., 2013).

Figura 10 - Estrutura geral das bases de Schiff **(a)**, com a representação da sua reação geral de síntese **(b)**. Estruturas químicas dos grupos hidrazona **(c)**, hidrazina **(d)** e hidrazida **(e)**.



Fonte: Autoria própria.

As bases de Schiff tem ocupado um lugar de destaque na química de coordenação, uma vez que possuem uma elevada afinidade por metais, podendo formar complexos estáveis de diferentes geometrias e com íons metálicos de diferentes estados de oxidação. Desta forma, constituindo-se como ligantes versáteis e com uma reconhecida atividade medicinal, as bases de Schiff tem sido um importante alvo na busca por novos complexos metálicos com potencial terapêutico (HAMEED et al., 2017).

Entre os diferentes tipos de quelantes BS investigados na química inorgânica medicinal, estão as hidrazonas, as quais são compostos com fórmula geral R₁R₂C=N-NR₃R₄, **figura 10(c)**. Hidrazonas são geralmente preparadas pela reação de condensação de grupos hidrazina, **figura 10(d)**, ou hidrazida, **figura 10(e)**, com um grupo carbonil (aldeído ou cetona) (MALIK et al., 2018) e são amplamente conhecidas por serem compostos ativos contra diversas doenças (ROLLAS; KÜÇÜKGÜZEL, 2007; PAVAN et al., 2010). Complexos metálicos com ligantes

hidrazonas, incluindo complexos com Ga^{III}, tem apresentado promissoras atividades anticâncer, antibacteriana (incluindo contra a MTB), anti-inflamatória, entre outras (SHAKDOFA et al., 2014; CHEW et al., 2014; DEVI; BATRA, 2015; DESPAIGNE et al., 2012; RICHARDSON, 1997).

Em especial, ligantes hidrazonas derivados da hidrazida isoniazida (estrutura química na **figura 7**), complexados com diversos metais (Ga^{III}, Cu^{II}, Zn^{II}, Co^{II} e Ni^{II}, etc.), tem apresentado atividade biológica frente a diferentes doenças, como Alzheimer, tuberculose e câncer (HAUSER et al., 2015; DOS SS FIRMINO et al., 2019; HUNOOR et al., 2010). Desta forma, as evidências disponíveis na literatura sugerem que novas hidrazonas derivadas do antibiótico isoniazida podem representar uma interessante classe de ligantes a serem investigadas, na busca por complexos metálicos como agentes terapêuticos.

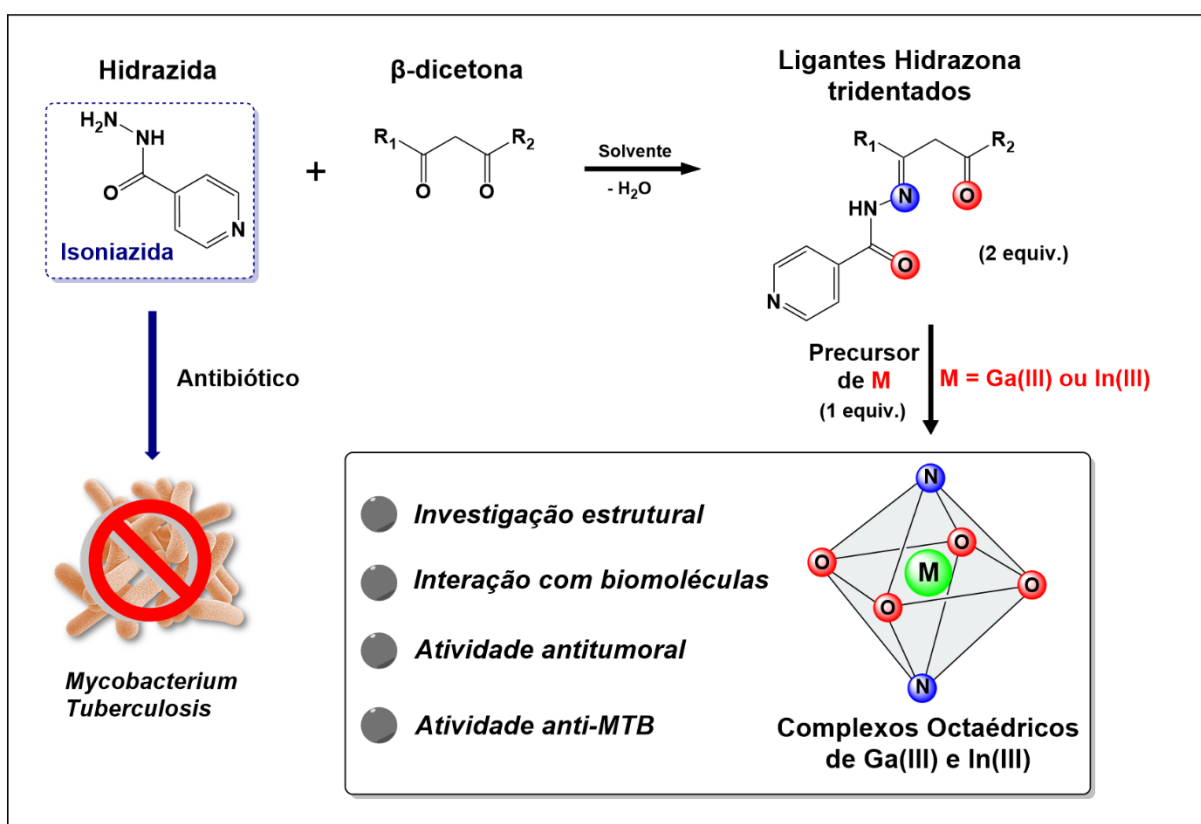
1.6 Hipóteses para a obtenção dos complexos de gálio e índio bioativos

Recentemente, nosso grupo de pesquisa reportou a síntese, estudos *in vitro* e *in vivo* de novos complexos de ⁶⁷Ga^{III} e ¹¹¹In^{III} com ligantes derivados de iminas (semicarbazonas e tiossemicarbazonas), visando contribuir com a investigação de novos potenciais radiofármacos (PRADO et al., 2021). Tendo em vista a também promissora atividade de compostos de gálio e índio (não radioativos) para a terapia de doenças, este trabalho visa dar continuidade as investigações em nosso grupo de pesquisa com compostos de coordenação de Ga^{III} e In^{III}, com foco na busca por novos agentes anticâncer e anti-MTB.

Como discutido anteriormente, a escolha dos ligantes é crucial para a efetividade da aplicação terapêutica dos complexos metálicos. Especificamente para os compostos de Ga^{III} e In^{III}, foram citados diversos estudos que evidenciam um aumento significativo da atividade biológica dos complexos sintetizados com ligantes que previnem as reações de hidrólise do Ga^{III} e do In^{III} no meio fisiológico, os quais também podem oferecer uma maior seletividade desses compostos para os alvos biológicos. Propõe-se que a obtenção de complexos de Ga^{III} e In^{III} com ligantes hidrazonas, derivados do antibiótico isoniazida, possa levar a formação de compostos com propriedades antitumoral e/ou anti-MTB. Assim como o complexo KP46, considerado atualmente o complexo de gálio mais promissor como agente antitumoral

(seção 1.4.2), os complexos de Ga^{III} e In^{III} deste trabalho foram idealizados com uma geometria octaédrica, e com ligantes com átomos doadores de oxigênio e nitrogênio. No entanto, o ligante do composto KP46 (8-hidroxiquinolina) caracteriza-se como um quelante N,O-doador do tipo bidentado, diferentemente dos complexos metálicos deste trabalho, os quais foram planejados com a presença de quelantes tridentados do tipo O,N,O-doador. A **figura 11**, portanto, resume as estratégias para o desenvolvimento desta pesquisa.

Figura 11 - Representação geral da hipótese deste trabalho.



Fonte: Autoria própria.

2 OBJETIVOS

De forma geral, este trabalho tem como objetivo realizar a síntese, caracterização estrutural e interação com biomoléculas de novos compostos de coordenação octaédricos de Ga^{III} e In^{III} com ligantes tridentados derivados do antibiótico isoniazida e β -dicetonas, e avaliar a atividade citotóxica dos mesmos frente a células cancerígenas e a *Mycobacterium tuberculosis*. Os objetivos estão apresentados, de forma específica, nos itens a seguir:

- Sintetizar os ligantes benzoilacetona isonicotinoil hidrazona (**H₂L1**) e 4-clorobenzoilacetona isonicotinoil hidrazona (**H₂L2**), e seus respectivos complexos com gálio(III) [Ga(L1)(HL1)] (**GaL1**) e [Ga(L2)(HL2)] (**GaL2**) e índio(III) ([In(L1)(HL1)] (**InL1**) e [In(L2)(HL2)] (**InL2**));
- Realizar a investigação estrutural dos ligantes e complexos, através de diferentes técnicas em solução (espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massas com ionização por “electrospray” (ESI-MS), condutimetria e espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis)) e no estado sólido (difração de raios X de monocristal (DRX de monocristal), espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV), ponto de fusão (PF) e análise elementar (AE));
- Complementar a caracterização estrutural através de dados obtidos de cálculos computacionais, utilizando-se a teoria do funcional da densidade (DFT);
- Analisar, através da radiomarcagem dos ligantes com gálio-67, para os respectivos complexos “quentes” a lipofilicidade, a estabilidade em soro humano (SF) e apo-transferrina (apo-Tf), bem como a acumulação dos mesmos em linhagens celulares de câncer de mama e de próstata (MCF-7 e PC-3);
- Investigar a interação dos complexos de Ga^{III} e In^{III} com as biomoléculas albumina e DNA;
- Analisar a atividade dos complexos de gálio e índio frente a linhagens tumorais (MCF-7 e PC-3), não tumoral (RWPE-1, próstata) e a *Mycobacterium tuberculosis*.

3 METODOLOGIA

3.1 Síntese dos compostos

3.1.1 Reagentes

Os compostos 1-fenil-1,3-butanodiona (benzoilacetona), 1-(4-clorofenil)1,3-butanodiona, piridina 4-carbohidrazida (isoniazida, INH), tris(acetilacetonato)gálio(III) [Ga(acac)₃] e tris(acetilacetonato)índio(III) [In(acac)₃], utilizados para a síntese dos ligantes e complexos, foram obtidos comercialmente e utilizados conforme recebidos. Não houve a necessidade de purificação prévia dos solventes utilizados.

3.1.2 Ligantes

3.1.2.1 Benzoilacetona-isonicotinoil-hidrazona (H₂L1)

Para a síntese do ligante hidrazona **H₂L1**, em um balão contendo 20 mL de etanol (EtOH), adicionou-se 2 mmol (274,3 mg) de isoniazida (INH) sob agitação a 70 °C. Após a solubilização da INH, adicionou-se 2 mmol (324,4 mg) da benzoilacetona, dissolvida em 20 mL de EtOH. O sistema foi mantido em agitação sob refluxo por 4 h. Em seguida, removeu-se o solvente sob vácuo para a obtenção de um sólido amarelo claro. Para a recristalização do composto, em EtOH quente, dissolveu-se o sólido e manteve-se o mesmo sob refrigeração por 48 h. Em seguida, os cristais foram coletados por filtração da solução, secos sob vácuo. Massa obtida do produto = 399,0 mg (rendimento de 71%). Monocristais adequados para a análise de DRX de monocristal foram obtidos através da evaporação lenta de uma solução concentrada do composto em etanol. Observou-se a rápida formação de cristais amarelos em solução durante as primeiras 24 h. Após, cristais incolores foram lentamente se acumulando nas paredes do tudo de vidro da cristalização até a total secagem do solvente (EtOH). Os cristais, pertencentes aos tautômeros de cadeia aberta (amarelos) e fechada (incolores) do **H₂L1**, foram então isolados para serem caracterizados separadamente no estado sólido por DRX de monocristal, IV e PF. PF: Cristais amarelos se fundiram entre 163 e 164 °C. Cristais incolores converteram-

se em cristais amarelos na faixa de 80 a 100 °C. Análise elementar para C₁₆H₁₅N₃O₂ (%): Calculado, C 68,31; H 5,37; N 14,94; Experimental, C 68,48; H 5,43; N 14,77. IV (ν_{\max} /cm⁻¹), pastilha de KBr: Tautômero **H₂L1a** (cristais amarelos), 3147,2972 ν (N-H), 1690 ν (C=O), 1593 ν (C=C), 1520 ν (C=N), 724, 675 ν (C-H); Tautômero **H₂L1f** (cristais incolores), 3418 ν (O-H), 3207 ν (O-H_{água}), 1628 ν (O-H_{água}), 1546 ν (C=C), 1497 ν (C=N), 1450 ν (CH₂), 732, 705 ν (C-H). RMN ¹H (300 MHz, Solvente: DMSO-d₆) δ [ppm]: 1,98 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 3,06-3,21 (m, 2H), 6,02 (s, 1H), 7,25-7,57 (m, 10H), 7,79-7,81 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 7,91-7,92 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 8,67-8,69 (d, J = 5,3 Hz, 2H), 8,79-8,81 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 11,15 (s, 1H), 12,29 (s, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 15,72, 18,03, 55,17, 91,83, 92,86, 121,44, 122,25, 124,54, 126,92, 127,23, 128,06, 128,42, 131,12, 138,92, 139,34, 143,03, 143,49, 149,58, 150,44, 155,85, 163,54, 164,70, 186,22. ESI-MS(+): valores experimentais (m/z) para C₁₆H₁₅N₃O₂ [M+H]⁺ e [M+Na]⁺: 282,5 e 304,4; massa exata [M] calculada: 281,1.

3.1.2.2 4-clorobenzoilacetona-isonicotinoil-hidrazona (**H₂L2**)

Para a síntese do ligante hidrazona **H₂L2**, em um balão contendo 20 mL de EtOH, adicionou-se 1,53 mmol (210,0 mg) de isoniazida (INH) sob agitação a 70 °C. Após a solubilização da INH, adicionou-se 1,53 mmol (301,0 mg) da 4-clorobenzoilacetona, dissolvida em 20 mL de EtOH. O sistema foi mantido em agitação sob refluxo por 4 h. Os procedimentos de purificação e obtenção de cristais foram os mesmos citados para o ligante **H₂L1**. Massa obtida do produto = 300,0 mg (rendimento de 62%). PF: Cristais amarelos se fundiram entre 185 e 187 °C. Cristais incolores converteram-se a cristais amarelos entre 80 e 100 °C. Análise elementar para C₁₆H₁₄ClN₃O₂·H₂O (%): Calculado, C 57,58; H 4,83; N 12,59; Experimental, C 58,04; H 4,40; N 13,31. IV (ν_{\max} /cm⁻¹), pastilha de KBr: Tautômero **H₂L2a** (cristais amarelos), 3265, 3040 ν (N-H), 1682 ν (C=O), 1578 ν (C=C), 1546 ν (C=N), 760, 692 ν (C-H); Tautômero **H₂L2f** (cristais incolores), 3422 ν (O-H), 3152 ν (O-H_{água}), 1624 ν (O-H_{água}), 1551 ν (C=C), 1497 ν (C=N), 1451 ν (CH₂), 748, 717 ν (C-H). RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 1,98 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 3,14 (s, 2H), 6,01 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,40-7,57 (m, 10H), 7,79-7,80 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 7,91-7,94 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 8,67-8,68 (d, J = 3,2 Hz, 2H), 8,78-8,80 (d, J = 4,2 Hz, 2H), 11,17 (s, 1H), 12,27 (s, 1H); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ [ppm]: 16,18, 18,49, 55,39, 92,06, 92,73, 121,91,

123,00, 127,16, 128,43, 128,95, 129,28, 132,30, 136,37, 138,08, 139,77, 142,91, 143,36, 150,03, 150,90, 156,42, 163,95, 165,57, 185,16. ESI-MS(-): valor experimental (m/z) para $C_{16}H_{14}ClN_3O_2$ [M-H]⁻: 314,0; massa exata [M] calculada: 315,1.

3.1.3 Complexos

3.1.3.1 [Ga(L1)(HL1)] (GaL1)

Para a síntese do complexo de gálio **GaL1**, em um balão contendo 5 mL de metanol (MeOH), adicionou-se 0,72 mmol (200,0 mg) do ligante **H₂L1**. Em seguida, adicionou-se uma solução contendo 0,36 mmol (132,0 mg) do precursor metálico [Ga(acac)₃], dissolvido em 5 mL de MeOH, e o sistema foi mantido sob agitação em temperatura ambiente por 4 h. Em seguida, o produto precipitado (sólido vermelho) foi recolhido por filtração, lavado com metanol gelado e seco sob vácuo. Massa obtida do produto = 204,8 mg (rendimento de 90,4%). Monocristais adequados para a análise de DRX de monocristal foram coletados na solução mãe da reação. PF: 262-264 °C. Análise elementar para $C_{32}H_{27}GaN_6O_4 \cdot H_2O$ (%): Calculado, C 59,37; H 4,52; N 12,98; Experimental, C 58,87; H 4,48; N 13,28. IV (ν_{max}/cm^{-1}), pastilha de KBr: 3063, 3033 $\nu(C-H)$, 2920, 2828 $\nu(C-H)$, 1594 $\nu(C=O)$, 1518 $\nu(C=C)$, 1483 $\nu(C=N)$, 752, 696 $\nu(C-H)$. RMN ¹H (300 MHz, DMF-*d*₇) δ [ppm]: 2,57 (s, 6H), 5,80 (s, 2H), 7,27-7,29 (m, 6H), 7,75-7,77 (m, 4H), 8,09-8,11 (d, J = 5,8 Hz, 4H), 8,74-8,75 (d, J = 3,0 Hz, 4H). RMN¹³C (75 MHz, DMF-*d*₇) δ [ppm]: 20,33, 93,17, 122,31, 126,62, 128,03, 129,33, 141,00, 146,81, 147,13, 160,49, 165,26, 172,82. ESI-MS(-): valor experimental (m/z) para $C_{32}H_{27}GaN_6O_4$ [M-H]⁻: 627,1; massa exata [M] calculada: 628,1.

3.1.3.2 [Ga(L2)(HL2)] (GaL2)

Para a síntese do complexo de gálio **GaL2**, a um balão contendo 5 mL de MeOH, adicionou-se 0,127 mmol (40,0 mg) do ligante **H₂L2**. Em seguida, adicionou-se 0,064 mmol (23,5 mg) do precursor metálico [Ga(acac)₃], dissolvido em 5 mL de MeOH, e o sistema foi mantido sob agitação em temperatura ambiente por 4 h. O produto precipitado (sólido vermelho) foi recolhido por filtração, lavado com

MeOH gelado e seco sob vácuo. Massa obtida do produto = 30,5 mg (rendimento de 68,2%). Não foram obtidos monocristais adequados para a análise de DRX de monocristais. PF: 242-244 °C. Análise elementar para $C_{32}H_{25}Cl_2GaN_6O_4$ (%): Calculado, C 55,05; H 3,61; N 12,04; Experimental, C 54,88; H 4,01; N 11,82. IV (v_{max}/cm^{-1}), pastilha de KBr: 3066, 3033 $v(C-H)$, 2920, 2828 $v(C-H)$, 1594 $v(C=O)$, 1517 $v(C=C)$, 1483 $v(C=N)$, 760, 702 $v(C-H)$. RMN 1H (300 MHz, DMF- d_7) δ [ppm]: 2,55 (s, 6H), 5,80 (s, 2H), 7,32-7,35 (d, J = 8,5 Hz, 4H), 7,76-7,78 (d, J = 8,5 Hz, 4H), 8,08-8,10 (d, J = 5,1 Hz, 4H), 8,73-8,74 (d, J = 3,4 Hz, 4H). RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) δ [ppm]: 20,84, 93,53, 122,27, 128,34, 128,41, 134,04, 139,67, 145,99, 147,80, 160,78, 164,53, 170,19. ESI-MS(+): valor experimental (m/z) para $C_{32}H_{25}Cl_2GaN_6O_4$ [M-H] $^-$: 697,0; massa exata [M] calculada: 696,1.

3.1.3.3 [In(L1)(HL1)] (InL1)

Para a síntese do complexo de índio **InL1**, em um balão contendo 5 mL de MeOH, adicionou-se 0,72 mmol (200,0 mg) do ligante **H₂L1**. Em seguida, adicionou-se 0,36 mmol (148,0 mg) do precursor metálico [In(acac)₃], dissolvido em 5 mL de MeOH, e o sistema foi mantido sob agitação em temperatura ambiente por 4 h. Em seguida, o produto precipitado (sólido vermelho) foi recolhido por filtração, lavado com MeOH gelado e seco sob vácuo. Massa obtida do produto = 216,7 mg (rendimento de 89,0%). O rendimento calculado da síntese foi de 89,2%. Não foram obtidos monocristais adequados para a análise de DRX de monocristal. PF: 258-260 °C. Análise elementar para $C_{32}H_{27}InN_6O_4 \cdot H_2O$ (%): Calculado, C 56,99; H 4,04; N 12,46; Experimental, C 56,45; H 4,43; N 12,00. IV (v_{max}/cm^{-1}), pastilha de KBr: 3060, 3032 $v(C-H)$, 2922, 2810 $v(C-H)$, 1586 $v(C=O)$, 1514 $v(C=C)$, 1482 $v(C=N)$, 752, 700 $v(C-H)$. RMN 1H (400 MHz, DMF- d_7) δ [ppm]: 2,59 (s, 6H), 5,80 (s, 2H), 7,30-7,31 (m, 6H), 7,79-7,80 (m, 4H), 8,16-8,18 (d, J = 5,0 Hz, 4H), 8,75-8,76 (d, J = 4,9 Hz, 4H). RMN ^{13}C (75 MHz, DMF- d_7) δ [ppm]: 21,01, 93,77, 122,10, 126,50, 127,87, 129,05, 141,66, 147,10, 147,99, 159,93, 167,82, 174,53. ESI-MS(-): valor experimental (m/z) para $C_{32}H_{27}InN_6O_4$ [M-H] $^-$: 673,0; massa exata [M] calculada: 674,1.

3.1.3.4 [In(L2)(HL2)] (InL2)

Para a síntese do complexo de índio **InL2**, a um balão contendo 5 mL de MeOH, adicionou-se 0,158 mmol (50,0 mg) do ligante **H₂L2**. Em seguida, adicionou-se 0,079 mmol (32,6 mg) do precursor metálico [In(acac)₃], dissolvido em 5 mL de MeOH, e o sistema foi mantido sob agitação em temperatura ambiente por 4h. Em seguida, o produto precipitado (sólido vermelho) foi recolhido por filtração, lavado com metanol gelado e seco sob vácuo. Não foram obtidos monocristais adequados para a análise de DRX de monocristal. Massa obtida do produto = 49,0 mg (rendimento de 90,4%). O rendimento calculado da síntese foi de 83,4%. PF: 290-292 °C. Análise elementar para C₃₂H₂₅Cl₂InN₆O₄·H₂O (%): Calculado, C 50,48; H 3,57; N 11,04; Experimental, C 50,68; H 4,01; N 10,86. IV ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$), pastilha de KBr: 3099, 3064 $\nu(\text{C-H})$, 2920, 2821 $\nu(\text{C-H})$, 1586 $\nu(\text{C=O})$, 1508 $\nu(\text{C=C})$, 1479 $\nu(\text{C=N})$, 765, 704 $\nu(\text{C-H})$. RMN ¹H (300 MHz, DMF-*d*₇) δ [ppm]: 2,58 (s, 6H), 5,82 (s, 2H), 7,35-7,68 (d, J = 8,5 Hz, 4H), 7,79-7,82 (d, J = 8,5 Hz, 4H), 8,15-8,17 (d, J = 4,9 Hz, 4H), 8,75-8,77 (d, J = 3,9 Hz, 4H); RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm]: 21,75, 94,18, 121,72, 128,40, 128,46, 133,94, 140,29, 149,23, 150,32, 160,74, 167,19, 171,86. ESI-MS(-): valor experimental (m/z) para C₃₂H₂₅Cl₂GaN₆O₄ [M-H]: 741,1; massa exata [M] calculada: 742,0.

3.2 Investigação estrutural dos compostos

3.2.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

As amostras foram preparadas nos solventes DMSO-*d*₆ e DMF-*d*₇. As análises de RMN de ¹H e ¹³C foram realizadas em espectrômetros da marca Agilent Technologies, modelos 500/54 Premium Shielded (500 MHz) e 400/54 Premium Shielded (400 MHz), na Central de Análises Químicas Instrumentais (CAQI), do Instituto de Química de São Carlos (IQSC/USP).

Análises adicionais de RMN de ¹H (variando-se a temperatura de aquisição dos espectros), ¹³C e DEPT-135, foram realizadas em espectrômetros da marca Bruker, modelos Avance III (300 e 400 MHz), alocados no Instituto Superior Técnico (IST), Lisboa, Portugal.

3.2.2 Espectrometria de massas com ionização por “electrospray” (ESI-MS)

Os compostos foram caracterizados por ESI-MS, utilizando-se MeOH como solvente, foram analisados nos modos negativo e positivo em um instrumento ESI/QITMS Bruker HCT, localizado no Centro de Ciências e Tecnologias Nucleares (C²TN), do Instituto Superior Técnico (IST), Bobadela, Portugal.

3.2.3 Condutimetria

As medidas de condutividade foram realizadas em condutímetro Orion Star Series III, no Grupo de Química Inorgânica Estrutural e Biológica (GQIEB), do Instituto de Química de São Carlos - USP. O equipamento foi calibrado para as análises com uma solução padrão com valor de condutividade de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (concentração de NaCl de 692 ppm). Os compostos foram dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMF) em uma concentração de 1×10^{-3} M. Todas as análises foram realizadas após ajustar-se a temperatura soluções para 20 °C. Após a primeira análise, as amostras foram guardadas e suas condutividades foram novamente determinadas após 1 e 24 h.

3.2.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis)

Os compostos foram preparados para análise em solução de acetonitrila, dimetilsulfóxido e tampão PBS, pH = 7,4, (10% DMSO), e então transferidos para cubetas de quartzo com caminho óptico de 10 mm. Os espectros foram obtidos com varredura na faixa de 220 a 650 nm, em um espectrofotômetro UV-1800, da marca Shimadzu, localizado no GQIEB.

3.2.5 Difração de raios X de monocristal (DRX de monocristal)

Monocristais adequados para as análises de DRX de monocristal foram obtidos através da evaporação lenta de soluções de EtOH (ligantes) e da coleta na solução mãe pós síntese (complexo **GaL1**). As análises foram realizadas em um difratômetro da marca Bruker, modelo APEX II Duo, localizado na CAQI do IQSC. A coleta de dados foi realizada à 296 K por aplicação de radiação Mo-K α ($\lambda = 0,71073$ Å), com

monocromador de grafite. O método multi-scan foi aplicado para correção de absorção. As estruturas foram resolvidas por métodos diretos através do programa SHELXS-97 (SHELDRICK, 2008), para os ligantes, e SIR92 (ALTOMARE et al., 1994), para o complexo **GaL1**. Os refinamentos foram realizados com o programa SHELXL-2018/3 (SHELDRICK, 2015). O método “riding model” foi utilizado para o posicionamento dos átomos de hidrogênio e todos os outros átomos foram refinados com parâmetros de deslocamento anisotrópicos. As figuras com as representações dos compostos foram geradas através do programa Mercury (MACRAE et al., 2020).

3.2.6 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

Os sólidos dos compostos foram preparados para análise em pastilhas de KBr, na proporção aproximada de 1 mg do composto para 100 mg do sal. Os espectros foram obtidos na região do infravermelho entre 400 e 4000 cm^{-1} , utilizando-se um espectrofotômetro da marca Shimadzu, modelo IRPrestige-21, pertencente ao GQIEB. Para as análises dos ligantes em diferentes temperaturas (50-100 °C), as pastilhas dos compostos foram, após a aquisição dos espectros em temperatura ambiente, armazenadas por 1h em uma estufa para cada temperatura analisada, seguido do resfriamento das mesmas em um dessecador e posterior aquisição do espectro.

3.2.7 Ponto de fusão (PF)

Para as determinações do ponto de fusão dos compostos, os sólidos (pó finos) foram previamente secos em alto vácuo e inseridos em um tubo capilar (preenchimento de amostra de 2-3 mm de altura no tubo), com taxa de aquecimento de 5 °C/min, utilizando-se um medidor de ponto de fusão Gehaka, PF 1500 Farma, alocado no GQIEB.

3.2.8 Análise elementar (AE)

Na determinação elementar dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio, as amostras foram previamente secas em alto vácuo (temperatura de aproximadamente

40 °C). Os experimentos foram conduzidos utilizando-se um analisador elementar da marca Thermo Scientific, modelo FlashSmart, localizado na Central de Análises Químicas (CAQI) do IQSC – USP. Análises adicionais foram realizadas utilizando-se um analisador EA 110 CE Instruments, alocado no Centro de Ciências e Tecnologias Nucleares (C²TN), do Instituto Superior Técnico (IST), Bobadela, Portugal.

3.2.9 Cálculos computacionais

Os cálculos teóricos foram realizados aplicando-se a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) (BECKE, 2014), através do pacote Gaussian 09, Revisão D. 01 (FRISCH et al., 2009) Utilizou-se o método CAM-B3LYP (YANAI; TEW; HANDY, 2004) para todos os complexos investigados, e as funções de base 6-311g** (CURTISS et al., 1995; KRISHNAN et al., 1980) e DZP-DKH (JORGE et al., 2009; BARROS et al., 2010) foram aplicadas para complexos de gálio e índio, respectivamente. Para a otimização das geometrias dos complexos, utilizou-se como modelo inicial a estrutura cristalográfica obtida por DRX de monocristal do complexo **GaL1**. O efeito da solvatação foi estimado utilizando-se o método IEFPCM (modelo do contínuo polarizável com o formalismo da equação integral) (CANCES; MENNUCCI; TOMASI, 1997), considerando-se o DMSO como solvente. Espectros de UV-Vis foram simulados utilizando-se a variante dependente do tempo da DFT (TD-DFT) (ADAMO; JACQUEMIN, 2013), onde os primeiros 45 estados excitados foram calculados. O programa GaussView 6.0 (DENNINGTON; KEITH; MILLAM, 2016) foi utilizado para gerar os orbitais moleculares dos complexos.

3.3 Análises de estabilidade e de interação *in vitro* com biomoléculas

3.3.1 Radiomarcção dos ligantes com gálio-67

Os procedimentos que envolveram a manipulação de fontes radioativas não seladas foram realizados em laboratório, no Centro de Ciências e Tecnologias Nucleares (C²TN), Instituto Superior Técnico (IST), Bobadela - Portugal, seguindo as regras exigidas de proteção contra a radiação. As manipulações das soluções de gálio-67 foram feitas usando barreira de proteção de chumbo com visor de vidro

contendo sais de chumbo. Os frascos contendo as soluções radioativas foram mantidos em contentores de chumbo com a espessura adequada e manipulados com luvas e pinças longas.

3.3.1.1 Preparação do tricloreto de gálio-67

A solução do $^{67}\text{GaCl}_3$ a ser usada nos procedimentos de radiomarcação foi preparada de acordo com o descrito na literatura (SCASNAR; VAN LIER, 1993). Uma solução de citrato de gálio-67 (Mallinckrodt) (2,2 mL) foi adicionada a um cartucho SEP-PAK SI (Waters), o qual foi previamente condicionado com 10 mL de H_2O . Após a adição do $^{67}\text{GaCl}_3$, adicionou-se ao cartucho 10 mL de H_2O destilada, seguido de secagem do sistema com ar. Em seguida, foram adicionadas alíquotas de 500 μL (5x) de uma solução de HCl 0,1 M. Todas as alíquotas foram coletadas e o $^{67}\text{GaCl}_3$ obtido foi usado para as radiomarcações.

3.3.1.2 Radiomarcação dos ligantes

As radiomarcações dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** foram realizadas seguindo-se os mesmos procedimentos. Para 20 μL de uma solução do ligante em etanol (solução estoque com concentração de 1×10^{-2} M), adicionou-se 200 μL de uma solução tampão de acetato de sódio (0,4 M, pH ~ 5), seguido da adição de 100 μL de uma solução de $^{67}\text{GaCl}_3$ (HCl 0,1 M). A mistura foi aquecida a 50 °C por 15 min. Em seguida, verificou-se a eficiência das radiomarcações por HPLC, seguindo as condições descritas na **seção 3.3.1.3**. Os produtos (**$^{67}\text{GaL1}$** e **$^{67}\text{GaL2}$**), foram utilizados em análises posteriores sem necessidade de purificação.

3.3.1.3 Análise por HPLC

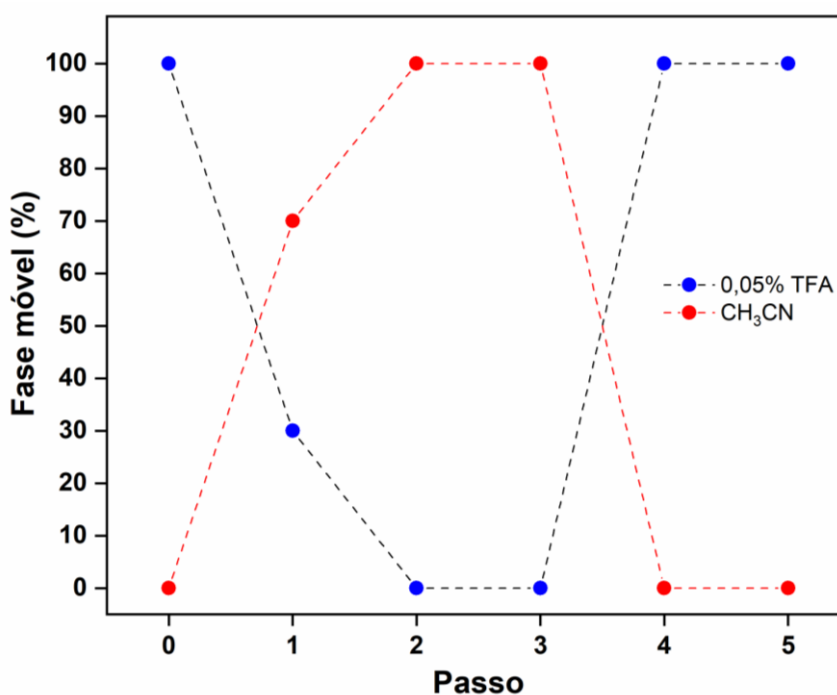
Os solventes empregados foram de grau HPLC e a H_2O usada no preparo das soluções foi bidestilada e filtrada em filtros *milipore* de 0,22 μm . Equipamento: Perkin-Elmer bomba LC200 com detector- γ Berthold LB-507A. As condições gerais utilizadas nas análises foram: Coluna Nucleosil C-18, 5 μm (diâmetro interno de 3 mm),

Fluxo: 0,5 mL/min, Gradiente A (0,05% TFA) e B (100% CH₃CN), comprimento de onda de 254 nm e solução do ligante de 1x10⁻² mol L⁻¹.

Tabela 6 - Condições cromatográficas utilizadas para as análises de HPLC.

Passo	Tempo (min)	0,05% (TFA)	100% (CH ₃ CN)	Curva
0	5,0	100	0	0,0
1	20,0	30	70	1,0
2	1,0	0	100	1,0
3	4,0	0	100	0,0
4	1,0	100	0	1,0
5	4,0	100	0	0,0

Figura 12 - Curva do gradiente de eluição do método descrito na tabela 6.



3.3.2 Avaliação da lipofilicidade

A lipofilicidade dos radiocomplexos foi avaliada através da determinação do coeficiente de partição ($\log P_{o/w}$), **equação 1**, de um sistema bifásico *n*-octanol/PBS

0,1M utilizando-se o método de múltiplas extrações. Os resultados foram apresentados na forma de $\log P_{o/w}$:

$$P_{o/w} = \frac{C1}{C2} \quad (\text{eq. 1})$$

onde, C1 corresponde a radioatividade na fase orgânica (*n*-octanol) e C2 a radioatividade na fase aquosa (PBS 0,1 M).

Em 1 mL de uma mistura (1:1) *n*-octanol/PBS 0,1 M, adicionou-se 30 μL da solução de marcação contendo $^{67}\text{GaL1}$ ou $^{67}\text{GaL2}$, e em seguida o sistema foi agitado em vórtex durante 1 min. Após, centrifugou-se a mistura durante 3 min à 8000 rpm. Por fim, coletou-se 3 alíquotas de 100 μL de cada fase da mistura e a radioatividade foi medida em um contador de radiação γ .

3.3.3 Ensaios de estabilidade em meio aquoso dos complexos de gálio-67 em soro humano e apo-transferrina

3.3.3.1 Soro humano (SH)

Foram coletados 50 μL da solução da marcação dos radiocomplexos $^{67}\text{GaL1}$ ou $^{67}\text{GaL2}$ e adicionados a 200 μL de SF. O sistema foi mantido em banho a 37 °C e alíquotas foram retiradas para injeção no HPLC nos intervalos de 1, 4 e 24 h.

3.3.3.2 Apo-transferrina (apo-Tf)

Preparou-se uma solução de apo-Tf (3 mg/mL) em NaHCO_3 (10 mM, H_2O destilada). A 300 μL da solução da biomolécula, adicionou-se 75 μL da solução de marcação ($^{67}\text{GaL1}$ ou $^{67}\text{GaL2}$). O sistema foi mantido em banho a 37 °C e alíquotas foram retiradas para injeção no HPLC nos intervalos de 1, 4 e 24 h.

3.3.4 Ensaios de interação em meio aquoso dos complexos de gálio(III) e índio(III) com albumina e DNA

Os estudos de interação dos complexos de gálio e índio com as biomoléculas albumina e DNA foram realizados no Laboratório de Estrutura e Reatividade de

Compostos Inorgânicos (LERCI), Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar).

3.3.4.1 Albumina de soro humano (HSA)

As análises de interação dos complexos com a biomolécula HSA foram realizadas utilizando-se a técnica de espectroscopia de fluorescência, onde a supressão da fluorescência da HSA, com emissão máxima em 305 nm ($\lambda_{exc} = 270$ nm), foi monitorada na presença dos complexos de gálio e índio.

A partir de soluções estoque da HSA (5,55 μ M) em tampão Trisma-HCl (pH = 7,4) e dos complexos em DMSO (500 μ M), foram preparadas soluções com volume final de 1mL (10% DMSO) da HSA com os complexos, onde a concentração final da proteína foi mantida constante (5,0 μ M) e a concentração final dos complexos foram de 10, 20, 30, 40 e 50 μ M. As soluções de 1 mL foram então transferidas, em triplicata, para uma placa opaca de 96 poços e analisadas nas temperaturas de 298 e 310 K (25 e 37 °C) em um fluorímetro Synergy/H1-Biotek.

Visando elucidar de forma quantitativa o tipo de mecanismo de supressão presente nas interações da HSA com os complexos de gálio e índio, utilizou-se a equação Stern-Volmer (DA SILVA et al., 2019):

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}[Q] = 1 + k_q \tau_0 [Q] \quad (\text{eq. 2})$$

onde, F_0 e F representam a intensidade de fluorescência na ausência e presença do complexo, respectivamente, $[Q]$ se refere a concentração do complexo, K_{sv} é a constante de Stern-Volmer, k_q é a constante de velocidade de supressão bimolecular e τ_0 refere-se ao tempo de meia vida médio da biomolécula na ausência do complexo ($6,2 \times 10^{-9}$ s).

Para a obtenção dos dados de constante de ligação e do número de sítios de ligação HSA-complexo, utilizou-se a **equação 3** (DA SILVA et al., 2019):

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_b + n \log [Q] \quad (\text{eq. 3})$$

onde, K_b representa a constante de ligação HSA-complexo e n representa o número sítios de ligação por cada molécula de HSA.

A determinação dos parâmetros termodinâmicos foi realizada através das equações 4 e 5:

$$\ln \frac{K_{b2}}{K_{b1}} = \left[\frac{1}{t_1} - \frac{1}{t_2} \right] \frac{\Delta H^\circ}{R} \quad (\text{eq.4})$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_b = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (\text{eq.5})$$

onde, K_{b1} e K_{b2} representam as constantes de ligação nas duas temperaturas analisadas ($t_1 = 298,15$ K e $t_2 = 310,15$ K), ΔS° é a variação padrão de entropia, ΔH° é a variação padrão de entalpia, ΔG° é a energia livre de Gibbs padrão e R representa a constante dos gases ($8,314$ J mol⁻¹ K⁻¹).

3.3.4.2 DNA

3.3.4.2.1 Viscosidade

As amostras para as análises de viscosidade foram preparadas em solução de tampão Trisma-HCl (10% DMSO), onde, para um volume final de 4 mL, a concentração do CT-DNA (DNA de timo de bezerro) foi mantida constante (200 μ M) e variou-se a concentração dos complexos (16, 34, 50, 66 e 84 μ M). Em seguida, as análises foram realizadas (5 repetições) com um viscosímetro de Ostwald em um banho com temperatura ambiente ($25 \pm 0,3$ °C), onde o escoamento de cada solução foi aferido com um cronômetro digital.

Os valores de viscosidade relativa das soluções de CT-DNA na presença (η) e na ausência (η_0) dos compostos foi determinada a partir da equação 6 (RIBEIRO et al., 2019):

$$\frac{\eta}{\eta_0} = \frac{(t - t_0)}{(t_{DNA} - t_0)} \quad (\text{eq. 6})$$

onde, t , t_0 e t_{DNA} representam o tempo de escoamento da solução do complexo com o CT-DNA, o tempo de escoamento da solução contendo apenas o tampão e o tempo

de escoamento da solução contendo somente o CT-DNA, respectivamente. Os resultados foram então plotados como um gráfico $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ vs. $[\text{complexo}]/[\text{DNA}]$.

3.3.4.2.2 Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)

Para as análises de CD, foram preparadas diferentes soluções em tampão Trisma-HCl (10% DMSO), onde a concentração final do CT-DNA foi mantida constante (100 μM) e variou-se a concentração dos complexos nas soluções, para a obtenção de diferentes relações molares ($[\text{Complexo}]/[\text{CT-DNA}] = 0,08, 0,17, 0,25, 0,33, 0,42$ e $0,5$). As soluções foram então incubadas por aproximadamente 15 h em um banho com temperatura 37 °C. Em seguida, em uma cubeta circular de quartzo (1 cm de caminho óptico) contendo 2 mL para cada solução, as análises foram conduzidas em um espectropolarímetro JASCO J-720 e os espectros foram obtidos na faixa de comprimento de onda entre 240 e 400 nm.

3.3.4.2.3 Espectroscopia UV-Vis

Para o estudo de interação dos complexos com o CT-DNA por titulação espectrofotométrica, foram preparadas em soluções em tampão Trisma-HCl (10% DMSO). Em uma cubeta de quartzo, foi adicionado 2 mL da solução contendo apenas Trisma-HCl com 10% de DMSO (branco). Em outra cubeta, foi adicionado 2 mL da solução Trisma-HCl (10% DMSO), com uma concentração de $2,4 \times 10^{-5}$ M (abs. $\sim 1,0$) do complexo analisado. Em ambas as cubetas, foram adicionadas sucessivas alíquotas (15x) de 20 μL da solução de CT-DNA, a qual foi preparada com concentração de $2,4 \times 10^{-3}$ M, e a aquisição do espectro foi realizada para cada adição da solução da biomolécula. Os espectros foram obtidos na faixa de 240 a 600 nm, em um espectrofotômetro *Hewlett Packard 8452A Diode Array*.

Os valores de constante intrínseca de ligação (K_b) para cada complexo com o CT-DNA foram obtidos através da **equação 7**, (PYLE et al., 1989):

$$\frac{[\text{DNA}]}{\epsilon_a - \epsilon_f} = \frac{[\text{DNA}]}{\epsilon_a - \epsilon_b} + \frac{1}{[K_b(\epsilon_a - \epsilon_b)]} \quad (\text{eq. 7})$$

onde, ϵ_a , ϵ_f e ϵ_b representam a razão entre a absorvância medida e a concentração do complexo ($A_{obs}/[Complexo]$), a absorvância molar do complexo livre (sem DNA) e a absorvância molar do complexo ligado ao DNA, respectivamente. Os valores de K_b foram obtidos através da razão entre o coeficiente angular e linear da reta obtida de um gráfico $[DNA]/\epsilon_a - \epsilon_f$ vs. $[DNA]$.

3.4 Análises biológicas

3.4.1 Acumulação dos complexos de gálio-67 em células cancerígenas

As células foram plaqueadas em placas de 24 poços com uma densidade de $1,5 \times 10^4$ (PC-3) e 2×10^4 (MCF-7) células em 0,5 mL de meio de crescimento suplementado com 10% SFB (soro fetal bovino) e 1% de antibiótico (penicilina-estreptomicina), e deixadas para aderir por 12 h em uma estufa com atmosfera com 5% de CO_2 a 37 °C. Após, o meio de cultura foi substituído por 0,5 mL de meio de cultura contendo 1 $\mu Ci/mL$ dos compostos marcados com gálio-67, e as placas foram incubadas durante 0,5, 1, 2, 3 ou 4 h. No final de cada período, a incubação foi determinada por remoção do meio contendo os compostos marcados com gálio-67, seguido de duas lavagens com tampão PBS frio. As células foram depois lisadas em 0,5 mL de uma solução de NaOH 1 M, durante 10 minutos a 37 °C. Os lisados foram recolhidos e a sua atividade foi determinada num contador gama (γ). Para cada ensaio, pelo menos 4 dos lisados foram mantidos a -20 °C e deixados para decair durante 10 períodos de semi-desintegração antes da concentração de proteína ser determinada utilizando um kit comercial (DC™ Protein Assay, Biorad), de acordo com as instruções do fabricante. A quantidade de radioatividade associadas às células foi calculada como a porcentagem (%) da atividade total presente no meio normalizada para a quantidade de proteína celular. Cada estudo de acumulação celular foi realizado utilizando-se quatro poços para cada período de incubação, e os resultados apresentados correspondem a duas experiências independentes dos compostos analisados.

3.4.2 Ensaio de citotoxicidade dos complexos de gálio(III) e índio(III)

As linhagens celulares humanas utilizadas foram: MCF-7 (ATCC® HTB-22™), linhagem tumoral de câncer da mama, PC-3 (ATCC® CRL-1435™), linhagem tumoral de câncer da próstata, e RWPE-1 (ATCC® CRL-11609™), linhagem não tumoral da próstata. A linhagem PC-3 foi cultivada em meio de cultura RPMI, a linhagem MCF-7 foi cultivada em DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's medium) e a linha RWPE-1 foi cultivada em meio KSFM suplementado com 0,05 mg/mL de extrato pituitário bovino e 5 ng/mL de fator de crescimento epidérmico recombinante humano. Todos os meios foram ainda suplementados com 10% de SFB. As células foram plaqueadas em placas de 96 poços com uma densidade de $1,2 \times 10^4$ (PC-3), 2×10^4 (RWPE-1) e $2,5 \times 10^4$ (MCF-7) células em 0,2 mL de meio de crescimento suplementado com 10% SFB e 1% de antibiótico (penicilina-estreptomicina), e deixadas para aderir durante 12 h em uma estufa com atmosfera de 5% CO₂ a 37 °C. No dia seguinte, o meio de cultura foi substituído por 0,2 mL de uma série de diluições dos compostos e as placas foram incubadas durante 48 h. No final do período de incubação, os compostos foram removidos e adicionou-se a cada poço 0,2 mL de uma solução de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina); 0,5 mg/mL em PBS) durante 3-4 h a 37 °C, 5% de CO₂. Os cristais formados foram dissolvidos em 0,2 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) e, após agitação suave, as absorbâncias foram determinadas a 570 nm. O efeito citotóxico dos compostos foi expresso como a porcentagem de células viáveis em relação às células viáveis presentes nos poços nos quais apenas meio de cultura foi adicionado (controle negativo).

3.4.3 Ensaio da atividade anti-*Mycobacterium Tuberculosis* (anti-MTB)

A atividade anti-MTB dos compostos foi determinada pelo método REMA (PALOMINO et al., 2002). As soluções estoque dos compostos testados foram preparadas em dimetilsulfóxido (DMSO) e diluídas em caldo Middlebrook 7H9 (Difco®), suplementadas com ácido oleico, albumina, dextrose e catalase (OADC) para obter faixas finais de concentração de 0,098-25 µg/mL. A rifampicina (Sigma-Aldrich®) é um antibiótico utilizado no tratamento da tuberculose e foi utilizado como controle no experimento (concentração inicial de 1 µg/mL). A solução bacteriana foi previamente ajustada a 5×10^5 unidade de formação de colônias por mL em caldo

Middlebrook 7H9 (Difco®) suplementado com (OADC). 100 µL da solução bacteriana foram adicionados em 100 µL da solução do medicamento em placas de 96 poços (Kasvi®). As culturas foram incubadas por 7 dias a 37 °C e foram adicionados 30 µL de solução de resazurina (Sigma-Aldrich®) (0,01% em água). Os poços foram lidos após 24 h para mudança de cor e medidos como a fluorescência (excitação / emissão de filtros de 530/590 nm, respectivamente) usando o equipamento Cytation 3 (Biotek®). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi definida como a menor concentração resultando em 90% de inibição do crescimento da *M. tuberculosis*.

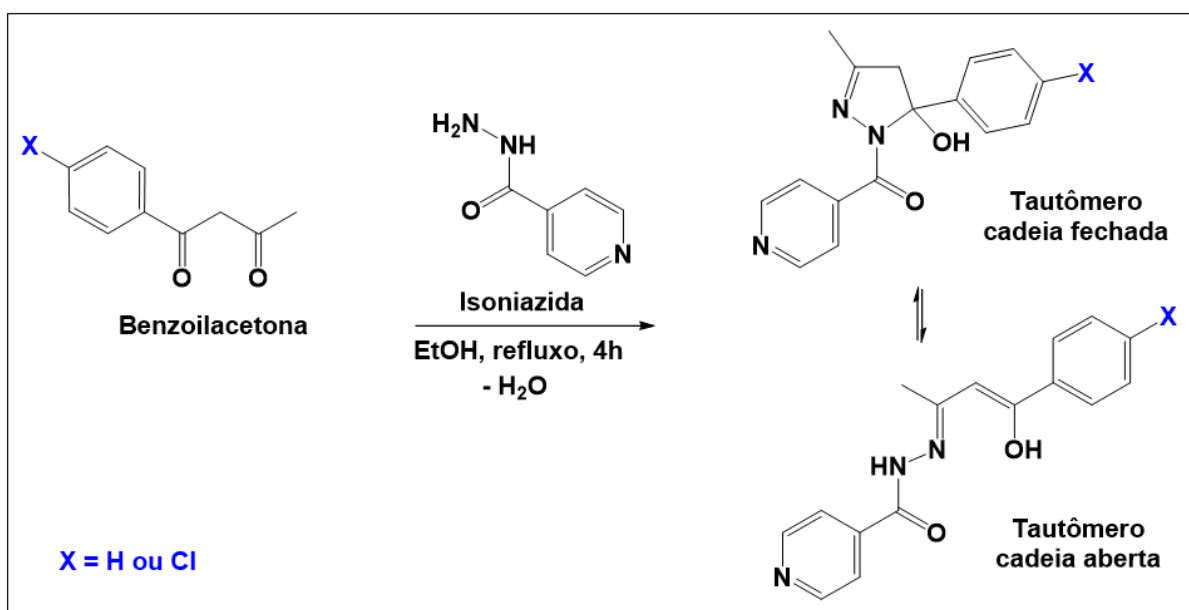
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e investigação estrutural em solução

4.1.1 Síntese dos ligantes e complexos

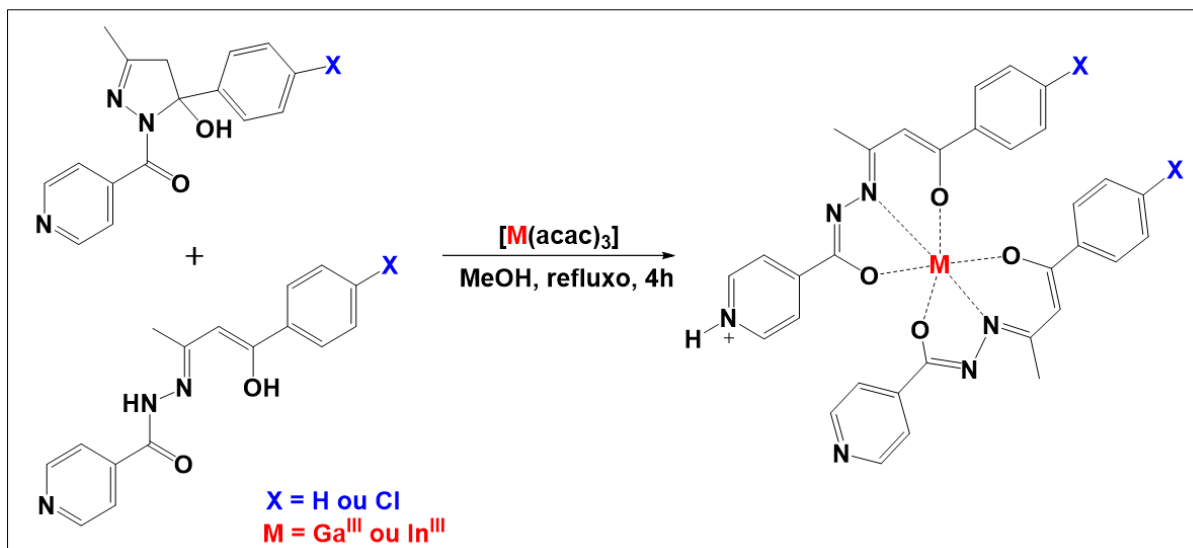
A síntese dos ligantes tridentados derivados do antibiótico isoniazida com as β -dicetonas 1-fenil-1,3-butanodiona e 1-(4-clorofenil)1,3-butanodiona) está representada no **esquema 1**. Para facilitar a descrição ao longo deste trabalho, os ligantes benzoilacetona-isonicotinoil-hidrazona e 4-clorobenzoilacetona-isonicotinoil-hidrazona serão descritos como **H₂L1** e **H₂L2**, respectivamente.

Esquema 1 - Reação de condensação para a síntese dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2**.



No **esquema 2**, encontra-se representada a síntese dos complexos octaédricos de gálio e índio com os ligantes **H₂L1** e **H₂L2**, presentes no estado sólido como uma mistura dos tautômeros de cadeia fechada (**H₂L1f**) e aberta (**H₂L1a**), os quais foram preparados na razão estequiométrica 2:1 (ligante/precursor metálico). Os complexos **[Ga(L1)(HL1)]**, **[Ga(L2)(HL2)]**, **[In(L1)(HL1)]** e **[In(L2)(HL2)]** serão descritos de forma simplificada como **GaL1**, **GaL2**, **InL1** e **InL2**, respectivamente.

Esquema 2 - Reação de coordenação para a síntese dos complexos de gálio e índio com os ligantes **H₂L1** e **H₂L2**.



Os resultados relativos à preparação e investigação estrutural dos ligantes e complexos foram divididos em duas seções. Nesta seção, serão abordados os estudos realizados em solução através das técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria de massas com ionização por electrospray (*ESI-MS*), espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) e condutimetria. A segunda parte (**seção 4.2**), será dedicada as investigações dos compostos no estado sólido, através das técnicas de difração de raios X de monocristal (DRX de monocristal), espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV), ponto de fusão (PF) e análise elementar (AE).

4.1.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

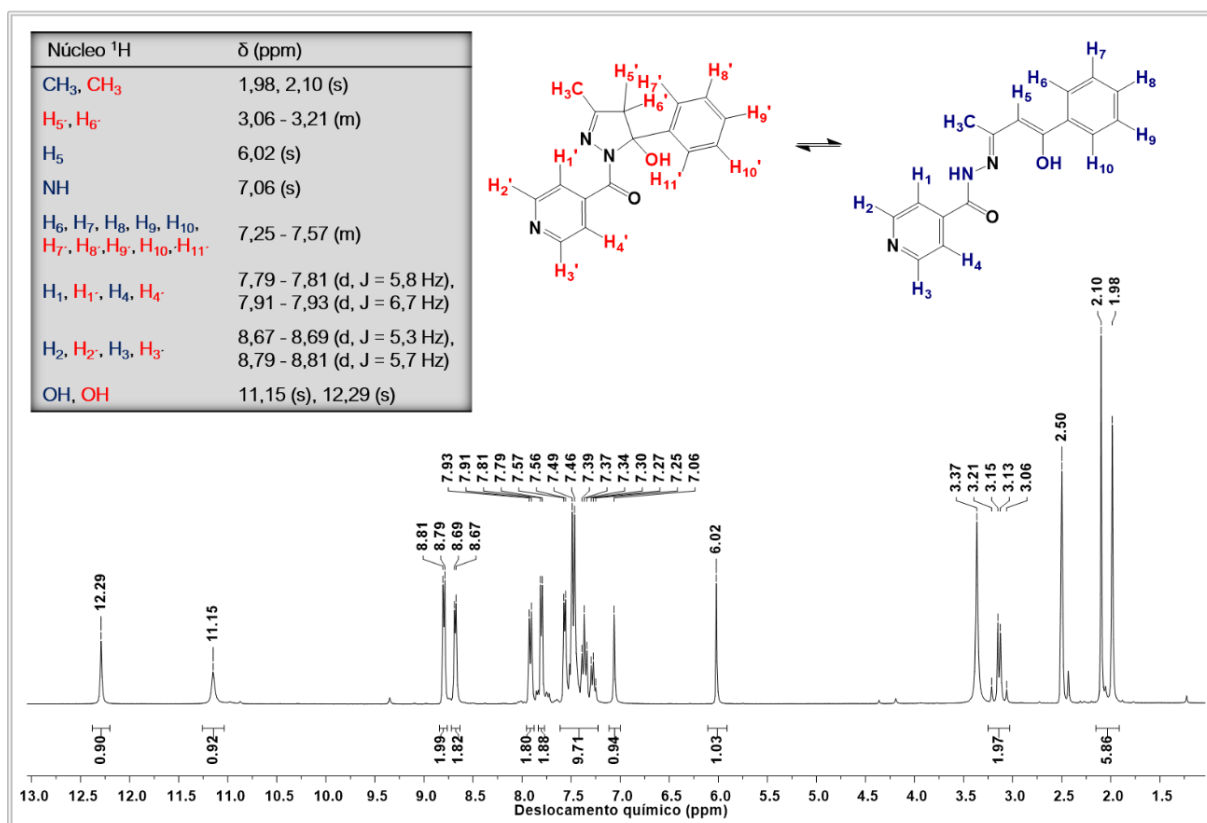
4.1.2.1 Ligantes

A partir do espectro de ¹H do ligante **H₂L1** (**figura 13**) em DMSO-d₆, evidenciou-se a existência dos tautômeros **H₂L1f** e **H₂L1a** em solução. Todos os sinais de deslocamento químico foram integrados visando confirmar a atribuição proposta. Os singletos em 11,15 e 12,29 ppm, foram atribuídos aos sinais dos grupos OH. Os dubletos identificados em 8,79 - 8,81, 8,67 - 8,69, 7,91 - 7,93 e 7,79 - 7,81 ppm foram

atribuídos aos hidrogênios dos grupos piridina, enquanto os sinais multipletos observados entre 7,57 e 7,27 ppm foram atribuídos aos hidrogênios dos grupos fenil. Observa-se um singlete em 7,06 ppm, o qual foi atribuído ao hidrogênio da ligação NH do **H₂L1a**.

As constantes de acoplamento (J) entre os hidrogênios orto e meta dos anéis piridina não foram determinadas com precisão através da análise de ¹H realizada em temperatura ambiente (25 °C), onde foram observados valores de J distintos nos sinais dos hidrogênios adjacentes H₁, H_{1'}, H₄, H_{4'} (J = 5,8 e 6,7 Hz) e H₂, H_{2'}, H₃ e H_{3'} (J = 5,3 e 5,7 Hz). A não concordância entre os valores de J, referentes ao acoplamento entre os hidrogênios localizados nas posições orto e meta do grupo piridina dos tautômeros **H₂L1f** e **H₂L1a**, pode estar relacionada ao momento de quadrupolo induzido pelo átomo de nitrogênio do anel piridina. Uma discussão detalhada sobre a resolução desses sinais será realizada na **seção 4.1.2.2**, através dos resultados obtidos de análises variando-se a temperatura de aquisição do espectro.

Figura 13 - Espectro de RMN ¹H do composto **H₂L1** em DMSO-d₆ e frequência de 300 MHz.



Prosseguindo com as atribuições de ^1H para menores valores de deslocamento químico, verifica-se a presença de um singlete em 6,02 ppm, o qual foi atribuído ao hidrogênio do grupo metino do tautômero **H₂L1a**. Os valores de deslocamento associados ao grupo metileno foram atribuídos ao multiplete entre 3,06 e 3,21 ppm, que surge como resultado do diferente ambiente químico dos hidrogênios do tautômero **H₂L1f**. Em 1,98 e 2,10 ppm verificam-se dois singletos, referentes aos grupos metil dos tautômeros.

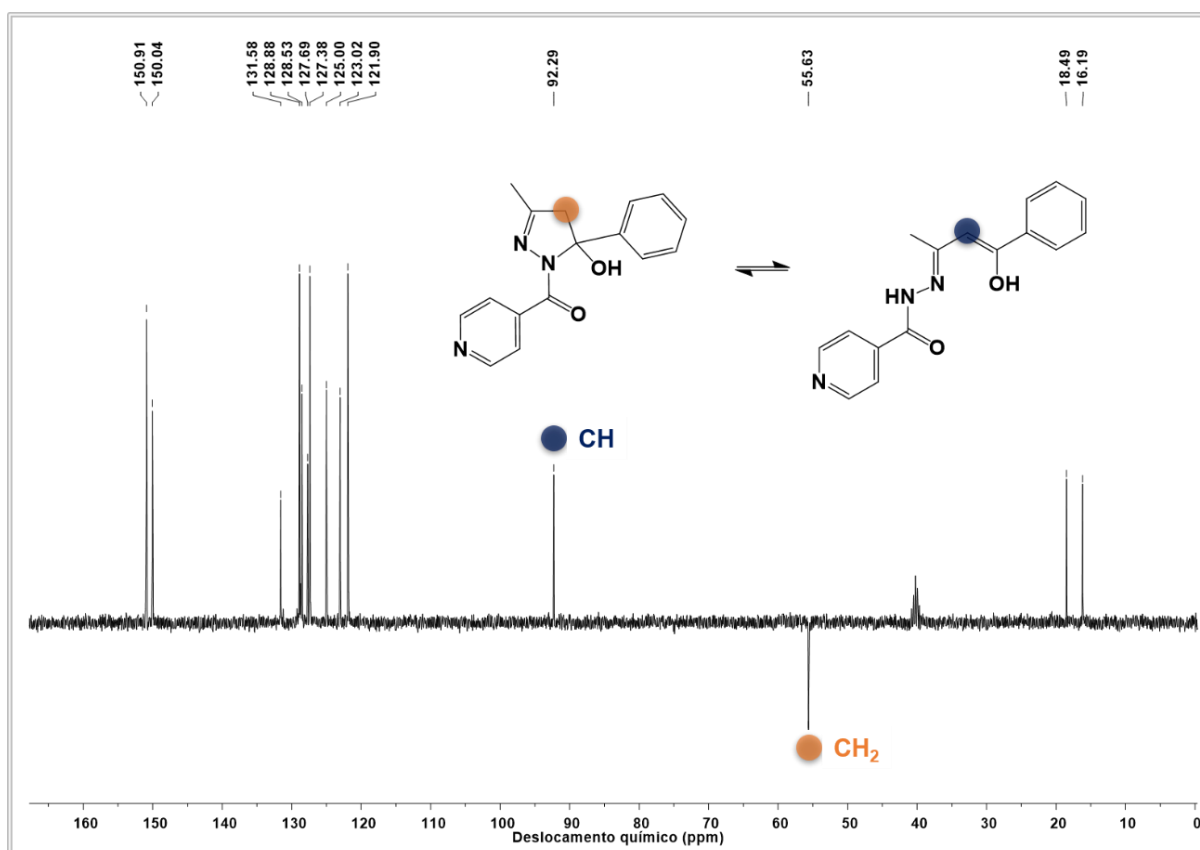
Diferente do que foi proposto no parágrafo anterior, em dois trabalhos na literatura que retratam a síntese do ligante **H₂L1** (EL-BAHNASAWY; EL-MELEIGY, 1993; HOSSEINI-MONFARED et al., 2013), os autores não identificaram o sinal de deslocamento químico do grupo metileno na análise de ^1H , sinal este que, no presente trabalho, foi identificado e serviu como evidência para a proposta do tautômero de cadeia fechada em solução (**H₂L1f**). Ressalta-se que, nos trabalhos citados, a síntese do **H₂L1** foi realizada com o mesmo solvente utilizado neste trabalho (EtOH), ou com um solvente de propriedades semelhantes (MeOH), descartando a possibilidade de diferentes espécies em solução devido ao efeito de diferentes solventes de síntese. Adicionalmente, em ambos os trabalhos citados, os espectros de ^1H foram realizados em solução com o mesmo solvente deuterado utilizado no presente estudo (DMSO- d_6). Tais observações, portanto, permitem a comparação direta dos resultados de RMN de ^1H do composto **H₂L1** deste trabalho com ambos os estudos citados da literatura.

Desta forma, decidiu-se realizar análises adicionais de ^1H (DEPT-135 e ^{13}C), com o intuito de confirmar se o sinal identificado em 3,06 - 3,21 ppm, de fato, se refere ao grupo metileno proposto neste trabalho (**figura 13**).

Em um experimento de DEPT (do inglês, Distortionless Enhancement by Polarization Transfer), é possível determinar o número de átomo de hidrogênios ligados em cada átomo de carbono. No DEPT-135, os grupos CH_3 e CH levam a sinais positivos no espectro, enquanto o grupo CH_2 leva a sinais negativos (inversos). No espectro de DEPT-135 do ligante **H₂L1** (**figura 14**), verifica-se um sinal positivo em 92,29 ppm, o qual foi atribuído ao grupo metino do tautômero de cadeia aberta (**H₂L1a**), e um sinal inverso em 55,63 ppm, atribuído ao um grupo metileno presente no **H₂L1f**. Desta forma, o espectro de DEPT-135 reforça a proposta da existência do

tautômero de cadeia fechada (**H₂L1f**) em solução, através da identificação do grupo CH₂.

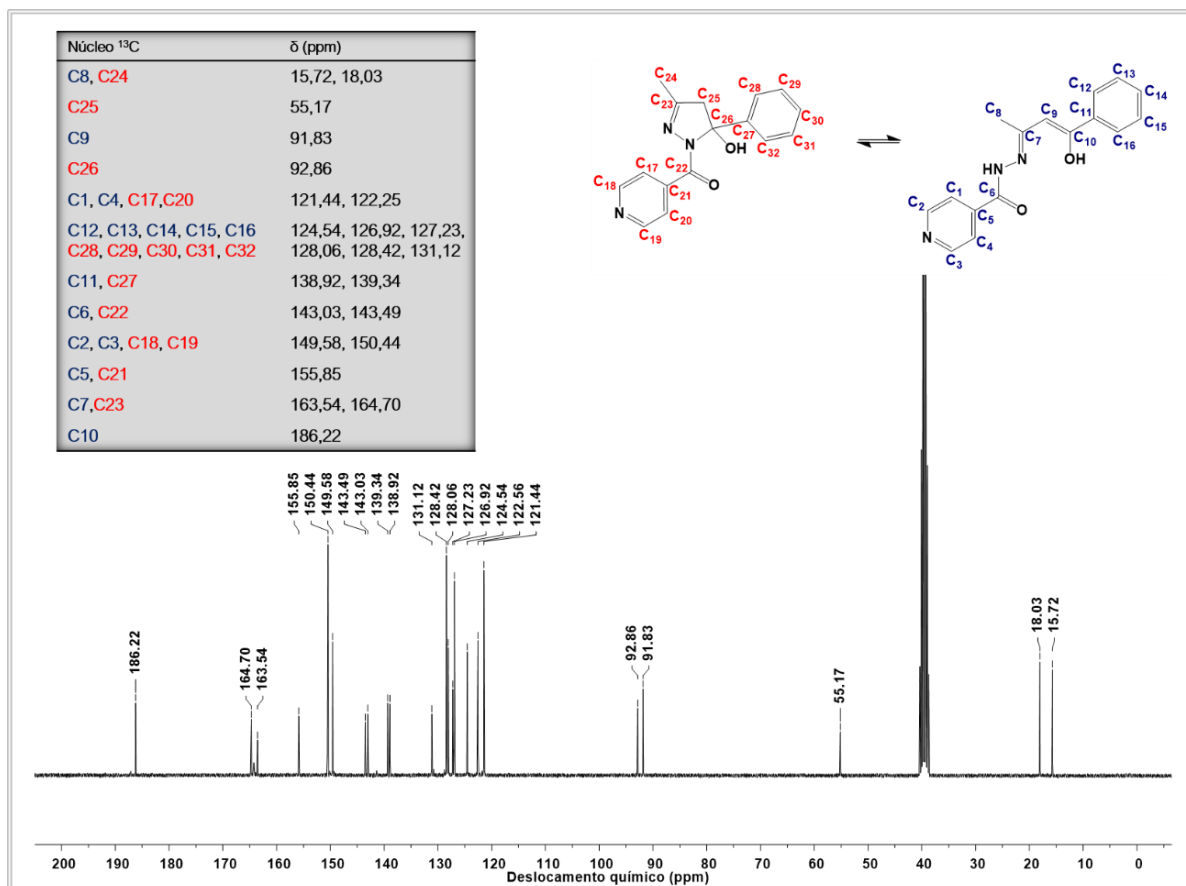
Figura 14 - Espectro de DEPT-135 do composto **H₂L1** em DMSO-d₆.



Na análise de ¹³C (**figura 15**), os sinais de deslocamento químico dos tautômeros corroboram com a atribuição realizada nos espectros de ¹H e DEPT-135.

Os átomos de carbono dos grupos metino (C₉) e metileno (C₂₅), tiveram seus sinais de deslocamento químico atribuídos aos picos em 91,83 e 55,17 ppm, respectivamente. O sinal próximo ao pico atribuído ao grupo metileno, em 92,83 ppm, foi atribuído ao carbono C₂₆, do tautômero **H₂L1f**. Isto explica a não observação do sinal do C₂₆ no espectro de DEPT-135 (**figura 14**), uma vez que átomos de carbono não ligados a átomos de hidrogênio não exibem sinais no espectro de DEPT-135.

Figura 15 - Espectro de RMN ^{13}C do composto **H₂L1** em DMSO-*d*₆ e frequência de 75 MHz.



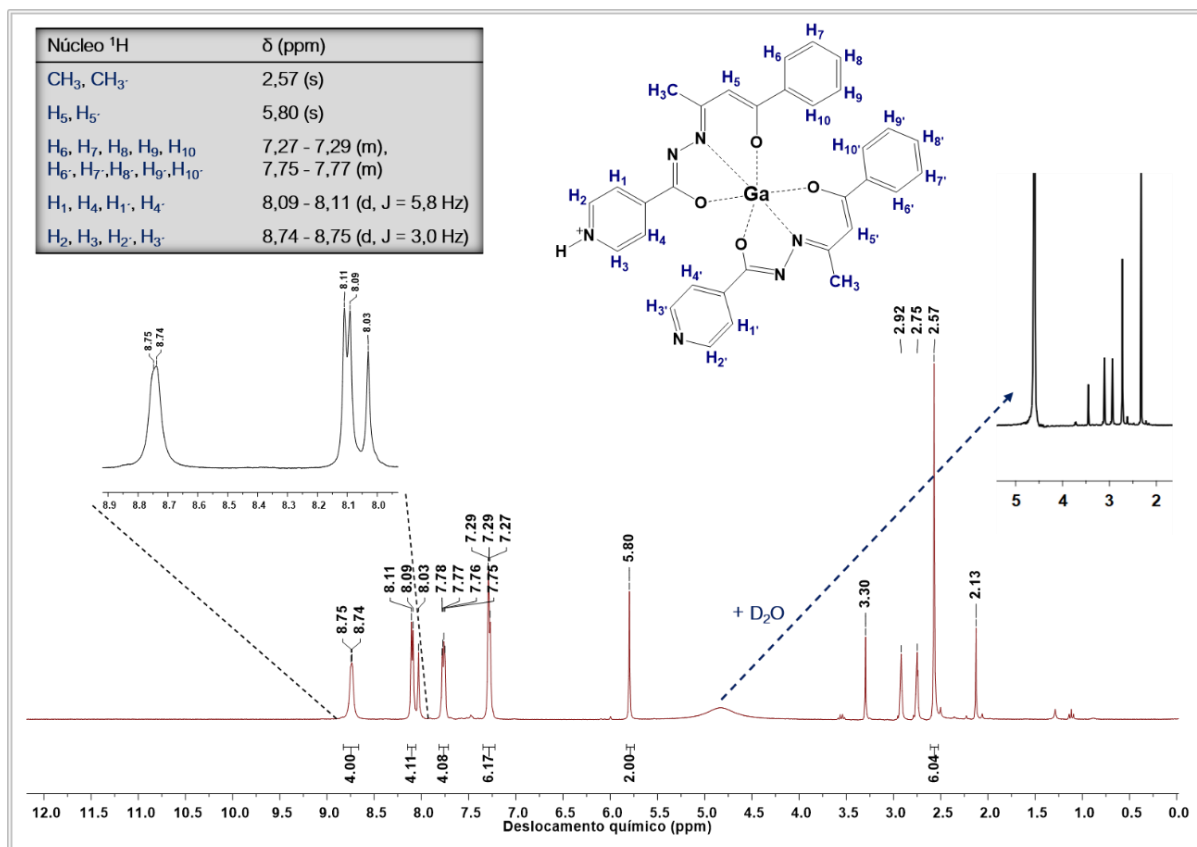
Devido a semelhança estrutural, os espectros de RMN de ^1H , DEPT-135 e ^{13}C do composto **H₂L2** (figuras A1, A2 e A3, apêndice A) apresentam sinais com a mesma característica dos atribuídos para o composto **H₂L1**, confirmando a presença dos tautômeros de cadeia fechada (**H₂L2f**) e aberta (**H₂L2a**) no ligante halogenado.

4.1.2.2 Complexos

Na figura 16, está apresentado o espectro de RMN de ^1H para o complexo octaédrico **GaL1**, realizado em solução de DMF-*d*₇. Os sinais de deslocamento químico indicam apenas uma espécie em solução, e estão de acordo com a coordenação do Ga^{III} com o ligante tridentado O, N, O - doador em sua forma de cadeia aberta (**H₂L1a**). De fato, não se observa o sinal do grupo metileno no espectro de ^1H do **GaL1**, sinal este que foi identificado no tautômero de cadeia fechada do

ligante livre (**H₂L1f**), evidenciando assim a abertura do anel pirazólico do **H₂L1f** durante a reação com o metal.

Figura 16 -Espectro de RMN de ¹H do complexo **GaL1** em DMF-d₇ e frequência de 300 MHz.



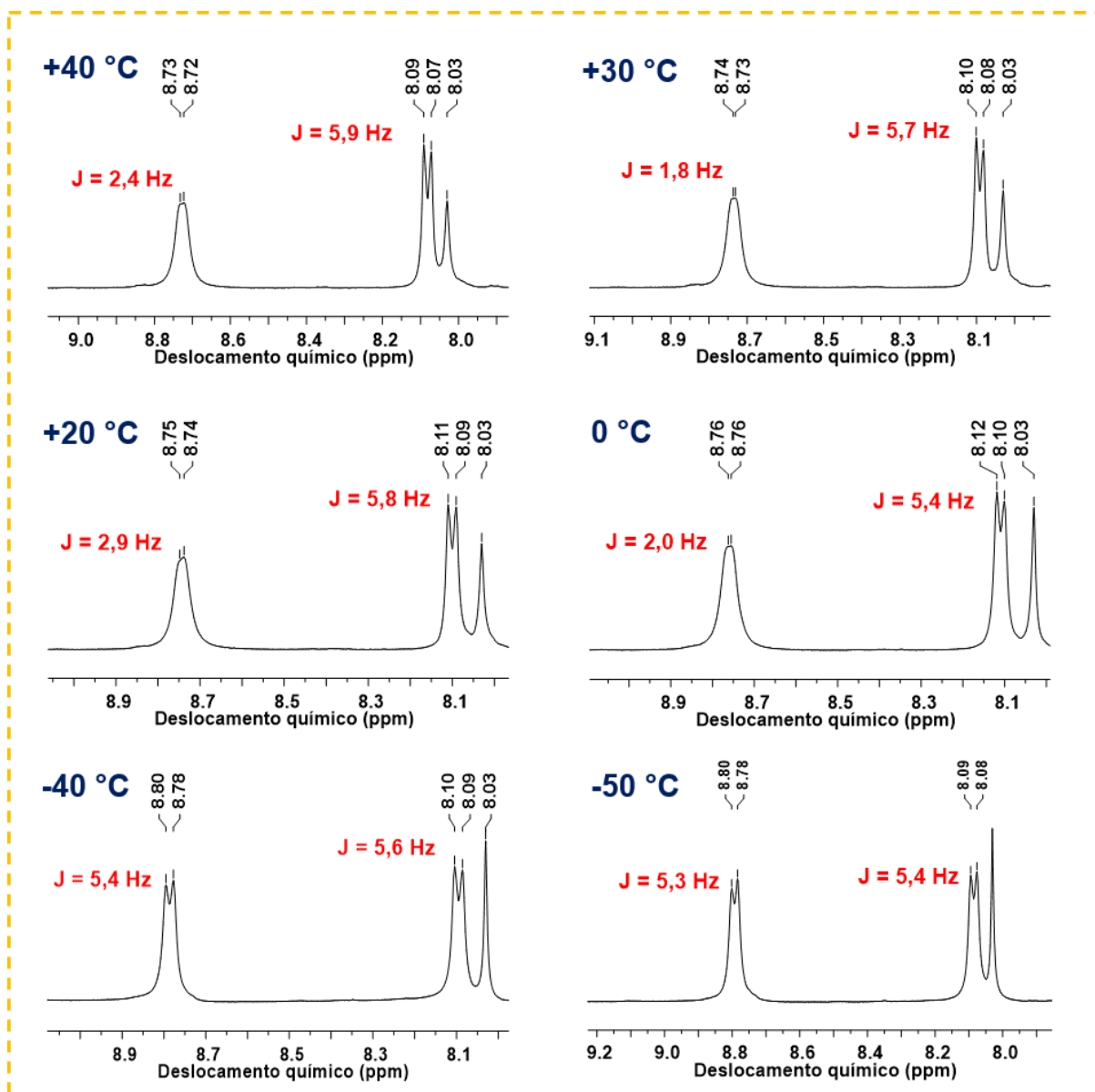
A ausência do sinal do hidrogênio do grupo OH, presente no ligante livre (**figura 13**), confirma a coordenação do ligante ao metal. Uma outra evidência da formação do complexo, surge da não observação do sinal referente a ligação NH, presente no **H₂L1** em 7,06 ppm, devido a desprotonação do átomo de nitrogênio na formação do **GaL1**. O singleto em 2,57 ppm refere-se ao sinal do grupo CH₃, enquanto o singleto em 5,80 ppm foi atribuído ao hidrogênio do grupo CH (H₅). Os sinais dos hidrogênios aromáticos são observados como multipletos entre 7,27 - 7,77 ppm (anel fenil) e dubletos entre 8,09 - 8,75 ppm (anel piridina).

A baixa resolução dos dubletos referentes aos acoplamentos dos hidrogênios H₂, H₃, H₂' e H₃', bem como a não concordância entre os valores de J observados para estes átomos os seus hidrogênios vizinhos (H₁, H₄, H₁' e H₄'), seguiram o mesmo

comportamento observado para os ligantes livres, como citado anteriormente (**seção 4.1.2.1**), evidenciando que a mudança do solvente deuterado DMSO-d₆, utilizado para a análise dos ligantes, para o solvente deuterado DMF-d₇, da análise dos complexos, não foi determinante para o efeito observado nos valores das constantes de acoplamento. Reporta-se na literatura a obtenção de multipletos bem resolvidos no espectro de ¹H da piridina na temperatura de -40 °C, em comparação com sinais alargados de hidrogênio visualizados para a mesma estrutura em temperatura aproximada de +30 °C, onde este efeito foi relacionado ao momento quadrupolar do átomo de nitrogênio do anel aromático (KINTZINGER; LEHN, 1968). Por esta razão, decidiu-se investigar a resolução dos sinais de acoplamento dos hidrogênios *orto* e *meta* do anel piridina do **GaL1**, através de análises de ¹H com variação de temperatura entre -50 e +40 °C.

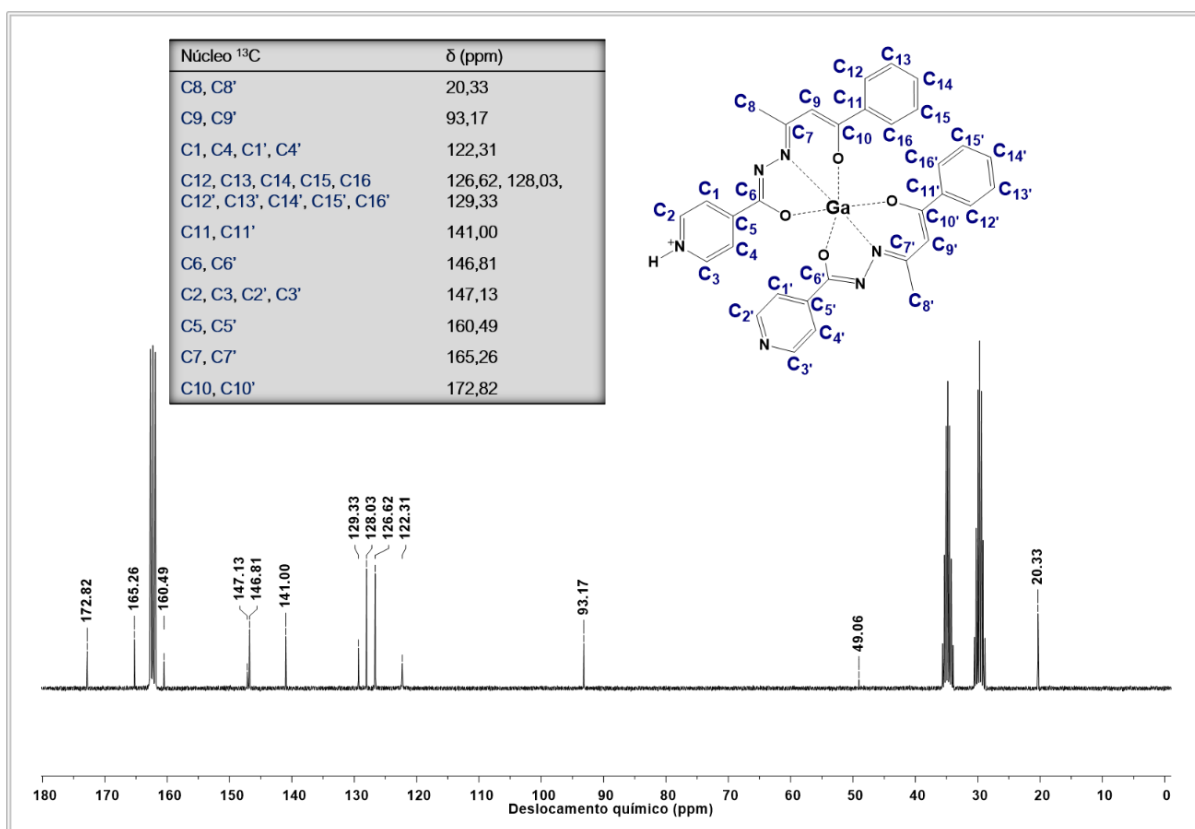
Na **figura 17**, são mostradas as ampliações nas regiões dos espectros onde observam-se os sinais dos hidrogênios *orto* e *meta*, nas diferentes temperaturas avaliadas. Os resultados claramente indicam um aumento de resolução para o dupletos referentes aos sinais dos hidrogênios da posição *meta* do anel (H₂, H₃, H_{2'} e H_{3'}) nas temperaturas de -40 e -50 °C, quando comparados com as análises de ¹H realizadas em temperaturas superiores (0, +20, +30 e +40 °C). Ainda, como consequência da melhor resolução dos dupletos, verifica-se que as constantes de acoplamento dos hidrogênios *orto* e *meta* apresentaram valores de J semelhantes na temperatura de -50 °C (J = 5,3 e 5,4 Hz). Estes resultados estão, portanto, de acordo com o que foi observado no trabalho citado (KINTZINGER; LEHN, 1968), com a baixa resolução dos sinais do grupo piridina em maiores temperaturas associadas ao momento quadrupolar do átomo de nitrogênio. Os sinais de deslocamento em 2,75, 2,92 e 8,03 ppm referem-se ao sinal do DMF-d₇.

Figura 17 - Espectros de RMN de ^1H em diferentes temperaturas do complexo **GaL1** na região de deslocamento químico dos hidrogênios orto e meta do anel piridina, em DMF-d_7 e frequência de 300 MHz.



Na **figura 18**, apresenta-se o espectro de ^{13}C e a tabela com a atribuição dos sinais do complexo **GaL1**. Todos os sinais de carbono foram identificados, e corroboram com as atribuições realizadas da análise de ^1H . Os sinais dos carbonos dos grupos metil e metina tiveram seus sinais atribuídos em 20,33 e 93,17 ppm, respectivamente.

Figura 18 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo **GaL1** em DMF- d_7 e frequência de 75 MHz.

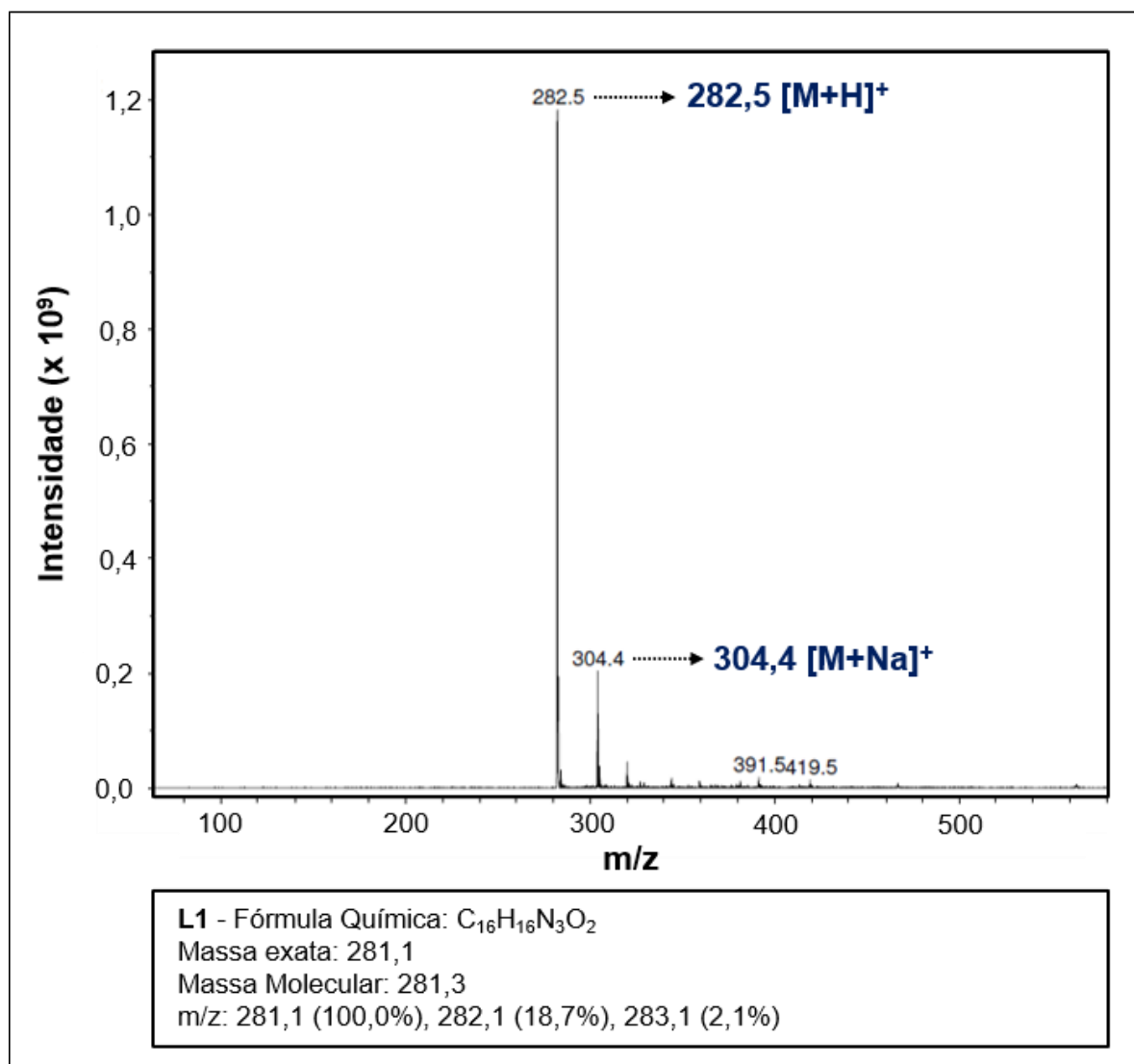


Os espectros de ^1H e ^{13}C dos complexos **GaL2**, **InL1** e **InL2**, estão disponíveis nas **figuras A4 - A9**, no apêndice. A mudança de centro metálico e do ligante não alterou de forma significativa os espectros de RMN. Por esta razão, todos os complexos de gálio e índio apresentam espectros de RMN com as mesmas características discutidas nos parágrafos anteriores para o complexo **GaL1**.

4.1.3 Espectrometria de massas com ionização por “electrospray” (ESI-MS)

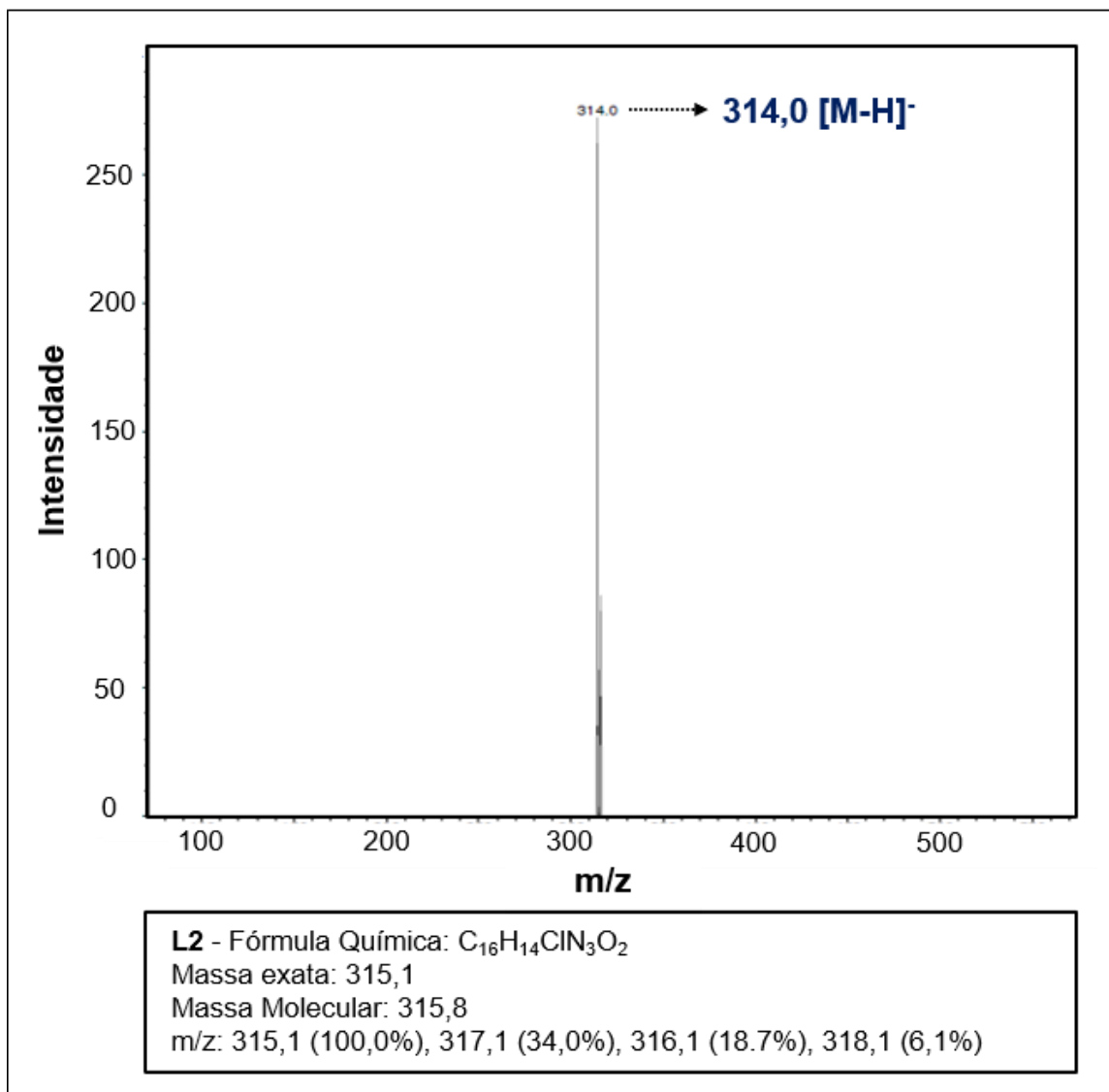
Na **figura 19**, verifica-se que o espectro de massas do ligante **H₂L1**, realizado em modo positivo, apresenta um pico (m/z) em 282,5, referente ao íon molecular protonado $[\text{M}+\text{H}]^+$, e outro em 304,4, referente a associação do composto com o sódio $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($M = \text{massa exata} = 282,1$).

Figura 19 - Espectro de ESI-MS (+) do composto H₂L1.



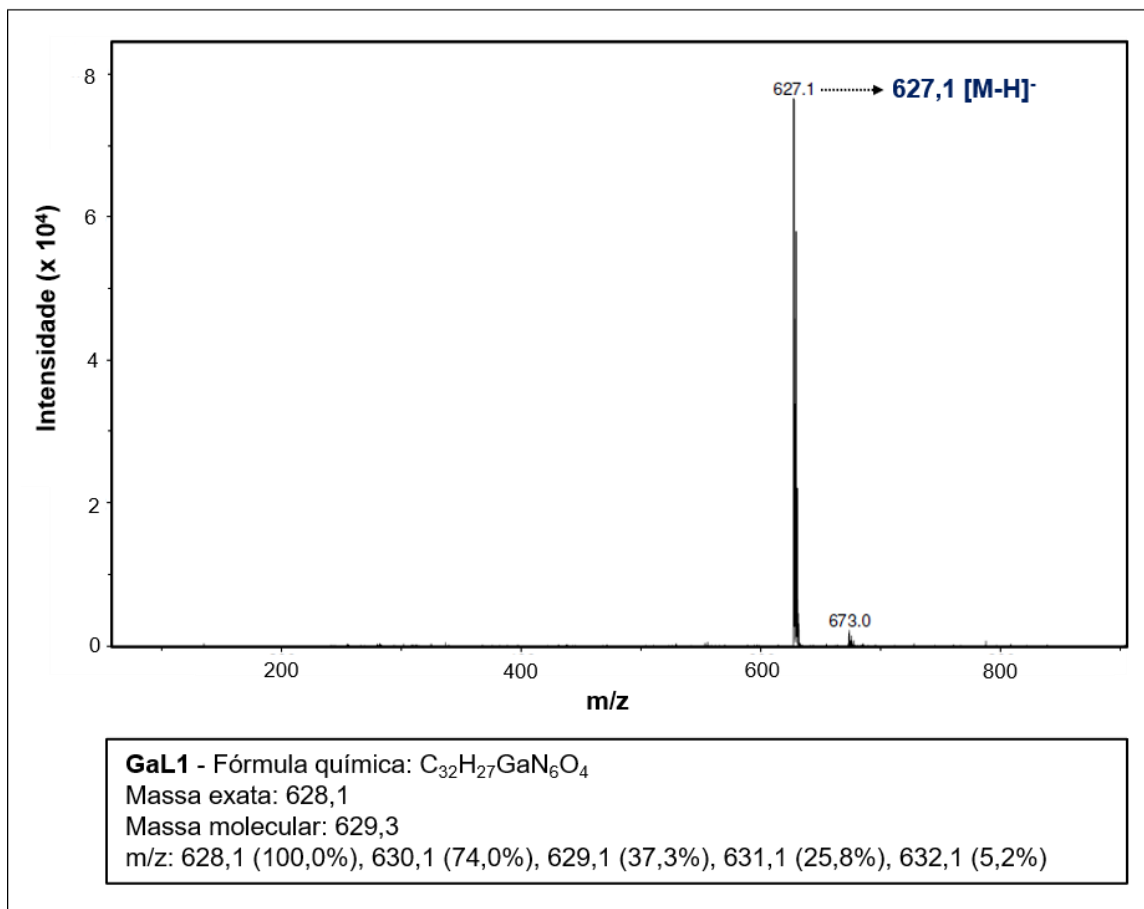
No espectro do ligante H₂L2 (figura 20), também foi confirmada a massa da estrutura proposta, onde observa-se, na análise em modo negativo, a presença de um pico (m/z) em 314,0, referente a ionização do composto através da perda de um átomo de hidrogênio [M-H]⁻ (M = massa exata = 315,1).

Figura 20 - Espectro de ESI-MS (-) do composto **H₂L2**.



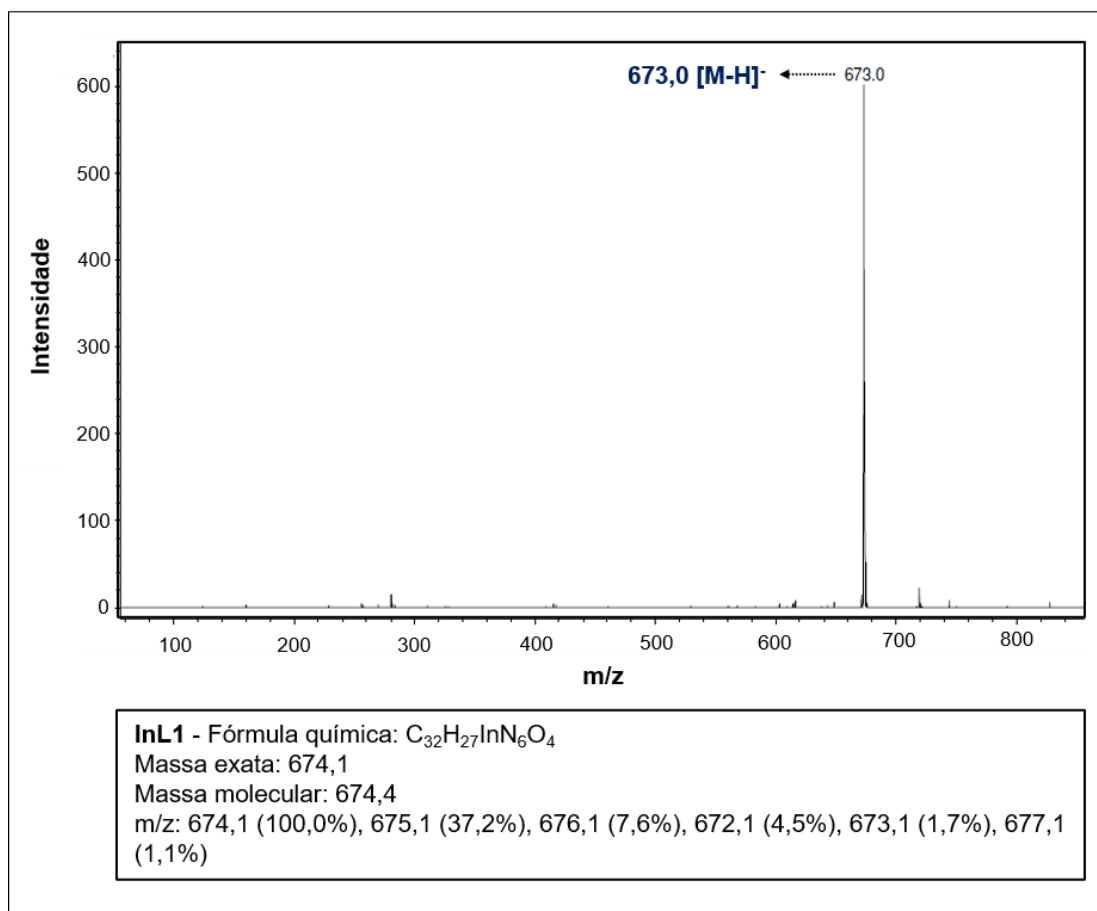
A análise de ESI-MS para o complexo **GaL1** foi realizada em modo negativo. O espectro obtido (**figura 21**), apresenta um pico (m/z) em 627,1, o qual está de acordo com o calculado para a espécie desprotonada $[M-H]^-$ (M = massa exata = 628,1).

Figura 21 - Espectro de ESI-MS (-) do complexo **GaL1**.



O resultado da análise de ESI-MS do complexo **InL1** (**figura 22**), realizada em modo negativo [M-H]⁻, mostra um pico (m/z) em 673,0 [M-H]⁻, o qual está em concordância com o valor calculado (m/z) para a espécie desprotonada (M = massa exata = 674,1).

Figura 22 - Espectro de ESI-MS (-) do complexo **InL1**.



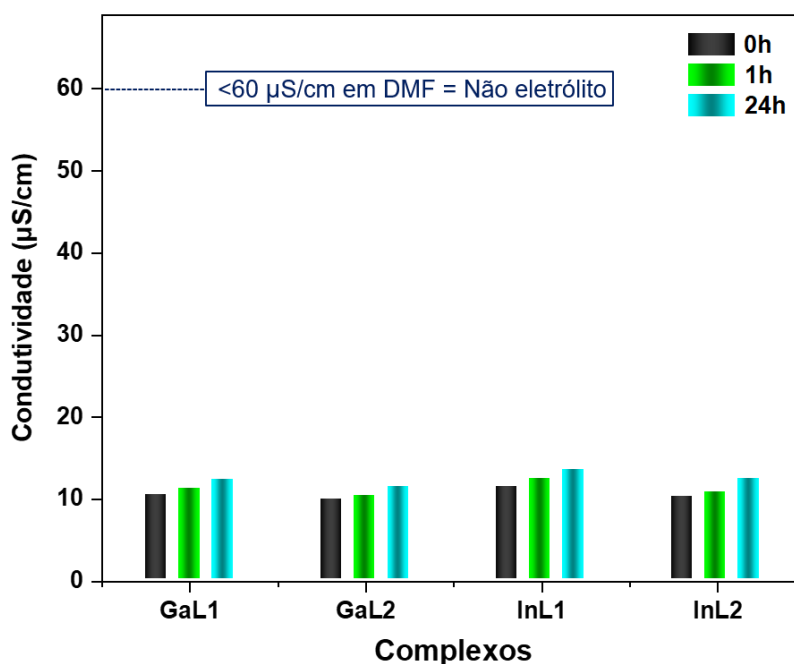
Assim como foi observado para os complexos de gálio e índio com o ligante **H₂L1**, os complexos **GaL2** e **InL2** apresentam espectros com picos que confirmam a obtenção das estruturas propostas. O complexo **GaL2** apresenta um pico (m/z) referente a espécie protonada em 697,0 [M+H]⁺ (M = massa exata = 696,1), enquanto o complexo **InL2** apresenta um pico (m/z) da espécie desprotonada em 741,1 [M-H]⁻ (M = massa exata = 742,0), como mostrado nas **figuras B1(a) e B1(b)** (apêndice B).

4.1.4 Condutimetria

A condutividade dos complexos foi medida a partir uma solução de concentração 1×10^{-3} M em DMF, com temperatura controlada de 20 °C. Os resultados apresentaram valores de 10,27, 9,70, 11,25 e 10,08 μ S/cm para os complexos **GaL1**, **GaL2**, **InL1** e **InL2**, respectivamente. Desta forma, os valores medidos de condutividade, os quais são semelhantes, estão acordo com o reportado na literatura

para complexos não eletrólitos em solução de DMF (<math><60 \mu\text{S}/\text{cm}</math>) (GEARY, 1971; ALI; WANI; SALEEM, 2013). As soluções dos complexos foram novamente analisadas após 1 e 24 h (**figura 23**), uma vez que mudanças consideráveis nos valores de condutividade poderiam sugerir a instabilidade dos compostos através da formação de outras espécies em solução.

Figura 23 - Valores de condutividade ($\mu\text{S}/\text{cm}$) dos complexos de gálio(III) e índio(III) em solução de DMF e temperatura de 20 °C (0, 1 e 24 h).



Como verificado no gráfico da **figura 23**, os valores de condutividade dos complexos permaneceram muito próximos nos intervalos analisados, o que indica que não houve a formação de novas espécies carregadas após 24 h em solução, e, portanto, sugere a estabilidade dos complexos em DMF.

4.1.5 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis)

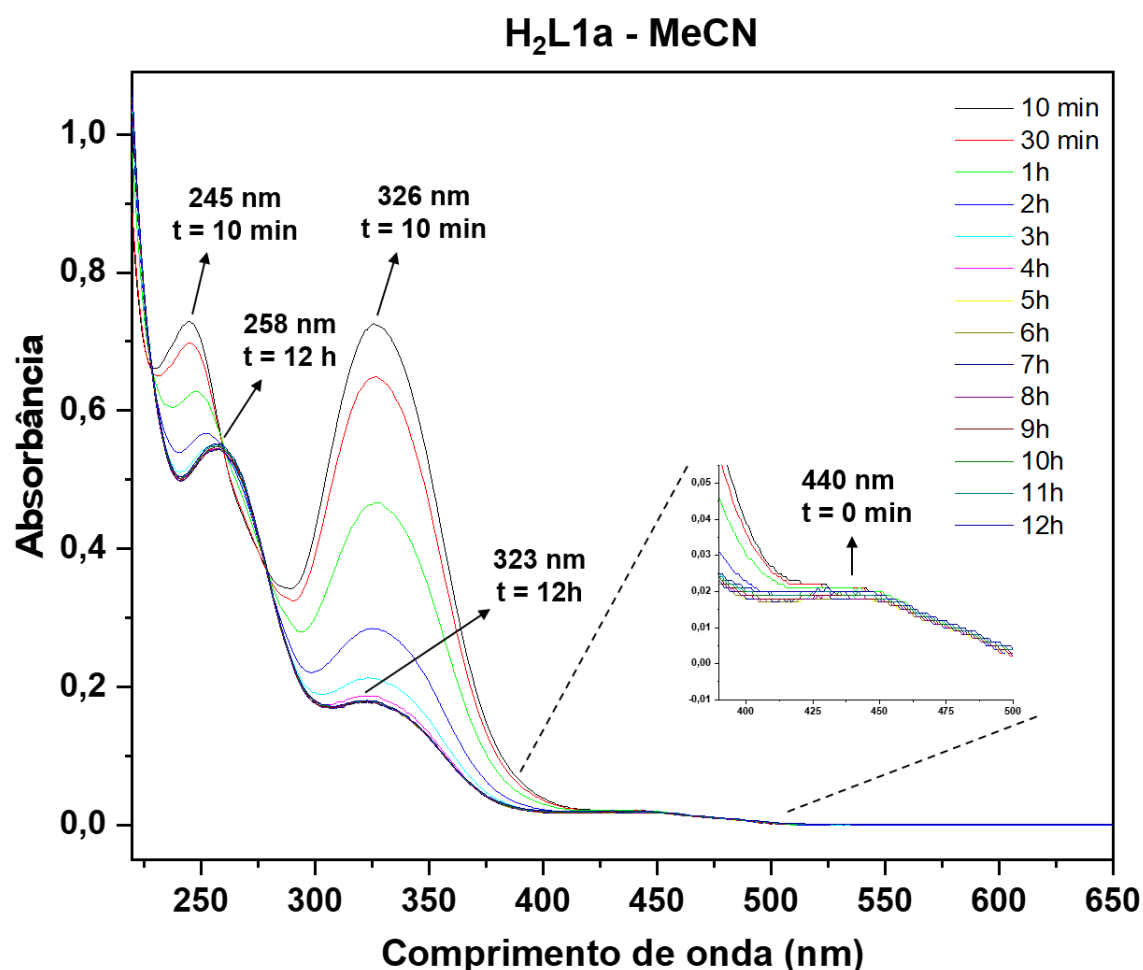
4.1.5.1 Ligantes

Como discutido na **seção 4.1.2.1**, os resultados das análises de RMN evidenciaram que os ligantes **H₂L1** e **H₂L2** estão presentes em solução como

tautômeros de cadeia aberta (**H₂L1a** e **H₂L2a**) e fechada (**H₂L1f** e **H₂L2f**). Por esta razão, é esperado que as transições observadas nas análises de UV-Vis sejam, na verdade, um conjunto das transições dos tautômeros em solução, o que pode tornar difícil a atribuição das bandas. Também foi discutido, nas descrições das sínteses dos ligantes (**seção 3.1.2**), que foi possível isolar cristais, para ambos os ligantes, nas cores branca e amarela, os quais foram atribuídos aos tautômeros de cadeia fechada e aberta, respectivamente, com o auxílio das análises de DRX de monocristal, as quais serão discutidas posteriormente neste trabalho. Considerando que, o equilíbrio entre tautômeros do tipo anel-cadeia aberta ocorre de forma mais lenta em solução, quando comparado outros tipos de tautomerismo (por exemplo, os que ocorrem simplesmente através do deslocamento de um próton de um heteroátomo para outro) (MARTIN, 2009), resolveu-se analisar os ligantes por UV-vis partindo dos cristais isolados de cada tautômero, ao longo de 12 h.

Na figura **24**, apresenta-se o espectro UV-Vis em MeCN preparada a partir dos cristais amarelos do **H₂L1** (cadeia aberta, **H₂L1a**). Na primeira aquisição do espectro ($t = 10$ min), observa-se uma banda em 245 nm, a qual perdeu intensidade e foi deslocada para a região do vermelho (deslocamento batocrômico) ao longo das 12 h. No entanto, observa-se que a partir de 3 h, a intensidade da banda foi pouco alterada e a banda de absorção máxima permaneceu constante em 257 nm até a análise de 12 h. A diminuição da intensidade de absorção durante o tempo de análise também foi identificada para a banda em 326 nm, que permaneceu com pouca alteração a partir de 3-4 h, de forma similar ao comportamento observado para a banda em 245 nm. No entanto, a banda em 326 nm não apresentou um deslocamento considerável para o vermelho, como visto para a banda em 245 nm (13 nm para o vermelho), e um pequeno deslocamento de 3 nm foi observado (323 nm). Uma outra banda foi identificada na região de 440 nm, a qual foi observada com pouca resolução devido à sua baixa intensidade de absorção (absortividade molar (ϵ) < 2000).

Figura 24 - Espectro de absorção na região do UV-Vis partindo do composto **H₂L1a** (sólido amarelo) em solução de acetonitrila, monitorado ao longo de 12 h.

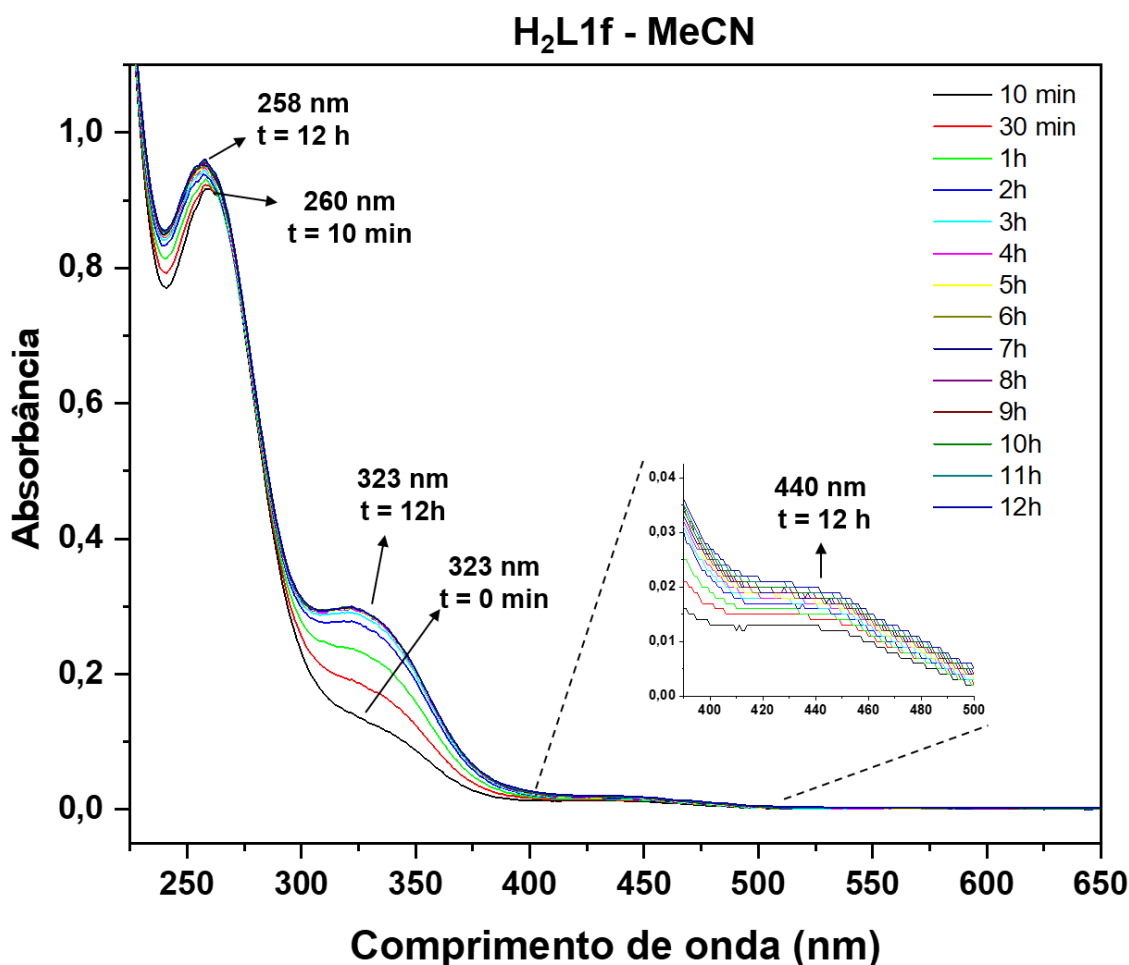


Considerando-se que o espectro obtido com aquisição em 10 min refere-se predominantemente ao tautômero **H₂L1a**, atribuiu-se as bandas nas regiões de 245, 326 e 440 nm majoritariamente a esta espécie. Os valores de absorvidade molar sugerem transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ para as bandas com valor máximo de absorção em 245 e 326 nm. Nesta mesma região, são esperadas transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$, referentes as ligações C=N do ligante (MAHMOUD et al., 2019), e que possivelmente encontram-se sobrepostas no espectro pelas bandas intensas das transições $\pi \rightarrow \pi^*$. A banda larga e de baixa intensidade verificada na região de 440 nm, foi atribuída as transições proibidas do tipo $n \rightarrow \pi^*$. É interessante citar, que a solução dos cristais amarelos em MeCN possui cor levemente amarelada logo após ser preparada, mas apresenta-se completamente incolor após as 12 h de análise, indicando que em solução de MeCN o equilíbrio é deslocado para a formação do tautômero **H₂L1f**. Desta

forma, as bandas referentes as transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ em 258 e 323 nm, que no espectro permanecem inalteradas a partir do intervalo de 5 h, foram atribuídas, majoritariamente, ao tautômero de cadeia fechada (**H₂L1f**). Também é possível verificar no espectro, a diminuição de intensidade da banda na região de 440 nm ao longo das 12 h, ou seja, com o deslocamento do equilíbrio para a formação do **H₂L1f**, indicando que as transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ dessa região são mais intensas no tautômero de cadeia fechada.

As atribuições discutidas no parágrafo anterior são reforçadas quando se realiza o experimento inverso, ou seja, partindo-se dos cristais brancos **H₂L1f** (**figura 25**) em solução de MeCN, onde a bandas de absorção no primeiro intervalo (10 min) são semelhantes as bandas verificadas após 12 h na análise do **H₂L1a**, com valores de 260, 323 e 440 nm.

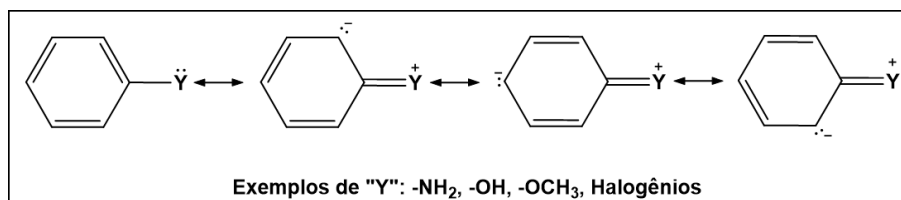
Figura 25 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do composto **H₂L1f** (sólido branco) em solução de acetonitrila, monitorado ao longo de 12 h.



O pequeno efeito hiperacrômico das bandas de absorção, o leve deslocamento hipsocrômico, bem como a observação de que a solução permaneceu incolor durante as 12 h de análise, corroboram com a sugestão da predominância do tautômero de cadeia fechada (**H₂L1f**) em solução de MeCN.

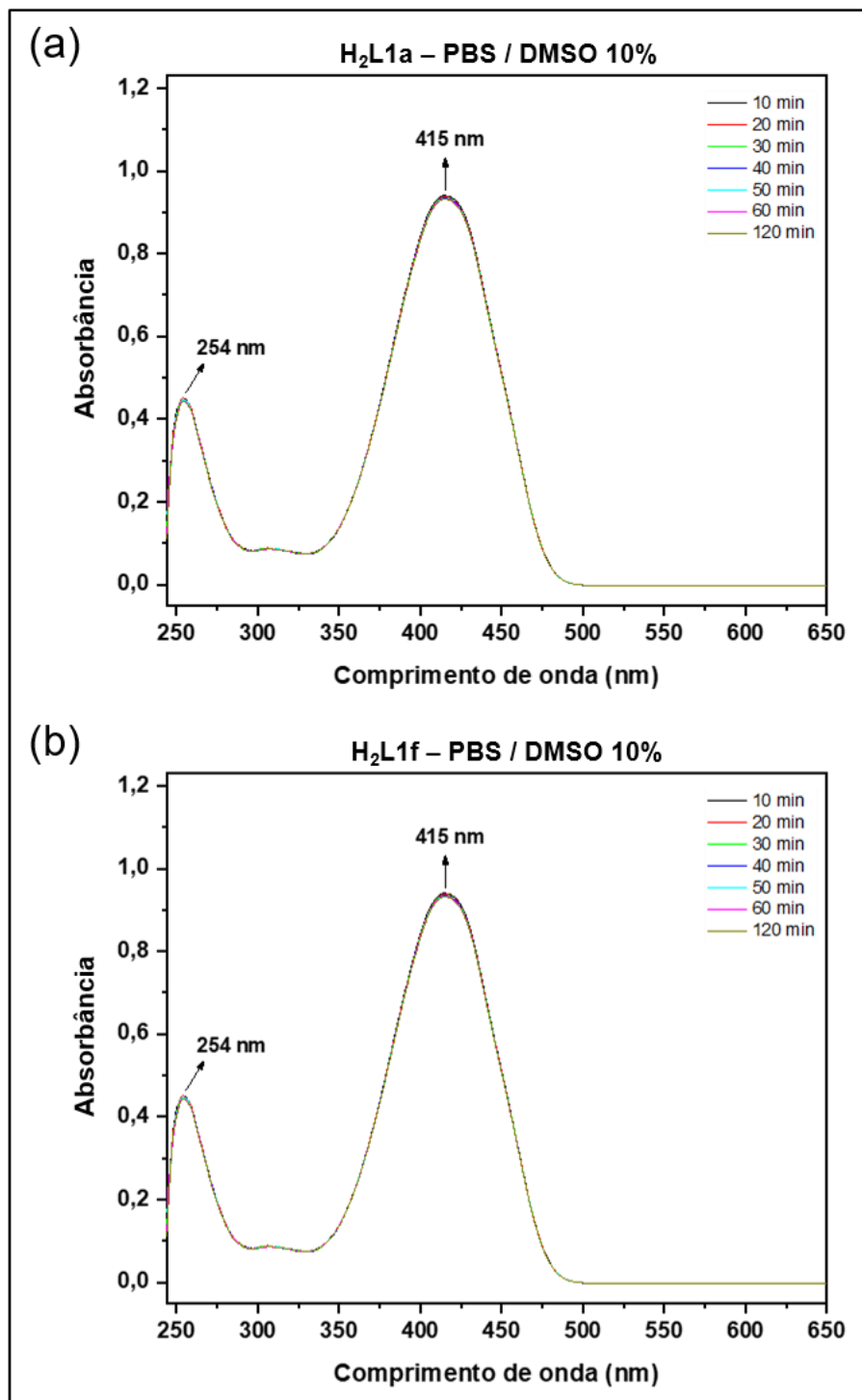
Os espectros de absorção UV-Vis dos tautômeros do **H₂L2** apresentam, devido à similaridade estrutural, o mesmo perfil dos espectros discutidos acima para o **H₂L1**, e encontram-se disponíveis nas **figuras C1 e C2** (apêndice C). No entanto, verifica um pequeno deslocamento das bandas de absorção para a região do vermelho. Uma vez que, o ligante **H₂L2** diferencia-se do **H₂L1** unicamente pela presença de um átomo de cloro na posição *para* do anel aromático derivado da β -dicetona, ao invés de um átomo de hidrogênio, atribuiu-se o pequeno efeito batocrômico nos espectros do **H₂L2a** e **H₂L2f** a transições de elétrons não ligantes do halogênio para o anel aromático, aumentando assim a deslocalização π por ressonância no sistema (**figura 26**), o que por sua vez contribui com o deslocamento das bandas de absorção para regiões de menor energia no espectro (PAVIA et al., 2014).

Figura 26 - Aumento da deslocalização π por ressonância de um anel aromático através da presença de elétrons não ligantes de um átomo "Y" (Ex: Y = Cl).



Como reportado na literatura (SALMAN, 2017), mudanças de solventes e valores de pH são fatores cruciais para o comportamento de tautômeros em solução. Tendo em vista a aplicação biológica dos compostos deste trabalho, decidiu-se avaliar o comportamento dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** em solução aquosa, com valor de pH = 7,4 (tampão PBS, 10% DMSO), visando elucidar qual tautômero deve ser predominante em meio fisiológico. Os espectros eletrônicos do **H₂L1a** e do **H₂L1f**, com aquisição em diferentes intervalos de tempo, estão apresentados nas **figuras 27(a) e 27(b)**, respectivamente.

Figura 27 - Espectro de absorção na região do UV-Vis: **(a)** composto **H₂L1a** (sólido amarelo) e **(b)** composto **H₂L1f** (sólido branco) em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 2 h.



Os espectros na solução aquosa apresentam uma banda larga e intensa com intensidade máxima em 415 nm, com o mesmo perfil da banda atribuída ao ligante

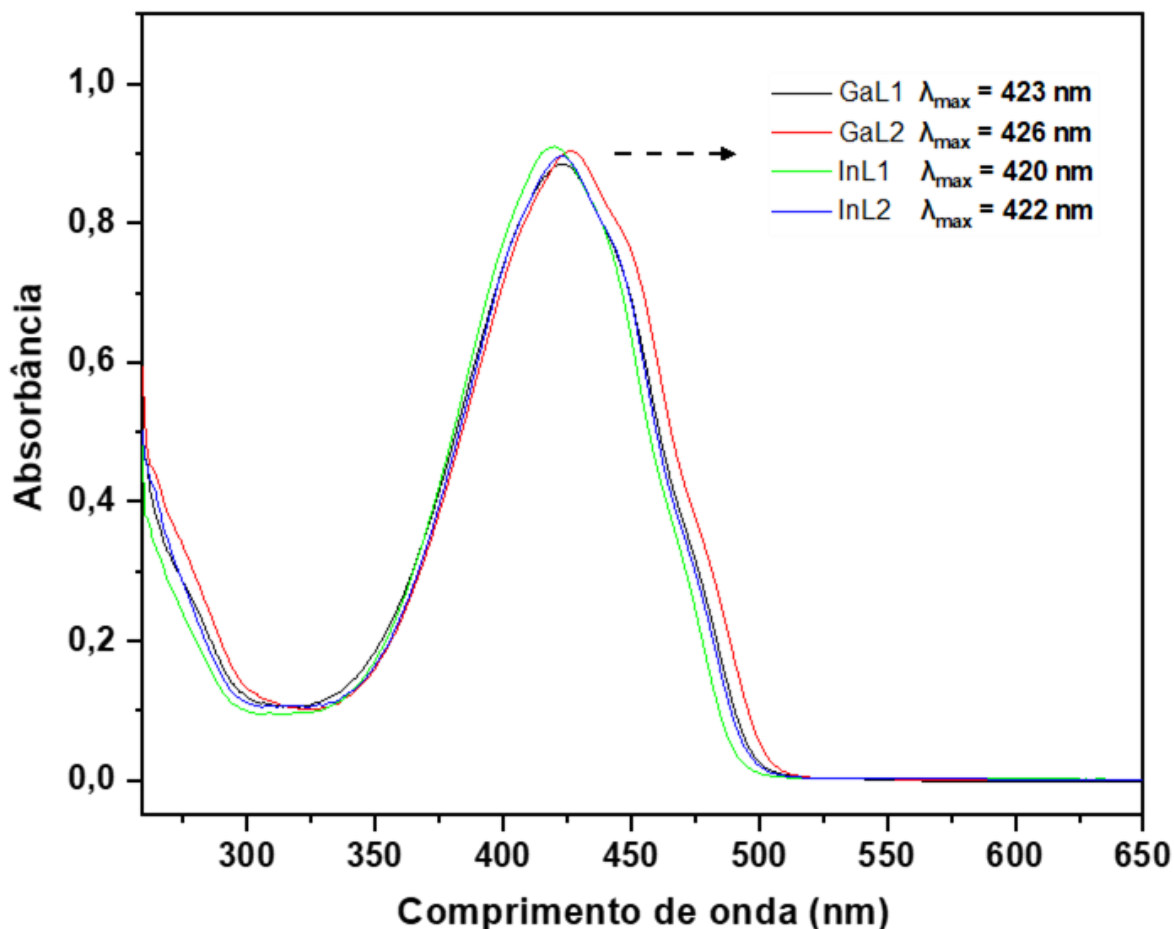
amarelo de cadeia aberta em solução de MeCN ($\lambda_{\text{max}} = 326 \text{ nm}$, **figura 24**). O notável deslocamento para a região do vermelho das bandas de absorção na solução aquosa, em relação ao observado em solução de MeCN, foi atribuído ao efeito do aumento da polaridade sobre as transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, onde o estado excitado é estabilizado, portanto, reduzindo a energia das transições eletrônicas e levando ao efeito batocrômico (EDWARDS; ALEXANDER, 2017). A não observação das bandas características do tautômero de cadeia fechada no espectro dos cristais brancos, **figura 27(b)** e **figura C3(b)**, apêndice C, o qual apresentou-se idêntico ao espectro do **H₂L1a**, **figura 27(a)**, bem como a imediata mudança da solução partindo dos cristais brancos para a cor amarela, indica o rápido deslocamento do equilíbrio para a formação da forma amarela de cadeia aberta. Desta forma, as análises de UV-Vis indicam a predominância do tautômero de cadeia aberta em meio fisiológico.

4.1.5.2 Complexos

Os espectros eletrônicos dos complexos de gálio e índio, em DMSO, encontram-se disponíveis na **figura 28**. Verifica-se que ambos os complexos apresentam espectros semelhantes, com uma intensa e larga banda que se estende de 330 a 510 nm, e com valores de absorção máxima entre 420 nm (complexo **InL1**) e 426 nm (complexo **GaL2**), os quais foram atribuídos majoritariamente a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. Transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$, de baixa intensidade, também são esperadas na mesma região, estando estas possivelmente sobrepostas pela intensa e larga banda de absorção verificada no espectro.

Analisando-se os espectros dos ligantes livres (**H₂L1** e **H₂L2**), também realizados em solução de DMSO, **figura C4**, apêndice C, observa-se que as bandas de absorção referentes as transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** possuem valores de λ_{max} em 336 e 343 nm, respectivamente, mostrando assim um considerável deslocamento para a região do vermelho das bandas de absorção referentes as transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, após a coordenação dos ligantes com os metais Ga^{III} e In^{III}, como visto na **figura 28**. O efeito batocrômico pode ser explicado como uma consequência do aumento conjugação π (PAVIA et al, 2014) na estrutura dos ligantes, após a reação de complexação com os metais gálio e índio.

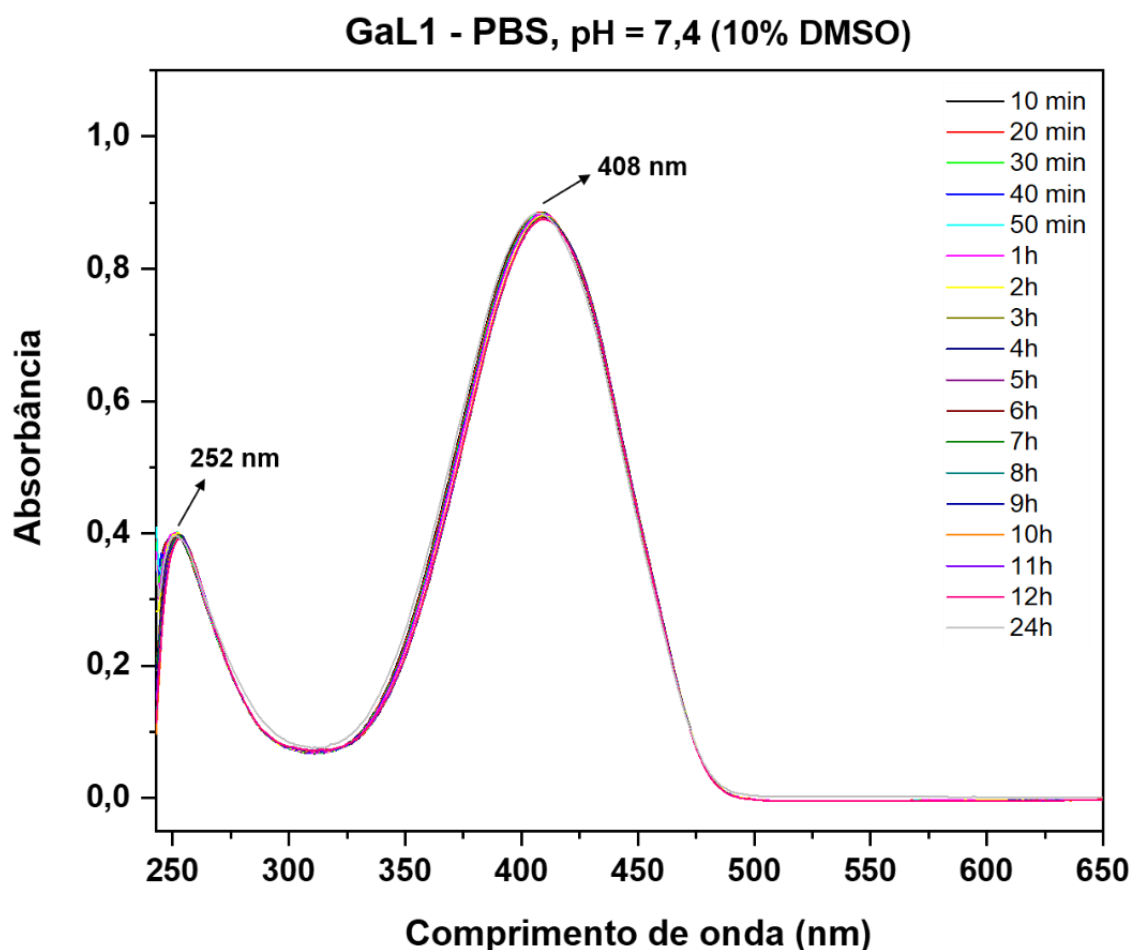
Figura 28 - Espectro de absorção na região do UV-Vis dos complexos de gálio e índio em solução de DMSO.



O deslocamento batocrômico observado nos espectros de UV-Vis para os compostos de coordenação, também corrobora com a intensa coloração vermelha observada para os sólidos dos complexos **GaL1**, **InL1**, **GaL2** e **InL2**, diferentemente dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2**, os quais possuem cor amarelada.

A estabilidade dos complexos de gálio e índio foi avaliada por UV-Vis em meio aquoso tamponado (PBS, pH = 7,4, 10% DMSO), **figura 29**, onde os espectros eletrônicos foram monitorados durante 24 h. Desta forma, foi possível avaliar a estabilidade dos compostos em um meio que mimetiza as condições fisiológicas.

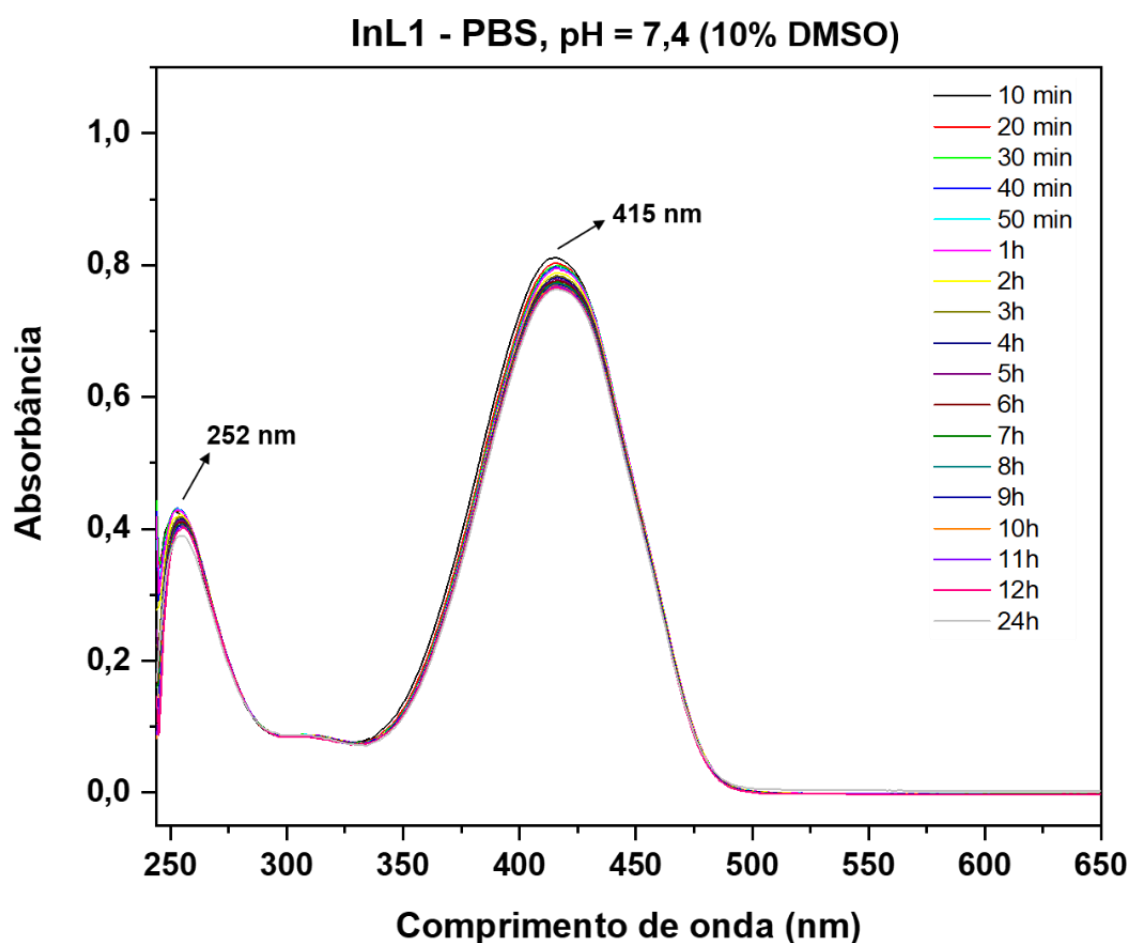
Figura 29 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo **GaL1** em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 24 h.



Ao longo das 24 h de análise, não foram observados deslocamentos das bandas de absorção em 252 e 415 nm, ou mesmo o aparecimento de novas bandas no espectro. Além disso, também é possível verificar que as intensidades das transições eletrônicas do complexo permaneceram praticamente inalteradas durante as 24 h de análise, com uma redução de intensidade de absorção de apenas 0,25 e 0,23% para as bandas em 252 e 408 nm, respectivamente. Estas observações sugerem uma elevada estabilidade em solução aquosa com valor de pH fisiológico.

Na **figura 30**, encontra-se disponível o espectro eletrônico do complexo **InL1**. Embora o espectro apresente bandas com as mesmas características do complexo de **GaL1**, algumas diferenças foram observadas, como um efeito da mudança do centro metálico coordenado ao **H₂L1**.

Figura 30 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo **InL1** em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 24 h.



Como discutido anteriormente, as bandas de absorção em 252 e 408 nm do **GaL1** apresentaram diminuição de absorção de 0,25% e 0,23% ao longo das 24 h de análise. Para o **InL1**, observa-se claramente no espectro uma maior diminuição de intensidade de absorção durante as análises, com valores calculados de 8,66 e 5,79% para as bandas com máximo de absorção em 252 e 415 nm, respectivamente. Observa-se também um leve deslocamento da banda em 252 nm para a região do vermelho (3 nm) durante as 24 h de análise, diferentemente do que foi observado no espectro do **GaL1**, o qual não apresentou efeito batocrômico.

É importante destacar que, apesar do complexo de índio apresentar indícios de ser menos estável que o complexo de gálio na solução aquosa com valor de pH fisiológico, as pequenas alterações observadas nos espectros eletrônicos

indicam que ambos os complexos **GaL1** e **InL1** apresentam uma boa estabilidade em solução aquosa.

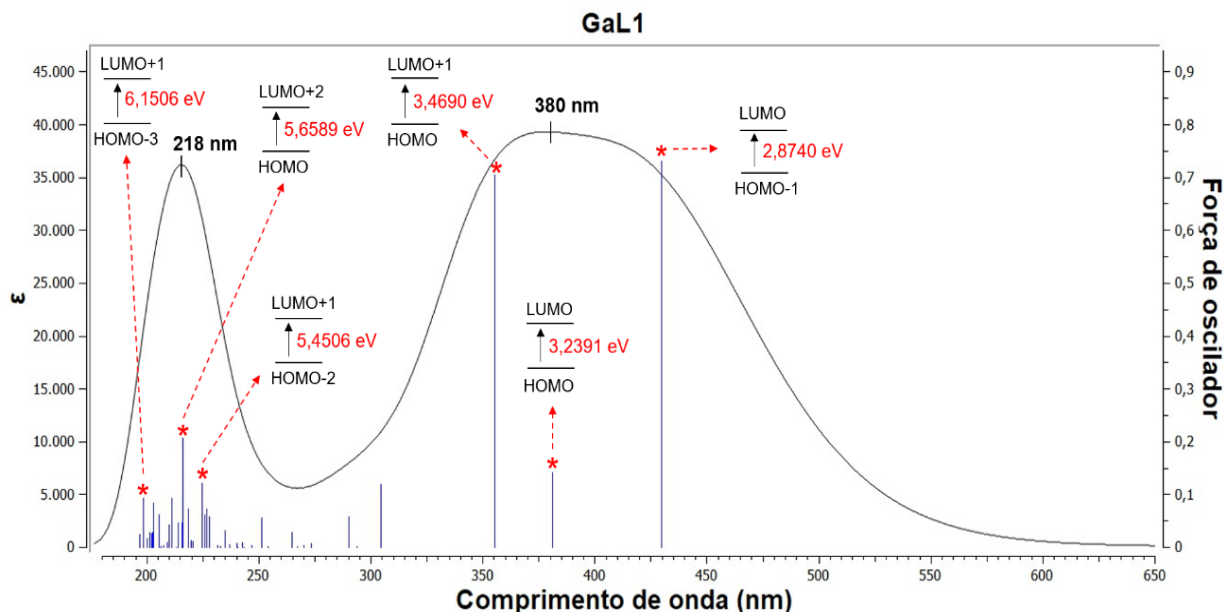
Os complexos de Ga^{III} e In^{III} com o ligante **H₂L2** (**figuras C5 e C6**, apêndice C), apresentam comportamentos semelhantes aos observados por UV-Vis para os complexos **GaL1** e **InL1**. No entanto, assim como foi verificado no espectro do ligante livre (**H₂L2**), as bandas de absorção dos compostos **GaL2** e **InL2** encontram-se mais deslocadas para a região do vermelho. Como discutido anteriormente, este efeito batocrômico está provavelmente relacionado com a presença do átomo de cloro no anel aromático do **H₂L2**, o qual contribui com o aumento da conjugação eletrônica no sistema, reduzindo assim a energia das transições eletrônicas.

4.1.5.3 Simulação computacional por DFT dos espectros de UV-Vis dos complexos

Com o intuito de obter informações adicionais as que foram obtidas experimentalmente sobre a estrutura eletrônica dos complexos, foram realizados cálculos de DFT (método descrito na **seção 3.2.9**) para a obtenção dos espectros teóricos de UV-Vis dos compostos, incluindo a representação dos orbitais moleculares de fronteira das principais transições calculadas.

Na **figura 31** e no apêndice D (**figuras D1, D2 e D3**), estão apresentados os espectros simulados dos complexos de gálio e índio (linha preta), com as energias de excitação calculadas (linhas verticais azuis). O coeficiente de absorvidade molar (eixo da esquerda), é proporcional a força de oscilador calculada para as transições (eixo da direita), a qual representa a probabilidade de ocorrência de uma transição eletrônica (KURTZ et al., 2018). Para cada uma das duas bandas de absorção presentes nos espectros, foram selecionadas as três transições mais intensas, destacadas em vermelho, para a análise das transições HOMO-LUMO dos complexos.

Figura 31 - Espectro de UV-Vis simulado por DFT do complexo **GaL1**, com as energias (eV) das principais transições HOMO-LUMO.

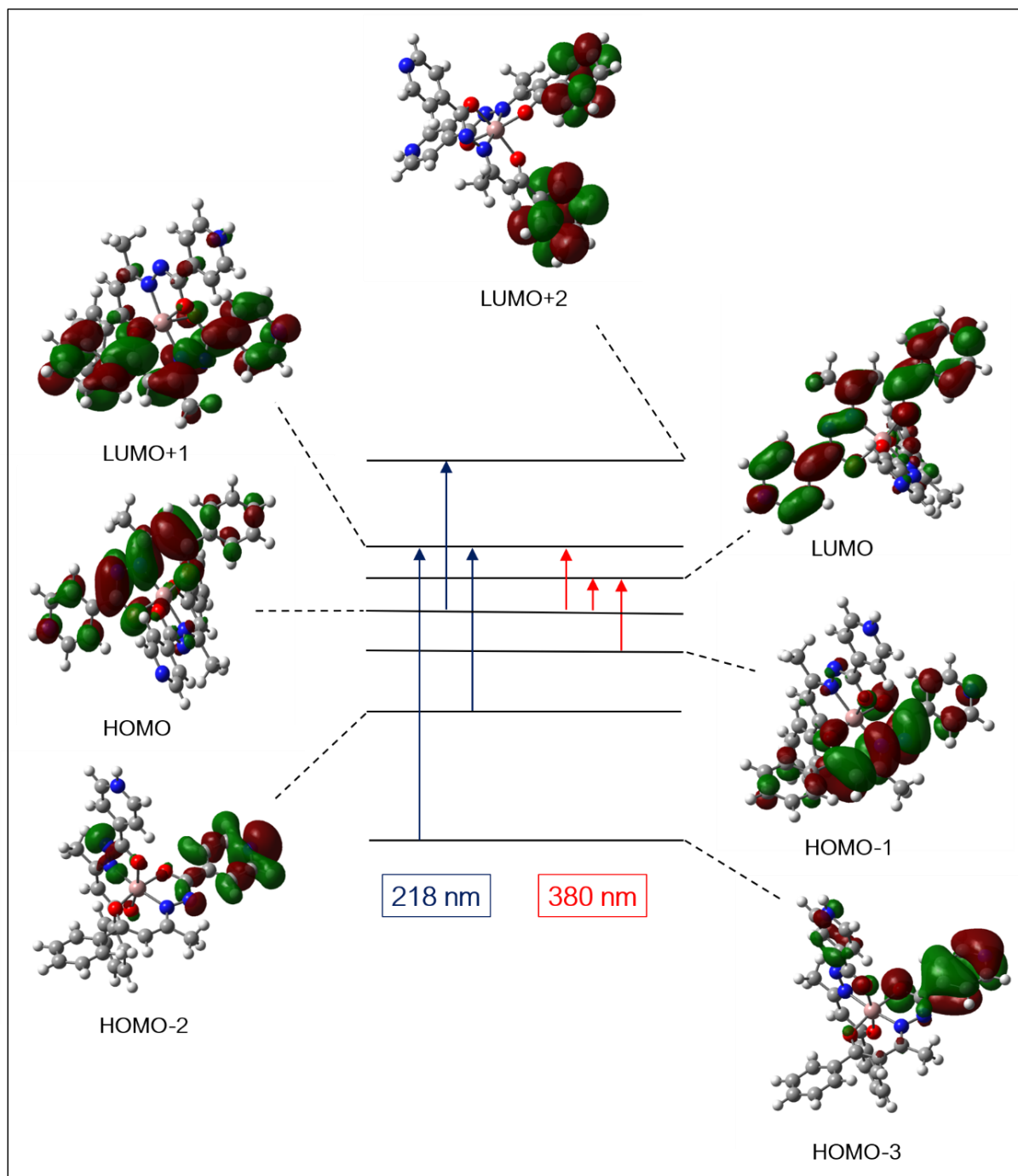


O espectro simulado do complexo **GaL1** em DMSO apresenta uma larga banda que se estende na região de 300 a 550 nm, portanto, com o mesmo perfil observado nos espectros obtido experimentalmente com o mesmo solvente, **figura 28**. A banda calculada de maior energia, com λ_{\max} em 218 nm, é consideravelmente menos alargada que a banda na região de menor energia ($\lambda_{\max} = 380$ nm), similar ao observado nos espectro experimental do **GaL1** na **figura 29**, onde a adição da solução aquosa ao DMSO permitiu a observação da banda de maior em energia em 252 nm. Na solução preparada com 100% de DMSO (**figura 28**), tal banda não pode ser observada (DMSO “cutoff” em torno de 268 nm). As transições calculadas para o complexo **GaL1**, portanto, indicam uma boa correlação entre os espectros teóricos e experimentais.

Uma outra boa correlação entre os espectros de UV-Vis experimentais e simulados, refere-se ao efeito do átomo de Cl presente no anel aromático do **H₂L2** na diminuição das transições HOMO-LUMO. Assim como foi verificado anteriormente nas análises experimentais de UV-Vis dos complexos metálicos, o espectro calculado do **GaL2** apresenta bandas com deslocamento para a região do vermelho em relação ao complexo **GaL1**, com valores de $\lambda_{\max} = 223$ e 389 nm para o **GaL2** e de 218 e 380 nm para o **GaL1**. O mesmo efeito foi identificado no espectro simulado do **InL2** ($\lambda_{\max} = 221$ e 390 nm), em relação ao complexo **InL1** ($\lambda_{\max} = 227$ e 393 nm).

Na **figura 32** e no apêndice D (**figuras D4, D5 e D6**), encontram-se disponíveis as representações dos orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, referentes as transições eletrônicas HOMO-LUMO dos complexos de Ga^{III} e In^{III} , que foram discutidas nos espectros simulados de UV-Vis.

Figura 32 - Orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, das principais transições eletrônicas do complexo **GaL1**.



Para todos os complexos, verifica-se uma maior contribuição do grupo hidrazona nas transições HOMO calculadas na região menor energia do espectro, como pode ser visto **figura 32** para as transições do **GaL1** em torno de 380 nm (HOMO e HOMO-1), representadas com setas vermelhas. Desta forma, os elétrons não ligantes e π deste grupo são excitados para orbitais π^* distribuídos por grande parte da molécula (LUMO e LUMO+1), como resultado da intensa deslocalização eletrônica que ocorre através do sistema conjugado do composto. Já para as transições de maior energia do espectro calculado, são observadas transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ com a presença de orbitais HOMO centrados nos anéis aromáticos (com uma maior participação do anel piridina em relação ao anel fenil) e no grupo hidrazona, como pode ser visto na **figura 32** para as transições do **GaL1** em torno de 218 nm (HOMO-3, HOMO-2 e HOMO), representadas com setas azuis. A elevada conjugação estrutural leva a transições intensas para orbitais π^* distribuídos em grande parte da estrutura composto, como pode ser visualizado nas transições LUMO calculadas para o **GaL1** (LUMO+1 e LUMO+2).

Em resumo, os resultados experimentais obtidos pela técnica de absorção molecular na região do UV-Vis permitiram a identificação das bandas de absorção características dos tautômeros presentes em solução de MeCN para os ligantes **H₂L1** e **H₂L2**, onde identificou-se a predominância dos compostos de cadeia fechada (**H₂L1f** e **H₂L2f**), **figuras 24 e 25**, comportamento este contrário ao observado em solução aquosa de PBS/DMSO (10%) com valor de pH fisiológico, onde predominou-se no meio a forma de cadeia aberta para ambos os ligantes **H₂L1a** e **H₂L2a**, **figura 27**. Os espectros eletrônicos dos complexos de gálio e índio em solução de DMSO mostraram-se semelhantes, com a identificação de uma intensa e larga banda em torno de 420 nm, referente a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$. Todos os compostos apresentaram indícios de serem estáveis nas análises de UV-Vis em solução aquosa com valor de pH fisiológico (PBS/DMSO (10%), pH = 7,4), monitoradas durante 24 h. Uma menor mudança foi observada nos espectros dos complexos com o centro metálico Ga^{III} (**GaL1** e **GaL2**), **figuras 29 e C5** (apêndice C), em relação aos complexos de In^{III}, **figuras 30 e C6** (apêndice C), indicativo de uma estabilidade levemente maior dos compostos contendo o centro metálico mais duro de Ga^{III}. Também, foi possível avaliar a influência do halogênio (Cl) presente no anel aromático do **H₂L2**, e seus respectivos complexos, na estrutura eletrônica dos compostos. Por

fim, os resultados experimentais de UV-Vis dos complexos apresentaram uma boa correlação com os resultados simulados por cálculos de DFT.

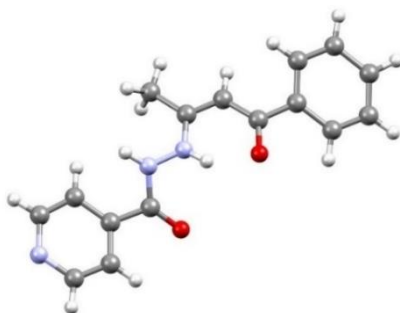
4.2 Investigação estrutural no estado sólido

4.2.1 Difração de raios X de monocristal (DRX de monocristal)

4.2.1.1 Ligantes

Monocristais adequados para a análise de DRX foram obtidos a partir da evaporação lenta da solução dos compostos (**H₂L1** e **H₂L2**) em EtOH. Um trabalho prévio realizado com o ligante **H₂L1** por nosso grupo de pesquisa e colaboradores (PAVAN et al., 2010), elucidou, por DRX de monocristal, que os cristais amarelos do composto **H₂L1** se referem a estrutura de cadeia aberta (denominada neste trabalho como **H₂L1a**) e que está apresentada na **figura 33**.

Figura 33 - Representação da estrutura molecular do composto **H₂L1a** (C = cinza, O = lilás, N = vermelho, H = branco), obtida por DRX de monocristal.

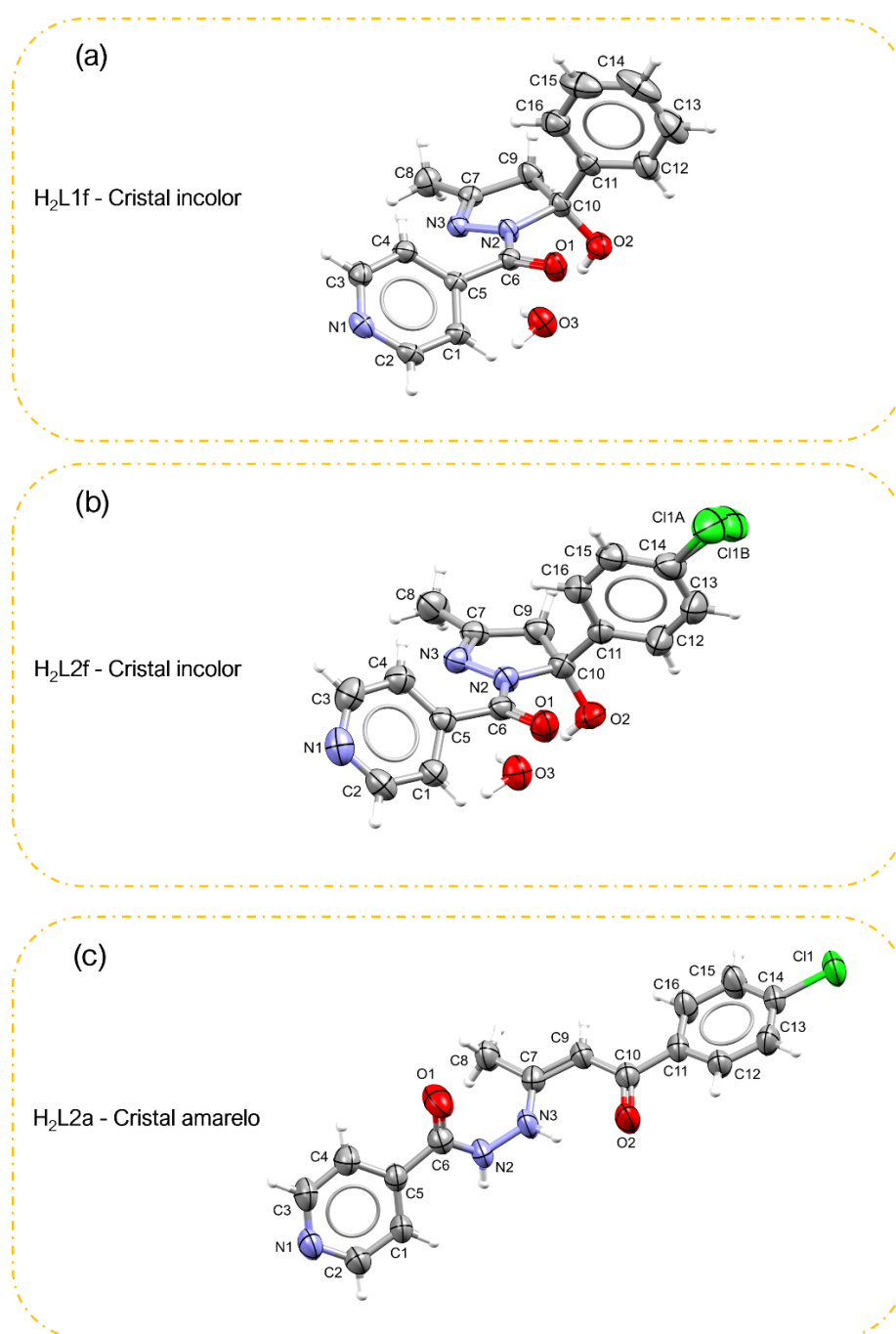


Fonte: Autoria própria, com figuras do **H₂L1a** produzidas através de dados cristalográficos publicados em um estudo anterior (Pavan et al., 2010).

No entanto, em nosso atual estudo, cristais incolores também puderam ser coletados através da mesma solução em que foram obtidos os cristais amarelos, tornando-se mais visíveis após a total evaporação do solvente (EtOH). Após cuidadosa separação dos cristais incolores - misturados aos cristais amarelos - e posterior análise por difração de raios X de monocristal, verificou-se que os cristais incolores se referem a estrutura do tautômero de cadeia fechada (**H₂L1f**), como observado na **figura 34(a)**. Através de uma pesquisa na base de dados do CCDC (do

inglês, *Cambridge Crystallographic Data Centre*) (CCDC, 2017), verificou-se que a estrutura cristalina do composto **H₂L1f** já foi publicada, em um trabalho que trata exclusivamente de sua caracterização estrutural por DRX de monocristal (KARGAR, 2011).

Figura 34 - Estruturas moleculares como elipsoides obtidas por difração de raios X de monocristal: **(a)** tautômero de cadeia fechada do ligante **H₂L1** (**H₂L1f**), **(b)** tautômero de cadeia fechada do ligante **H₂L2** (**H₂L2f**) e **(c)** tautômero de cadeia aberta do ligante **H₂L2** (**H₂L2a**). Representação das elipsoides com 50% de probabilidade.



Assim como obtido para o composto **H₂L1**, cristais incolores e amarelos do **H₂L2** foram coletados e analisados por DRX de monocristal, levando as elucidações das estruturas cristalinas dos tautômeros **H₂L2f** e **H₂L2a** (figuras **34(b)** e **34(c)**), sendo estas inéditas, de acordo com a pesquisa na base de dados do CCDC (CCDC, 2017), e que serão discutidas a seguir.

4.2.1.1.1 Ligante **H₂L2** - tautômero de cadeia fechada (**H₂L2f**)

O composto **H₂L2f** (figura **34(b)**), cristalizou-se no sistema monoclinico com grupo espacial $P2_1/c$. A unidade assimétrica do cristal possui uma molécula do composto e uma molécula de H₂O de cristalização (C₁₆H₁₄ClN₃O₂·H₂O). A estrutura apresentou desordem no átomo de Cl, o qual foi refinado em duas partes, com fatores de ocupação de 81 e 19%, respectivamente. Os dados cristalográficos selecionados do **H₂L2f·H₂O** estão apresentados na **tabela E1** (apêndice E).

Os comprimentos das ligações C-C nos anéis fenil e piridina do **H₂L2f·H₂O** apresentam valores entre 1,364(3) e 1,387(3) Å, intermediários entre os comprimentos de ligações simples e duplas, os quais estão de acordo com o esperado para os grupos aromáticos da molécula. As ligações N(2)-C(10) e N(3)-C(7) do anel pirazólico possuem distâncias de 1,509(3) e 1,276(3) Å, como característica das ligações N-C e N=C, respectivamente. A ligação C(6)-O(1) do grupo carbonila apresenta distância em concordância com o esperado para uma ligação C=O (1,234(2) Å), enquanto que a ligação C(10)-O(2) possui comprimento de 1,397(2) Å, por se tratar predominantemente de uma ligação simples. Os três anéis presentes no **H₂L2f·H₂O** (fenil, pirazol e piridina), estão orientados em três diferentes planos, com ângulos diedros de 88,00° entre os planos do grupo fenil e pirazol, 44,00° entre os planos do grupo pirazol e piridina e de 65,48° entre os planos dos anéis fenil e piridina. O átomo O(2), referente a hidroxila ligada ao átomo C(10), apresenta-se 0,379 Å fora do plano em que encontra-se o anel clorofenil. A análise da estrutura cristalina também indica uma alta planaridade dos anéis presentes no **H₂L2f·H₂O**, com valores de rms de 0,0067, 0,0182 e 0,0069 Å para os grupos fenil, pirazol e piridina, respectivamente. Na **tabela E2**, apêndice E, estão disponíveis os comprimentos e os ângulos das ligações selecionados para o **H₂L2f·H₂O**.

Através da análise do empacotamento cristalino do **H₂L2f·H₂O**, verifica-se que a molécula de água de cristalização exerce, através de ligações de hidrogênio, um papel crucial no arranjo das moléculas na estrutura deste tautômero de cadeia cíclica. Na figura **35(a)**, é possível visualizar, no empacotamento visto ao longo do eixo cristalográfico c, a cadeia de interações supramoleculares dirigidas pelas moléculas de água com o composto **H₂L2f**, e repetidas de acordo com a simetria ao longo do eixo a. Cada molécula do ligante interage com três moléculas de água, através dos átomos de nitrogênio (grupo piridina), oxigênio (grupo carbonila) e hidrogênio (grupo hidroxila), como mostrado na figura **35(b)**. O átomo oxigênio O(3) da molécula água interage com o hidrogênio H(10) da hidroxila, com distância de 1,800(3) Å, enquanto que os hidrogênios H15 e H16 da molécula de água interagem com o nitrogênio N(1) e com o oxigênio (O1), com distâncias de ligação de 1,880(4) e 1,840(3) Å, respectivamente. Na **tabela 7**, são apresentadas as distâncias e ângulos das ligações de hidrogênio do composto **H₂L2f·H₂O**.

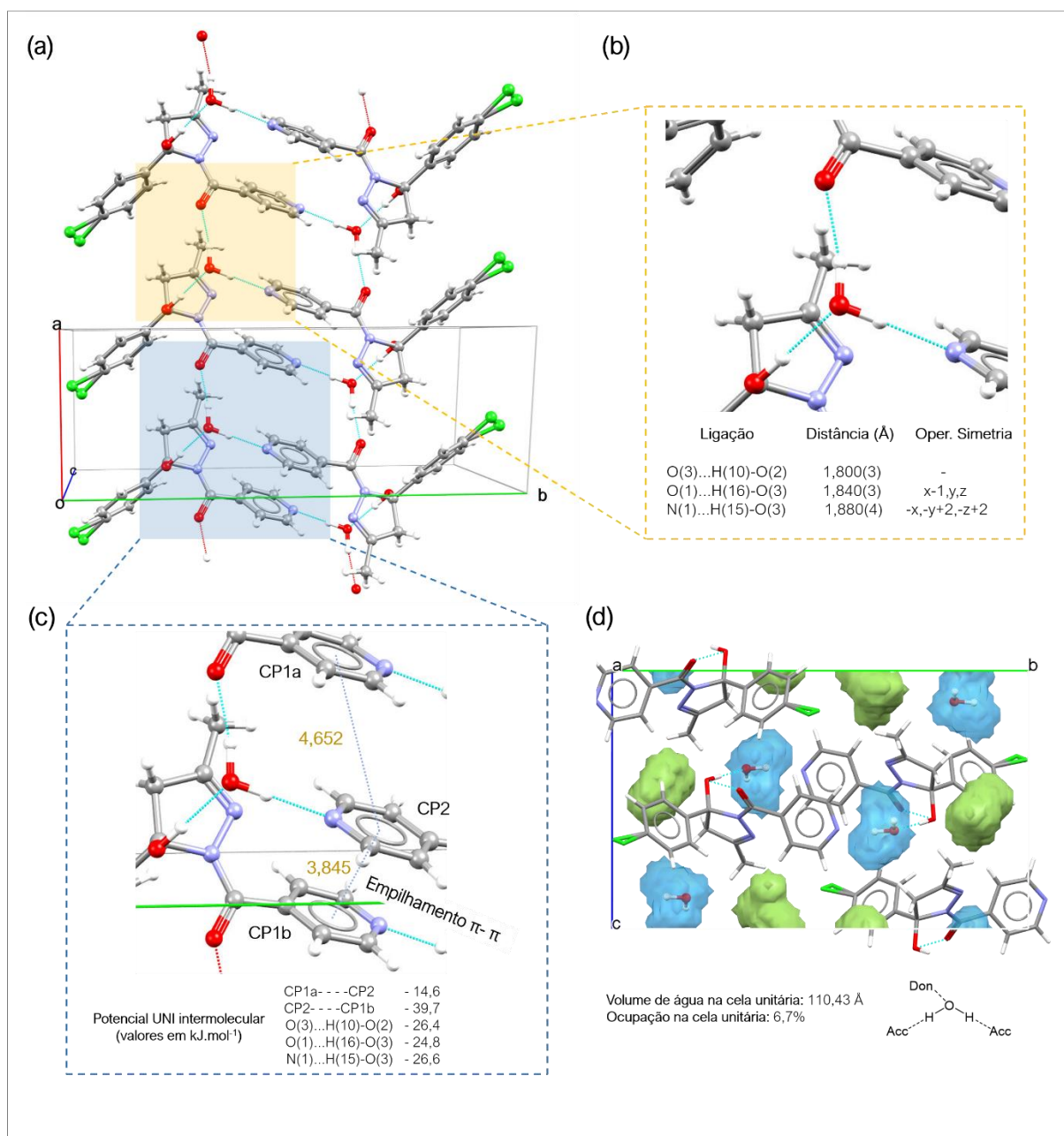
Tabela 7 - Ligações de hidrogênio para o tautômero **H₂L2f·H₂O** com os comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°).

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
C(1)-H(1)...Cl(1A)#1	0,91(2)	2,99(2)	3,802(5)	150,2(17)
C(13)-H(12)...Cl(1A)#2	0,94(3)	2,96(3)	3,761(5)	144,0(2)
O(2)-H(10)...O(3)	0,90(3)	1,80(3)	2,701(2)	179,0(3)
C(15)-H(13)...O(1)#3	0,94(3)	2,62(3)	3,490(3)	154,0(2)
O(3)-H(16)...O(1)#4	0,98(3)	1,84(3)	2,793(2)	164,0(2)
O(3)-H(15)...N(1)#5	0,96(4)	1,88(4)	2,829(3)	172,0(3)

Operações de simetria: #1 x,-y+3/2,z+1/2 #2 -x+1,-y+1,-z+2 #3 x,-y+3/2,z-1/2 #4 x-1,y,z #5 -x,-y+2,-z+2

Apesar do importante papel das ligações de hidrogênio que estabilizam as moléculas do **H₂L2f**, outras contribuições importantes podem ser verificadas. Na **figura 35(c)**, destaca-se as interações entre os anéis do grupo pirazol. Como observado na maioria dos casos, os empilhamentos π-π ocorrem entre anéis aromáticos “deslizados”, um em relação ao outro, ao invés de estarem em um perfeito alinhamento facial (GODOY NETTO; FREM; MAURO, 2008).

Figura 35 - Moléculas do **H₂L2f** vistas ao longo do eixo c, com ênfase para empacotamento unidimensional gerado por simetria ao longo do eixo a **(a)**, expansão gerada através da figura 31**(a)** de uma molécula de água interagindo por ligações de hidrogênio com três moléculas vizinhas do **H₂L2f**, e seus respectivos dados de ligação **(b)**, expansão gerada através da figura 34**(a)**, destacando as interações de empilhamento entre os anéis pirazol ao longo do eixo a, com dados obtidos de potencial intermolecular **(c)** e análise de hidratação na cela unitária do **H₂L2f·H₂O** **(d)**.



A distância entre os centroides dos anéis pirazol **CP1** e **CP2**, descendo ao longo do eixo a (**figura 35(a)** expandida para a **figura 35(c)**), é de 4,652 Å, e, portanto, não parece estar associada a uma interação π-π significativa, uma vez que a distância interplanar para o empilhamento de grupos aromáticos costuma variar entre 3,3 e

3,8 Å (GODOY NETTO; FREM; MAURO, 2008). No entanto, uma segunda interação entre os anéis pirazol (CP2---CP1), onde os mesmos encontram-se mais alinhados entre si, possui uma menor distância de ligação 3,845 Å, mais condizente com o necessário para que ocorra uma estabilização por empilhamento π - π entre os anéis aromáticos.

Buscando informações adicionais em relação a estabilização da estrutura do **H₂L2f**, causada pela interação entre os anéis pirazólicos e as interações supramoleculares do ligante com as moléculas de água de hidratação, realizou-se cálculos pelo método de campo de força (*“force field”*) para avaliar as contribuições das energias de interações intermoleculares no empacotamento cristalino. Utilizou-se, através do programa Mercury 3.0, o componente “UNI Intermolecular Potentials” (MACRAE et al., 2020; GAVEZZOTTI, 1994; GAVEZZOTTI; FILIPPINI, 1994; ROSBOTTOM; CHENG; HENG, 2020; LEE et al., 2019), presente no pacote “CSD-Materials”.

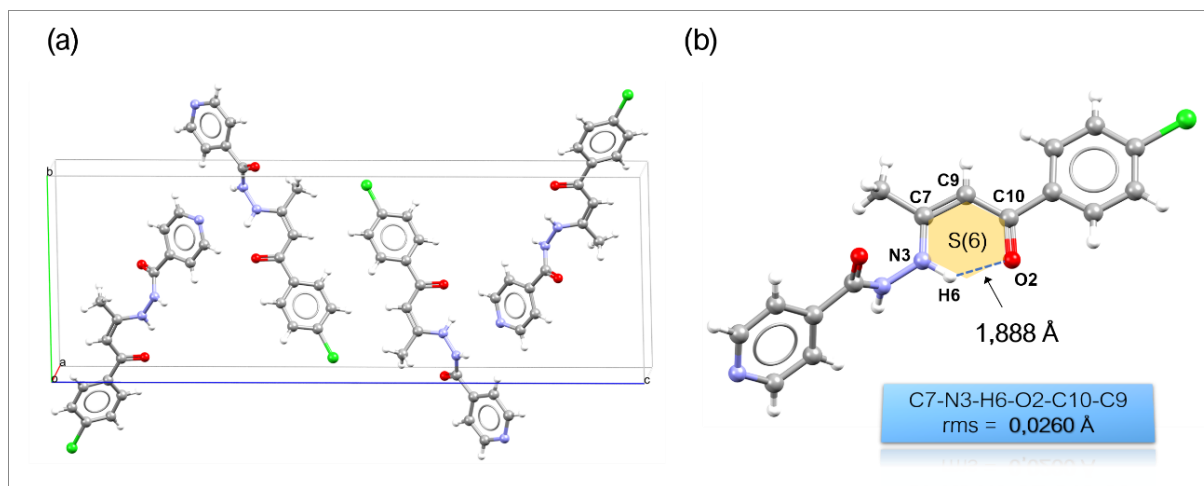
Os resultados da **figura 35(c)** indicam, como esperado, uma maior contribuição entre os anéis CP2---CP1b (-39,7 kJ.mol⁻¹) em relação aos anéis CP1a---CP2 (-14,6 kJ.mol⁻¹), que, como citado anteriormente, encontram-se mais distantes entre si. Adicionalmente, os resultados também indicam que a contribuição do empilhamento π - π dos anéis pirazólicos na estabilização da molécula possui contribuição similar às das interações supramoleculares do **H₂L2f·H₂O** com a molécula de água, que apresentaram valores entre -24,8 e -26,6 kJ.mol⁻¹. Utilizando-se o componente “Hydrate Analyser” presente no pacote “CSD-Materials” (MACRAE et al., 2020), verificou-se que o volume e a ocupação das moléculas de água na cela unitária do **H₂L2f·H₂O** correspondem a 110,43 Å e 6,7%, respectivamente (**figura 35(d)**).

4.2.1.1.2 Ligante H₂L2 - tautômero de cadeia aberta (H₂L2a)

O composto **H₂L2a**, **figura 33(c)**, cristalizou-se no sistema monoclinico com grupo espacial P2₁/n e com uma molécula contida na unidade assimétrica. Os dados cristalográficos selecionados do **H₂L2a** estão apresentados na **tabela E1**

(apêndice E), e o arranjo das moléculas presentes em uma célula unitária encontra-se disponível na **figura 36(a)**.

Figura 36 - Cella unitária do composto **H₂L2a** vista ao longo do eixo a **(a)**, estrutura molecular do composto **H₂L2a**, com ênfase para o anel de seis membros formado a partir da interação intramolecular N(3)-H(6)...O(2) **(b)**.



O composto **H₂L2a** apresenta-se como uma hidrazida, com os átomos de nitrogênios N(2) e N(3) protonados. Os anéis clorofenil e piridina, cujas ligações C-C variam entre 1,365(5) e 1,391(4) Å, encontram-se orientados em dois diferentes planos, com ângulos entre os mesmos de 59,84°, e os valores de rms indicam uma alta planaridade em ambos os grupos aromáticos (0,0038 e 0,0017 Å para os anéis clorofenil e piridina, respectivamente). Destaca-se, também, a presença de um ângulo de torção de -77,58° ao redor do grupo hidrazida (C(6)-N(2)-N(3)-C(7)). Neste grupo, evidencia-se uma deslocalização de elétrons π em seus átomos, uma vez que as ligações C(6)-N(2) e N(3)-C(7) apresentam comprimentos de ligação de 1,344(4) e 1,334(4) Å, que são valores intermediários entre o encontrado para ligações simples e duplas. Verifica-se, também, que a presença da ligação de hidrogênio intramolecular N(3)-H(6)...O(2) leva a formação de um anel de seis membros (“motif S(6)”) (BERNSTEIN et al., 1995; VENKATESAN et al., 2015) com elevada planaridade (valor de rms de 0,0260 Å), **figura 36(b)**, o que provavelmente contribui com uma maior deslocalização π na molécula **H₂L2a**. Como exemplo, verifica-se que a carbonila C(10)=O(2), presente no anel S(6), possui maior distância de ligação (1,244 (4) Å) que a carbonila C(6)=O(1) ligada ao anel piridina (1,212(4) Å), o que pode estar associado

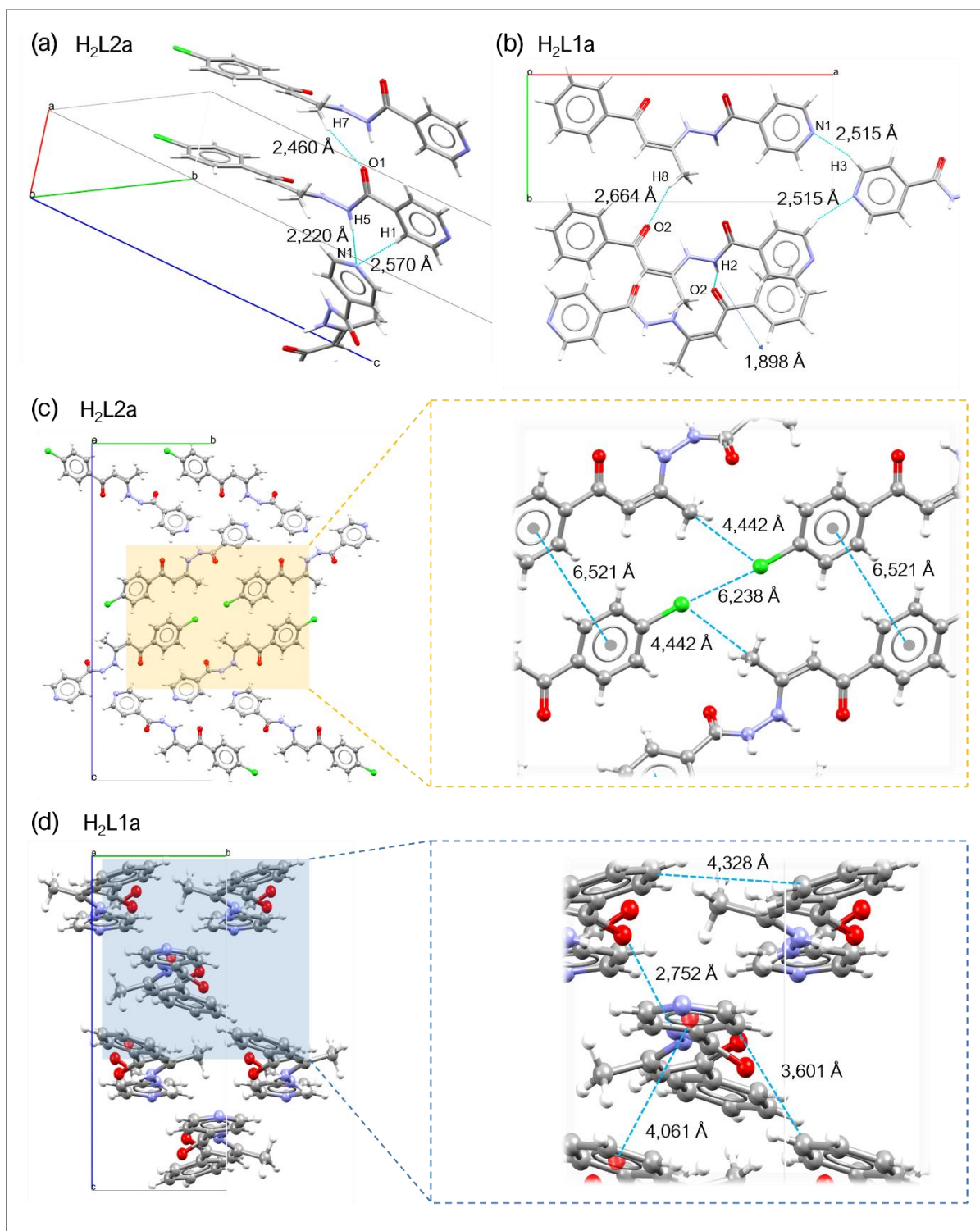
a uma leve diminuição em seu caráter de ligação dupla. Dados adicionais de comprimentos e ângulos de ligações estão disponíveis apêndice E (**tabela E2**).

As ligações intramoleculares discutidas acima são iguais as observadas para o composto **H₂L1a** (PAVAN et al., 2010; BIKAS et al., 2012), indicando que a substituição do átomo de hidrogênio presente no anel fenil do **H₂L1a**, pelo átomo de cloro retirador de elétrons do **H₂L2a** (distância Cl(1)-C(14)=1,734(3) Å), não exerceu influência na ligação intramolecular N(3)-H(6)...O(2). Por outro lado, como mostrado nas **figuras 37(a) e 37(b)**, diferentes interações intermoleculares são observadas comparando-se **H₂L1a** com **H₂L2a**, possivelmente devido a efeitos estéricos que o átomo mais volumoso de cloro presente no anel derivado da β-dicetona do **H₂L2a** exerce sobre moléculas vizinhas, levando assim a uma considerável diferença no arranjo molecular dos compostos (**figuras 37(c) e 37(d)**).

Seguindo o mesmo procedimento realizado com os ligantes de cadeia fechada (**seção 4.2.1.1.1**), foram obtidos valores das energias de interações intermoleculares presentes na rede cristalina das moléculas **H₂L1a** e **H₂L2a**, calculadas pelo método do campo de força através do componente “UNI Intermolecular Potentials”, presente no pacote “CSD-Materials” do programa Mercury 3.0 (MACRAE et al., 2020; GAVEZZOTTI et al., 1994; GAVEZZOTTI; FILIPPINI, 1994; ROSBOTTOM; CHENG; HENG, 2020; LEE et al., 2019).

Os valores obtidos das três principais energias de interação intermolecular na rede cristalina do **H₂L1a**, de -84,8, -70,0 e -25,4 kcal.mol⁻¹, indicam uma maior estabilização no empacotamento molecular do **H₂L1a** em comparação com os valores de energia obtidos para a rede cristalina o ligante **H₂L2a**, de -65,5, -58,3 e -24,2 kcal.mol⁻¹, **figuras 38(a) e 38(b)**. Os comprimentos e distâncias das ligações de hidrogênio intermoleculares do tautômero **H₂L2a** estão listados na **tabela 8**.

Figura 37 - Ligações de hidrogênio presentes no composto **H₂L2a** (a), ligações de hidrogênio presentes no composto **H₂L1a** (b), empacotamento cristalino visto ao longo do eixo a para o **H₂L2a**, com distâncias de ligação entre átomos de moléculas vizinhas (c), empacotamento cristalino ao visto ao longo do eixo a para o **H₂L1a**, com distâncias de ligação entre átomos de moléculas vizinhas (d).



Fonte: Autoria própria, com Figuras do H₂L1a produzidas através de dados cristalográficos publicados em um estudo anterior (Pavan et al., 2010).

Figura 38 - Valores de potencial UNI intermolecular (Kcal.mol^{-1}) calculados para a rede cristalina dos ligantes **H₂L2a** (a) e **H₂L1a** (b).

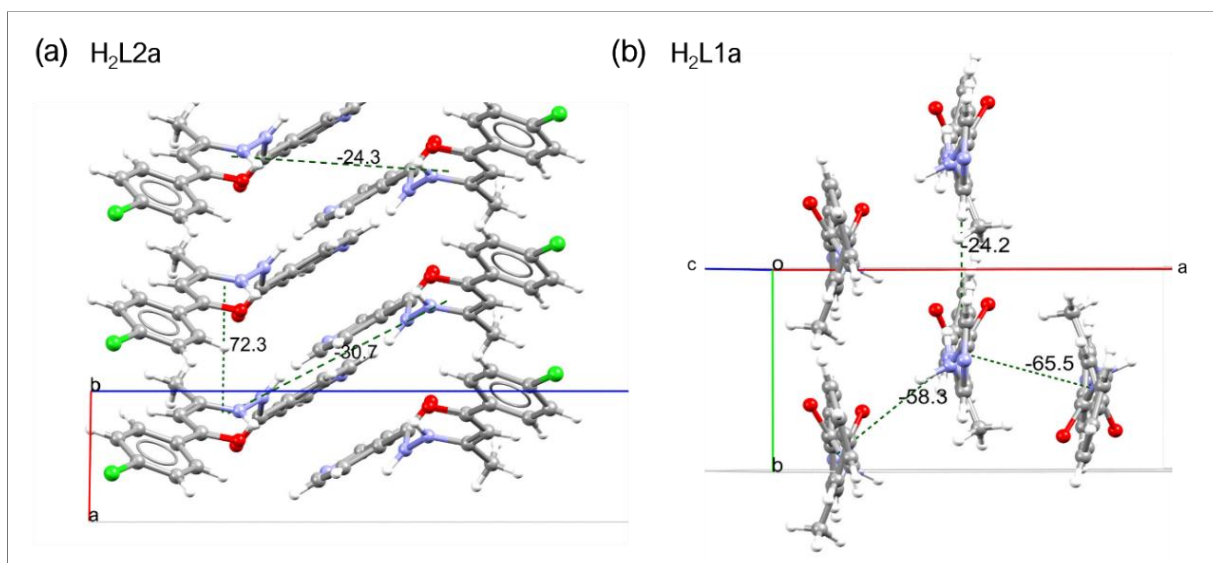


Tabela 8 - Ligações de hidrogênio para o tautômero **H₂L2a** com os comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°).

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	$\angle(\text{DHA})$
N(2)-H(5)...N(1)#1	0,91(4)	2,22(4)	3,077(5)	157,0(3)
C(1)-H(1)...N(1)#1	0,93	2,57	3,459(4)	160,0
C(8)-H(7)...O(1)#2	0,96	2,46	3,398(4)	165,5

Operações de simetria: #1 $-x-1/2, y-1/2, -z+1/2$, #2 $x-1, y, z$.

Conclui-se, portanto, que o isolamento de duas formas cristalinas obtidas dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** e a posterior análise dos cristais por DRX de monocristal, levou a resultados que corroboram com a investigação dos mesmos em solução, em especial os estudos por espectroscopia de ressonância magnética nuclear e por espectroscopia de absorção na região UV-Vis, que evidenciaram a presença dos compostos em solução como tautômeros do tipo anel-cadeia aberta em equilíbrio.

4.2.1.2 Complexos de gálio e índio

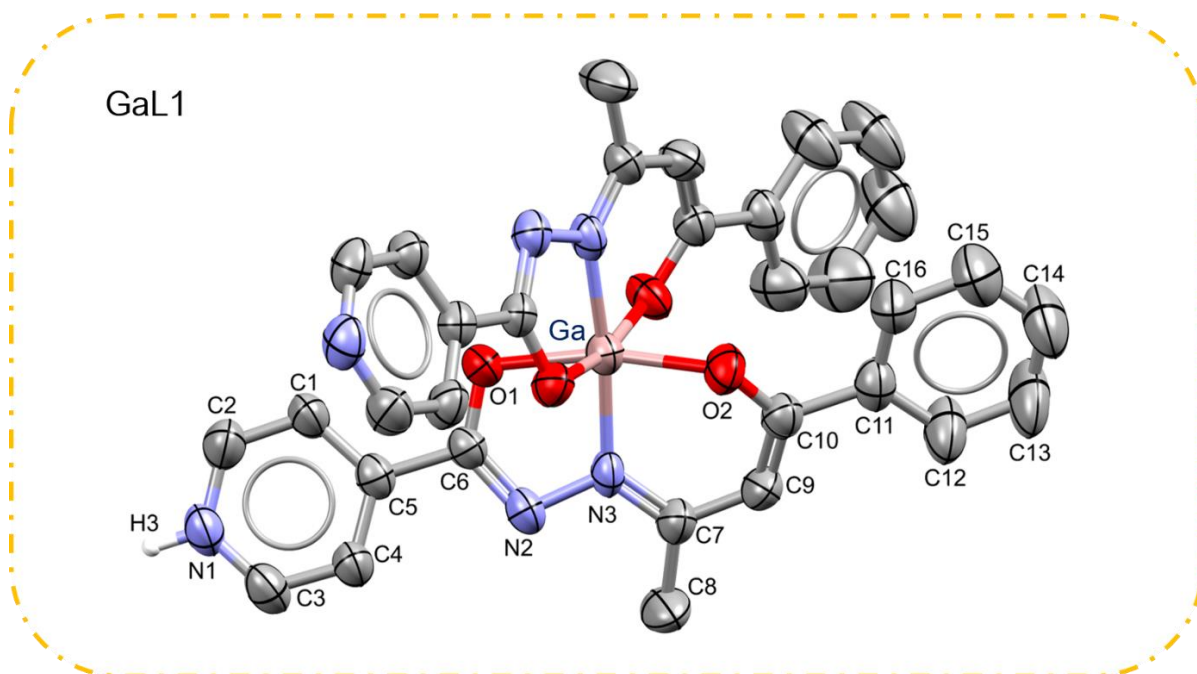
Nesta seção, serão discutidos os resultados de DRX de monocristal obtidos para o **GaL1**, o qual se coordena com o ligante **H₂L1** em sua forma de cadeia aberta (**H₂L1a**), confirmando a abertura do anel pirazólico dos tautômeros de cadeia fechada (**H₂L1f**) durante a reação de coordenação, assim como foi proposto na caracterização estrutural em solução por RMN (**seção 4.1.2.2**). Não foi possível a obtenção de cristais adequados para a análise de DRX de monocristal dos complexos **GaL2**, **InL1** e **InL2**, no entanto, suas estruturas foram otimizadas através de cálculos utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT), a partir da estrutura elucidada por DRX do complexo **GaL1**, e os resultados também serão discutidos nesta seção.

4.2.1.2.1 Complexo GaL1

Cristais vermelhos do **GaL1** foram coletados a partir da solução mãe da reação de obtenção do composto MeOH. O complexo **GaL1** cristalizou-se no sistema monoclinico, com grupo espacial C2/c. A unidade assimétrica do cristal apresenta metade da estrutura proposta ($Z' = 0,5$). A estrutura cristalina do **GaL1** e o seu empacotamento em uma cela unitária encontram-se disponíveis nas **figuras 39 e 40(a)**, respectivamente. Os dados cristalográficos selecionados estão apresentados no apêndice E (**tabela E1**).

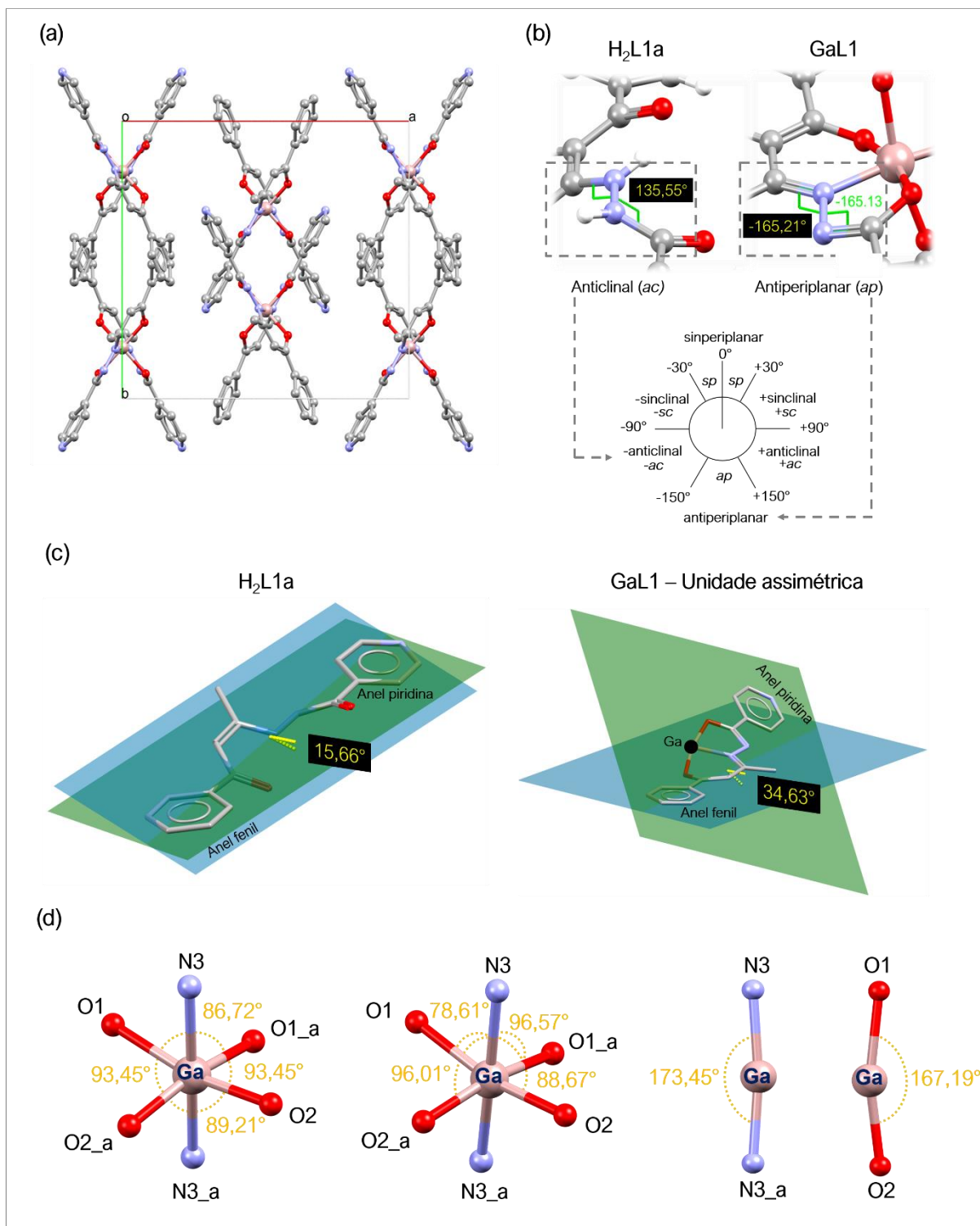
Verifica-se através da estrutura cristalina obtida do complexo, que o **H₂L1** se coordenou ao Ga^{III} na forma tridentada com proporção estequiométrica 2:1 (ligante:metal), com geometria de coordenação octaédrica. O ligante, que caracteriza-se como um O,N,O-doador, teve uma de suas unidades coordenadas na forma dianiônica (L)⁻², e a outra na forma monoaniônica (L)⁻¹, onde, para esta última, o átomo de nitrogênio N(1) do grupo piridina é protonado com o hidrogênio H(3), indicando a presença de um complexo neutro do tipo zwitteriônico. Uma vez que a estrutura do complexo **GaL1** foi determinada através de sua unidade assimétrica (metade da estrutura molecular), a desordem do átomo de hidrogênio H(3) ligado ao átomo N(1) foi tratada através do seu refinamento utilizando-se um fator de ocupação (s.o.f) igual a 0,5.

Figura 39 - Estrutura cristalográfica e molecular como elipsoides do complexo **GaL1** obtida por DRX de monocristal. Os átomos de hidrogênio (exceto H3) estão omitidos para facilitar a visualização. Representação das elipsoides com 50% de probabilidade.



Os anéis fenil e piridina, apresentam ligações C-C entre 1,333(6) e 1,388(5) Å, com valores bem próximos aos encontrados para o **H₂L1a** (PAVAN et al., 2010), e que condiz com os comprimentos de ligações esperados para os anéis aromáticos. Os resultados também indicam uma alta planaridade dos anéis fenil e piridina, com valores de rms de 0,0028 e 0,0095 Å, respectivamente. Como efeito da reação de coordenação dos átomos de oxigênio ao gálio, e conseqüente aumento no caráter de ligação simples, observou-se um aumento no comprimento das ligações C-O no **GaL1** (C(6)-O1 = 1,296(5) Å e C(10)-O(2) = 1,304(5) Å), em comparação com as ligações dos mesmos átomos no **H₂L1**, que são ligações do tipo C=O com valores de 1,221(16) e 1,270(15) Å, respectivamente (PAVAN et al., 2010).

Figura 40 - Empacotamento do complexo **GaL1** em uma célula unitária **(a)**, comparação entre **H₂L1a** e **GaL1** do arranjo estereoquímico das ligações C(6)-N(2)-N(3)-C(7)) **(b)**, comparação entre **H₂L1a** e **GaL1** do ângulo diedro dos anéis fenil e piridina **(c)**, ângulos selecionados para as ligações envolvendo oxigênio e/ou nitrogênio com o centro metálico de gálio **(d)**.

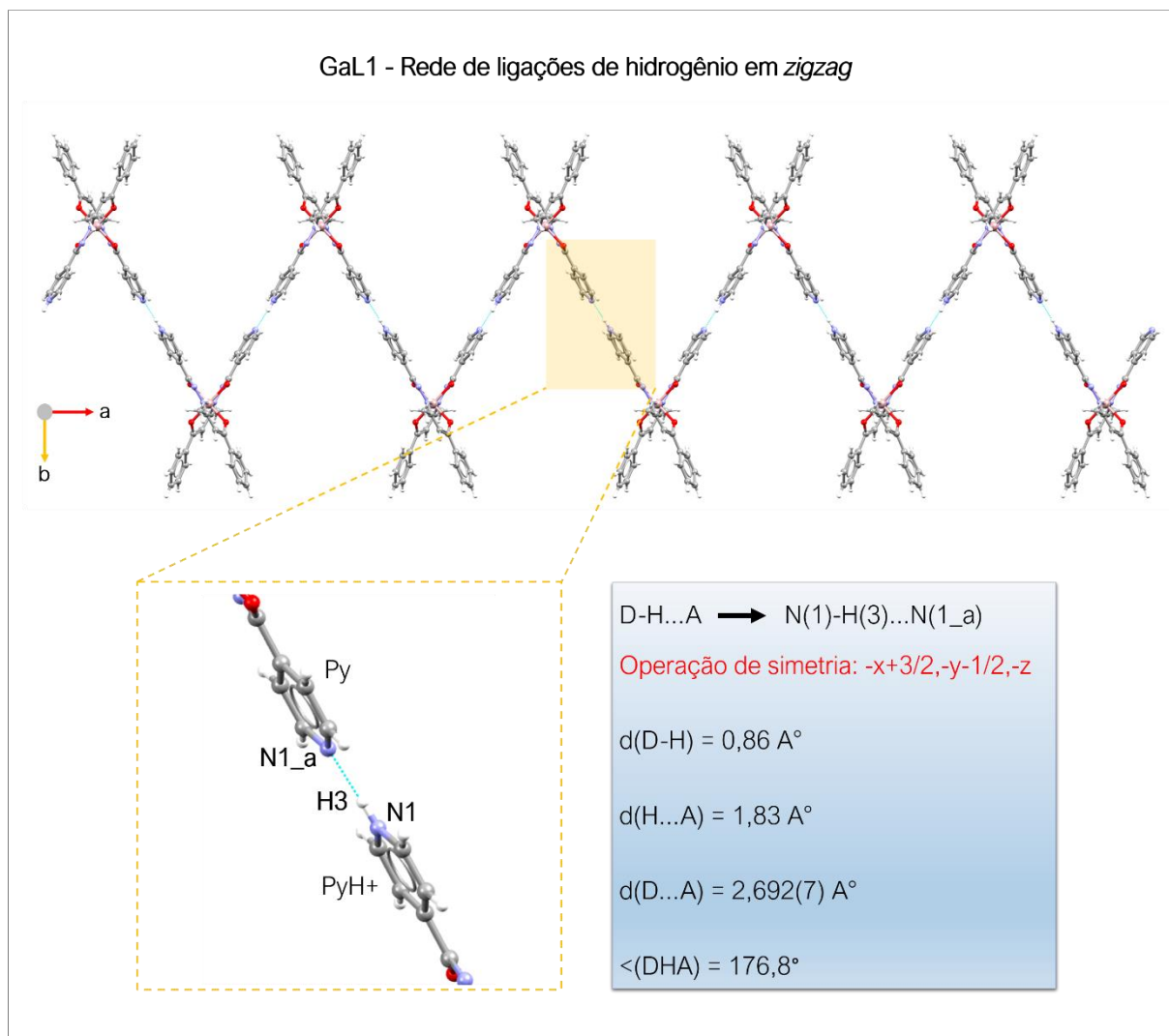


O ângulo de torção das ligações ao redor do grupo hidrazida (C(6)-N(2)-N(3)-C(7)) do ligante **H₂L1**, possui valor de 135,55° (arranjo estereoquímico anticlinal (*ac*)). No entanto, a formação do composto de coordenação de gálio leva a uma mudança de conformação em relação ao ligante livre, onde as ligações C(6)-N(2)-N(3)-C(7)) no **GaL1** apresentam ângulo de torção de -165,21°, portanto, com um arranjo estereoquímico antiperiplanar (*ap*), **figura 40(b)**. As terminologias *ac* e *ap* para os ângulos de torção acima citados, seguem as recomendações da IUPAC, “*International Union of Pure and Applied Chemistry*” (MOSS, 1996). Verifica-se também a existência de um maior ângulo diedro entre os planos dos anéis fenil e piridina no **GaL1** (34,63°), comparando-se com o observado para o ligante livre (15,66°), como visto na **figura 40(c)**.

As distâncias das ligações Ga-O sugerem que o centro metálico de gálio se liga mais fortemente ao oxigênio derivado da benzoilacetona (Ga-O(2) = 1,954(3) Å) do que ao oxigênio derivado da isoniazida (Ga-O(1) = 2,013(3) Å). Já para a ligação do metal com o nitrogênio, observa-se uma distância de ligação Ga-N(3) de 1,962(3) Å levemente maior que a observada para a ligação Ga-O(2). O complexo **GaL1** apresenta uma geometria octaédrica levemente distorcida, com ângulos variando entre 78,58°(12) e 173,45°(17) Å, como apresentado na **figura 40(d)**. Os dados selecionados dos comprimentos e ângulos de ligações para o **GaL1**, estão disponíveis na **tabela E3** (apêndice E).

O complexo zwitteriônico **GaL1** é estabilizado por uma rede de interações intermoleculares (complexo-complexo) envolvendo piridinas protonadas (PyH⁺) e não protonadas. O arranjo dessas interações supramoleculares, que se estendem em modo *zigzag*, podem ser vistas ao longo do eixo c na **figura 41**.

Figura 41 - Ligações de hidrogênio intermoleculares N(1)-H(3)...N(1_a) no arranjo do complexo **GaL1** projetadas ao longo do eixo c, estendendo-se em modo *zigzag* em paralelo ao eixo a, com dados de operação de simetria, ângulo e distâncias de ligação.

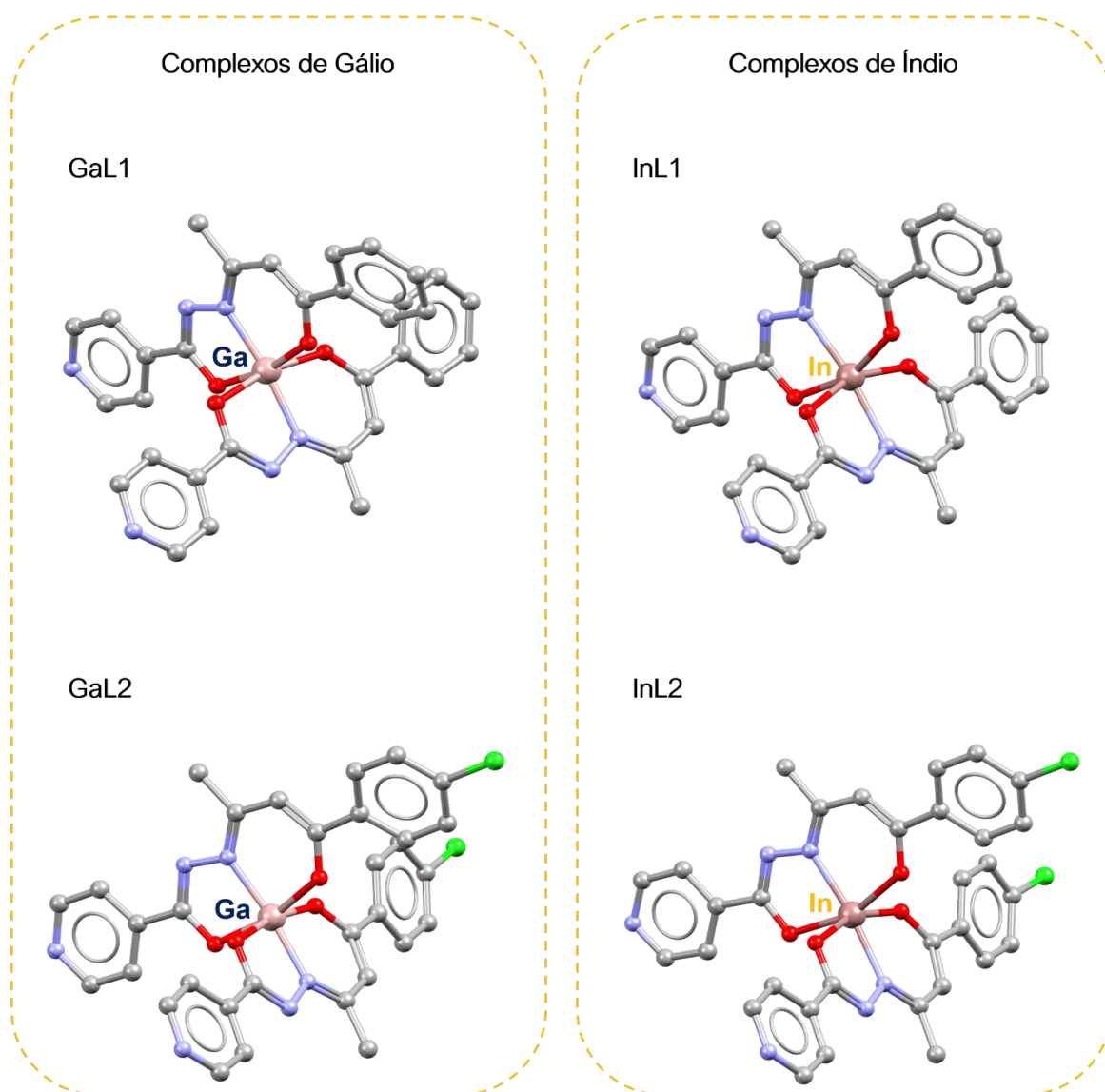


4.2.1.2.2 Otimização estrutural dos complexos via cálculos computacionais de DFT

A otimização das estruturas por cálculos de DFT dos complexos **GaL1**, **GaL2**, **InL1** e **InL2** foi realizada utilizando-se o programa Gaussian 09, Revisão D.01 (Gaussian Inc., Wallingford, CT, EUA), seguindo os métodos descritos na **seção 3.2.9**, e com representação gráfica dos complexos realizadas através do programa Mercury (MACRAE et al., 2020). Utilizou-se os dados cristalográficos do **GaL1** obtidos por DRX de monocristal como modelo inicial de estrutura molecular para a otimização de todos

os complexos. Na **figura 42**, são apresentadas as estruturas moleculares obtidas através dos cálculos computacionais para os complexos de gálio e índio.

Figura 42 - Estruturas otimizadas dos complexos de gálio e índio obtidas por cálculos de DFT.



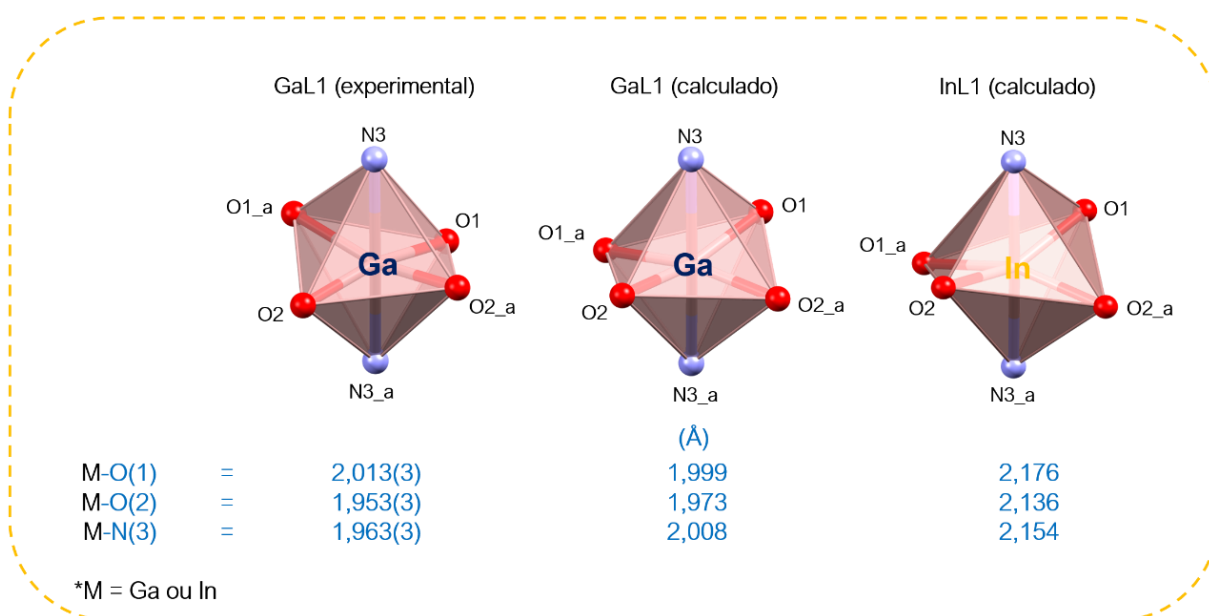
Os valores das distâncias e ângulos de ligações calculados para o complexo **GaL1** são, em maioria, similares aos obtidos experimentalmente por DRX de monocristal, como mostrado na **tabela 9**, indicando a concordância entre o modelo calculado por DFT aos resultados obtidos experimentalmente.

Tabela 9 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados do complexo **GaL1** (dados experimentais) e dos complexos **GaL1** e **InL1** (dados calculados por DFT). *M = Ga^{III} ou In^{III}.

Ligações	GaL1(Experimental)	GaL1 (Calculado)	InL1 (Calculado)
Comprimentos (Å)			
O(1)-C(6)	1,296(5)	1,292	1,290
N(3)-C(7)	1,314(5)	1,309	1,324
N(3)-N(2)	1,410(4)	1,386	1,377
N(2)-C(6)	1,310(5)	1,301	1,307
C(7)-C(9)	1,424(6)	1,421	1,419
O(2)-C(10)	1,305(5)	1,287	1,283
C(11)-C(16)	1,380(7)	1,395	1,402
N(1)-C(2)	1,338(5)	1,332	1,345
C(1)-C(2)	1,380(6)	1,387	1,379
M-O(1)	2,013(3)	1,999	2,176
M-O(2)	1,953(3)	1,973	2,136
M-N(3)	1,963(3)	2,008	2,154
Ângulos (°)			
C(6)-N(2)-N(3)	107,4(3)	110,73	112,35
O(1)-C(6)-N(2)	126,3(4)	124,97	126,97
O(1)-C(6)-C(5)	118,6(4)	117,56	117,35
O(2)-C(10)-C(11)	115,2(4)	114,72	115,15
C(7)-N(3)-N(2)	115,9(3)	117,44	115,66
O(2)-C(10)-C(9)	123,9(4)	125,26	125,07
N(3)-C(7)-C(8)	120,7(4)	122,17	119,18
O(1)- M-O(1_a)	86,73(17)	90,63	92,35
O(2)- M-O(2_a)	89,24(18)	90,29	91,56
O(2)- M-N(3)	88,68(13)	89,84	84,86
N(3)- M-O(1)	78,59(12)	78,82	74,40
N(3)-M-N(3_a)	173,45(17)	173,05	172,38
O(2)-M-O(1)	167,19(11)	168,66	159,25
N(2)-N(3)-M	115,5(2)	114,32	115,50

Analisando-se especificamente as ligações dos átomos de oxigênio e nitrogênio com o centro metálico (Ga^{III} e In^{III}) (**figura 43**), verifica-se que ambas as estruturas otimizadas (**GaL1** e **InL1**) se ligam mais fortemente ao átomo de oxigênio do ligante derivado da benzoilacetona (Ga-O(2)=1,973 Å e In-O(2)=2,136 Å) que ao oxigênio derivado da isoniazida (Ga-O(1)=1,999 Å e In-O(1)=2,176 Å), similar as distâncias de ligação observadas nos dados obtidos experimentalmente para o **GaL1** (Ga-O(2)=1,953(3) Å e Ga-O(1)=2,013(3) Å). As ligações Ga-N(3) e In-N(3) das estruturas otimizadas possuem distâncias de ligações de 2,008 e 2,154 Å, respectivamente, deste modo, mais longas que as ligações calculadas para Ga-O(2) e In-O(2), o que também corrobora com os dados experimentais do complexo **GaL1**.

Figura 43 - Poliedros de coordenação dos octaedros distorcidos das estruturas **GaL1** (experimental e calculada) e **InL1** (calculada), com os valores de comprimentos de ligação (Å).



Também se verifica na **figura 43**, que todas as ligações envolvendo o centro metálico de índio possuem valores calculados de distância maiores quando comparadas as ligações envolvendo o centro metálico de gálio. Isto surge como um efeito do maior raio iônico octaédrico do índio ($\text{In}^{3+} = 0,80 \text{ \AA}$ e $\text{Ga}^{3+} = 0,62 \text{ \AA}$), levando a ligações mais longas com os átomos doadores de nitrogênio e oxigênio, assim como reportado na literatura (SUN et al., 1996; PRADO et al, 2021).

De forma geral, a análise de DRX de monocristal levou a elucidação da estrutura molecular do complexo **GaL1**, estando a mesma de acordo com a estrutura proposta para este trabalho e em concordância com os estudos realizados em solução. Adicionalmente, foi possível otimizar através de cálculos computacionais as estruturas dos complexos **GaL1**, **GaL2**, **InL1** e **InL2**, utilizando-se como modelo inicial os dados experimentais cristalográficos do complexo **GaL1**.

4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

4.2.2.1 Ligantes

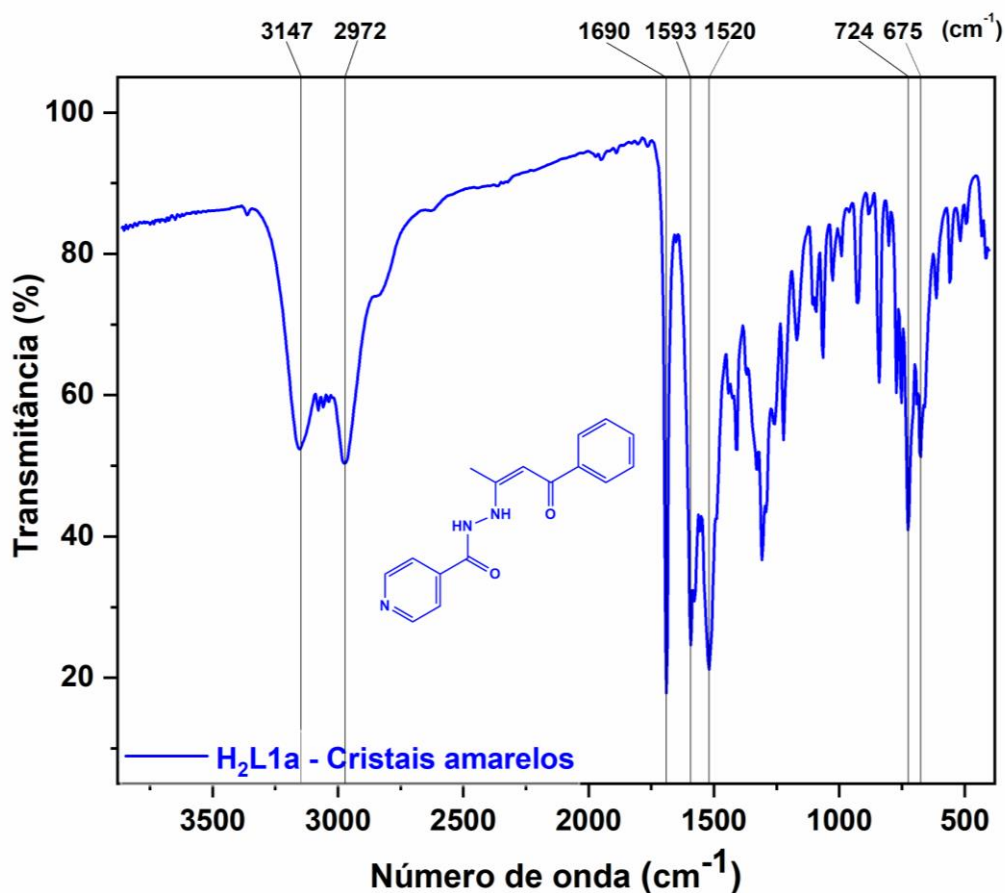
Na seção anterior relacionada a difração de raios X de monocristal, mostrou-se que os cristais amarelos e incolores, isolados de ambos os ligantes (**H₂L1** e **H₂L2**) após cristalização em etanol, referem-se a presença de tautômeros de cadeia aberta (**H₂L1a** e **H₂L2a**) e cadeia fechada (**H₂L1f** e **H₂L2f**), respectivamente. A investigação estrutural dos cristais isolados dos ligantes foi realizada por espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV).

4.2.2.1.1 Tautômeros de cadeia aberta - **H₂L1a** e **H₂L2a**

Na **figura 44**, é apresentado o espectro de infravermelho do composto sólido **H₂L1a**, dissolvido em pastilha de KBr, com as principais bandas a serem discutidas em destaque.

As bandas largas em 3147 e 2972 cm⁻¹, foram atribuídas majoritariamente a vibrações de deformação axial $\nu(\text{N-H})$ da hidrazida. Os hidrogênios ligados aos átomos de nitrogênio participam de ligações de hidrogênio intra- e intermoleculares, contribuindo para o alargamento das bandas. O ligante **H₂L1a** possui mais dois grupos funcionais com modos vibracionais esperados para a mesma região da hidrazida, os grupos dos anéis piridina e fenil.

Figura 44 - Espectro de IV do composto **H₂L1a** (pastilha de KBr).



Piridinas substituídas possuem modos vibracionais similares aos encontrados nos anéis derivados do benzeno, com os átomos de hidrogênio adjacentes dos dois grupos estando correlacionados, e com o nitrogênio do grupo piridina (o qual não possui hidrogênio) apresentando comportamento similar ao observado para um carbono substituído (LIN-VIEN et al., 1991). Desta forma, os anéis aromáticos de ambos os grupos devem apresentar bandas vibracionais de estiramento $\nu(\text{C-H})$ na região de 3100-3000 cm^{-1} (SOCRATES, 2004; LIN-VIEN et al., 1991), podendo estas bandas estarem sobrepostas pelas intensas bandas $\nu(\text{N-H})$ da hidrazida. Uma forte banda aparece na região de 1690 cm^{-1} , a qual é característica das vibrações de deformação axial da carbonila $\nu(\text{C=O})$. Já as bandas observadas em 1593 e 1520 cm^{-1} , foram atribuídas as vibrações moleculares de estiramentos $\nu(\text{C=C})$ e $\nu(\text{C=N})$.

Na região de baixa frequência do espectro, destacam-se duas bandas com intensidade máxima em 724 e 675 cm^{-1} , que por sua vez foram atribuídas como

bandas de deformação angular fora do plano $\nu(\text{C-H})$ dos grupos aromáticos, que normalmente apresentam intensidade de absorção forte na região de $900\text{-}650\text{ cm}^{-1}$. Estas vibrações possuem padrões característicos de acordo com o número de átomos de hidrogênio presentes no anel aromático (SOCRATES, 2004; VARSÁNYI, 2012), onde, para anéis monosubstituídos, a banda na região de maior frequência normalmente apresenta maior intensidade do que a primeira (SOCRATES, 2004), como observado do espectro do composto **H₂L1a**.

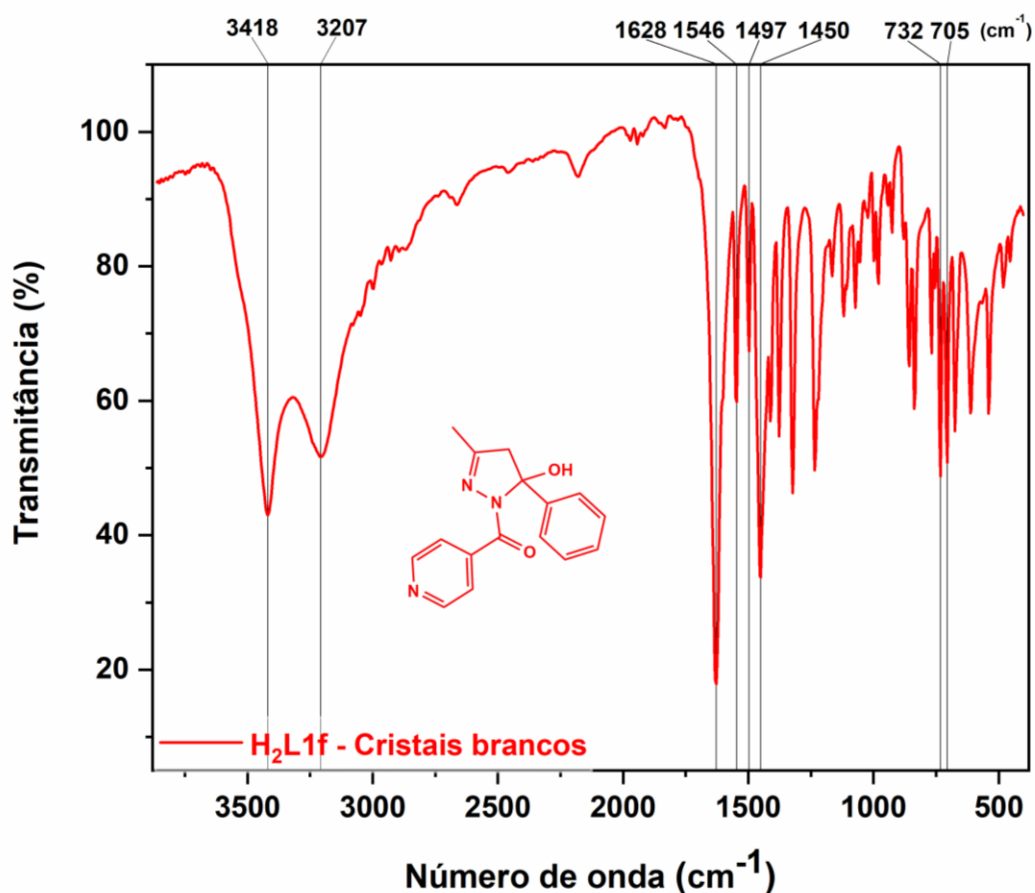
O composto **H₂L2a**, cujo o espectro encontra-se disponível na **figura F1** (apêndice F), apresenta a mesma característica do espectro do composto **H₂L1a**, devido à similaridade estrutural. A banda relativa à ligação C-Cl no anel aromático é de difícil atribuição, pois pode ser encontrada em uma ampla faixa na região de baixa frequência (“fingerprint”) do espectro, onde muitas sobreposições são encontradas. Apesar disso, uma diferente característica entre os espectros dos ligantes **H₂L1a** e **H₂L2a** pôde ser observada na região de baixa frequência do espectro. Para o composto **H₂L2a**, a banda em 690 cm^{-1} apresenta uma clara diminuição de intensidade em relação a banda em 760 cm^{-1} , quando comparada com as bandas em 675 cm^{-1} e 724 cm^{-1} do composto **H₂L1a**. Como discutido anteriormente para o composto **H₂L1a**, estas duas bandas foram atribuídas como bandas de deformação angular fora do plano $\nu(\text{C-H})$ dos grupos aromáticos. Portanto, a diferença de intensidade das bandas entre os compostos **H₂L1a** e o **H₂L2a** pode estar possivelmente associada como um efeito da substituição na posição *para* do átomo de hidrogênio (ligante **H₂L1a**) pelo átomo de cloro (ligante **H₂L2a**), no anel aromático derivado da β -dicetona.

4.2.2.1.2 Tautômeros de cadeia fechada - **H₂L1f** e **H₂L2f**

O espectro de infravermelho do composto **H₂L1f**, dissolvido em pastilha de KBr, encontra-se disponível a seguir, na **figura 45**, com as principais bandas a serem discutidas em destaque.

A primeira banda, em 3418 cm^{-1} , refere-se as vibrações de estiramento axial do grupo OH ligado ao anel pirazólico. O átomo hidrogênio da hidroxila participa da ligação de hidrogênio intermolecular com o oxigênio da molécula de água de cristalização presente na estrutura do **H₂L1f**, como confirmado anteriormente nas análises de difração de raios X de monocristal.

Figura 45 - Espectro de IV do composto **H₂L1f** (pastilha de KBr).

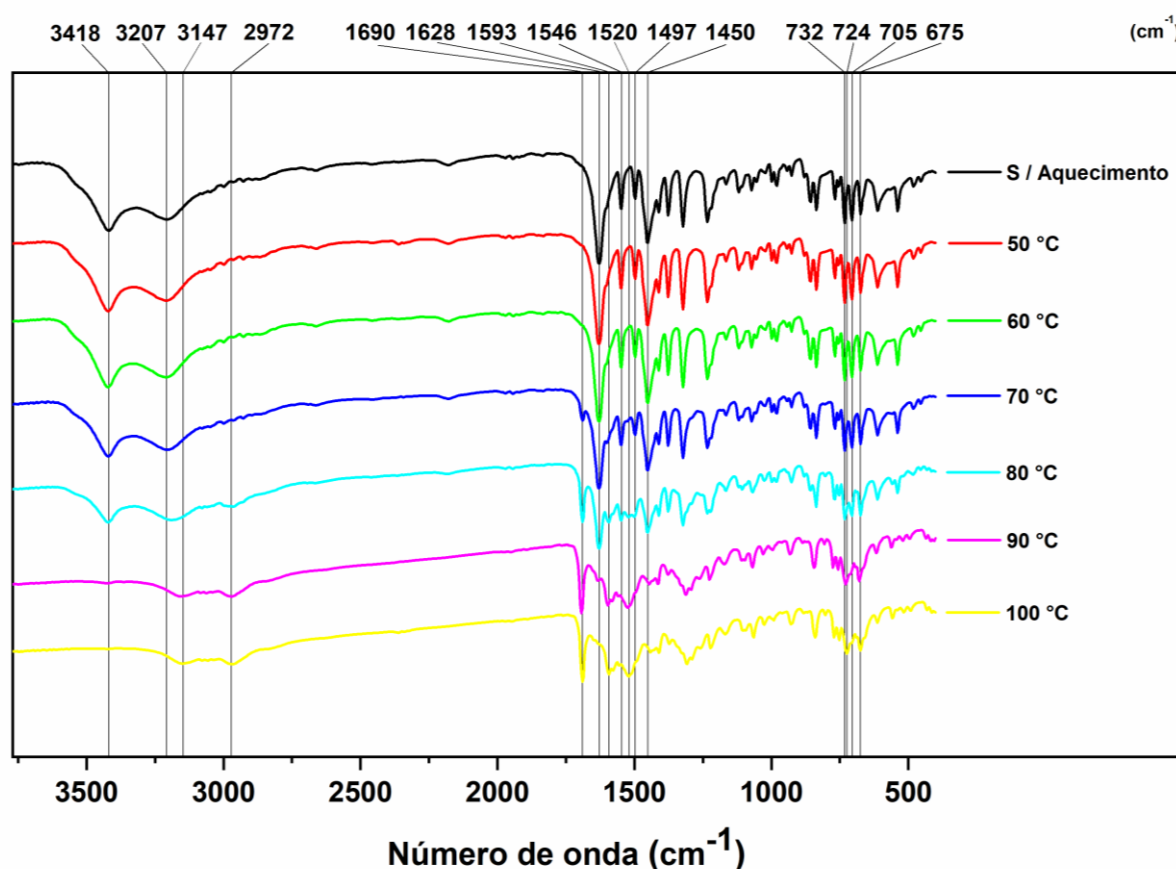


Para este caso, as vibrações de estiramento $\nu(\text{O-H})$ aparecem na região de 3550-3230 cm^{-1} (SOCRATES, 2004), portanto, dentro do que foi observado. As bandas largas em 3207 e 1628 cm^{-1} , foram atribuídas as vibrações de estiramento e de deformação angular, respectivamente, do grupo OH da água de cristalização.

No espectro do composto **H₂L1**, de cadeia acíclica (**H₂L1a**, figura 44), as vibrações de estiramento $\nu(\text{C=O})$ foram atribuídas a banda em 1690 cm^{-1} . Para o tautômero cíclico (**H₂L1f**), esta banda não foi observada. Assim como foi verificado para o grupo OH do anel pirazólico por difração de raios X de monocristal, o grupo carbonila da molécula **H₂L1f** também participa de ligações de hidrogênio com a molécula de água de cristalização, levando assim a um deslocamento da banda de estiramento $\nu(\text{C=O})$ para um valor de menor frequência, de acordo com o que é reportado na literatura (SOCRATES, 2004). Desta forma, a banda de estiramento $\nu(\text{C=O})$ pode apresentar-se sobreposta a banda larga verificada em 1628 cm^{-1} , relativa à vibração de deformação angular grupo OH da água de cristalização.

Visando confirmar a interpretação discutida acima, relativa à diferença nos valores de frequência das vibrações C=O observadas entre os tautômeros **H₂L1a** e **H₂L1f**, submeteu-se os cristais brancos do **H₂L1f** ao aquecimento prévio em estufa em diferentes temperaturas (50, 60, 70, 80, 90 e 100 °C) seguido da análise por IV após 1 hora de aquecimento da amostra em cada temperatura (**figura 46**).

Figura 46 - Espectros de IV do composto **H₂L1f**, após aquecimento da amostra em diferentes temperaturas (pastilha de KBr).



Uma diminuição gradual da banda em 1628 cm^{-1} foi observada com o aumento da temperatura, devido a perda da molécula de água e consequente quebra das ligações de hidrogênio, além do deslocamento da banda C=O do ligante **H₂L1f** para um valor de maior frequência, assim como observado para o composto **H₂L1a**. Observou-se também, a partir de 80 °C, o aparecimento gradual das bandas de estiramento axial das ligações N-H do grupo hidrazida do **H₂L1a**, presente no tautômero de cadeia aberta (3147 e 2972 cm^{-1}). Após aquecimento em 100 °C,

verificou-se que o espectro do **H₂L1f** se tornou idêntico ao espectro do ligante de cadeia aberta **H₂L1a** (não submetido ao aumento de temperatura, **figura 44**), indicando assim, a total conversão do tautômero **H₂L1f** para o tautômero **H₂L1a** após a remoção da água de cristalização, algo também evidenciado pela mudança de coloração dos cristais, de branco para amarelo, durante o aumento temperatura das amostras. Conseqüentemente, estes resultados também indicam que o composto **H₂L1a** é estável termicamente quando submetido até a temperatura analisada de 100 °C.

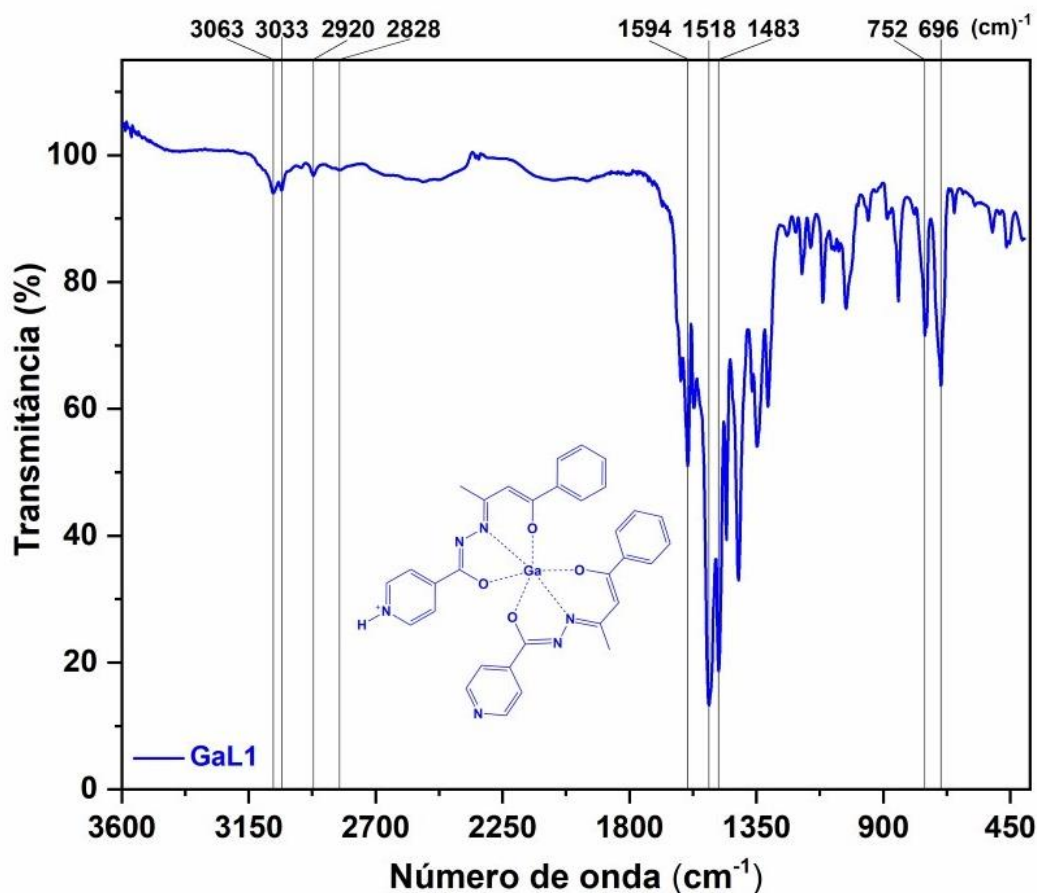
Seguindo a interpretação do espectro de IV na região de menor frequência (**figura 45**), as bandas observadas em 1546 e 1497 cm⁻¹ foram atribuídas às vibrações moleculares de estiramentos $\nu(\text{C}=\text{C})$ e $\nu(\text{C}=\text{N})$. A banda em 1450 cm⁻¹, foi atribuída ao grupo metileno, presente no anel pirazólico, que ocorre devido as vibrações de deformação angular simétrica no plano, normalmente aparecendo como uma banda de intensidade média na região de 1480-1440 cm⁻¹ (SOCRATES, 2004). As bandas observadas em 732 e 705 cm⁻¹, foram atribuídas as bandas de deformação angular fora do plano $\nu(\text{C}-\text{H})$ dos grupos aromáticos.

Os resultados obtidos pelo espectro de IV do ligante **H₂L2f**, bem como o estudo do sólido após tratamento em diferentes temperaturas, seguem a mesma interpretação realizada para o composto **H₂L1f**, e encontram-se disponíveis no apêndice F (**figuras F2 e F3**).

4.2.2.2 Complexos de gálio e índio

A análise dos compostos **GaL1** e **GaL2**, por IV em pastilha de KBr, evidenciou a reação de coordenação dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** com o gálio proveniente do precursor $[\text{Ga}(\text{acac})_3]$, na proporção estequiométrica 2:1, respectivamente. Na **figura 46**, apresenta-se o espectro de IV do complexo **GaL1**.

Figura 47 - Espectro de IV do complexo **GaL1**.



As bandas largas com frequências em 3147 e 2972 cm⁻¹, presentes no espectro do ligante **H₂L1a** (figura 44), relativas as vibrações de deformação axial $\nu(\text{N-H})$ da hidrazida, não foram observadas no espectro do complexo **GaL1**, evidenciando a coordenação do átomo de nitrogênio com o gálio. Na região de alta frequência do espectro do **GaL1**, são observadas vibrações de estiramento que não puderam ser observadas no espectro do ligante livre, por estarem sobrepostas pelas bandas largas e mais intensas do grupo hidrazida. Tais bandas, em 3063 e 3033 cm⁻¹, foram atribuídas como vibrações de estiramento $\nu(\text{C-H})$ dos anéis aromáticos, que ocorrem na região de 3100-3000 cm⁻¹ (SOCRAATES, 2004; LIN-VIEN et al., 1991). Em uma região de frequência mais baixa, bandas com intensidade ligeiramente menores que as observadas para as vibrações $\nu(\text{C-H})$ dos anéis aromáticos, foram identificadas como vibrações de estiramento $\nu(\text{C-H})$ do grupo metil derivado da benzoilacetona, com as bandas em 2920 e 2828 cm⁻¹ atribuídas as vibrações assimétricas e

simétricas, respectivamente, estando de acordo com o reportado na literatura (SOCRATES, 2004).

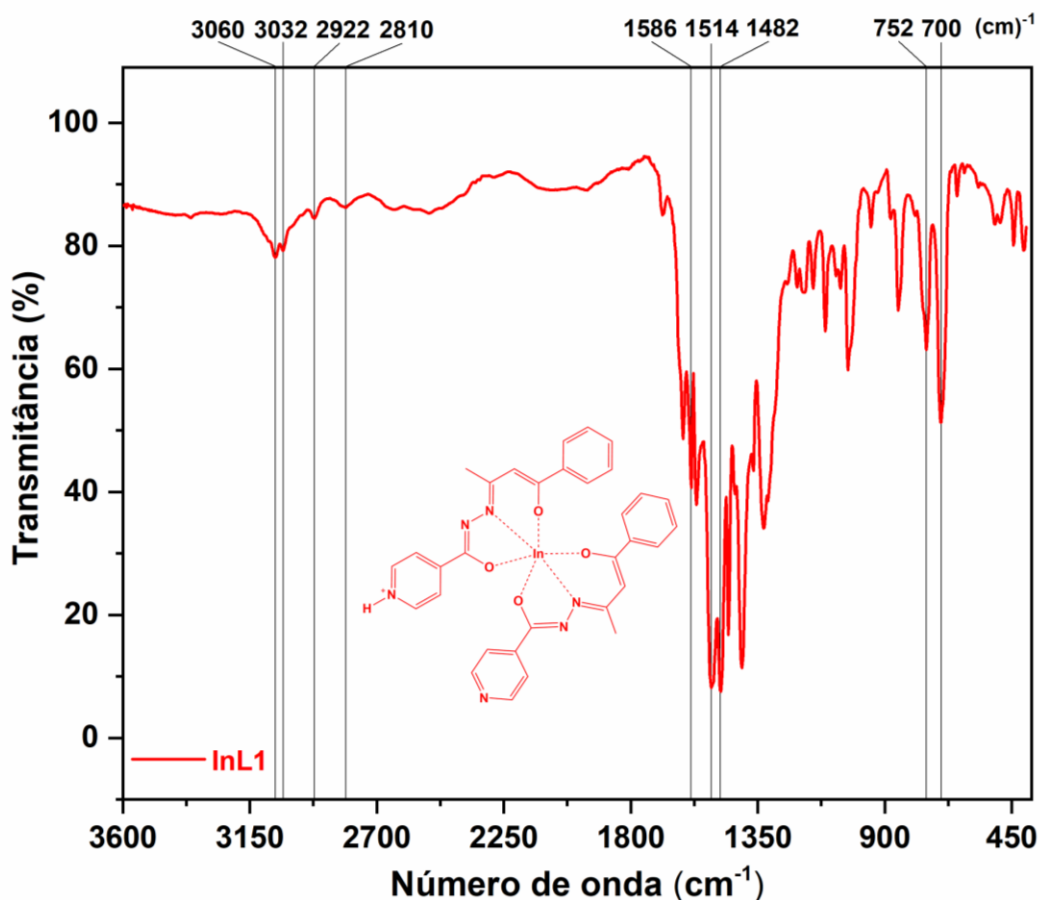
A não observação no espectro da banda relativa as vibrações da piridina protonada (PyH⁺), presente no complexo zwitteriônico, pode ser explicado pela rede de ligações de hidrogênio intermoleculares entre os átomos de nitrogênio das piridinas protonadas e não protonadas do complexo **GaL1**, como foi verificado na elucidação da estrutura pela análise de difração de raios X de monocristal. Um outro efeito das ligações de hidrogênio é observado no espectro, que possui duas bandas largas nas regiões de frequência 1900-2200 cm⁻¹ e 2400-2700 cm⁻¹. Reporta-se na literatura (BELLAMY, 1958), que a presença de ligações de hidrogênio NH---N, como as que ocorrem com a participação do íon piridina, leva ao aparecimento de duas bandas largas na região de 2000 cm⁻¹ e 2500 cm⁻¹, o que está de acordo com o que foi observado no espectro do complexo (**figura 47**).

A vibração de deformação axial da carbonila $\nu(\text{C}=\text{O})$, que foi identificada para o ligante **H₂L1** em 1690 cm⁻¹, foi observada para o complexo em 1594 cm⁻¹. Esta redução da frequência de absorção ocorre como consequência da reação de coordenação, uma vez que a deslocalização dos elétrons π reduz o caráter de ligação dupla da carbonila, levando a uma absorção em um menor valor de frequência. O mesmo pode ser observado para as vibrações moleculares de estiramentos $\nu(\text{C}=\text{C})$ e $\nu(\text{C}=\text{N})$, que no ligante foram observadas nas frequências de 1593 e 1520 cm⁻¹, e no complexo apresentaram-se deslocadas para menores valores de frequência (1518 e 1483 cm⁻¹, respectivamente). As duas bandas de maior intensidade na região de baixa frequência (752 e 696 cm⁻¹), foram atribuídas as bandas de deformação angular fora do plano $\nu(\text{C}-\text{H})$ dos grupos aromáticos.

Devido as semelhanças estruturais, como já discutido anteriormente para os ligantes, o complexo **GaL2** teve a atribuição de suas bandas de IV seguindo a mesma interpretação discutida acima para o complexo **GaL1**, e o espectro encontra-se disponível na **figura F4**, apêndice F.

A análise dos complexos de índio (**InL1** e **InL2**) por IV em pastilha de KBr, evidenciou a reação de coordenação dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** com o índio, proveniente do precursor $[\text{In}(\text{acac})_3]$, na proporção estequiométrica 2:1, respectivamente. O espectro de IV obtido para o complexo **InL1**, encontra-se disponível na **figura 48**.

Figura 48 - Espectro de IV do complexo InL1.



Assim como discutido anteriormente para os complexos de gálio, as bandas largas relativas as vibrações de deformação axial $\nu(\text{N-H})$ da hidrazida do **H₂L1a** (figura 44), com frequências em 3147 e 2972 cm⁻¹, não foram observadas no espectro do complexo **InL1**, como evidência da coordenação dos átomos de nitrogênio com o índio. As bandas em 3060 e 3032 cm⁻¹, foram atribuídas como vibrações de estiramento $\nu(\text{C-H})$ dos anéis aromáticos (SOCRAATES, 2004; LIN-VIEN et al., 1991). As bandas em 2922 e 2810 cm⁻¹, foram interpretadas como vibrações de estiramento $\nu(\text{C-H})$ assimétricas e simétricas, respectivamente, do grupo metil derivado da benzoilacetona, estando de acordo com o reportado na literatura (SOCRAATES, 2004).

A presença de duas bandas largas nas regiões de frequência 1900-2200 cm⁻¹ e 2400-2700 cm⁻¹, bem como a não observação de bandas de vibração da piridina protonada (PyH⁺), presente no complexo zwitteriônico de índio, evidenciam a presença de rede de ligações intermoleculares entre os átomos de

nitrogênio das piridinas protonadas e não protonadas do complexo **InL1**, seguindo a mesma interpretação discutida anteriormente para o complexo **GaL1**.

As vibrações moleculares $\nu(\text{C}=\text{O})$, $\nu(\text{C}=\text{C})$ e $\nu(\text{C}=\text{N})$, foram atribuídas as bandas presentes em 1586, 1514 e 1482 cm^{-1} , respectivamente. A absorção dessas bandas, apresentam-se deslocadas para menores valores de frequência, quando comparadas as absorções dos mesmos grupos presentes no espectro do ligante livre (**H₂L1a**, **figura 44**), como consequência da formação do composto de coordenação de índio. As bandas em 752 e 700 cm^{-1} , foram atribuídas as vibrações de deformação angular fora do plano $\nu(\text{C}-\text{H})$ dos grupos aromáticos.

Comparando-se o espectro de IV do **InL1** (**figura 48**), com espectro do complexo **GaL1** (**figura 47**), verifica-se que ambos possuem bandas com a mesma característica, com diferenças pouco relevantes entre os valores de frequências de absorção. A mudança do centro de metálico, de Ga^{III} para In^{III} , portanto, não foi responsável por nenhuma diferença significativa no estado sólido que pudesse ser observada pela técnica de espectroscopia de infravermelho.

As bandas de IV do complexo **InL2**, foram atribuídas seguindo a mesma interpretação discutida acima para o complexo **InL1**, e o espectro encontra-se disponível na **figura F5** (apêndice F).

4.2.3 Ponto de fusão (PF)

Todos os compostos (ligantes e complexos), os quais foram secos em alto vácuo previamente às análises, apresentaram ponto de fusão com valores observados dentro de uma pequena faixa de 2 °C, o que evidencia a pureza das amostras.

Para os ligantes **H₂L1** e **H₂L2**, foram analisados separadamente os sólidos isolados dos tautômeros de cadeia aberta (**H₂L1a** e **H₂L2a**, amarelo) e fechada (**H₂L1f** e **H₂L2f**, sólido branco). Os compostos **H₂L1a** e **H₂L2a** apresentaram pontos de fusão na faixa de 162-164 °C e 185-187 °C, respectivamente. Ambos os tautômeros **H₂L1f** e **H₂L2f**, apresentaram uma gradativa mudança de coloração branca para amarela, com início em torno de 80 °C e fim por volta de 100 °C. Após esta faixa de temperatura, nenhuma mudança foi observada nos cristais amarelos até a fusão dos compostos, as quais ocorreram nas mesmas faixas de temperatura observadas para os compostos **H₂L1a** e **H₂L2a**. Estes resultados, portanto, estão de

acordo com as observações realizadas nas análises dos ligantes por IV, **seção 4.2.2.1.2**, onde o aquecimento dos cristais brancos, e a consequente perda da molécula de água presente na estrutura, levou a total conversão do composto cíclico para o composto acíclico (**H₂L1a** ou **H₂L2a**).

Os complexos apresentam pontos de fusão consideravelmente mais elevados que o observado para os seus respectivos ligantes livres, com valores de 262-264 °C (**GaL1**), 258-260 °C (**InL1**), 242-244 °C (**GaL2**), e 290-292 °C (**InL2**).

4.2.4 Análise elementar (AE)

Os compostos, previamente secos em alto vácuo (temperatura de aproximadamente 40 °C), foram analisados para a determinação das porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio, como mostrado na **tabela 10**. Comparando-se os valores de C, H e N (%) calculados com os obtidos experimentalmente, verifica-se que todos os compostos apresentam composições condizentes com as estruturas propostas, onde, para o ligante **H₂L2** e os complexos **GaL1** e **InL2**, os valores encontrados apresentam uma maior concordância com a presença de uma molécula de água por molécula de composto.

Tabela 10 - Valores calculados e experimentais para as porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes nos ligantes e nos complexos.

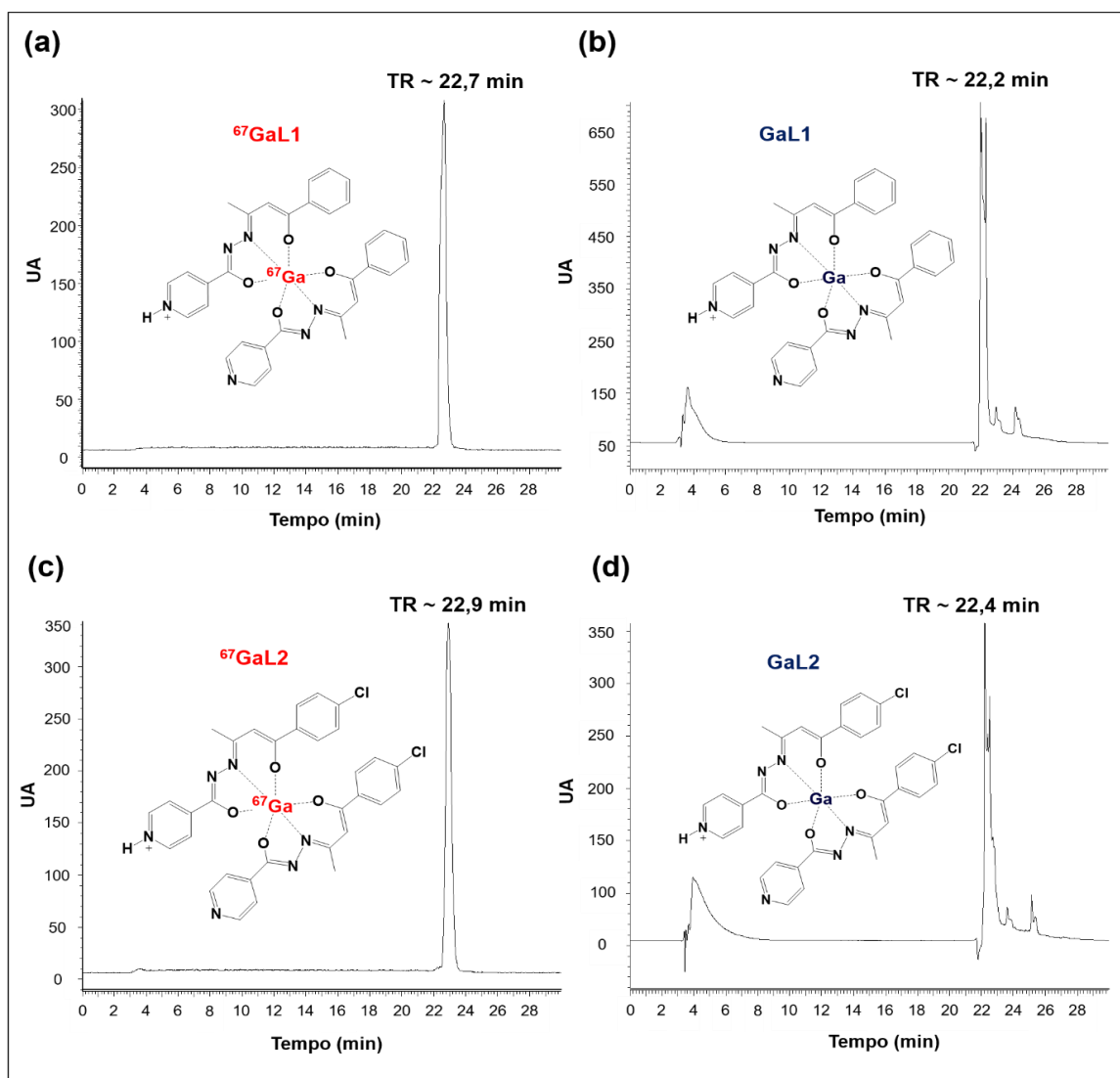
Composto	Calculado (%)	Experimental (%)
H₂L1	C 68,31; H 5,37; N 14,94	C 68,48; H 5,43; N 14,77
H₂L2·H₂O	C 57,58; H 4,83; N 12,59	C 58,04; H 4,40; N 13,31
GaL1·H₂O	C 59,37; H 4,52; N 12,98	C 58,87; H 4,48; N 13,28
InL1	C 56,99; H 4,04; N 12,46	C 56,45; H 4,43; N 12,00
GaL2	C 55,05; H 3,61; N 12,04	C 54,88; H 4,01; N 11,82
InL2·H₂O	C 50,48; H 3,57; N 11,04	C 50,68; H 4,01; N 10,86

4.3 Estudos de estabilidade e de interação *in vitro* dos complexos de Ga^{III} e In^{III} com biomoléculas

4.3.1 Radiomarcagem dos ligantes com gálio-67

As sínteses dos radiocomplexos de gálio-67 foram realizadas a partir de soluções de ⁶⁷GaCl₃ em tampão de acetato de sódio (pH ~ 5), adicionadas em soluções dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** em EtOH (detalhes experimentais na **seção 3.3.1**). Na **figura 49**, apresenta-se os cromatogramas de HPLC dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** marcados com o gálio-67 e dos complexos análogos não radioativos **GaL1** e **GaL2**.

Figura 49 - Cromatogramas de HPLC (Nucleosil C18 5 μm, A - 0,05% TFA, B - 100% MeCN) dos radiocomplexos **(a)** ⁶⁷GaL1 e **(c)** ⁶⁷GaL2, e de seus respectivos análogos não radioativos (complexos “frios”) **(b)** GaL1 e **(d)** GaL2.



Os espectros de HPLC confirmaram uma eficiente radiomarcção dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** com o gálio-67, onde não foi observado o pico relativo ao precursor metálico ⁶⁷GaCl₃ (TR ~ 4 min, apêndice G (**figura G1**)), e com a presença de um único pico para ambos os radiocomplexos, com tempo de retenção (TR) de aproximadamente 22,7 minutos para o ⁶⁷GaL1, **figura 49(a)**, e de 22,9 minutos para ⁶⁷GaL2, **figura 49(c)**. Confirmou-se que tais picos observados se referem aos radiocomplexos propostos, através dos cromatogramas de HPLC obtidos para os complexos não radioativos (“frios”) **GaL1**, **figura 49(b)** e **GaL2**, **figura 49(d)**. Não foi possível obter cromatogramas de HPLC dos complexos frios com a mesma qualidade dos que foram obtidos para os complexos quentes, em virtude provavelmente da diferença de concentração das amostras dos complexos frios, relativamente mais concentradas. No entanto, visualiza-se claramente nos cromatogramas dos complexos frios a predominância dos picos com tempos de retenção semelhantes aos observados para as espécies quentes, de aproximadamente 22,2 e 22,4 minutos para os complexos **GaL1** e **GaL2**, respectivamente. Os tempos de retenção característicos dos complexos frios apresentaram-se um pouco menores que os observados para os complexos quentes. Isto ocorre devido as distâncias ligeiramente diferentes percorrida pelas amostras até os detectores de UV, para os complexos frios, e de radiação γ , para os radiocomplexos. O curto tempo necessário para a eficiente síntese dos radiocomplexos ⁶⁷GaL1 e ⁶⁷GaL2 (15 min), com o aquecimento do sistema durante a reação em uma temperatura branda (50 °C), confirmam uma elevada afinidade do gálio(III) pelos ligantes **H₂L1** e **H₂L2**.

4.3.2 Determinação da lipofilicidade

A lipofilicidade dos radiocomplexos foi avaliada determinando-se o coeficiente de partição ($\log P_{o/w}$), em um sistema bifásico *n*-octanol/PBS 0,1M utilizando-se o método de múltiplas extrações (detalhes na **seção 3.3.2**). Os resultados foram apresentados na forma de $\log P_{o/w}$, a partir dos dados extraídos das análises em triplicata de cada fase (**tabela 11**). Ambos os radiocomplexos analisados mostram-se lipofílicos, no entanto, os resultados indicam uma lipofilicidade ligeiramente maior do ⁶⁷GaL2 ($\log P = 2,06$), em relação ao ⁶⁷GaL1 ($\log P = 1,80$). Considerando que o ligante **H₂L2** difere do **H₂L1** unicamente pela presença de um átomo de cloro na

posição *para* no anel aromático derivado da β -dicetona, ao invés de um átomo de hidrogênio na mesma posição, sugere-se que o átomo de cloro do **H₂L2** contribui com o caráter lipofílico do **⁶⁷GaL2**. Este resultado está de acordo com o proposto na literatura, onde cita-se que a inclusão de halogênios em uma molécula pode levar a um aumento do seu caráter lipofílico e hidrofóbico (PRIIMAGI et al., 2013).

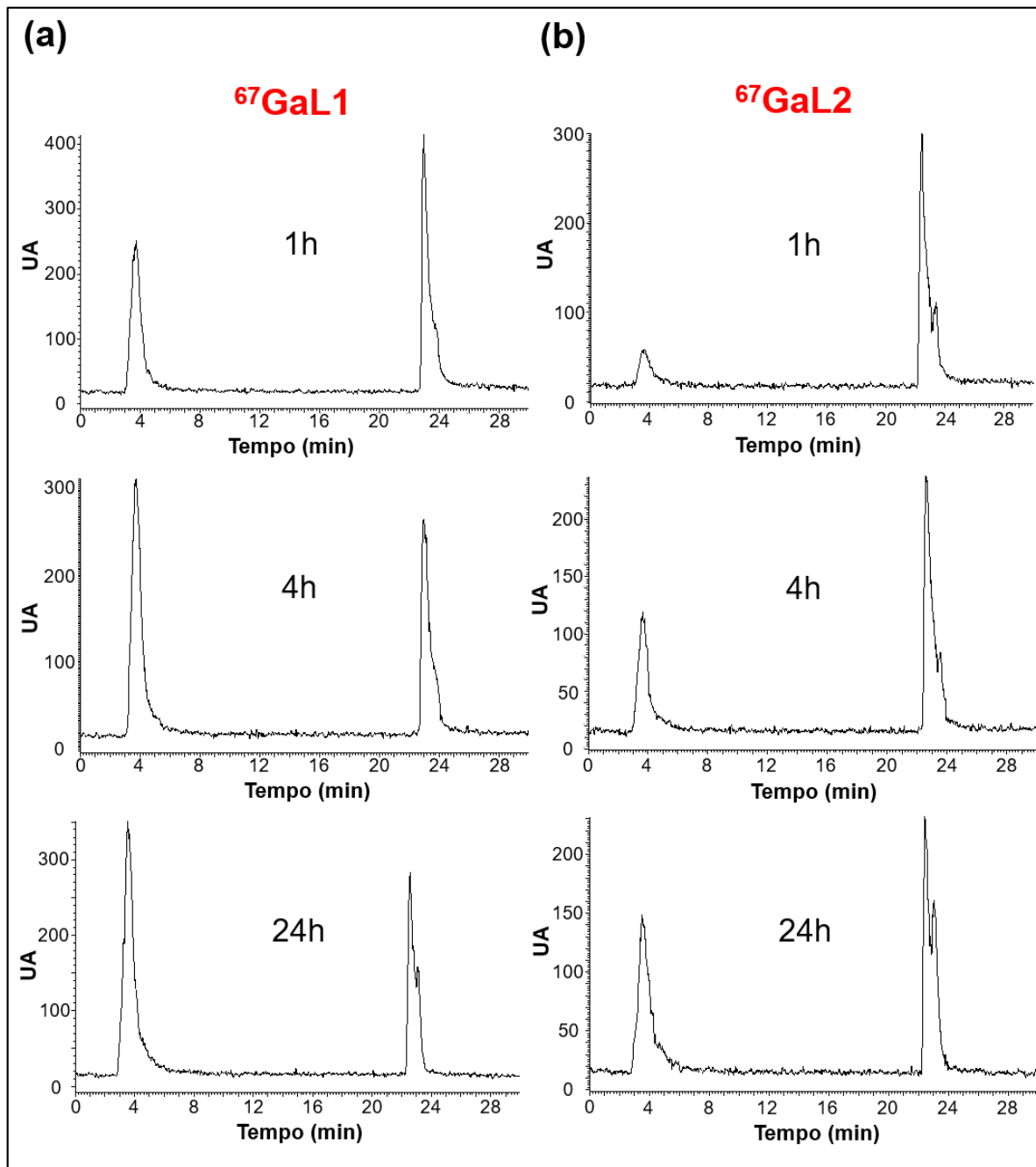
Tabela 11 - Determinação da lipofilicidade dos radiocomplexos de gálio-67. Valores de atividade descritos em cpm (contagem por minuto) obtidos em um contador de radiação γ e valores de $\log P_{o/w}$ calculados através da média das frações.

	Atividade (cpm)			
	⁶⁷ GaL1		⁶⁷ GaL2	
	Octanol	PBS	Octanol	PBS
Fração 1:	718305,3	13752,6	546655,7	5167,9
Fração 2:	754036,6	13145,8	575414,1	5511,7
Fração 3:	781993,6	8363,5	575528,8	4092,0
	$\log P_{o/w} = 1,80$		$\log P_{o/w} = 2,06$	

4.3.3 Ensaio de estabilidade dos complexos de gálio-67 em apo-transferrina

A estabilidade dos compostos em solução de apo-transferrina (apo-Tf) foi controlada por HPLC, após 1, 4 e 24 h de incubação a 37 °C (**figura 50**). O radiocomplexo **⁶⁷GaL2** mostrou-se mais estável que o **⁶⁷GaL1** após 1h de incubação, no entanto, com uma considerável diminuição da estabilidade após 4 h de incubação, observada através da diminuição do pico com tempo de retenção em ~ 23 min, referente ao radiocomplexo, e ao aumento de intensidade do pico em ~ 4 min, relativo ao gálio-67 livre em solução, ou associado a outras espécies. Como descrito detalhadamente na seção introdutória deste trabalho, o Ga^{III} possui uma elevada afinidade pela transferrina, o que pode explicar a reversibilidade parcial observada nos picos dos cromatogramas do **⁶⁷GaL1** e do **⁶⁷GaL2**, como um possível efeito de reações de transquelação.

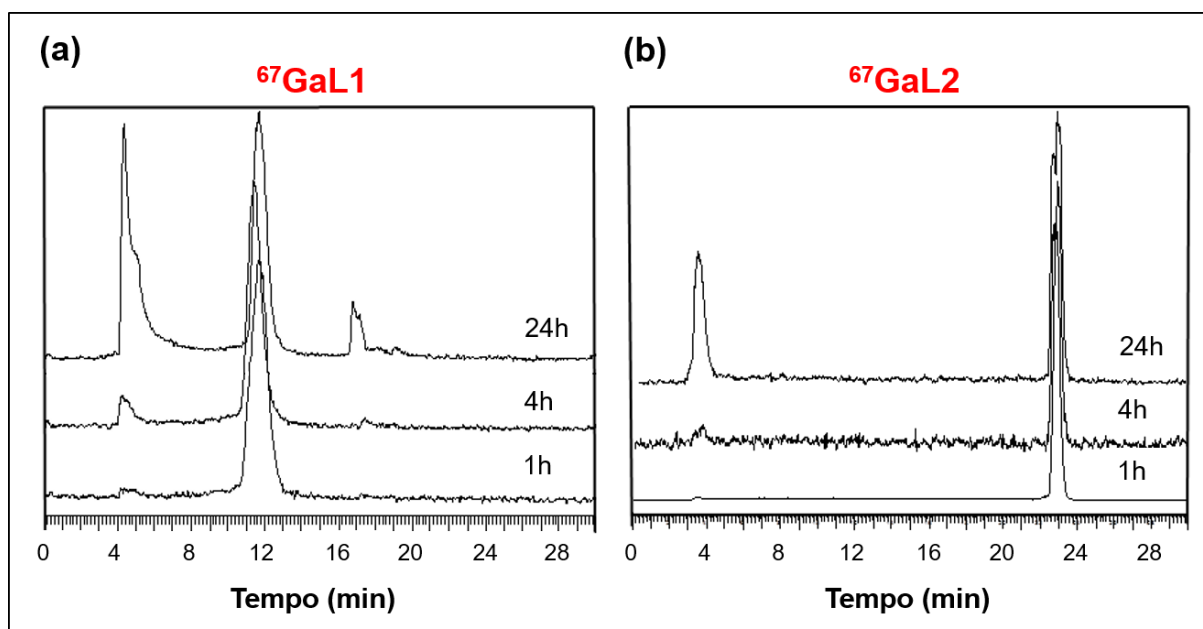
Figura 50 - Cromatogramas de HPLC (Nucleosil C18 5 μ m, A - 0,05% TFA, B - 100% MeCN) dos radiocomplexos **(a) $^{67}\text{GaL1}$** e **(b) $^{67}\text{GaL2}$** , incubados com apo-Tf (37 $^{\circ}\text{C}$) e analisados por HPLC em diferentes intervalos de tempo.



4.3.4 Ensaios de estabilidade dos complexos de gálio-67 em soro humano

Especificamente para a análise de interação com o soro humano, a marcação do ligante **H₂L1** com o gálio-67 (**⁶⁷GaL1**) foi realizada em um diferente momento nesta pesquisa, em uma coluna com diferente diâmetro e com um maior fluxo (resultado da radiomarcagem e métodos empregados descritos nas **figuras G2, G3** e na **tabela G1**). Por esta razão, na marcação do **H₂L1** com o gálio-67 para a análise de estabilidade com soro humano, **figura 51 (a)**, o tempo de retenção referente ao pico **⁶⁷GaL1** foi identificado em aproximadamente 12 min, portanto com menor TR em relação ao que foi observado nos cromatogramas de HPLC da marcação do **H₂L1** com o gálio-67, **figura 49(a)**, e nos ensaios de estabilidade do **⁶⁷GaL1** com a apo-transferrina **figura 50(a)**, onde foram verificados valores de TR entre 22 e 23 min, cujos métodos estão descritos na **seção 3.3.1.3**.

Figura 51 - Cromatogramas de HPLC (Nucleosil C18 5 µm, A - 0,05% TFA, B - 100% MeCN) dos radiocomplexos **(a) ⁶⁷GaL1** e **(b) ⁶⁷GaL2**, incubados em SH (37 °C) e analisados por HPLC em diferentes intervalos de tempo.



A estabilidade dos compostos em soro humano (SH) foi controlada por HPLC, após 1, 4 e 24 h de incubação à 37 °C (**figura 51**). As soluções de marcação dos radiocomplexos **⁶⁷GaL1** e **⁶⁷GaL2** apresentaram estabilidade adequada até às

4 h de incubação, com apenas uma ligeira libertação do radiometal para o ⁶⁷GaL1. No entanto, após 24 h de incubação observou-se uma acentuada diminuição de estabilidade para o ⁶⁷GaL1 em comparação com o radiocomplexo ⁶⁷GaL2, onde para o ⁶⁷GaL1 também foi observado o aparecimento de uma nova espécie no radiocromatograma com tempo de retenção de aproximadamente 16,8 min, devido a uma possível interação do composto com proteínas do SH.

Os estudos com gálio-67 por HPLC permitiram identificar que, embora os complexos ⁶⁷GaL1 e ⁶⁷GaL2 apresentem uma diminuição de estabilidade em ambos os meios estudados (SH e apo-Tf), uma maior estabilidade foi observada nos ensaios com soro humano, principalmente para o radiocomplexo ⁶⁷GaL2. Adicionalmente, foi possível, através da determinação do log de P, evidenciar uma lipofilicidade um pouco maior do radiocomplexo halogenado ⁶⁷GaL2, o que pode, entre diversos fatores, aumentar a permeabilidade celular do mesmo em relação ao complexo com o ligante H₂L1 (STOCKS, 2013).

Os ligantes desenvolvidos neste trabalho não apresentaram marcação eficiente com o índio-111. Desta forma, os radiocomplexos análogos aos complexos não radioativos InL1 e InL2 não puderam ser avaliados *in vitro*.

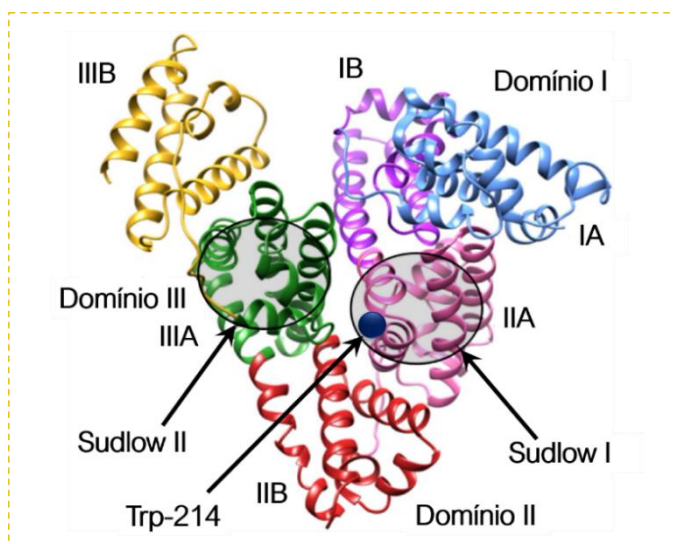
Visando investigar o comportamento *in vitro* dos complexos frente a biomoléculas, com a inclusão dos compostos contendo o centro metálico de índio, análises adicionais de interação com a albumina do soro humano e o DNA foram conduzidas com todos os complexos não radioativos (“frios”), as quais serão apresentadas a seguir.

4.3.5 Ensaios de interação dos complexos de gálio(III) e índio(III) com albumina

A albumina do soro humano (HSA), é a proteína mais abundante no plasma (concentração de ~ 40 mg mL⁻¹), que, dentre diversas funções fisiológicas, realiza o transporte, metabolismo e distribuição de substâncias endógenas e exógenas pelo organismo, incluindo fármacos, podendo também, atuar na dissolução de substâncias com elevada hidrofobicidade (ESPÓSITO; NAJJAR, 2002). As investigações sobre as interações com a HSA, são, portanto, uma importante etapa para o conhecimento de processos farmacocinéticos e farmacodinâmicos de candidatos a fármacos (SATHYADEVI et al., 2012). A cadeia polipeptídica da HSA, que contém 585 resíduos

de aminoácidos, é organizada em três domínios similares, denominados I, II e III, sendo cada um deles divididos em dois subdomínios, chamados A e B (ESPÓSITO; NAJJAR, 2002). Na **figura 52**, apresenta-se a estrutura tridimensional da HSA com a localização destacada dos subdomínios IIA e IIIA (MONDAL et al., 2017). São nesses dois sítios que ocorrem as principais interações de compostos com a HSA. O subdomínio IIA, também chamado de Sudlow I, possui maior afinidade por interações hidrofóbicas, enquanto o subdomínio IIIA, também denominado como Sudlow II, pode envolver um conjunto de interações (hidrofóbicas, eletrostáticas e ligações de hidrogênio) (NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013).

Figura 52 - Estrutura molecular da albumina do soro humano (HSA) com a indicação dos domínios, subdomínios, sítios de ligação (Sudlow I e II) e localização do Trp-214.



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

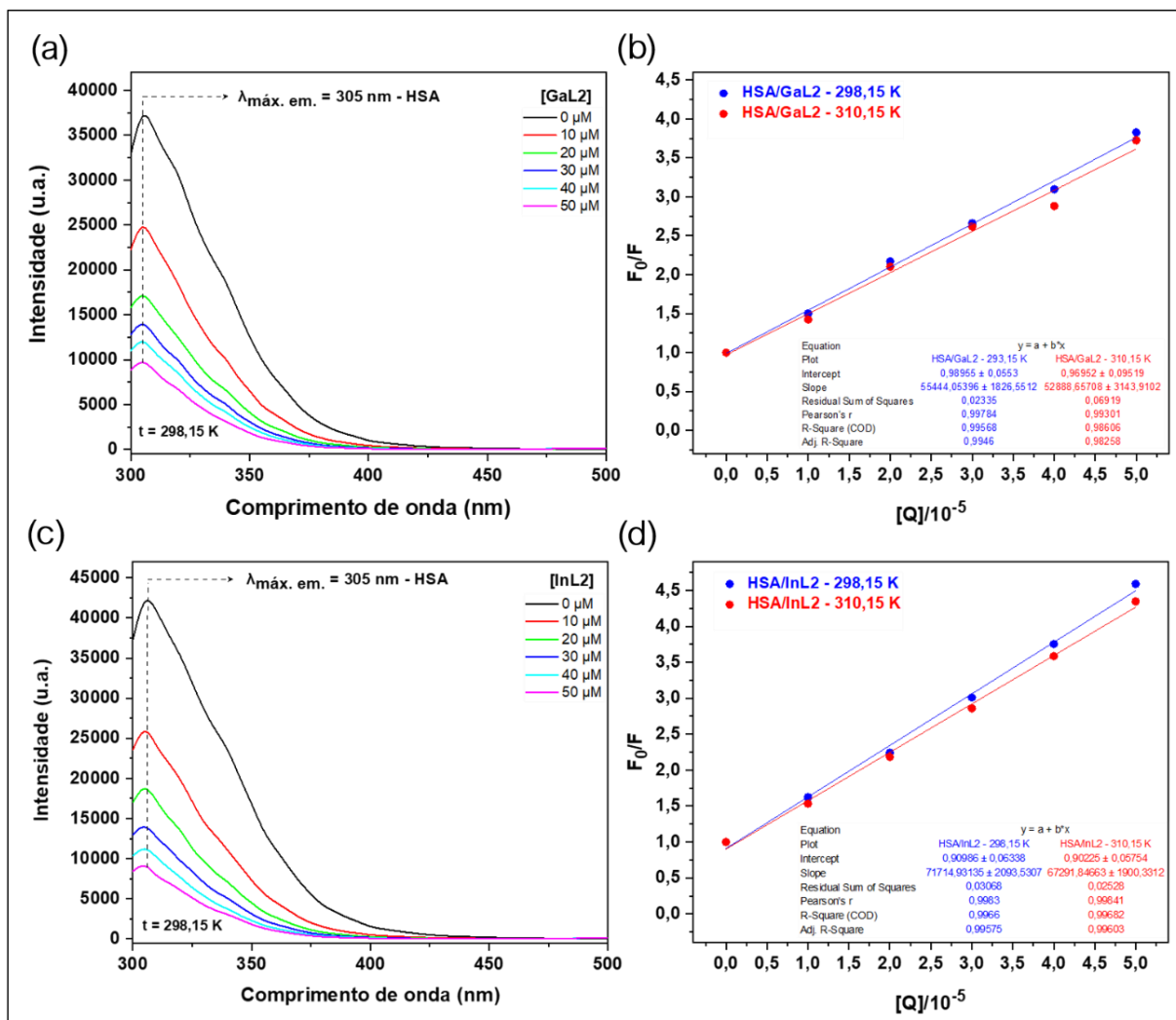
A fluorescência do único resíduo de triptofano presente na HSA, o qual está localizado no sítio Sudlow I na posição 214 (Trp-214), torna a técnica de espectroscopia de fluorescência uma importante ferramenta em estudos de interação de moléculas com a HSA. De forma muito sensível, mudanças conformacionais no microambiente do fluoróforo, causadas por tais interações, podem ser detectadas através da diminuição de intensidade de fluorescência da biomolécula (RIBEIRO et al., 2019; MONDAL et al., 2017).

Através do método discutido acima, foram obtidas informações sobre o mecanismo de supressão, constante de ligação e parâmetros termodinâmicos das interações (HSA-complexo), as quais serão discutidas a seguir.

As análises por espectroscopia de fluorescência, realizadas em tampão Trisma (pH=7,4) nas temperaturas de 298,15 K (25 °C) e 310,15 K (37 °C), mostram a supressão da fluorescência da HSA com o aumento das concentrações dos complexos de gálio e índio (10-50 µM), como mostrado nos espectros do **GaL2** e **InL2**, **figuras 53(a)** e **53(b)**, e nos espectros do **GaL1** e **InL1**, **figura H1(a)** e **H1(b)**, apêndice H, onde a porcentagem de diminuição de intensidade de fluorescência entre a solução de HSA sem complexo e a solução contendo maior concentração dos complexos (50 µM) variou de 66,10% (**HSA-GaL1**) a 78,31% (**HSA-InL2**), na temperatura ambiente (298,15 K).

Os mecanismos de supressão da fluorescência da biomolécula por um agente supressor podem ocorrer através de dois modos, classificados como estático ou dinâmico, podendo ambos ocorrerem simultaneamente, neste caso, de forma menos recorrente (MONDAL et al., 2017). Tais mecanismos podem ser distinguidos em dependência da temperatura ou através de medidas do tempo de vida do fluoróforo (RIBEIRO et al., 2019).

Figura 53 - Espectros de fluorescência ($t = 298,15$ K) da HSA ($5 \mu\text{M}$) em tampão Trisma (10% DMSO) sem e com a adição dos complexos ($10\text{-}50 \mu\text{M}$) (a) **GaL2** e (c) **InL2**. Gráficos F_0/F vs. $[Q]$ dos complexos (b) **GaL2** e (d) **InL2**, nas temperaturas de $298,15$ e $310,15$ K, onde F_0/F representam a intensidade de fluorescência na ausência e presença do complexo, respectivamente, e $[Q]$ se refere a concentração do complexo.



Na supressão estática, forma-se um complexo HSA-composto com diminuição de fluorescência em função do aumento da temperatura, portanto, a constante de Stern-Volmer (K_{SV}), **equação 2 (seção 3.3.4.1)**, diminui o seu valor com o aumento da temperatura. Já na supressão dinâmica, ocorre uma colisão entre o agente supressor e o fluoróforo no tempo de vida do estado excitado. Neste processo, o fluoróforo retorna ao estado fundamental emitindo um fóton. Por ser um mecanismo dependente de difusão, um aumento de temperatura leva a maiores valores de K_{SV} (MONDAL et al., 2017).

A partir dos dados disponíveis na **tabela 12**, verifica-se que os complexos **GaL1**, **GaL2** e **InL2** apresentam maiores valores de K_{sv} na maior temperatura (310,15 K), o que indica a presença de um mecanismo estático. Embora o complexo **InL1** tenha apresentado um menor valor de K_{sv} com o aumento da temperatura, os dados da constante de velocidade de supressão bimolecular (k_q), obtidos através da **equação 2**, revelam valores para o **InL1** - e todos os outros complexos - na ordem de 10^{12} , o que reforça a proposta de um mecanismo de interação estático com a HSA, já que mecanismos dinâmicos apresentam valores máximos de k_q na ordem de $2,0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [13,26]. Adicionalmente, a linearidade observada nos gráficos F_0/F vs $[Q]$ das **figuras 53(b), 53(d), H1(b), H3(d)**), corrobora a com presença de um único tipo de mecanismo.

Tabela 12 - Constantes de supressão Stern-Volmer (K_{sv}) e constantes de taxa de supressão bimolecular (k_q) determinadas para os complexos com HSA em diferentes temperaturas.

Compostos	T (K)	$K_{sv} (10^4 \text{ M}^{-1})$	$k_q (10^{12} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1})$	R^2
GaL1	298,15	$3,86 \pm 0,12$	6,22	0,99
	310,15	$3,83 \pm 0,11$	6,18	0,99
GaL2	298,15	$5,54 \pm 0,18$	8,93	0,99
	310,15	$5,29 \pm 0,31$	8,53	0,99
InL1	298,15	$3,45 \pm 0,12$	5,56	0,99
	310,15	$3,61 \pm 0,28$	5,82	0,98
InL2	298,15	$7,17 \pm 0,21$	11,56	0,99
	310,15	$6,73 \pm 0,19$	10,85	0,99

Através dos dados disponíveis na **tabela 13**, verifica-se que os complexos apresentam valores de constante de ligação HSA-complexo (K_b), **equação 3 (seção 3.3.4.1)**, na ordem de 10^5 , indicativo de afinidade de ligações moderadas (NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013), onde os valores sugerem uma maior interação da HSA com o complexo **InL2** (273,15 K = $1,70 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, 310,15 K = $2,57 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$). Todos os complexos possuem valores de n (número sítios de ligação por cada molécula de HSA, **equação 3**) aproximadamente igual a 1, portanto, indicativo de ligações com estequiometria 1:1 (HSA-complexo).

Tabela 13 - Constantes de ligação (K_b), número de sítios de ligação (n) e os parâmetros termodinâmicos ΔH° (kJ mol⁻¹), ΔS° (J mol⁻¹ K⁻¹) e ΔG° (kJ mol⁻¹) determinados para os complexos com HSA em diferentes temperaturas.

Compostos	T (K)	K_b (10 ⁵ M ⁻¹)	n	R ²	ΔG°	ΔH°	ΔS°
GaL1	298,15	1,11 ± 0,11	1,11 ± 0,02	0,99	-28,80	19,72	162,74
	310,15	1,51 ± 0,12	1,14 ± 0,03	0,99	-30,75		162,73
GaL2	298,15	0,89 ± 0,23	1,05 ± 0,05	0,99	-28,25	37,90	221,87
	310,15	1,61 ± 0,39	1,11 ± 0,08	0,98	-30,91		221,86
InL1	298,15	0,88 ± 0,12	1,10 ± 0,03	0,99	-28,22	32,50	203,66
	310,15	1,46 ± 0,40	1,14 ± 0,09	0,98	-30,66		203,64
InL2	298,15	1,70 ± 0,11	1,09 ± 0,02	0,99	-29,85	26,48	188,93
	310,15	2,57 ± 0,03	1,14 ± 0,01	0,99	-32,12		188,94

Os resultados obtidos de K_b nas diferentes temperaturas permitem a obtenção de parâmetros termodinâmicos (ΔH° , ΔS° e ΔG°), **equações 4 e 5 (seção 3.3.4.1)**, os quais podem indicar os tipos de forças intermoleculares presentes nas interações HSA-complexo (RIBEIRO et al., 2019; NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013).

Verifica-se, através dos dados disponíveis na **tabela 13**, que os valores de ΔG° de todos os sistemas HSA-complexo são negativos, indicando a espontaneidade de todas as interações, com valores ligeiramente menores em ambas as temperaturas para a interação da biomolécula com o composto **InL2**. Os valores determinados de ΔH° e ΔS° são positivos para todas as interações, o que é associado na literatura com a presença de interações hidrofóbicas dos compostos com a biomolécula. Neste tipo de interação, as alterações conformacionais causadas pelo agente supressor no fluoróforo levam ao rearranjo de moléculas de água ao redor da proteína, aumentando assim a entropia no ambiente em que ocorre a associação HSA-composto (VELOZO-SÁ et al., 2019; ROSS; SUBRAMANIAN, 1981).

De forma geral, as análises evidenciaram que as interações HSA-complexo são, para todos os compostos, hidrofóbicas e de intensidade moderada. Os resultados indicam maiores intensidades de supressão para os complexos de gálio e índio com o ligante **H₂L2** (**tabela 12**). Como visto na **seção 4.3.2**, a presença do átomo de cloro no **H₂L2** resultou em um maior caráter lipofílico de sua estrutura, em relação ao observado para o **H₂L1**, uma vez que a presença do halogênio aumenta o caráter

lipofílico e hidrofóbico da molécula. Estas observações estão de acordo, portanto, com uma maior supressão da HSA causada pelos complexos **GaL2** e **InL2**, como efeito da maior contribuição do **H₂L2** no caráter hidrofóbico dos complexos.

Ao analisar-se apenas os complexos com o ligante **H₂L2**, os resultados apresentados nas **tabelas 12 e 13** indicam que o complexo com índio (**InL2**) possui maior interação com a biomolécula do que o complexo com gálio (**GaL2**). Esta observação está de acordo com um trabalho na literatura (MUNTEANU et al., 2018), onde complexos octaédricos de gálio e índio foram sintetizados com o mesmo ligante, e uma maior interação com HSA foi observada para o complexo de índio. Os resultados foram interpretados através de estudos de docagem molecular, os quais indicaram uma energia de ligação ligeiramente mais favorável para o complexo de índio nos sítios da biomolécula.

4.3.6 Ensaio de interação dos complexos de gálio(III) e índio(III) com DNA

O ácido desoxirribonucleico (DNA) (WATSON; CRICK; FRANCIS, 1953; SINDEN, 1994) é uma biomolécula alvo de diversos agentes antibióticos e antitumorais, e, como consequência, estudos de interações fármaco-DNA são corriqueiros na área de farmacologia (RESCIFINA et al., 2014). A complexidade estrutural e natureza polimórfica do DNA o torna um “frutífero” alvo de complexos metálicos, através de diversos tipos de interações, de natureza covalente e não-covalente (KOMOR; BARTON, 2013; PAGES et al., 2015; BARRA; NETTO, 2015). Nas interações covalentes, o DNA atua como um ligante, coordenando-se através do grupo fosfato ou das bases nitrogenadas ao centro metálico. O exemplo mais conhecido de um metalofármaco que interage covalentemente com o DNA é a cisplatina, como detalhado na introdução deste trabalho. Nas interações não-covalentes, os complexos metálicos podem interagir com o DNA por diferentes modos, por exemplo, de intercalação, inserção, interações hidrofóbicas entre os sulcos, ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, com diversos exemplos de interações entre complexos metálicos e o DNA (covalente e não-covalente) disponíveis na literatura (KOMOR; BARTON, 2013; PAGES et al., 2015; BARRA; NETTO, 2015; JAMIESON; LIPPARD, 1999; METCALFE; THOMAS, 2003; LIU; SADLER, 2011; ŁĘCZKOWSKA; VILAR, 2012).

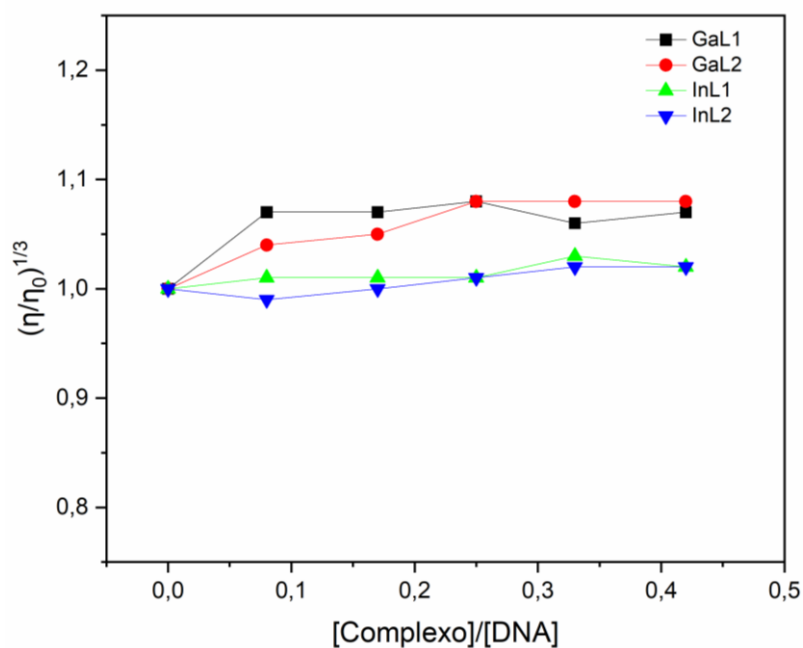
Neste trabalho, os estudos de interação de DNA foram realizados através de três técnicas experimentais: viscosidade, espectroscopia de dicroísmo circular e espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível.

4.3.6.1 Análises de viscosidade

A análise de viscosidade é considerada uma das mais precisas para se avaliar interações complexo-DNA em solução (SCRUGGS; ROSS, 1964; BAROLLI et al., 2017; RIBEIRO et al., 2019). Quando ocorre uma interação covalente, a distorção da dupla hélice leva a uma diminuição do comprimento da biomolécula, levando a uma diminuição de viscosidade na solução de DNA. Por outro lado, uma interação por intercalação leva a um aumento no comprimento da molécula de DNA, que ao acomodar o complexo, passa a ter os seus pares de bases mais separados, levando a um aumento de viscosidade da solução de DNA. Quando a interação do complexo com o DNA é de natureza eletrostática ou ocorre nos sulcos da biomolécula, não são observadas mudanças significativas na viscosidade da solução do DNA (BARRA; NETTO, 2015; VELOZO-SÁ et al., 2019).

Através do gráfico $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ vs. [complexo]/[DNA] da **figura 54**, onde os valores de viscosidade relativa das soluções de CT-DNA na presença (η) e na ausência (η_0) dos compostos foram determinados a partir da **equação 6 (seção 3.3.4.2)**, verifica-se um leve aumento de viscosidade do CT-DNA após a adição dos **GaL1** e **GaL2**. No entanto, não foi observado um aumento significativo e gradual da viscosidade do CT-DNA com o aumento gradativo das concentrações dos complexos, quando comparado com o efeito acentuado da adição do corante laranja de tiazol (**figura H2**, apêndice H), um intercalador clássico (BAROLLI et al., 2017). A inserção do corante tiazol de laranja entre os pares de base do DNA é estabilizada por interações de empilhamento π - π . Em relação aos complexos de **InL1** e **InL2**, a viscosidade da biomolécula não foi alterada de forma significativa nas razões [complexo]/[DNA] analisadas. Em suma, nenhum dos complexos provocou uma mudança significativa na viscosidade do CT-DNA, com valores máximos de viscosidade relativa variando entre 1,02 e 1,08 na maior relação [complexo]/[DNA], indicando uma interação complexo-DNA fraca, possivelmente nos sulcos da biomolécula.

Figura 54 - Efeito dos complexos de gálio e índio na viscosidade relativa do CT-DNA.



4.3.6.2 Análises por espectroscopia de dicroísmo circular (CD)

Através da técnica de CD na região UV-Vis, é possível, de forma muito sensível, analisar mudanças na estrutura secundária de biomoléculas quirais, incluindo o DNA nas suas formas A, B e Z, **figura 55** (KELLETT et al., 2019).

Figura 55 - Estruturas cristalográficas das formas A, B e Z do DNA.

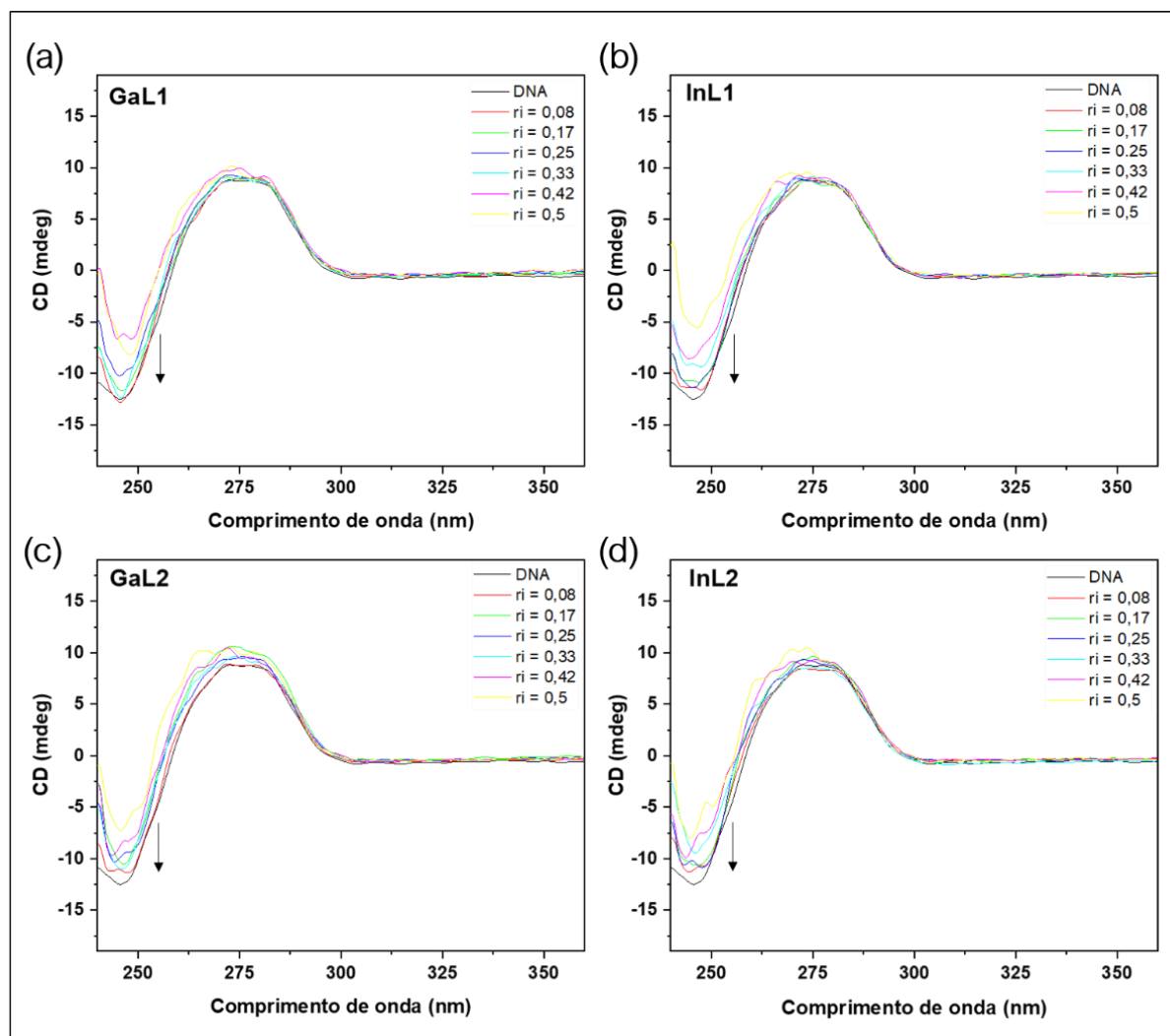


Fonte: Adaptado de KELLETT et al., (2019).

Na conformação B (B-DNA), que é a forma predominante *in vivo*, o espectro de CD da solução de CT-DNA em tampão Trisma apresenta uma banda negativa em ~245 nm, que está relacionada a helicidade, e uma banda positiva em ~275 nm, relativa ao empilhamento das bases (RIBEIRO et al., 2019), assim como observado neste trabalho (**figura H3**, apêndice H). Interações de complexos metálicos por intercalação com o B-DNA levam a um aumento de intensidade nas bandas negativas e positivas, enquanto interações eletrostáticas ou nos sulcos não modificam (ou pouco alteram) os sinais das bandas de helicidade e empilhamento das bases do B-DNA (KELLETT et al., 2019; DO COUTO ALMEIDA et al., 2021; SHAHABADI; GHASEMIAN; HADIDI, 2012).

Através dos espectros de CD (**figura 56**), verifica-se a presença das bandas do CT-DNA em 275 e 240 nm, mesmo na presença do complexo em diferentes concentrações, indicando que a biomolécula permaneceu na sua forma B. Os complexos **GaL1**, **GaL2**, **InL1** e **InL2** possuem espectros semelhantes, indicando que os mesmos interagem de forma semelhante com o DNA. Não foram observadas mudanças significativas na banda positiva (~275 nm), referente ao empilhamento das bases, descartando uma interação complexo-DNA por intercalação. Verifica-se, no entanto, um efeito acentuado dos complexos na banda negativa do CT-DNA (~240 nm), relativa à helicidade, que diminuiu sua intensidade de acordo com o aumento da concentração dos complexos. Esta diminuição na intensidade da banda negativa sugere uma mudança na conformação da biomolécula, observada em complexos metálicos que interagem de forma reversível com os sulcos do DNA, descartando assim a presença de interações do tipo intercalativa ou covalente dos complexos com a biomolécula (RIBEIRO et al., 2019), e em concordância com os resultados das análises de viscosidade discutidos anteriormente.

Figura 56 - Espectros de dicroísmo circular do CT-DNA [100 μ M] em tampão Trisma (10% DMSO) com diferentes concentrações dos complexos ($r_i = [\text{complexo}]/[\text{CT-DNA}]$): (a) GaL1, (b) GaL2, (c) InL1 e (d) InL2.



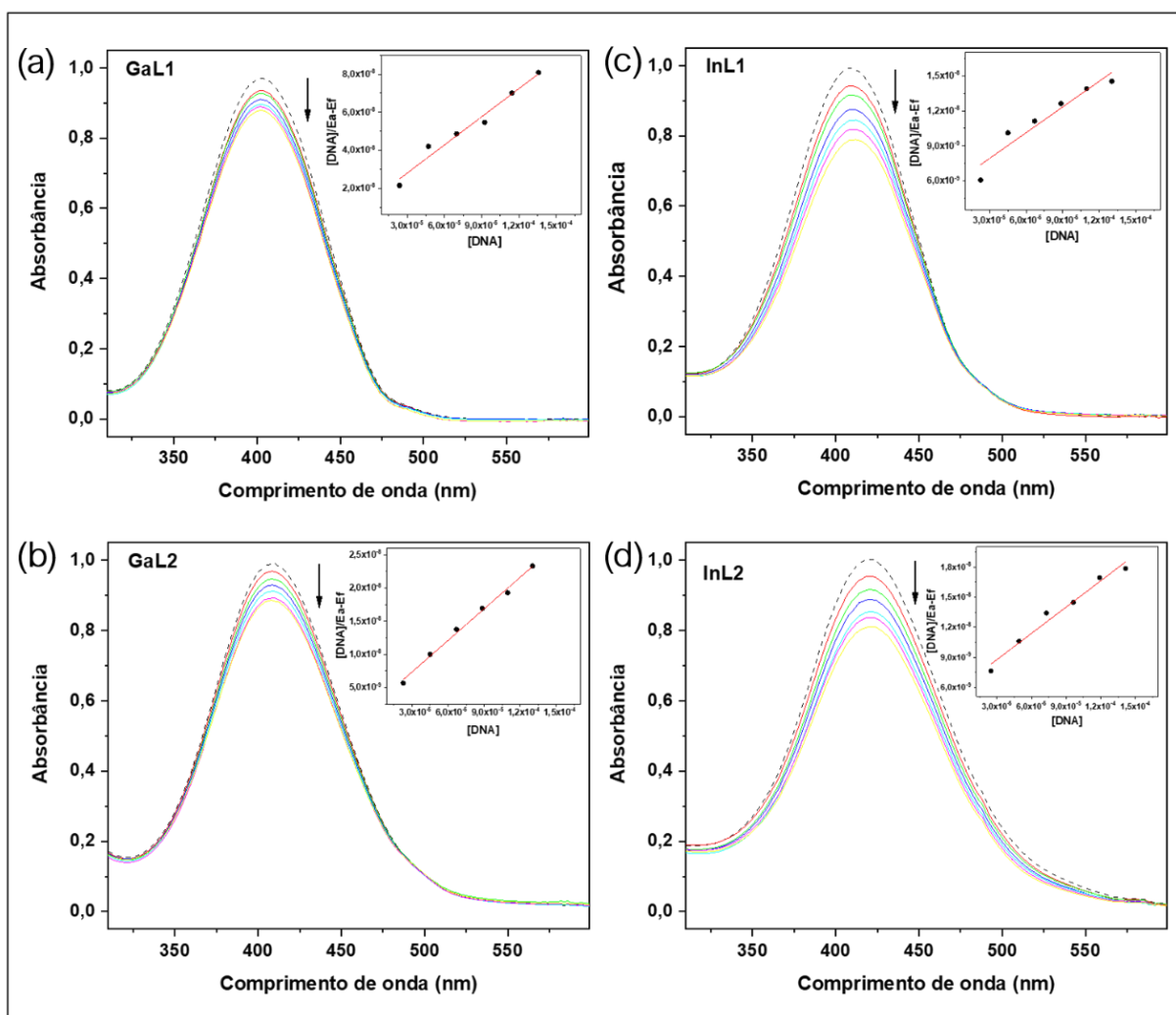
4.3.6.3 Análises por espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis)

A interação de complexos com o DNA é comumente analisada através de titulações espectroscópicas no UV-Vis, a qual é uma técnica simples e efetiva (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). Após sucessivas adições de pequenas alíquotas de uma solução de DNA em uma solução do composto, ambas de concentração conhecida, avalia-se os efeitos da interação complexo-DNA no espectro do complexo, onde as mudanças de intensidade ou deslocamento das bandas do composto são características dos tipos de interação da biomolécula com o composto,

e a magnitude de tais mudanças são indicativos da força de interação do DNA com o composto analisado (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013; PYLE et al., 1989).

Através dos espectros dos complexos de gálio e índio com o DNA (**figura 57**), verifica-se a diminuição das bandas do complexo, na região de 400 nm, com a adição do CT-DNA, portanto, um efeito de hipocromismo. Quando um composto interage por intercalação com o DNA, observa-se um espectro com hipocromismo significativo (>35%), bem como um largo deslocamento da banda para a região do vermelho (>15 nm) (YAO et al., 2018).

Figura 57 - Espectros de absorção UV-Vis dos complexos em tampão Trisma (10% DMSO) na ausência de DNA (linha pontilhada) e após sucessivas adições de CT-DNA: **(a) GaL1**, **(b) GaL2**, **(c) InL1** e **(d) InL2**. (↓) Seta referente ao hipocromismo com o aumento da concentração de DNA. Gráficos $[DNA]/E_{a-Ef}$ vs. $[DNA]$ no canto superior direito de cada espectro eletrônico.



Os espectros eletrônicos dos complexos **GaL1**, **GaL2**, **InL1** e **InL2**, apresentam hipocromismo de baixa intensidade (**tabela 14**) e sem o deslocamento das bandas após a adição das soluções de CT-DNA, descartando um comportamento característico de intercalação. O baixo hipocromismo dos complexos indicam uma interação reversível com os sulcos do DNA (YAO et al., 2018), em concordância com os resultados discutidos anteriormente nas análises de viscosidade e espectroscopia de dicroísmo circular (CD). Através dos valores de constante intrínseca de ligação (K_b) para cada complexo com o CT-DNA, obtidos através da **equação 7 (seção 3.3.4.2)**, verifica-se que todos os complexos exibem valores de K_b na mesma ordem de magnitude, entre 1,29 e 6,19 x 10⁴ M, **tabela 14**, os quais são característicos de interações reversíveis fracas (RIBEIRO et al., 2019).

Tabela 14 - Dados obtidos dos espectros de absorção UV-Vis para a interação dos complexos com o CT-DNA, com valores de K_b .

Compostos	$\lambda_{max}(nm)$	Efeito da adição de DNA	$\Delta\varepsilon$ (%)	K_b 10 ⁴ (M ⁻¹)
GaL1	402	Hipocromismo	9,3	3,73 ± 1,1
GaL2	408	Hipocromismo	10,5	6,19 ± 0,7
InL1	410	Hipocromismo	20,5	1,29 ± 1,1
InL2	420	Hipocromismo	19,1	1,42 ± 1,1

Os resultados das investigações de interação dos complexos de gálio e índio com o CT-DNA sugerem, através de diferentes técnicas experimentais, que todos os complexos possuem interações reversíveis com os sulcos da biomolécula. Ambas as análises de viscosidade e espectroscopia UV-Vis indicam uma interação ligeiramente maior dos complexos **GaL1** e **GaL2** em relação aos complexos **InL1** e **InL2**, no entanto, os valores de K_b na mesma ordem de magnitude indicam uma pequena influência dos diferentes centros metálicos na interação com o CT-DNA.

De acordo com a literatura, sais de Ga^{III} (nitrato de gálio) (SARIOGLU et al., 2014) e de In^{III} (cloreto de índio) (AGUIRRE et al., 2019) não apresentam indícios de interagirem covalentemente com o DNA, o que está de acordo com o observado para os complexos com estes metais neste trabalho. É importante ressaltar que interações de complexos de gálio e índio com o DNA podem ocorrer por outros modos não investigados no presente estudo. Por exemplo, é reportado na literatura que o gálio

interage com o DNA agindo como competidor por sítios de ligação com o magnésio, onde a afinidade do gálio com a biomolécula é aproximadamente 100 vezes maior que a do magnésio (COLLERY et al., 2002).

Alguns estudos reportam interações de complexos de In^{III} com o DNA por interações eletrostáticas e também por intercalação, porém, tais interações estão mais associadas a propriedades espaciais e eletrônicas de seus respectivos ligantes (BERALDO, 2020). O mesmo é observado na literatura para complexos de gálio, que podem interagir com o DNA de forma eletrostática, por intercalação ou com os sulcos da biomolécula (GÓMEZ-RUIZ et al., 2011; BECKFORD et al., 2016; WANG et al., 2017), o que, assim como observado para complexos de índio, pode estar mais associado a natureza dos ligantes do que ao o centro metálico de gálio.

4.4.1 Ensaios com células tumorais

4.4.1.1 Ensaios de citotoxicidade dos complexos de Ga^{III} e In^{III} frente as linhagens celulares de câncer de mama (MCF-7) e próstata (PC-3)

Os ensaios de citotoxicidade foram realizados utilizando-se o método colorimétrico MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina) (MOSMANN, 1983) (detalhes experimentais na **seção 3.4.2**). Os resultados, disponíveis na **tabela 15**, foram expressos como IC_{50} (concentração (μM) necessária para inibir 50% das células viáveis). Foram testadas as atividades dos ligantes, complexos (incluindo seus respectivos precursores metálicos $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ e InCl_3 e da cisplatina (fármaco de referência), frente as linhagens tumorais MCF-7 e PC-3 e a linhagem não tumoral RWPE-1 (células sadias da próstata).

Tabela 15 - Efeito citotóxico com valores de IC₅₀ (µM) dos ligantes livres e dos complexos de Ga^{III} e In^{III} frente as linhagens celulares MCF-7, PC3 e RWPE-1. IS corresponde ao índice de seletividade.

Compostos	IC ₅₀ (µM) e IS				
	MCF-7	IS _{MCF-7}	PC-3	IS _{PC-3}	RWPE-1
H₂L1	108,3 ± 1,24	-	>200	-	>200
H₂L2	72,01 ± 1,31	2,54	>200	-	183,30 ± 1,27
GaL1	58,38 ± 1,19	2,04	>200	-	119,30 ± 1,06
GaL2	41,29 ± 1,15	1,36	61,04 ± 1,29	0,92	56,00 ± 1,39
InL1	33,73 ± 1,19	2,24	153,4 ± 1,11	0,49	75,72 ± 1,24
InL2	10,34 ± 1,69	3,56	47,21 ± 1,33	0,78	36,80 ± 1,28
Cisplatina	39,47 ± 1,20	1,23	48,75 ± 1,18	0,99	48,70 ± 1,13
Ga(NO₃)₃	>200	-	>200	-	-
InCl₃	>200	-	>200	-	-

Verifica-se através dos valores de IC₅₀, um aumento da citotoxicidade dos compostos como efeito da coordenação com Ga^{III} e In^{III}, uma vez que todos os complexos foram mais citotóxicos que os seus respectivos ligantes livres nas linhagens tumorais analisadas (**tabela 15**). No entanto, o ligante **H₂L2** apresentou um maior IS (índice de seletividade = IC₅₀ não tumoral / IC₅₀ tumoral) que os complexos **GaL1**, **GaL2** e **InL1**, frente a linhagem MCF-7. Todos os complexos apresentaram menores valores de IC₅₀ que os ligantes livres nos ensaios com a linhagem tumoral de próstata (PC-3), porém, não apresentaram uma atividade biológica promissora (IS < 1 para todos os complexos). Por outro lado, os complexos apresentaram maior citotoxicidade e valores > 1 de IS frente as células tumorais de mama (MCF-7), dos quais se destaca o complexo **InL2**, com o menor valor de IC₅₀ (10,34 ± 1,69 µM) e a maior seletividade (IS = 3,56) dentre todos os compostos analisados. Além disso, o **InL2** apresentou uma atividade biológica maior do que a cisplatina (IC₅₀ = 39,47 ± 1,20 µM e IS = 1,23). Os precursores metálicos Ga(NO₃)₃ e InCl₃ não apresentaram citotoxicidade significativa (IC₅₀ (µM) > 200 µM).

Através da ordem observada na **tabela 15**, do composto menos citotóxico ao mais citotóxico frente a MCF-7 (IC₅₀ (µM): **H₂L1** < **H₂L2** < **GaL1** < **GaL2** < **Cisplatina** < **InL1** < **InL2**), observa-se que os complexos com In^{III} são mais ativos que os

complexos com Ga^{III}. Também se verifica que o ligante **H₂L₂** possui um maior efeito citotóxico que o ligante **H₂L₁**, possivelmente como efeito da maior lipofilicidade do ligante halogenado (**seção 4.3.2**), o que pode conferir aos seus complexos uma maior permeabilidade celular.

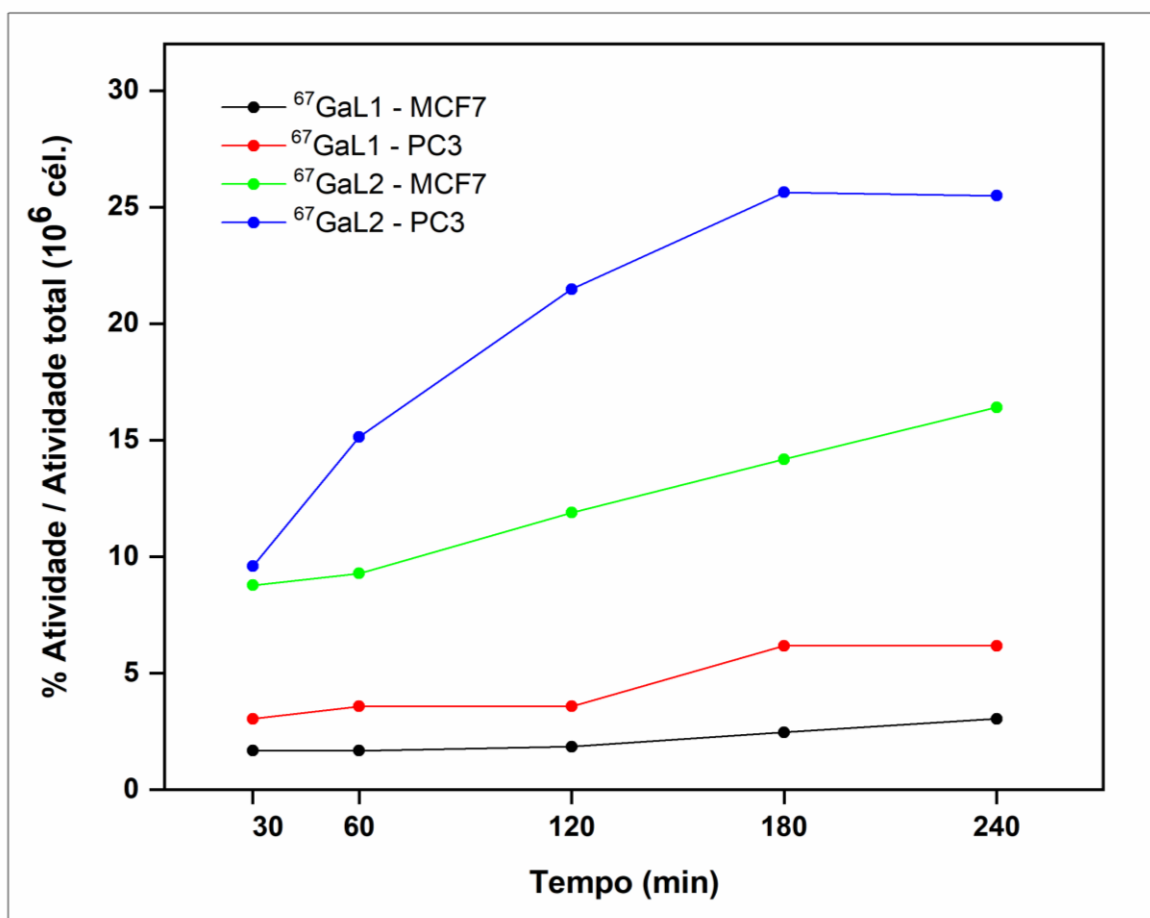
Foram realizados ensaios de acumulação celular dos radiocomplexos ⁶⁷GaL1 e ⁶⁷GaL2 nas linhagens tumorais MCF-7 e PC-3, com o objetivo de analisar se, de fato, a possível maior lipofilicidade do **H₂L₂** poderia levar a uma maior capacidade de penetração celular de seus respectivos complexos, o que serviria como evidência para explicar a maior citotoxicidade observada na **tabela 15** para o ligante **H₂L₂** e o radiocomplexo ⁶⁷GaL2, em relação ao que foi observado **H₂L₁** e o radiocomplexo ⁶⁷GaL1. Embora, como citado anteriormente (**seção 4.3.4**), não tenha sido possível a radiomarcagem dos ligantes **H₂L₁** e **H₂L₂** com o índio-111, uma possível maior acumulação celular do radiocomplexo com o ligante **H₂L₂**, ⁶⁷GaL2, poderia servir como indício da maior citotoxicidade do complexo **InL₂** em relação ao **InL₁**, **tabela 15**, como um efeito da maior capacidade de penetração celular dos complexos contendo o ligante halogenado **H₂L₂**.

4.4.1.2 Análise de acumulação celular dos complexos de gálio-67 nas linhagens celulares MCF-7 e PC-3

Na **figura 58**, apresenta-se os resultados dos ensaios de acumulação dos radiocomplexos de gálio ⁶⁷GaL1 e ⁶⁷GaL2 nas células tumorais MCF-e PC-3.

Para ambas as linhagens celulares testadas, foi verificado uma maior acumulação celular do composto ⁶⁷GaL2. Estes resultados fortalecem, portanto, a proposta discutida na seção anterior, onde a maior citotoxicidade observada para o **H₂L₂** e seus respectivos complexos, incluindo os de In^{III} (**tabela 15**), possa estar associada a maior lipoficidade, e conseqüente maior penetração celular, do ligante halogenado.

Figura 58 - Acumulação celular dos radiocomplexos de gálio-67 nas linhagens celulares MCF-7 e PC-3.



4.4.2 Ensaios com *Mycobacterium Tuberculosis* H₃₇Rv (MTB)

Nos ensaios de atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis*, realizada pelo método REMA (Resazurin Microtiter Assay) (PALOMINO et al., 2002), a rifampicina (antibiótico utilizado no tratamento da tuberculose) foi utilizada como controle no experimento, e os complexos **GaL1**, **GaL2**, **InL1** e **InL2** e seus respectivos ligantes (**H₂L1** e **H₂L2**) tiveram as suas atividades testadas. Embora a atividade anti-MTB do ligante **H₂L1** tenha sido investigada anteriormente pelo nosso grupo e colaboradores (PAVAN et al., 2010), repetiu-se o ensaio do mesmo visando uma comparação com o novo ligante (**H₂L2**) e todos os complexos, a partir de um mesmo ensaio.

Através dos resultados apresentados na **tabela 16**, verifica-se que os complexos e ligantes apresentaram baixos valores de Concentração Inibitória Mínima

(CIM₉₀) (90% de inibição do crescimento das bactérias), com valores entre 0,91 e 2,13 µM, ao contrário do que foi observado para os precursores metálicos [In(acac)₃] e [Ga(acac)₃], os quais apresentaram valores de CIM₉₀ significativamente mais altos (>23 µM).

Tabela 16 - Valores de CIM₉₀ (µg/mL e µM) determinados nos ensaios dos compostos frente a *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv. REMA = Ensaio de microtitulação com resazurina. Valores apresentados como média e desvio padrão (M ± DP) de três ensaios independentes.

Compostos	CIM ₉₀ (REMA)	
	µg/mL	µM
H₂L1	0,598 ± 0,03	2,13
H₂L2	0,419 ± 0,05	1,33
GaL1	0,571 ± 0,06	0,91
GaL2	1,160 ± 0,13	1,72
InL1	0,665 ± 0,01	0,99
InL2	1,378 ± 0,21	1,85
[In(acac)₃]	23,791 ± 0,43	57,73
[Ga(acac)₃]	>25	>68,1
Rifampicina	0,047 ± 0,002	0,057

Analisando-se separadamente os ligantes livres, o **H₂L2** apresentou valor de CIM₉₀ de 1,33 µM, enquanto o **H₂L1** mostrou-se ligeiramente menos citotóxico (CIM₉₀ = 2,13 µM). Assim como foi verificado por nosso grupo e colaboradores anteriormente (PAVAN et al., 2010), a substituição do grupo fenil da β-dicetona derivada da isoniazida (**H₂L1**) por um grupo metil, levou a um decréscimo de atividade frente a MTB, o que foi atribuído a diminuição do caráter lipofílico da molécula. Desta forma, a maior lipofilicidade observada para os complexos com o ligante **H₂L2** em relação ao **H₂L1** (log P ⁶⁷**GaL1** = 1,80, log P ⁶⁷**GaL2** = 2,06), possivelmente em virtude do aumento de lipoficidade devido a halogenação do composto, pode estar associada com a atividade ligeiramente maior do ligante **H₂L2** sobre a MTB, como efeito de um possível maior caráter lipofílico do ligante em relação ao **H₂L1**. Curiosamente, após a coordenação os metais Ga^{III} e In^{III}, a relação se inverteu, e os complexos com o ligante **H₂L1** (**GaL1** e **InL1**) apresentaram-se mais ativos (valores de CIM₉₀ = 0,91 e 0,99 µM

respectivamente) que os complexos com o ligante **H₂L2** (**GaL2** = 1,72 μ M e **InL2** = 1,85 μ M).

Os valores de CIM₉₀ (μ M), indicam que a complexação do **H₂L1** com o Ga^{III} e o In^{III} levou a um aumento na atividade anti-MTB, enquanto a complexação dos mesmos metais com o **H₂L2** levou a um decréscimo na atividade biológica. No entanto, ressalta-se que apesar dos complexos **GaL1** e **InL1** serem os mais ativos dentre todos os compostos testados, os seus valores CIM₉₀ são muito próximos aos do ligante **H₂L1**, indicando que não houve uma mudança significativa no aumento da atividade anti-MTB dos complexos de Ga^{III} e In^{III} em relação ao ligante livre.

De acordo com a literatura (PAIXÃO et al., 2017; CARDONA, 2012), compostos com valores de CIM₉₀ <10 μ g/mL (ou equivalente molar) são considerados candidatos para subseqüentes análises contra a *M. tuberculosis*. Apesar dos compostos deste trabalho terem apresentado menor que atividade biológica que o fármaco de referência Rifampicina (CIM₉₀ = 0,047 μ g/mL), a potente atividade dos compostos (na forma de ligante livre ou coordenados com Ga^{III} e In^{III}), com valores de CIM₉₀ na ordem de 7 a 24 vezes menores que 10 μ g/mL (de 0,419 a 1,378 μ g/mL), indicam uma promissora atividade dos mesmos frente a *M. tuberculosis*.

Subseqüentes testes poderão esclarecer se os complexos de gálio e/ou índio se sobressaem em relação aos ligantes livres contra a MTB, uma vez que o Ga^{III} e o In^{III}, seja na forma de íons livres ou coordenados, possuem uma reconhecida atividade frente a MTB e outras bactérias (ABDALLA et al., 2015; OLAKANMI, BRITIGAN, SCHLESINGER, 2000; OLAKANMI et al., 2013; MINANDRI et al., 2014; CHITAMBAR, 2017; LESSA et al., 2013; BERALDO, 2020; DAVID et al., 2005), normalmente associada a capacidade dos mesmos de alterarem processos biológicos vitais as bactérias através da competição com o Fe^{III}, o que poderia, desta forma, aumentar o potencial biológico dos complexos de gálio e índio deste trabalho.

5 CONCLUSÕES

Realizou-se com êxito a síntese de quatro complexos inéditos de Ga^{III} e In^{III} [Ga(L1)(HL1)] (**GaL1**), [Ga(L2)(HL2)] (**GaL2**), [In(L1)(HL1)] (**InL1**) e [In(L2)(HL2)] (**InL2**), com dois ligantes hidrazonas derivados de β -dicetonas com o fármaco anti-tuberculose isoniazida.

Divergências na literatura em relação às espécies tautoméricas presentes em solução do ligante **H₂L1**, levaram à necessidade de revisitar a química deste composto neste trabalho, onde por análises de RMN foi possível a elucidação dos tautômeros presentes em solução do ligante **H₂L1**, do tipo anel-cadeia aberta, **H₂L1f** e **H₂L1a**, diferentemente do que proposto na literatura, onde não foi identificada a presença do **H₂L1** na forma de cadeia fechada, como discutido na **seção 4.1.2**. Mostrou-se que tais formas tautoméricas também estão presentes no estado sólido, onde cristais do **H₂L1f** puderam ser isolados de cristais do **H₂L1a**, o que permitiu a determinação de sua estrutura molecular por análises de DRX de monocristal. Em virtude da possibilidade de se isolar os cristais dos tautômeros **H₂L1a** e **H₂L1f**, foi possível verificar, através de análises individuais de cada forma cristalina pela técnica de IV, que o tautômero de cadeia fechada, **H₂L1f**, se converte gradualmente para o tautômero de cadeia aberta com o aumento de temperatura até 100°C, devido a perda de moléculas de água de cristalização. Estudos em solução pela técnica de UV-vis mostraram que, enquanto em solução de MeCN os cristais do **H₂L1a** são convertidos lentamente a forma **H₂L1f**, a qual prevalece em solução, em meio aquoso tamponado com valor de pH fisiológico predomina a presença da espécie de cadeia aberta, onde cristais do **H₂L1f** rapidamente se convertem a **H₂L1a** após o preparo da solução aquosa contendo apenas o composto **H₂L1f** isolado. As mesmas conclusões obtidas para o comportamento em solução e no estado sólido do **H₂L1a** foram obtidas para o ligante **H₂L2**, o que mostrou que a presença do átomo de halogênio (cloro) no anel aromático da β -dicetona não levou a diferenças de comportamento do ligante **H₂L2** em relação ao **H₂L1**, levando-se em consideração as investigações estruturais realizadas neste trabalho.

Para os complexos inéditos de Ga^{III} e In^{III}, confirmou-se a obtenção das estruturas propostas e a pureza dos complexos, através de análises de ESI-MS, AE, RMN, UV-vis, condutimetria, IV, PF e DRX de monocristal, esta última unicamente

para o complexo **GaL1**. Cálculos teóricos por DFT para a obtenção de espectros de UV-vis mostraram uma concordância do modelo teórico utilizado para o espectro simulado de UV-Vis com o espectro obtido experimentalmente para o **GaL1**. Os complexos em que não foram obtidos cristais adequados para a análise de DRX de monocristal, **GaL2**, **InL1** e **InL2**, puderam ser investigados pelo mesmo método teórico utilizado para o **GaL1**, através da otimização estrutural calculada para as suas estruturas partindo-se dos dados cristalográficos do complexo **GaL1**.

Análises de UV-Vis permitiram verificar que todos os complexos possuem elevada estabilidade em solução de DMSO e em solução aquosa nas condições fisiológicas (pH = 7,4, PBS/DMSO 10%). Embora não tenha sido possível a marcação dos ligantes com índio-111, para estudos de estabilidade em soro humano e transferrina *in vitro*, tais investigações puderam ser realizadas com os ligantes marcados com gálio-67, ⁶⁷**GaL1** e ⁶⁷**GaL2**, e foi possível verificar que ambos os complexos interagem parcialmente nos meios com soro humano e apo-transferrina, possivelmente devido a elevada afinidade do gálio(III) pela transferrina e outras proteínas presentes no soro humano, o que leva a reações de transquelação. Análises adicionais com os radiocomplexos de gálio-67 também permitiram identificar uma maior lipofilicidade do radiocomplexo halogenado ⁶⁷**GaL2**, em relação ao radiocomplexo ⁶⁷**GaL1**.

Ensaio de interação dos complexos de gálio(III) e índio(III) com a albumina mostraram que todos os complexos interagem com a biomolécula de forma hidrofóbica e com intensidade moderada, entretanto, com maiores interações existentes nos complexos contendo os metais gálio e índio complexados com o ligante **H₂L2**, o que indicou que a natureza do ligante halogenado foi predominante na interação com a albumina. Já nos estudos de interação com o CT-DNA, foi possível verificar que todos complexos possuem interações reversíveis com os sulcos da biomolécula, porém, com uma interação ligeiramente maior apresentada para os complexos contendo o centro metálico de Ga^{III}, **GaL1** e **GaL2**. Para este caso, portanto, o centro metálico mostrou-se determinante para o aumento da interação dos complexos com o CT-DNA.

Através de ensaios de acumulação celular dos radiocomplexos ⁶⁷**GaL1** ⁶⁷**GaL2** em linhagens tumorais de câncer de mama (MCF-7) e de câncer de próstata (PC-3), verificou-se que o complexo com o ligante halogenado possui uma maior capacidade

de se acumular em ambas as células cancerígenas testadas. Em subsequentes ensaios de citotoxicidade dos complexos “frios” de gálio e índio frente as mesmas linhagens tumorais, verificou-se que os complexos Ga^{III} e In^{III} são mais ativos que os seus respectivos ligantes livres frente as células tumorais testadas, porém com uma maior atividade biológica presente nos complexos contendo o ligante halogenado **H₂L2**. Dentre tais complexos, verificou-se que as células de MCF-7 são mais sensíveis ao **InL2** do que ao **GaL2**. Os resultados também indicaram que complexo **InL2** é o mais seletivo a linhagem MCF-7 entre todos os complexos testados, tendo o mesmo também se mostrado mais ativo contra as células MCF-7 que o fármaco de referência cisplatina.

Diferentemente dos estudos de citotoxicidade com células tumorais, os resultados dos ensaios anti-*Mycobacterium tuberculosis* (anti-MTB) permitem afirmar que a halogenação do ligante derivado da isoniazida não levou a mudanças significativas na atividade antibacteriana, com uma atividade apenas ligeiramente maior (menores valores de CIM₉₀) observada para os complexos de Ga^{III} e In^{III} contendo o ligante não halogenado **H₂L1**. Também, é possível afirmar que a complexação dos ligantes derivados da isoniazida com Ga^{III} e In^{III} não levou a mudanças relevantes na atividade anti-MTB, em relação ao que foi observado para os ligantes livres. No entanto, os ensaios anti-MTB levaram a conclusão de que todos os compostos desenvolvidos neste trabalho possuem uma elevada capacidade de inibição da bactéria.

Os resultados obtidos sugerem, diante da proposta inicial desta pesquisa, que a complexação de compostos derivados do antibiótico isoniazida e β -dicetonas com os metais gálio e índio favorece o aumento da atividade biológica frente a linhagens tumorais, e que tanto os complexos como seus respectivos ligantes livres possuem uma promissora atividade anti-MTB, tornando-os aptos a subsequentes análises biológicas com a *Mycobacterium tuberculosis*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, M. Y.; SWITZER, B. L.; GOSS, C. H.; AITKEN, M. L.; SINGH, P. K.; BRITIGAN, B. E. Gallium compounds exhibit potential as new therapeutic agents against *Mycobacterium abscessus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 59, n. 8, p. 4826-4834, 2015.

ADAMO, C.; JACQUEMIN, D. The calculations of excited-state properties with Time-Dependent Density Functional Theory. **Chemical Society Reviews**, Cambridge, v. 42, n. 3, p. 845-856, 2013.

AGUIRRE, A. R.; PARRILHA, G. L.; DINIZ, R.; RIBEIRO, B. C.; DOS SANTOS, R. G.; BERALDO, H. Cytotoxic effects of indium (III) complexes with 2-acetylpyridine-N (4)-ortho-fluorophenylthiosemicarbazone and their radioactive ^{114m}In analogues against human glioma cells. **Polyhedron**, Oxford, v. 164, p. 219-227, 2019.

AGYEMAN, A. A.; OFORI-ASENSO, R. Tuberculosis—an overview. **Journal of Public Health and Emergency**, Hong Kong, v. 1, n. 7, p. 1-11, 2017.

AL RASHEED, H. H.; MALEBARI, A. M.; DAHLOUS, K. A.; FAYNE, D.; EL-FAHAM, A. Synthesis, anti-proliferative activity, and molecular docking study of new series of 1, 3-5-Triazine Schiff base derivatives. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 18, p. 4065, 2020.

ALDERDEN, R. A.; HALL, M. D.; HAMBLEY, T. W. The discovery and development of cisplatin. **Journal of chemical education**, Washington, v. 83, n. 5, p. 728, 2006.

ALI, I.; WANI, W. A.; SALEEM, K. Empirical formulae to molecular structures of metal complexes by molar conductance. **Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry**, New York, v. 43, n. 9, p. 1162-1170, 2013.

ALTOMARE, A.; CASCARANO, G.; GIACOVAZZO, C.; GUAGLIARDI, A.; BURLA, M. C.; POLIDORIM G.; CAMALLI, M. SIRPOW. 92—a program for automatic solution of crystal structures by direct methods optimized for powder data. **Journal of Applied Crystallography**, v. 27, n. 3, p. 435-436, 1994.

BAROLLI, J. P.; CORRÊA, R. S.; MIRANDA, F. S.; RIBEIRO, J. U.; BLOCH, C.; ELLENA, J.; MORENO, V.; COMINETTI, M. R.; BATISTA, A. A. Polypyridyl ruthenium complexes: novel DNA-intercalating agents against human breast tumor. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 28, n. 10, p. 1879-1889, 2017.

BARRA, C. V.; GODOY NETTO, A.V Interações entre complexos antitumorais e o DNA e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.

BARROS, C. L., DE OLIVEIRA, P. J. P., JORGE, F. E., CANAL NETO, A.; CAMPOS, M. Gaussian basis set of double zeta quality for atoms Rb through Xe: application in non-relativistic and relativistic calculations of atomic and molecular properties. **Molecular Physics**, Oxon, v. 108, n. 15, p. 1965-1972, 2010.

BECKE, A. D. Perspective: fifty years of density-functional theory in chemical physics. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 140, n. 18, p. 18A301, 2014.

BECKFORD, F. A.; BROCK, A.; GONZALEZ-SARRÍAS, A.; SEERAM, N. P. Cytotoxic gallium complexes containing thiosemicarbazones derived from 9-anthraldehyde: Molecular docking with biomolecules. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1121, p. 156-166, 2016.

BELLAMY, L. J. **The infrared spectra of complex molecules**. 2. ed. New York: Methuen, 1958. 425 p.

BERALDO, H. Pharmacological applications of non-radioactive indium (III) complexes: a field yet to be explored. **Coordination Chemistry Reviews**, Lausanne, v. 419, p. 213375, 2020.

BERNSTEIN, J.; DAVIS, R. E.; SHIMONI, L.; CHANG, N. L. Patterns in hydrogen bonding: functionality and graph set analysis in crystals. **Angewandte Chemie International Edition in English**, Weinheim, v. 34, n. 15, p. 1555-1573, 1995.

BERNSTEIN, L. R. 31. Ga therapeutic gallium compounds. *In*: GIELEN, M.; TIEKINK, R. T. (ed.). **Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: the use of metals in medicine**. New Jersey: Willey, p. 259-277, 2005.

BERNSTEIN, L. R. Mechanisms of therapeutic activity for gallium. **Pharmacological Reviews**, Bethesda, v. 50, n. 4, p. 665-682, 1998.

BERTINI, G.; GRAY, H. B.; GRAY, H.; VALENTINE, J. S.; STIEFEL, E. I.; STIEFEL, E. **Biological inorganic chemistry: structure and reactivity**. Sausalito: University Science Books, 2007.

BEST, M. G.; CUNHA-REIS, C.; GANIN, A. Y.; SOUSA, A.; JOHNSTON, J.; OLIVEIRA, A. L.; SMITH, D. G.; YIU, H. H.; COOPER, I. R. Antimicrobial properties of Gallium (III)-and Iron(III)-Loaded polysaccharides affecting the growth of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*, *In Vitro*. **ACS Applied Bio Materials**, Washington, v. 3, n. 11, p. 7589-7597, 2020.

BIKAS, R.; ANARJAN, P. M.; ASLEKHADEMI, S.; NG, S. W.; TIEKINK, E. R. N'-[(2Z)-4-Oxo-4-phenylbut-2-en-2-yl] pyridine-4-carbohydrazide. **Acta Crystallographica Section E: structure reports online**, Hoboken, v. 68, n. 2, p. o412-o412, 2012.

BONCHI, C.; IMPERI, F.; MINANDRI, F.; VISCA, P.; FRANGIPANI, E. Repurposing of gallium-based drugs for antibacterial therapy. **Biofactors**, New Jersey, v. 40, n. 3, p. 303-312, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico** – Tuberculose 2021. Brasília, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/marco/26/boletim_tuberculose_2021_24_03.pdf. Acesso em: 13 jun. 2021.

CANCES, E.; MENNUCCI, B.; TOMASI, J. A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: theoretical background and applications to isotropic and anisotropic dielectrics. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 107, n. 8, p. 3032-3041, 1997.

CARDONA, P.-J. (ed.). **Understanding tuberculosis: new approaches to fighting against drug resistance**. Norderstedt: BoD–Books on Demand, 2012.

CCDC. **CSD web interface – intuitive, cross-platform, web-based access to CSD data**. Cambridge: Cambridge Crystallographic Data Centre, 2017.

CHEN, D.; FREZZA, M.; SHAKYA, R.; CUI, Q. C.; MILACIC, V.; VERANI, C. N.; DOU, Q. P. Inhibition of the proteasome activity by gallium (III) complexes contributes to their anti-prostate tumor effects. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 67, n. 19, p. 9258-9265, 2007.

CHEW, S. T.; LO, K. M.; SINNIH, S. K.; SIM, K. S.; TAN, K. W. Synthesis, characterization and biological evaluation of cationic hydrazone copper complexes with diverse diimine co-ligands. **RSC Advances**, Cambridge, v. 4, n. 106, p. 61232-61247, 2014.

CHITAMBAR, C. R. 10. Gallium complexes as anticancer drugs. *In*: SIGEL, A.; SIGEL, H.; FREISINGER, E.; SIGEL, K. K. O. **Metallo-drugs: development and action of anticancer agents**. Berlin: De Gruyter, 2018. v.18, p. 281-302.

CHITAMBAR, C. R.; PURPI, D. P.; WOODLIFF, J.; YANG, M.; WERELEY, J. P. Development of gallium compounds for treatment of lymphoma: gallium maltolate, a novel hydroxypyron gallium compound, induces apoptosis and circumvents lymphoma cell resistance to gallium nitrate. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, Bethesda, v. 322, n. 3, p. 1228-1236, 2007.

CHITAMBAR, C. R. Gallium and its competing roles with iron in biological systems. **Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Cell Research**, Amsterdam, v. 1863, n. 8, p. 2044-2053, 2016.

CHITAMBAR, C. R. Gallium-containing anticancer compounds. **Future Medicinal Chemistry**, London, v. 4, n. 10, p. 1257-1272, 2012.

CHITAMBAR, C. R. Medical applications and toxicities of gallium compounds. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 7, n. 5, p. 2337-2361, 2010.

CHITAMBAR, C. R. The therapeutic potential of iron-targeting gallium compounds in human disease: from basic research to clinical application. **Pharmacological research**, London, v. 115, p. 56-64, 2017.

CHITAMBAR, C. R.; ANTHOLINE, W. E. Iron-targeting antitumor activity of gallium compounds and novel insights into triapine®-metal complexes. **Antioxidants & Redox Signaling**, New Rochelle, v. 18, n. 8, p. 956-972, 2013.

CHUA, M. S.; BERNSTEIN, L. R.; LI, R. U. I.; SO, S. K. Gallium maltolate is a promising chemotherapeutic agent for the treatment of hepatocellular carcinoma. **Anticancer Research**, Athens, v. 26, n. 3A, p. 1739-1743, 2006.

CHURCHYARD, G.; KIM, P.; SHAH, N. S.; RUSTOMJEE, R.; GANDHI, N.; MATHEMA, B.; DOWDY, D.; KASMAR, A.; CARDENAS, V. What we know about tuberculosis transmission: an overview. **The Journal of Infectious Diseases**, Cary, v. 216, n. suppl_6, p. S629-S635, 2017.

COLL, F.; PHELAN, J.; HILL-CAWTHORNE, G. A.; NAIR, M. B.; MALLARD, K.; ALI, S.; ABDALLAH, A. M.; ALGHAMDI, S.; ALSOMALI, M.; AHMED, A. O.; PORTELLI, S. Genome-wide analysis of multi-and extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Genetics**, Berlin, v. 50, n. 2, p. 307-316, 2018.

COLLERY, P.; KEPPLER, B.; MADOULET, C.; DESOIZE, B. Gallium in cancer treatment. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, New York, v. 42, n. 3, p. 283-296, 2002.

CRANS, D. C.; KOSTENKOVA, K. Open questions on the biological roles of first-row transition metals. **Communications Chemistry**, Berlin, v. 3, n. 1, p. 1-4, 2020.

CRICHTON, R. R. **Biological inorganic chemistry**: a new introduction to molecular structure and function. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2012.

CRICHTON, R. R.; LOURO, R. O. (ed.). **Practical approaches to biological inorganic chemistry**. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2019.

CRUMBLISS, A. L.; BANERJEE, S. A perspective essay on the use of Ga³⁺ as a proxy for Fe³⁺ in bioinorganic model studies and its successful use for therapeutic purposes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, p. 111411, 2021.

CRUNKHORN, S. Gallium fights infection in phase I trial. **Nature Reviews Drug Discovery**, Berlin, v. 17, n. 11, p. 786-786, 2018.

CURTISS, L. A.; MCGRATH, M. P.; BLAUDEAU, J. P.; DAVIS, N. E.; BINNING JUNIOR, R. C.; RADOM, L. Extension of Gaussian-2 theory to molecules containing third-row atoms Ga–Kr. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 103, n. 14, p. 6104-6113, 1995.

DA SILVA, C. M.; DA SILVA, D. L.; MODOLO, L. V.; ALVES, R. B.; DE RESENDE, M. A.; MARTINS, C. V.; DE FÁTIMA, Â. Schiff bases: a short review of their antimicrobial activities. **Journal of Advanced Research**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2011.

DA SILVA, J. G.; AZZOLINI, L. S.; WARDELL, S. M.; WARDELL, J. L.; BERALDO, H. Increasing the antibacterial activity of gallium (III) against *Pseudomonas aeruginosa* upon coordination to pyridine-derived thiosemicarbazones. **Polyhedron**, Oxford, v. 28, n. 11, p. 2301-2305, 2009.

DA SILVA, J. J. R. F.; WILLIAMS, R. J. P. **The biological chemistry of the elements: the inorganic chemistry of life**. 2. ed. Oxford: Oxford University Press, 2001.

DA SILVA, M. M.; DE CAMARGO, M. S.; CORREA, R. S.; CASTELLI, S.; RONE, A.; TAKARADA, J. E.; VARANDA, E. A.; CASTELLANO, E. E.; DEFLON, V. M.; COMINETTI, M. R.; DESIDERI, A. Non-mutagenic Ru (II) complexes: cytotoxicity, topoisomerase IB inhibition, DNA and HSA binding. **Dalton Transactions**, Cambridge, v. 48, n. 39, p. 14885-14897, 2019.

DABROWIAK, J. C. **Metals in medicine**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2017.

DAVID, S.; BARROS, V.; CRUZ, C.; DELGADO, R. In vitro effect of free and complexed indium (III) against *Mycobacterium tuberculosis*. **FEMS Microbiology Letters**, Oxford, v. 251, n. 1, p. 119-124, 2005.

DENNINGTON, R.; KEITH, T. A.; MILLAM, J. M. **GaussView Version 6**. Shawnee: Semichem Inc., 2016.

DESAI, S. K.; MONDAL, D.; BERA, S. First-line anti-tuberculosis drugs-loaded starch nanocrystals for combating the threat of *M. tuberculosis* H37Rv strain. **Carbohydrate Research**, Oxford, v. 495, p. 108070, 2020.

DESPAIGNE, A. A.; PARRILHA, G. L.; IZIDORO, J. B.; DA COSTA, P. R.; DOS SANTOS, R. G.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E.; ROCHA, W. R.; BERALDO, H. 2-Acetylpyridine-and 2-benzoylpyridine-derived hydrazones and their gallium (III) complexes are highly cytotoxic to glioma cells. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Issy-Les-Moulineaux, v. 50, p. 163-172, 2012.

DEVI, J.; BATRA, N. Synthesis, characterization and antimicrobial activities of mixed ligand transition metal complexes with isatin monohydrazone Schiff base ligands and heterocyclic nitrogen base. **Spectrochimica Acta Part A: molecular and biomolecular spectroscopy**, Amsterdam, v. 135, p. 710-719, 2015.

DHEDA, K.; GUMBO, T.; MAARTENS, G.; DOOLEY, K. E.; MCNERNEY, R.; MURRAY, M.; FURIN, J.; NARDELL, E. A.; LONDON, L.; LESSEM, E.; THERON, G. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis. **The Lancet Respiratory Medicine**, London, v. 5, n. 4, p. 291-360, 2017.

DO COUTO ALMEIDA, J.; SILVA, R. T.; ZANETTI, R. D.; MOREIRA, M. B.; PORTES, M. C.; POLLONI, L.; DE VASCONCELOS AZEVEDO, F. V.; VON POELHSITZ, G.; PIVATTO, M.; NETTO, A. V.; AVILA, V. M. R.; MANIERI, K. F.; PAVAN, F. R.; FERREIRA, A. M. C.; GUERRA, W. DNA interactions, antitubercular and cytotoxic activity of heteroleptic CuII complexes containing 1, 10-phenanthroline. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1235, p. 130234, 2021.

EDWARDS, A. A.; ALEXANDER, B. D. UV-Visible absorption spectroscopy, organic applications. *In*: LINDON, J. C.; TRANTER, G. E.; KOPPENAL, D. W. **Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry**. 3. ed. Elsevier: Amsterdam, 2017. p. 511–519.

EDWARDS, C. L.; HAYES, R. L. Tumor scanning with ⁶⁷Ga citrate. **Journal of Nuclear Medicine**, Reston, v. 10, n. 2, p. 103-105, 1969.

EL-BAHNASAWY, R. M.; EL-MELEIGY, S. E. Benzoylacetone isonicotinoyl hydrazone complexes of divalent transition metals. **Transition Metal Chemistry**, Dordrecht, v. 18, n. 5, p. 505-509, 1993.

ELLAHIOUI, Y.; PRASHAR, S.; GOMEZ-RUIZ, S. Anticancer applications and recent investigations of metallodrugs based on gallium, tin and titanium. **Inorganics**, Basel, v. 5, n. 1, p. 4, 2017.

ESPÓSITO, B. P.; NAJJAR, R. Interactions of antitumoral platinum-group metallodrugs with albumin. **Coordination Chemistry Reviews**, Lausanne, v. 232, n. 1-2, p. 137-149, 2002.

FERNANDES, G. F. S.; SALGADO, H. R. N.; SANTOS, J. L. Isoniazid: a review of characteristics, properties and analytical methods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, Philadelphia, v. 47, n. 4, p. 298-308, 2017.

FIRMINO, G. S. S.; ANDRE, S. C.; HASTENREITER, Z.; CAMPOS, V. K.; ABDEL-SALAM, M. A.; DE SOUZA-FAGUNDES, E. M.; LESSA, J. A. In vitro assessment of the cytotoxicity of Gallium (III) complexes with Isoniazid-Derived Hydrazones: effects on clonogenic survival of HCT-116 cells. **Inorganica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 497, p. 119079, 2019.

FREI, A.; ZUEGG, J.; ELLIOTT, A. G.; BAKER, M.; BRAESE, S.; BROWN, C.; CHEN, F.; DOWSON, C. G.; DUJARDIN, G.; JUNG, N.; KING, A. P. Metal complexes as a promising source for new antibiotics. **Chemical Science**, Cambridge, v. 11, n. 10, p. 2627-2639, 2020.

FREISINGER, E.; SIGEL, R. K. O. The bioinorganic periodic table. **CHIMIA International Journal for Chemistry**, Bern, v. 73, n. 3, p. 185-193, 2019.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G.; SCHLEGEL, H.; SCUSERIA, G.; ROBB, M.; CHEESEMAN, J.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; PETERSSON, G.; NAKATSUJI, H.; CARICATO, M.; LI, X.; HRATCHIAN, H.; IZMAYLOV, A.; BLOINO, J.; ZHENG, G.; SONNENBERG, J.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; MONTGOMERY, J.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A.; BURANT, J.; IYENGAR, S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; REGA, N.; MILLAM, N.; KLENE, M.; KNOX, J.; CROSS, J.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERS, R.; STRATMANN, R.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J.; MARTIN, R.; MOROKUMA, K.; ZAKRZEWSKI, V.; VOTH, G.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A.; FARKAS, Ö.; FORESMAN, J.; ORTIZ, J.; CIOSLOWSKI, J.; FOX, D. **Gaussian 09, Revision D. 01, 2009**. Wallingford: Gaussian. Inc., 2009.

GAGNEUX, S. Ecology and evolution of *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Reviews Microbiology**, Berlin, v. 16, n. 4, p. 202-213, 2018.

GAVEZZOTTI, A.; FILIPPINI, G. Geometry of the intermolecular XH...Y (X, Y= N, O) hydrogen bond and the calibration of empirical hydrogen-bond potentials. **The Journal of Physical Chemistry**, Washington, v. 98, n. 18, p. 4831-4837, 1994.

GAVEZZOTTI, A. Are crystal structures predictable? **Accounts of Chemical Research**, Washington, v. 27, n. 10, p. 309-314, 1994.

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, Lausanne, v. 7, n. 1, p. 81-122, 1971.

GODOY NETTO, A. V.; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E. A química supramolecular de complexos pirazólicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 1208-1217, 2008.

GOMEZ-RUIZ, S.; MAKSIMOVIĆ-IVANIĆ, D.; MIJATOVIĆ, S.; KALUĐEROVIĆ, G.N. On the discovery, biological effects, and use of cisplatin and metallocenes in anticancer chemotherapy. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, London, v. 2012, 2012.

GÓMEZ-RUIZ, S.; CEBALLOS-TORRES, J.; PRASHAR, S.; FAJARDO, M.; ŽIŽAK, Ž.; JURANIĆ, Z. D.; KALUĐEROVIĆ, G. N. One ligand different metal complexes: biological studies of titanium (IV), tin (IV) and gallium (III) derivatives with the 2, 6-dimethoxypyridine-3-carboxylato ligand. **Journal of Organometallic Chemistry**, Lausanne, v. 696, n. 20, p. 3206-3213, 2011.

GUNN, G. (ed.). **Critical metals handbook**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2014.

HAMEED, A.; AL-RASHIDA, M.; UROOS, M.; ABID ALI, S.; KHAN, K. M. Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010-2015). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, Oxon, v. 27, n. 1, p. 63-79, 2017.

HARRIS, W. R.; MESSORI, L. A comparative study of aluminum (III), gallium(III), indium (III) and thallium (III) binding to human serum transferrin. **Coordination Chemistry Reviews**, Lausanne, v. 228, n. 2, p. 237-262, 2002.

HART, M. M.; ADAMSON, R. H. Antitumor activity and toxicity of salts of inorganic group IIIa metals: aluminum, gallium, indium, and thallium. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 68, n. 7, p. 1623-1626, 1971.

HAUSER-DAVIS, R. A.; DE FREITAS, L. V.; CUKIERMAN, D. S.; CRUZ, W. S.; MIOTTO, M. C.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; VALIENTE-GABIOUD, A. A.; FERNÁNDEZ, C. O.; REY, N. A. Disruption of zinc and copper interactions with A β (1–40) by a non-toxic, isoniazid-derived, hydrazone: a novel biometal homeostasis restoring agent in Alzheimer's disease therapy? **Metallomics**, Oxford, v. 7, n. 5, p. 743-747, 2015.

HIJAZI, S.; VISAGGIO, D.; PIROLO, M.; FRANGIPANI, E.; BERNSTEIN, L.; VISCA, P. Antimicrobial activity of gallium compounds on ESKAPE pathogens. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 8, p. 316, 2018.

HOFFER, P. Status of gallium-67 in tumor detection. **Journal of Nuclear Medicine**, Reston, v. 21, n. 4, p. 394-398, 1980.

HOSSEINI-MONFARED, H.; BIKAS, R.; SANCHIZ, J.; LIS, T.; SICZEK, M.; TUCEK, J.; ZBORIL, R.; MAYER, P. Syntheses, structures and magnetic properties of azido- and phenoxo-bridged complexes of manganese containing tridentate aroylhydrazone based ligands. **Polyhedron**, Oxford, v. 61, p. 45-55, 2013.

HOUSECROFT, C.E.; SHARPE, A. G. **Inorganic chemistry**. Harlow: Pearson, 2012.

HUNOOR, R. S.; PATIL, B. R.; BADIGER, D. S.; VADAVI, R. S.; GUDASI, K. B.; CHANDRASHEKHAR, V .M.; MUCHCHANDI, I. S. Spectroscopic, magnetic and thermal studies of Co (II), Ni (II), Cu (II) and Zn (II) complexes of 3-acetylcoumarin–isonicotinoylhydrazone and their antimicrobial and anti-tubercular activity evaluation. **Spectrochimica Acta Part A: molecular and biomolecular spectroscopy**, Amsterdam, v. 77, n. 4, p. 838-844, 2010.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Estatísticas de câncer**. Brasília: Instituto Nacional de Câncer, 2021. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>. Acesso em: 13 jun. 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **O que é câncer?** Câncer. Brasília: Instituto Nacional de Câncer, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em: 13 jun. 2021.

JAMIESON, E. R.; LIPPARD, S. J. Structure, recognition, and processing of cisplatin– DNA adducts. **Chemical Reviews**, Washington, v. 99, n. 9, p. 2467-2498, 1999.

JIN, X. D.; JIN, Y. H.; ZOU, Z. Y.; CUI, Z. G.; WANG, H. B.; KANG, P. L.; GE, C. H.; LI, K. Synthesis, characterization and antibacterial activity of indium (III) complexes with adamantane-ring containing Schiff bases. **Journal of Coordination Chemistry**, Oxon, v. 64, n. 9, p. 1533-1543, 2011.

JORGE, F. E.; CANAL NETO, A.; CAMILETTI, G. G.; MACHADO, S. F. Contracted Gaussian basis sets for Douglas–Kroll–Hess calculations: estimating scalar relativistic effects of some atomic and molecular properties. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 130, n. 6, p. 064108, 2009.

KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B.; KLEIN, A. **Bioinorganic chemistry-inorganic elements in the chemistry of life: an introduction and guide**. 2. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2013.

KAJAL, A.; BALA, S.; KAMBOJ, S.; SHARMA, N.; SAINI, V. Schiff bases: a versatile pharmacophore. **Journal of Catalysts**, New York, v. 2013, 2013.

KANEKO, Y.; THOENDEL, M.; OLAKANMI, O.; BRITIGAN, B. E.; SINGH, P. K. The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 117, n. 4, p. 877-888, 2007.

KARGAR, H.; KIA, R.; FROOZANDEH, F.; HOSSAINI SADR, M.; TAHIR, M. N. (5-Hydroxy-3-methyl-5-phenyl-4, 5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl)(pyridin-4-yl) methanone monohydrate. **Acta Crystallographica Section E: structure reports online**, Hoboken, v. 67, n. 1, p. o209-o209, 2011.

KELLETT, A.; MOLPHY, Z.; SLATOR, C.; MCKEE, V.; FARRELL, N. P. Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug–DNA interactions. **Chemical Society Reviews**, Cambridge, v. 48, n. 4, p. 971-988, 2019.

KINTZINGER, J. P.; LEHN, J. M. Nuclear relaxation and molecular properties Part I. ¹⁴N nuclear quadrupolar relaxation and ¹H line shapes in nitrogen-containing heterocycles. **Molecular Physics**, Oxon, v. 14, n. 2, p. 133-145, 1968.

KIRCHEVA, N.; DUDEV, T. Novel Insights into Gallium's Mechanism of Therapeutic Action: a DFT/PCM study of the interaction between Ga³⁺ and ribonucleotide reductase substrates. **The Journal of Physical Chemistry B**, Washington, v. 123, n. 26, p. 5444-5451, 2019.

KIRCHEVA, N.; DUDEV, T. Competition between abiogenic and biogenic metal cations in biological systems: mechanisms of Gallium's anticancer and antibacterial effect. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 214, p. 111309, 2021.

KOMOR, A. C.; BARTON, J. K. The path for metal complexes to a DNA target. **Chemical Communications**, Cambridge, v. 49, n. 35, p. 3617-3630, 2013.

KRISHNAN, R. B. J. S.; BINKLEY, J. S.; SEEGER, R.; POPLE, J. A. Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. **The Journal of Chemical Physics**, Melville, v. 72, n. 1, p. 650-654, 1980.

KUBISTA, B.; SCHOEFL, T.; MAYR, L.; VAN SCHOONHOVEN, S.; HEFFETER, P.; WINDHAGER, R.; KEPPLER, B. K.; BERGER, W. Distinct activity of the bone-targeted gallium compound KP46 against osteosarcoma cells-synergism with autophagy inhibition. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, London, v. 36, n. 1, p. 1-13, 2017.

KURTZ, D. A.; BRERETON, K. R.; RUOFF, K. P.; TANG, H. M.; FELTON, G. A.; MILLER, A. J.; DEMPSEY, J. L. Bathochromic shifts in rhenium carbonyl dyes induced through destabilization of occupied orbitals. **Inorganic Chemistry**, Washington, v. 57, n. 9, p. 5389-5399, 2018.

ŁĘCZKOWSKA, A.; VILAR, R. Interaction of metal complexes with nucleic acids. **Annual Reports on the Progress of Chemistry, Section A: inorganic chemistry**, Cambridge, v. 108, p. 330-349, 2012.

LEE, J. S.; ZELLER, M.; WARKAD, S. D.; NIMSE, S. B. Synthesis, characterization, and crystal structure of N-(3-nitrophenyl) cinnamamide. **Crystals**, Basel, v. 9, n. 11, p. 599, 2019.

LESSA, J. A.; SOARES, M. A.; DOS SANTOS, R. G.; MENDES, I. C.; SALUM, L. B.; DAGHESTANI, H. N.; ANDRICOPULO, A. D.; DAY, B. W.; VOGT, A.; BERALDO, H. Gallium (III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones: antimicrobial and cytotoxic effects and investigation on the interactions with tubulin. **Biometals**, Dordrecht, v. 26, n. 1, p. 151-165, 2013.

LESSA, J. A.; PARRILHA, G. L.; BERALDO, H. Gallium complexes as new promising metallodrug candidates. **Inorganica Chimica Acta**, Lausanne, v. 393, p. 53-63, 2012.

LEVADITI, C.; BARDET, J.; TCHAKIRIAN, A.; VAISMAN, A. Le gallium, propriétés thérapeutiques dans la syphilis et les trypano-somioses expérimentales. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences**, Paris, v. 192, p. 1142-1143, 1931.

LEWIS, J. S.; WINDHORST, A. D.; ZEGLIS, B. M. (ed.). **Radiopharmaceutical chemistry**. Berlin: Springer, 2019.

LIN-VIEN, D.; COLTHUP, N. B.; FATELEY, W. G.; GRASSELLI, J. G. **The handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules**. Amsterdam: Elsevier, 1991.

POTOČNÁK, I.; VRANEC, P.; FARKASOVÁ, V.; SABOLOVÁ, D.; VATAŠČINOVÁ, M.; KUDLÁČOVÁ, J.; RADOJEVIĆ, I. D.; ČOMIĆ, L. R.; MARKOVIC, B. S.; VOLAREVIC, V.; ARSENIJEVIC, N. Low-dimensional compounds containing bioactive ligands. Part XIV: high selective antiproliferative activity of tris (5-chloro-8-quinolinolato) gallium (III) complex against human cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Oxford, v. 30, n. 13, p. 127206, 2020.

LIU, H.-K.; SADLER, P. J. Metal complexes as DNA intercalators. **Accounts of Chemical Research**, Washington, v. 44, n. 5, p. 349-359, 2011.

LOPES, L. G. F.; CARVALHO, E. M.; SOUSA, E. H. S. A bioinorganic chemistry perspective on the roles of metals as drugs and targets against *Mycobacterium tuberculosis*—a journey of opportunities. **Dalton Transactions**, Cambridge, v. 49, n. 45, p. 15988-16003, 2020.

MACHADO, I.; MARINO, L. B.; DEMORO, B.; ECHEVERRÍA, G. A.; PIRO, O. E.; LEITE, C. Q.; PAVAN, F. R.; GAMBINO, D. Bioactivity of pyridine-2-thiolato-1-oxide metal complexes: Bi (III), Fe (III) and Ga (III) complexes as potent anti-*Mycobacterium tuberculosis* prospective agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Moulineaux, v. 87, p. 267-273, 2014.

MACRAE, C. F.; SOVAGO, I.; COTTRELL, S. J.; GALEK, P. T.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; PLATINGS, M.; SHIELDS, G. P.; STEVENS, J. S.; TOWLER, M.; WOOD, P. A. Mercury 4.0: from visualization to analysis, design and prediction. **Journal of Applied Crystallography**, Chester, v. 53, n. 1, p. 226-235, 2020.

MAGADLA, A.; OLUWOLE, D. O.; MANAGA, M.; NYOKONG, T. Physicochemical and antimicrobial photodynamic chemotherapy (against *E. coli*) by indium phthalocyanines in the presence of silver–iron bimetallic nanoparticles. **Polyhedron**, Oxford, v. 162, p. 30-38, 2019.

MAHMOUD, W. H.; DEGHADI, R. G.; EL DESSOUKY, M. M.; MOHAMED, G. G. Transition metal complexes of nano bidentate organometallic Schiff base: preparation, structure characterization, biological activity, DFT and molecular docking studies. **Applied Organometallic Chemistry**, Hoboken, v. 33, n. 1, p. e4556, 2019.

MALIK, M. A.; DAR, O. A.; GULL, P.; WANI, M. Y.; HASHMI, A. A. Heterocyclic Schiff base transition metal complexes in antimicrobial and anticancer chemotherapy. **MedChemComm**, Cambridge, v. 9, n. 3, p. 409-436, 2018.

MANZ, D. H.; BLANCHETTE, N. L.; PAUL, B. T.; TORTI, F. M.; TORTI, S. V. IRON and cancer: recent insights. **Annals of the New York Academy of Sciences**, Hoboken, v. 1368, n. 1, p. 149, 2016.

MARET, W. The metals in the biological periodic system of the elements: concepts and conjectures. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 17, n. 1, p. 66, 2016.

MARTIN, Y. C. Let's not forget tautomers. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, Dordrecht, v. 23, n. 10, p. 693-704, 2009.
MCCLEVERTY, J. A. **Comprehensive coordination chemistry II**. Amsterdam: Elsevier, 2003.

MERLI, D.; PROFUMO, A.; BLOISE, N.; RISI, G.; MOMENTÈ, S.; CUCCA, L.; VISAI, L. Indium/Gallium Maltolate effects on human breast carcinoma cells: in vitro investigation on cytotoxicity and Synergism with Mitoxantrone. **ACS Omega**, Washington, v. 3, n. 4, p. 4631-4640, 2018.

METCALFE, C.; THOMAS, J.A. Kinetically inert transition metal complexes that reversibly bind to DNA. **Chemical Society Reviews**, Cambridge, v. 32, n. 4, p. 215-224, 2003.

MINANDRI, F.; BONCHI, C.; FRANGIPANI, E.; IMPERI, F.; VISCA, P. Promises and failures of gallium as an antibacterial agent. **Future Microbiology**, London, v. 9, n. 3, p. 379-397, 2014.

MITIDIERI, E.; VISAGGIO, D.; FRANGIPANI, E.; TURNATURI, C.; VANACORE, D.; PROVENZANO, R.; COSTABILE, G.; SORRENTINO, R.; UNGARO, F.; VISCA, P.; DI VILLA BIANCA, R. D. E. Intra-tracheal administration increases gallium availability in lung: implications for antibacterial chemotherapy. **Pharmacological Research**, London, p. 105698, 2021.

MOHAMMADI, K.; THOMPSON, K. H.; PATRICK, B. O.; STORR, T.; MARTINS, C.; POLISHCHUK, E.; YUEN, V. G.; MCNEILL, J. H.; ORVIG, C. Synthesis and characterization of dual function vanadyl, gallium and indium curcumin complexes for medicinal applications. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 99, n. 11, p. 2217-2225, 2005.

MONDAL, M.; RAMADAS, K.; NATARAJAN, S. Molecular interaction of 2, 4-diacetylphloroglucinol (DAPG) with human serum albumin (HSA): the spectroscopic, calorimetric and computational investigation. **Spectrochimica Acta Part A: molecular and biomolecular spectroscopy**, Amsterdam, v. 183, p. 90-102, 2017.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MUNTEANU, A. C.; BADEA, M.; OLAR, R.; SILVESTRO, L.; MIHAILA, M.; BRASOVEANU, L. I.; MUSAT, M. G.; ANDRIES, A.; UIVAROSI, V. Cytotoxicity studies, DNA interaction and protein binding of new Al (III), Ga (III) and In (III) complexes with 5-hydroxyflavone. **Applied Organometallic Chemistry**, Hoboken, v. 32, n. 12, p. e4579, 2018.

NAVEENRAJ, S.; ANANDAN, S. Binding of serum albumins with bioactive substances–nanoparticles to drugs. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: photochemistry reviews**, Amsterdam, v. 14, p. 53-71, 2013.

NGUYEN, L. Antibiotic resistance mechanisms in M. tuberculosis: an update. **Archives of Toxicology**, Heidelberg, v. 90, n. 7, p. 1585-1604, 2016.

NORDENBERG, J.; NOVOGRODSKY, A.; BEERY, E.; PATIA, M.; WASSERMAN, L.; WARSHAWSKY, A. Anti-proliferative effects and phenotypic alterations induced by 8-hydroxyquinoline in melanoma cell lines. **European Journal of Cancer and Clinical Oncology**, Oxford, v. 26, n. 8, p. 905-907, 1990.

O'DWYER, P. J.; STEVENSON, J. P.; JOHNSON, S. W. Clinical status of cisplatin, carboplatin, and other platinum-based antitumor drugs. *In*: LIPPERT, B. (ed.). **Cisplatin: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug**. New Jersey: John Wiley & Sons, 1999. p. 31-69.

OLAKANMI, O.; KESAVALU, B.; PASULA, R.; ABDALLA, M. Y.; SCHLESINGER, L. S.; BRITIGAN, B. E. Gallium nitrate is efficacious in murine models of tuberculosis and inhibits key bacterial Fe-dependent enzymes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 57, n. 12, p. 6074-6080, 2013.

OLAKANMI, O.; BRITIGAN, B. E.; SCHLESINGER, L. S. Gallium disrupts iron metabolism of mycobacteria residing within human macrophages. **Infection and Immunity**, Washington, v. 68, n. 10, p. 5619-5627, 2000.

OLIVEIRA, A. A.; PERDIGÃO, G. M.; DA SILVA, J. G.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; BERALDO, H. Indium (III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones exhibit cytotoxic activity against human leukemia and solid tumor cell lines. **Polyhedron**, Oxford, v. 135, p. 72-78, 2017.

ORVIG, C.; ABRAMS, M. J. Medicinal inorganic chemistry: introduction. **Chemical Reviews**, Washington, v. 99, n. 9, p. 2201-2204, 1999.

PAGES, B. J.; ANG, D. L.; WRIGHT, E. P.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. Metal complex interactions with DNA. **Dalton transactions**, Cambridge, v. 44, n. 8, p. 3505-3526, 2015.

PAIXÃO, D. A.; MARZANO, I. M.; JAIMES, E. H.; PIVATTO, M.; CAMPOS, D. L.; PAVAN, F. R.; DEFLON, V. M.; MAIA, P. I. D. S.; FERREIRA, A. M. D. C.; UEHARA, I. A.; SILVA, M. J. Novel copper (II) complexes with hydrazides and heterocyclic bases: Synthesis, structure and biological studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 172, p. 138-146, 2017.

PALOMINO, J. C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PAULING, L. **General chemistry**. San-Francisco: W. H. Freeman and Company, 1970.

PAVAN, F. R.; MAIA, P. I. D. S.; LEITE, S. R.; DEFLON, V. M.; BATISTA, A. A.; SATO, D. N.; FRANZBLAU, S. G.; LEITE, C. Q. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: *anti-Mycobacterium tuberculosis* activity and cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Molineaux, v. 45, n. 5, p. 1898-1905, 2010.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. A. **Introduction to spectroscopy**. 5. ed. Stamford: Cengage learning, 2014.

PÖTSCH, I.; BAIER, D.; KEPPLER, B. K.; BERGER, W. Challenges and chances in the preclinical to clinical translation of anticancer metallodrugs. *In*: CASINI, A.; VESSIÈRES, A.; MAIER-MENCHES, S. **Metal-based anticancer agents**. London: Royal Society of Chemistry, 2019. p. 308-347.

PRADO, V. S.; LEITAO, R. C.; SILVA, F.; GANO, L.; SANTOS, I. C.; MARQUES, F. L.; PAULO, A.; DEFLON, V. M. Gallium and indium complexes with new hexadentate bis (semicarbazone) and bis (thiosemicarbazone) chelators. **Dalton Transactions**, Cambridge, v. 50, n. 5, p. 1631-1640, 2021.

PRIIMAGI, A.; CAVALLO, G.; METRANGOLO, P.; RESNATI, G. The halogen bond in the design of functional supramolecular materials: recent advances. **Accounts of Chemical Research**, Washington, v. 46, n. 11, p. 2686-2695, 2013.

PYLE, A. M.; REHMANN, J. P.; MESHOYRER, R.; KUMAR, C. V.; TURRO, N. J.; BARTON, J. K. Mixed-ligand complexes of ruthenium (II): factors governing binding to DNA. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 111, n. 8, p. 3051-3058, 1989.

QI, J.; LIU, T.; ZHAO, W.; ZHENG, X.; WANG, Y. Synthesis, crystal structure and antiproliferative mechanisms of gallium (III) complexes with benzoylpyridine thiosemicarbazones. **RSC Advances**, Cambridge, v. 10, n. 32, p. 18553-18559, 2020.

REID, M. J.; ARINAMINPATHY, N.; BLOOM, A.; BLOOM, B. R.; BOEHME, C.; CHAISSON, R.; CHIN, D. P.; CHURCHYARD, G.; COX, H.; DITIU, L.; DYBUL, M. Building a tuberculosis-free world: the Lancet Commission on tuberculosis. **The Lancet**, London, v. 393, n. 10178, p. 1331-1384, 2019.

RESCIFINA, A.; ZAGNI, C.; VARRICA, M. G.; PISTARÀ, V.; CORSARO, A. Recent advances in small organic molecules as DNA intercalating agents: synthesis, activity, and modeling. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Molineaux, v. 74, p. 95-115, 2014.

REYNOLDS, J.; HEYSELL, S. K. Understanding pharmacokinetics to improve tuberculosis treatment outcome. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology**, Oxon, v. 10, n. 6, p. 813-823, 2014.

RIBEIRO, G. H.; COLINA-VEGAS, L.; CLAVIJO, J. C.; ELLENA, J.; COMINETTI, M. R.; BATISTA, A. A. Ru (II)/NN/PPh₃ complexes as potential anticancer agents against MDA-MB-231 cancer cells (NN= diimine or diamine). **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 193, p. 70-83, 2019.

RICHARDSON, D. R. Cytotoxic analogs of the iron (III) chelator pyridoxal isonicotinoyl hydrazone: effects of complexation with copper (II), gallium (III), and iron (III) on their antiproliferative activities. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 41, n. 9, p. 2061-2063, 1997.

RIDDELL, I. A.; LIPPARD, S. J. 1. Cisplatin and oxaliplatin: our current understanding of their actions. *In*: SIGEL, A.; SIGEL.; FREISINGER, E.; SIGEL, R. K. O. **Metallo-Drugs**: development and action of anticancer agents. Berlin: De Gruyter, 2018. v. 18, p. 1-42.

ROCHA, C. R. R.; SILVA, M. M.; QUINET, A.; CABRAL-NETO, J. B.; MENCK, C. F. M. DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. **Clinics**, São Paulo, v. 73, 2018.

RODGERS, G. E. **Descriptive inorganic, coordination, and solid state chemistry**. 3. ed. Stamford: Cengage Learning, 2011.

ROLLAS, S.; KÜÇÜKGÜZEL, S. G. Biological activities of hydrazone derivatives. **Molecules**, Basel, v. 12, n. 8, p. 1910-1939, 2007.

ROSBOTTOM, I.; CHENG, T. N. H.; HENG, J. Y. Y. Computational analysis of the solid-state and solvation properties of carbamazepine in relation to its polymorphism. **Chemical Engineering & Technology**, Weinheim, v. 43, n. 6, p. 1152-1159, 2020.

ROSENBERG, B. Platinum complexes for the treatment of cancer: why the search goes on. *In*: LIPPERT, B. (ed.). **Cisplatin**: chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug. New Jersey: John Wiley & Sons, p. 3-27, 1999.

ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, Berlin, v. 222, n. 5191, p. 385-386, 1969.

ROSS, P.D.; SUBRAMANIAN, S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability. **Biochemistry**, Washington, v. 20, n. 11, p. 3096-3102, 1981.

SALMAN, S. R. Electronic spectroscopy, study of chemical reactions. *In*: LINDON, J. C.; TRANTER, G. E.; KOPPENAAL, D. W. **Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2017. p. 470-475.

SARIOGLU, O. F.; TEKINER-GURSAÇLI, R.; OZDEMIR, A.; TEKINAY, T. Comparison of Au (III) and Ga (III) ions' binding to calf thymus DNA: spectroscopic characterization and thermal analysis. **Biological Trace Element Research**, Totowa, v. 160, n. 3, p. 445-452, 2014.

SATHYADEVI, P.; KRISHNAMOORTHY, P.; JAYANTHI, E.; BUTORAC, R. R.; COWLEY, A. H.; DHARMARAJ, N. Studies on the effect of metal ions of hydrazone complexes on interaction with nucleic acids, bovine serum albumin and antioxidant properties. **Inorganica Chimica Acta**, Lausanne, v. 384, p. 83-96, 2012.

SCASNAR, V.; VAN LIER, J. E. The use of SEP-PAK SI cartridges for the preparation of gallium chloride from the citrate solution. **European Journal of Nuclear Medicine**, New York, v. 20, n. 3, p. 273-273, 1993.

SCRUGGS, R. L.; ROSS, P. D. Viscosity study of DNA. **Biopolymers**: original research on biomolecules, Hoboken, v. 2, n. 6, p. 593-609, 1964.

SHAHABADI, N.; GHASEMIAN, Z.; HADIDI, S. Binding studies of a new water-soluble iron (III) Schiff base complex to DNA using multispectroscopic methods. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, London, v. 2012, 2012.

SHAKDOFA, M. M.; SHTAIWI, M. H.; MORSY, N.; ABDEL-RASSEL, T. Metal complexes of hydrazones and their biological, analytical and catalytic applications: a review. **Main Group Chemistry**, Amsterdam, v. 13, n. 3, p. 187-218, 2014.

SHELDRIK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallographica. Section A: foundations of crystallography**, Hoboken, v. 64, n. 1, p. 112-122, 2008.

SHELDRIK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallographica. Section C: structural chemistry**, Hoboken, v. 71, n. 1, p. 3-8, 2015.

SIGEL, A. (ed.). **Metal ions and their complexes in medication**. Boca Raton: CRC Press, 2004. (Metal ions in biological systems, 41).

SIGEL, A.; SIGEL, H.; SIGEL, R.K.O. (ed.). **Interrelations between essential metal ions and human diseases**. Dordrecht: Springer, 2013.

SIGEL, H.; SIGEL, A. The bio-relevant metals of the periodic table of the elements. **Zeitschrift für Naturforschung B**, Berlin, v. 74, n. 6, p. 461-471, 2019.

SILESHI, T.; TADESSE, E.; MAKONNEN, E.; AKLILLU, E. The impact of first-line anti-tubercular drugs' pharmacokinetics on treatment outcome: a systematic review. **Clinical Pharmacology: advances and applications**, Macclesfield, v. 13, p. 1, 2021.

SILVA, F.; MARQUES, F.; SANTOS, I. C.; PAULO, A.; RODRIGUES, A. S.; RUEFF, J.; SANTOS, I. Synthesis, characterization and cytotoxic activity of gallium (III) complexes anchored by tridentate pyrazole-based ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 104, n. 5, p. 523-532, 2010.

SINDEN, R. R. **DNA structure and function**. San Diego: Academic Press, 1994.

SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: biology**, Amsterdam, v. 124, p. 1-19, 2013.

SOCRATES, G. **Infrared and Raman characteristic group frequencies: tables and charts**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004.

SPENCER, J.; WALDEN, B. Special focus: metals in medicine. **Future Medicinal Chemistry**, London, v. 10, n. 6 p. 607-609, 2018.

SRITHARAN, M. Iron homeostasis in *Mycobacterium tuberculosis*: mechanistic insights into siderophore-mediated iron uptake. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 198, n. 18, p. 2399-2409, 2016.

STERLING, T. R.; NJIE, G.; ZENNER, D.; COHN, D. L.; REVES, R.; AHMED, A.; MENZIES, D.; HORSBURGH JUNIOR, C. R.; CRANE, C. M.; BURGOS, M.; LOBUE, P. Guidelines for the treatment of latent tuberculosis infection: recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC. **American Journal of Transplantation**, Hoboken, p. 1196-1206, 2020.

STOCKS, Mi. The small molecule drug discovery process—from target selection to candidate selection. *In*: GANELLIN, R.; ROBERTS S.; JEFFERIS, R. **Introduction to biological and small molecule drug research and development**. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 81-126.

SUN, Y.; ANDERSON, C. J.; PAJEAU, T. S.; REICHERT, D. E.; HANCOCK, R. D.; MOTEKAITIS, R. J.; MARTELL, A. E.; WELCH, M. J. Indium (III) and gallium (III) complexes of bis (aminoethanethiol) ligands with different denticities: stabilities, molecular modeling, and in vivo behavior. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 39, n. 2, p. 458-470, 1996.

SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, Atlanta, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

TAI, Y. X.; JI, Y. M.; LU, Y. L.; LI, M. X.; WU, Y. Y.; HAN, Q. X. Cadmium (II) and indium (III) complexes derived from 2-benzoylpyridine N (4)-cyclohexylthiosemicarbazone: synthesis, crystal structures, spectroscopic characterization and cytotoxicity. **Synthetic Metals**, Lausanne, v. 219, p. 109-114, 2016.

TAJBAKSH, S.; MOHAMMADI, K.; DEILAMI, I.; ZANDI, K.; FOULADVAND, M.; RAMEDANI, E.; ASAYESH, G. Antibacterial activity of indium curcumin and indium diacetylcurcumin. **African Journal of Biotechnology**, Sapele, v. 7, n. 21, 2008.

TIDWELL, T. T. Hugo (Ugo) Schiff, Schiff bases, and a century of β -lactam synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 47, n. 6, p. 1016-1020, 2008.

TIMERBAEV, A. R. Advances in developing tris (8-quinolinolato) gallium (III) as an anticancer drug: critical appraisal and prospects. **Metallomics**, Oxford, v. 1, n. 3, p. 193-198, 2009.

VARSÁNYI, G. **Vibrational spectra of benzene derivatives**. Amsterdam: Elsevier, 2012.

VELAYATI, A. A.; MASJEDI, M. R.; FARNIA, P.; TABARSI, P.; GHANA VI, J.; ZIAZARIFI, A. H.; HOFFNER, S. E. Emergence of new forms of totally drug-resistant tuberculosis bacilli: super extensively drug-resistant tuberculosis or totally drug-resistant strains in Iran. **Chest**, Amsterdam, v. 136, n. 2, p. 420-425, 2009.

VELOZO-SÁ, V. S.; PEREIRA, L. R.; LIMA, A. P.; MELLO-ANDRADE, F.; REZENDE, M. R.; GOVEIA, R. M.; PIRES, W. C.; SILVA, M. M.; OLIVEIRA, K. M.; FERREIRA, A. G.; ELLENA, J. In vitro cytotoxicity and in vivo zebrafish toxicity evaluation of Ru (II)/2-mercaptopyrimidine complexes. **Dalton Transactions**, Cambridge, v. 48, n. 18, p. 6026-6039, 2019.

VENKATESAN, P.; THAMOTHARAN, S.; KUMAR, R. G.; ILANGO VAN, A. Invariant and variable intermolecular interactions in functionalized malonic acid half-esters: X-ray, Hirshfeld surface and PIXEL energy analyses. **CrystEngComm**, Cambridge, v. 17, n. 4, p. 904-915, 2015.

VILCHÈZE, C.; JACOBS, J. R.; WILLIAM, R. The isoniazid paradigm of killing, resistance, and persistence in *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Molecular Biology**, London, v. 431, n. 18, p. 3450-3461, 2019.

VINCENT, J. B. New evidence against chromium as an essential trace element. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 147, n. 12, p. 2212-2219, 2017.

WADAS, T. J.; WONG, E. H.; WEISMAN, G. R.; ANDERSON, C. J. Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease. **Chemical Reviews**, Washington, v. 110, n. 5, p. 2858-2902, 2010.

WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, Berlin, v. 4, n. 4, p. 307-320, 2005.

WANG, J. M.; LI, Y.; YUAN, H. Q.; WU, D. H.; YING, X.; SHI, L.; ZHANG, H. T.; LIU, H. Y. Methyl Benzoate Gallium (III) corrole complexes: DNA-binding, photocleavage activity, cytotoxicity on tumor cells. **Applied Organometallic Chemistry**, Hoboken, v. 31, n. 3, p. e3571, 2017.

WANG, Y. T.; FANG, Y.; ZHAO, M.; LI, M. X.; JI, Y. M.; HAN, Q. X. Cu (II), Ga (III) and In (III) complexes of 2-acetylpyridine N (4)-phenylthiosemicarbazone: synthesis, spectral characterization and biological activities. **MedChemComm**, Cambridge, v. 8, n. 11, p. 2125-2132, 2017.

WATSON, J. D.; CRICK, F. H. C. Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. **Nature**, Berlin, v. 171, n. 4356, p. 737-738, 1953.

WEI, M.; ZHAO, Y.; QIAN, Z.; YANG, B.; XI, J.; WEI, J.; TANG, B. Pneumonia caused by *Mycobacterium tuberculosis*. **Microbes and Infection**, Amsterdam, v. 22, n. 6-7, p. 278-284, 2020.

WILSON, J. J.; LIPPARD, S. J. Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes. **Chemical Reviews**, Washington, v. 114, n. 8, p. 4470-4495, 2014.

WOLFE, A.; SHIMER JUNIOR, G. H.; MEEHAN, T. Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denatured DNA. **Biochemistry**, Washington, v. 26, n. 20, p.6392-6396, 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer** – Overview. Geneva: WHO, [2021?]. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1. Acesso em: 13 jun. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report 2020**. Geneva: WHO, 2020. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory **Cancer today** – Table. Geneva: WHO, 2020. Disponível em: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1. Acesso em: 13 jun. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all**. Geneva: WHO, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/who-report-on-cancer-setting-priorities-investing-wisely-and-providing-care-for-all>. Acesso em: 13 jun. 2021.

YANAI, T.; TEW, D. P.; HANDY, N. C. A new hybrid exchange–correlation functional using the Coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). **Chemical Physics Letters**, Amsterdam, v. 393, n. 1-3, p. 51-57, 2004.

YAO, S.; ZHENG, Y.; JIANG, L.; XIE, C.; WU, F.; HUANG, C.; ZHANG, X.; WONG, K. L.; LI, Z.; WANG, K. Methylene violet 3RAX-conjugated porphyrin for photodynamic therapy: synthesis, DNA photocleavage, and cell study. **RSC Advances**, Cambridge, v. 8, n. 8, p. 4472-4477, 2018.

YIN, H. Y.; GAO, J. J.; CHEN, X.; MA, B.; YANG, Z. S.; TANG, J.; WANG, B. W.; CHEN, T.; WANG, C.; GAO, S.; ZHANG, J. L. A Gallium (III) complex that engages protein disulfide isomerase A3 (PDIA3) as an anticancer target. **Angewandte Chemie International Edition**, Weinheim, v. 59, n. 45, p. 20147-20153, 2020.

ZHENG, Y.Y.; SALUJA, S.; YAP, G.P.; BLUMENSTEIN, M.; RHEINGOLD, A.L.; FRANCESCONI, L.C. Gallium and indium complexes of bis (amino thiol)(N2S2) ligands. **Inorganic chemistry**, Washington, v. 35, n. 23, p. 6656-6666, 1996.

ZORODDU, M. A.; AASETH, J.; CRISPONI, G.; MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V. M. The essential metals for humans: a brief overview. **Journal of Inorganic Biochemistry**, New York, v. 195, p. 120-129, 2019.

Apêndice A - Espectros de RMN

Figura A1 - Espectro de RMN ^1H do ligante **H₂L2** em DMSO-*d*₆ e frequência de 300 MHz.

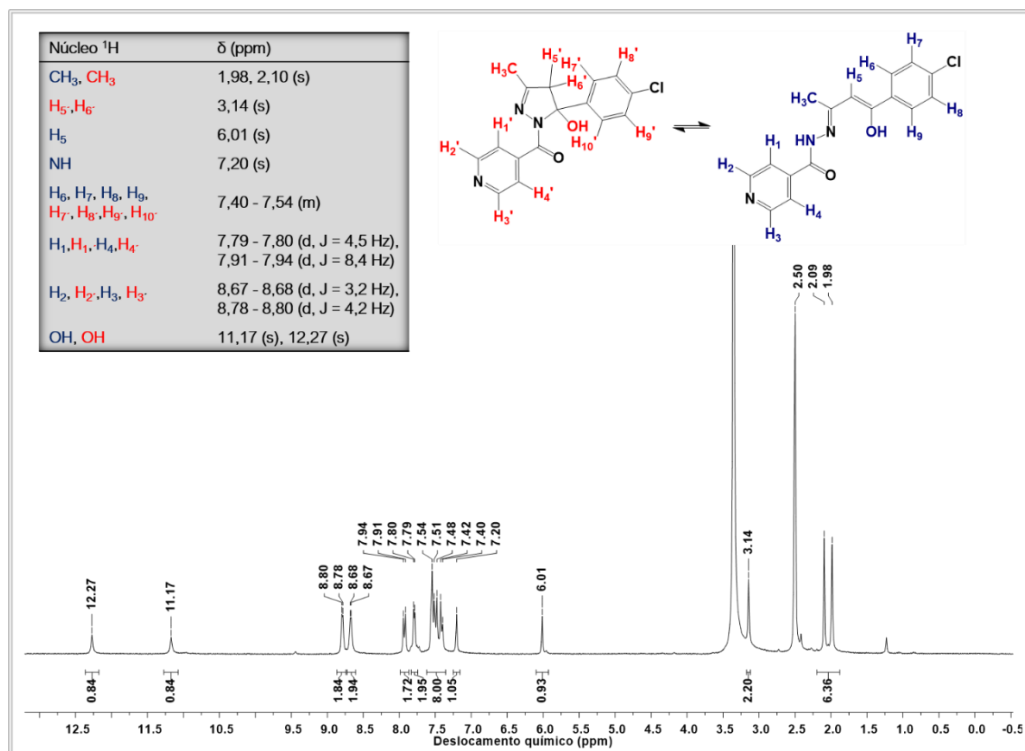


Figura A2 - Espectro de DEPT-135 do ligante **H₂L2** em DMSO-*d*₆.

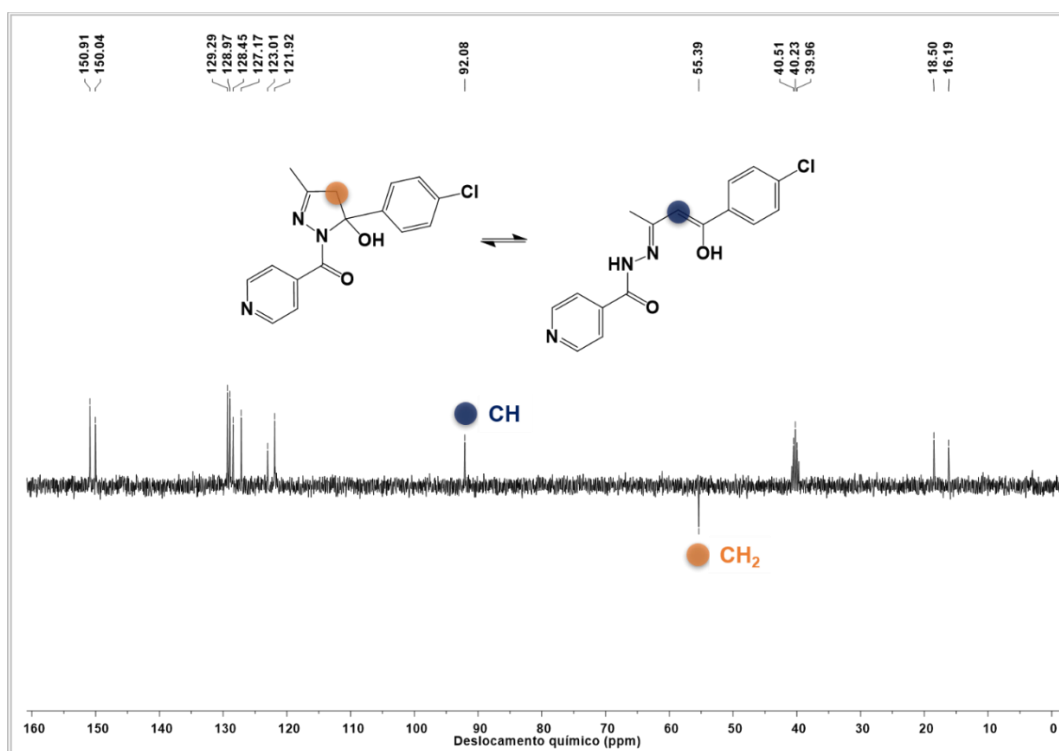


Figura A3 - RMN de ^{13}C do ligante **H₂L2** em $\text{DMSO-}d_6$ e frequência de 75 MHz.

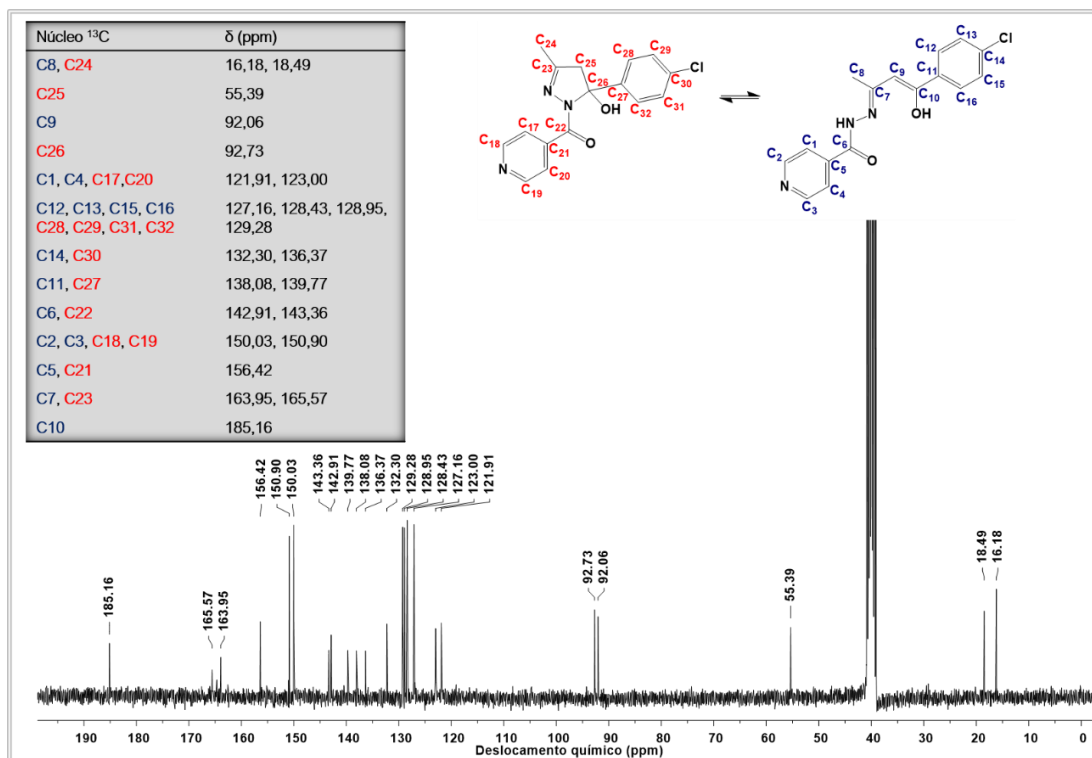


Figura A4 - Espectro de RMN de ^1H do complexo **GaL2** em $\text{DMF-}d_7$ e frequência de 300 MHz.

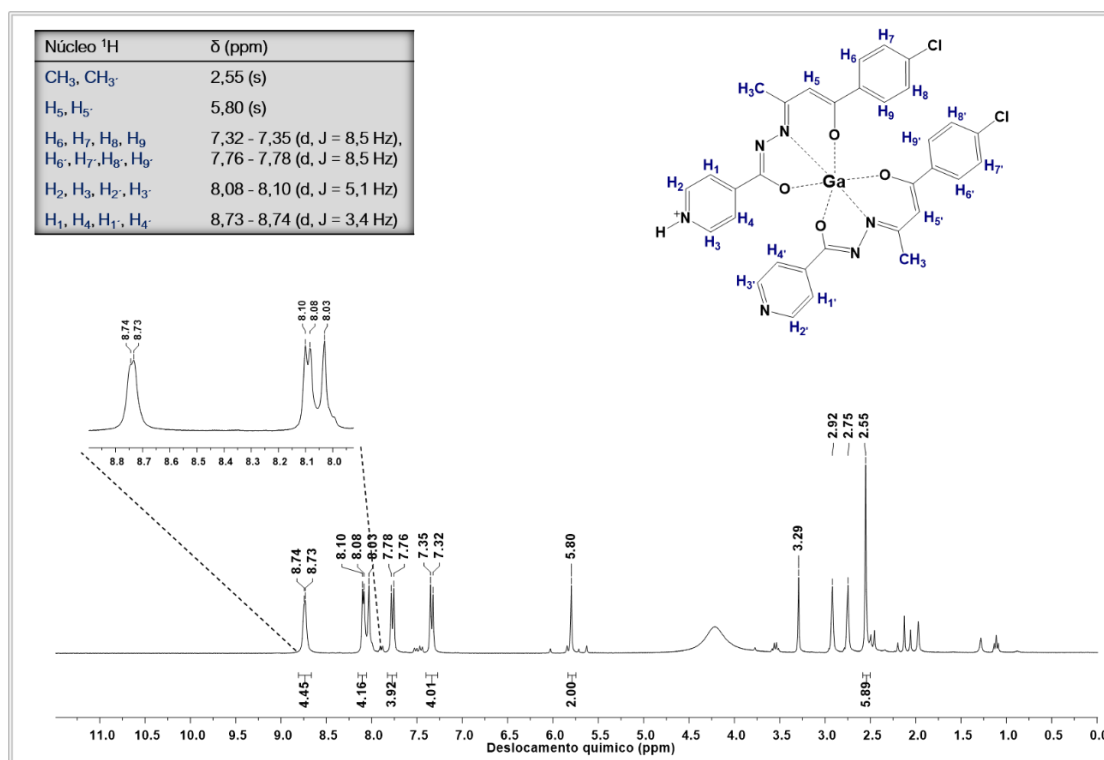


Figura A5 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo **Gal2** em $\text{DMSO-}d_6$ e frequência de 75 MHz.

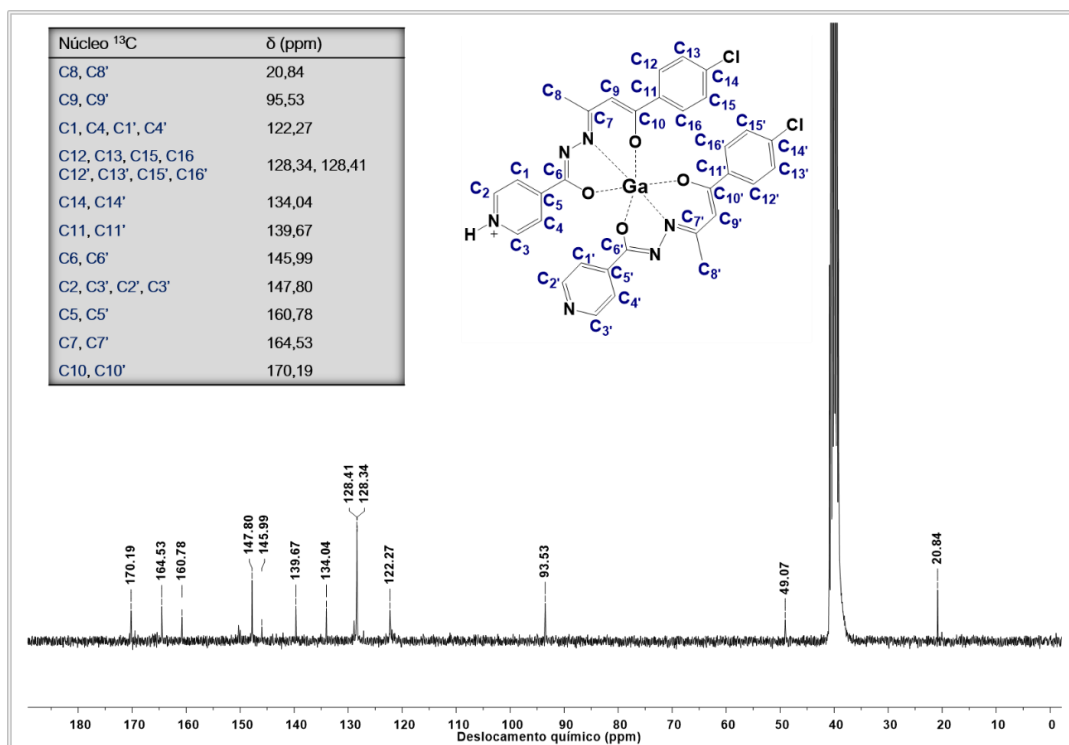


Figura A6 - Espectro de RMN de ^1H do complexo **InL1** em $\text{DMF-}d_7$ e frequência de 300 MHz.

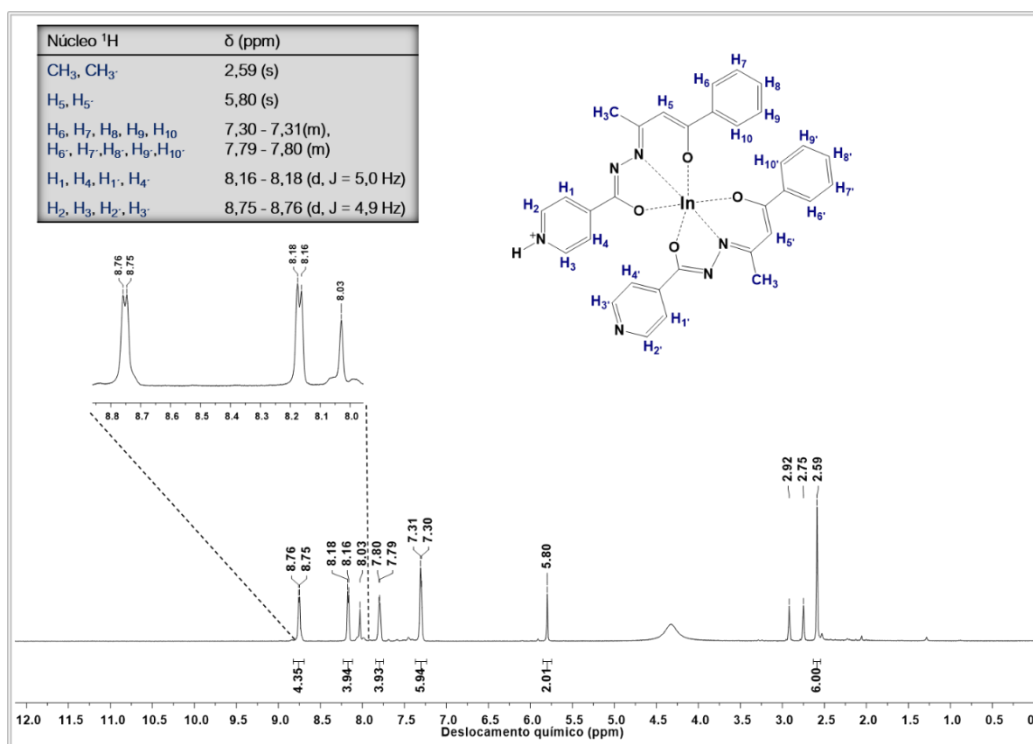


Figura A7 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo **InL1** em $\text{DMF-}d_7$ e frequência de 75 MHz.

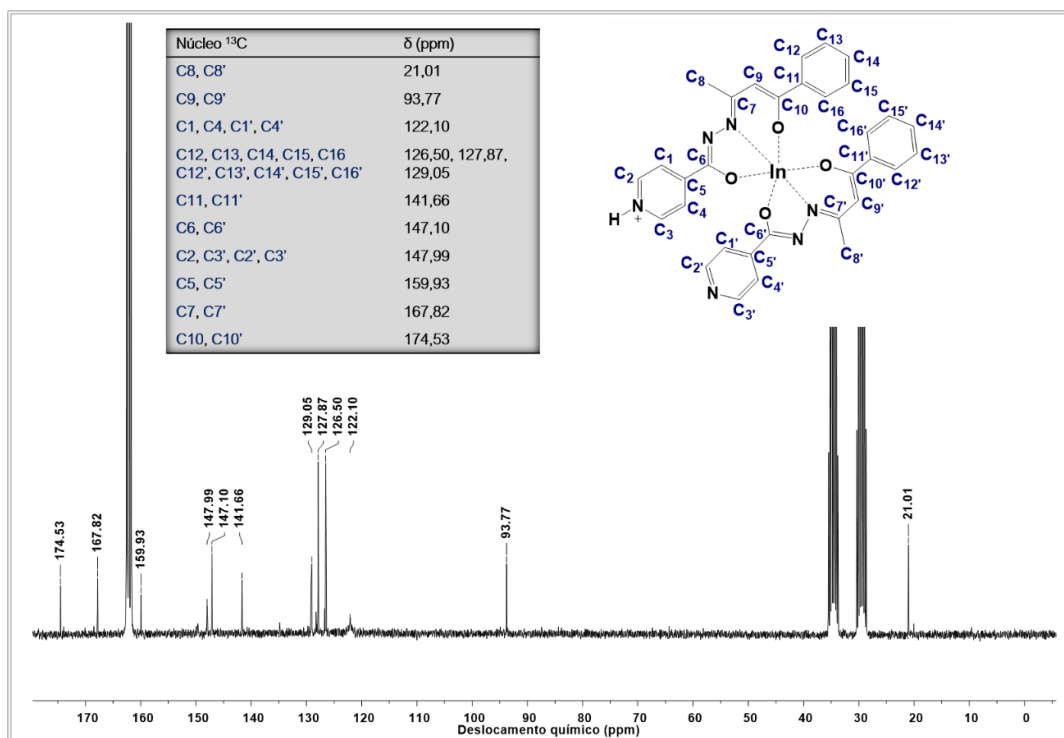


Figura A8 - Espectro de RMN de ^1H do complexo **InL2** em $\text{DMF-}d_7$ e frequência de 300 MHz.

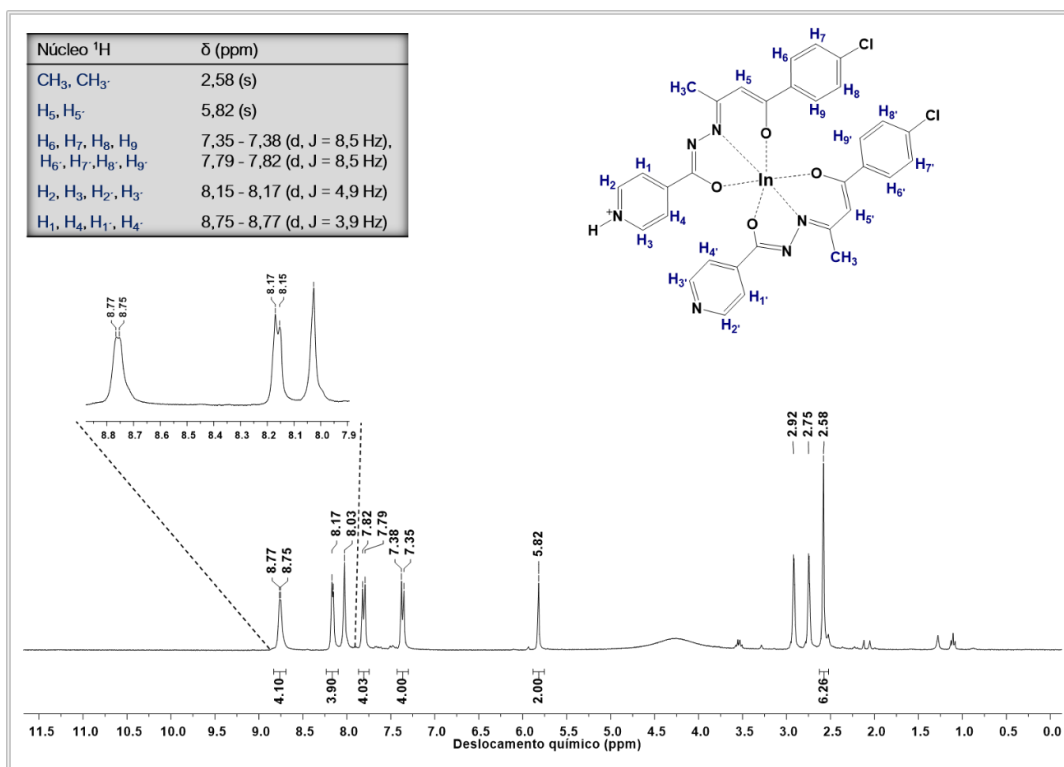
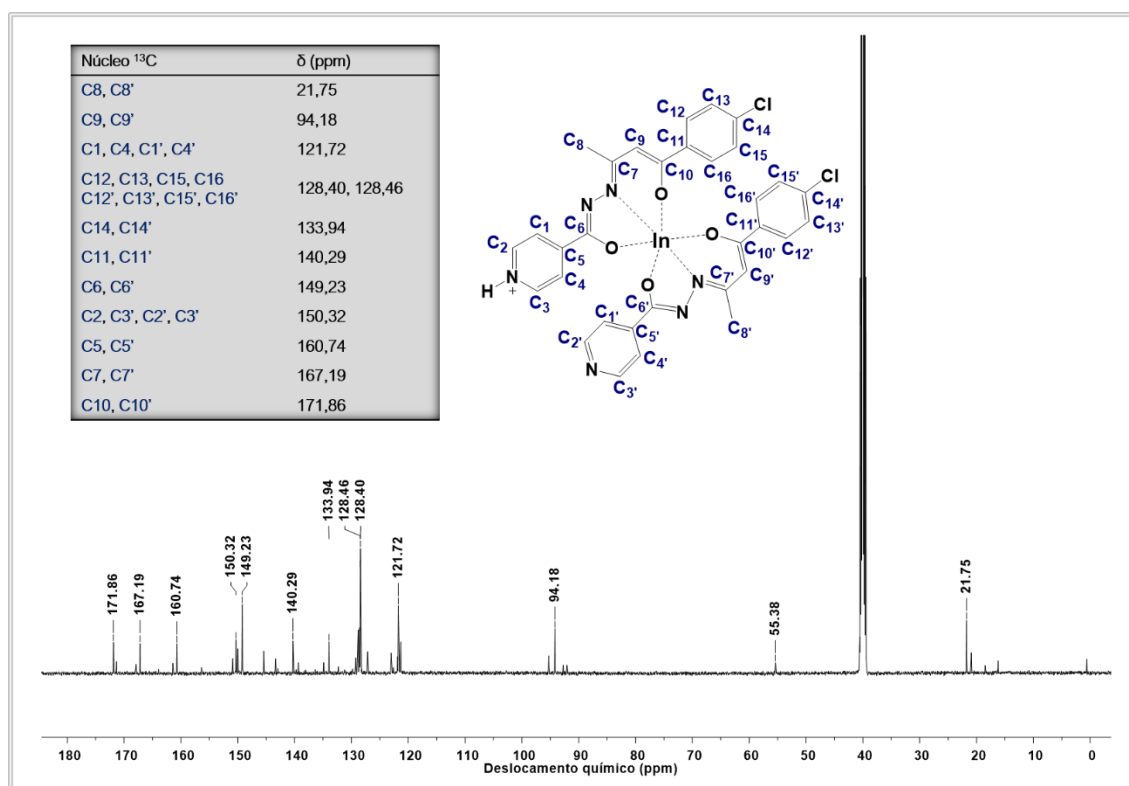
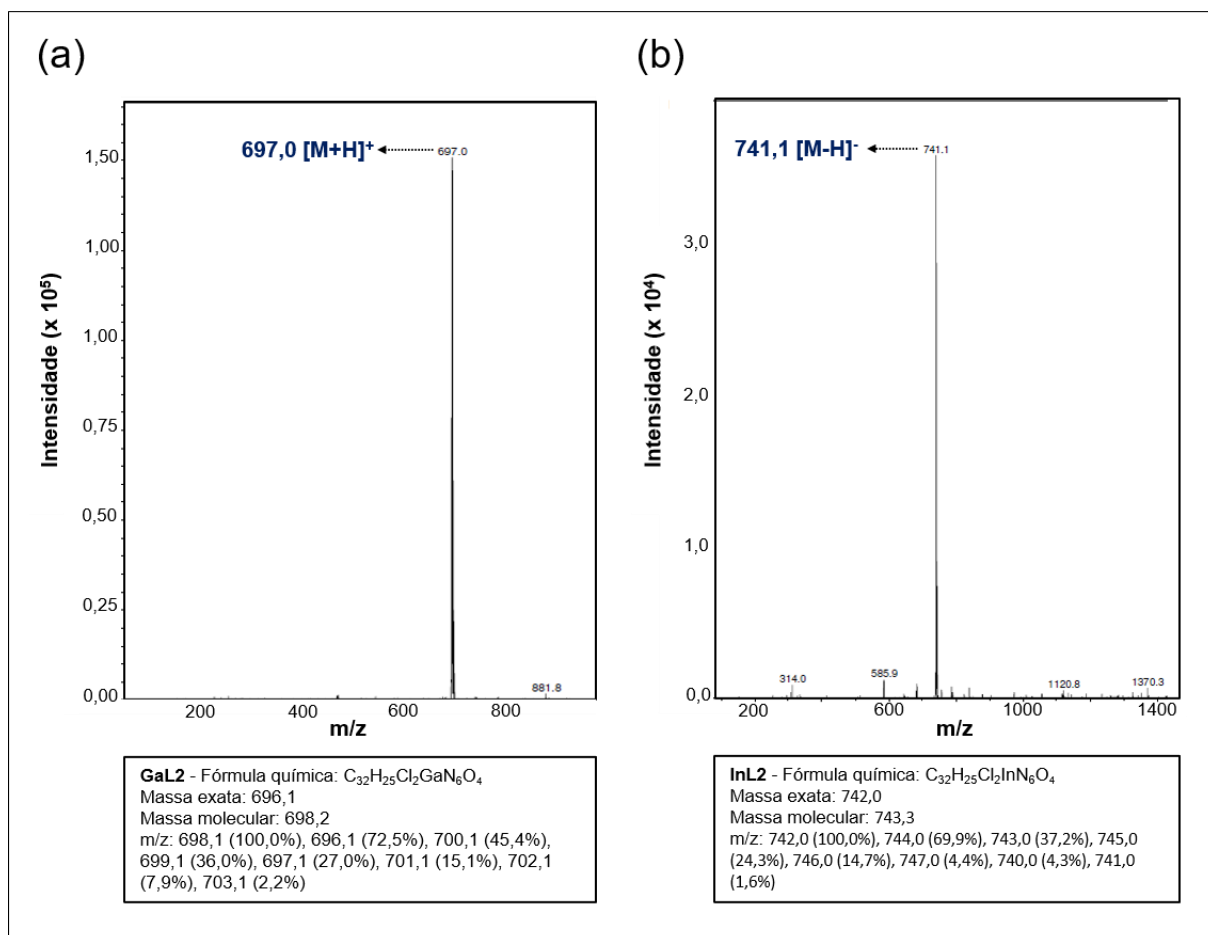


Figura A9 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo **InL2** em $\text{DMSO-}d_6$ e frequência de 75 MHz.



Apêndice B - Espectros de ESI-MS

Figura B1 - Espectros de ESI-MS dos complexos **(a) GaL2**, modo positivo e **(b) InL2**, modo negativo.



Apêndice C - Espectros de UV-Vis

Figura C1 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do composto **H₂L2a** (sólido amarelo) em solução de acetonitrila, monitorado ao longo de 12 h.

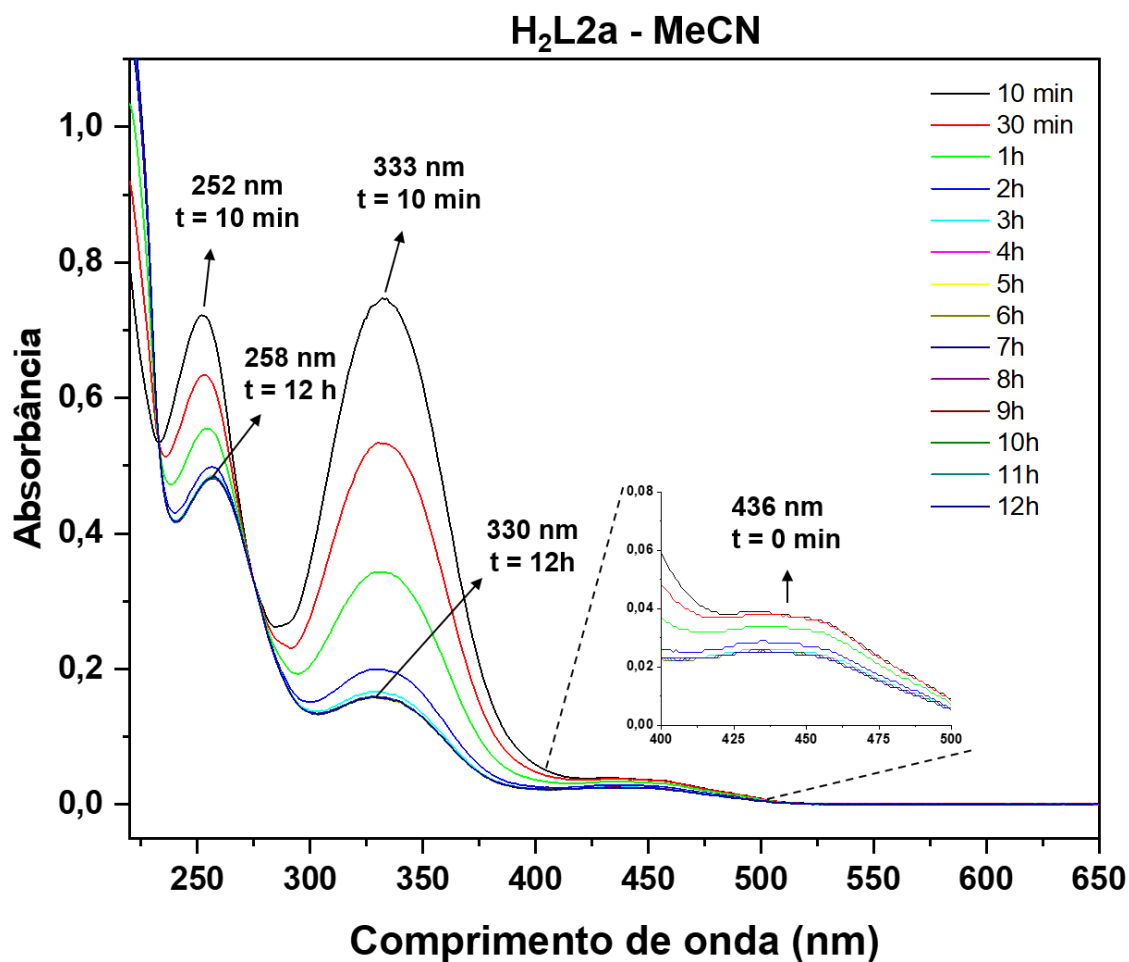


Figura C2 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do composto **H₂L2f** (sólido amarelo) em solução de acetonitrila, monitorado ao longo de 12 h.

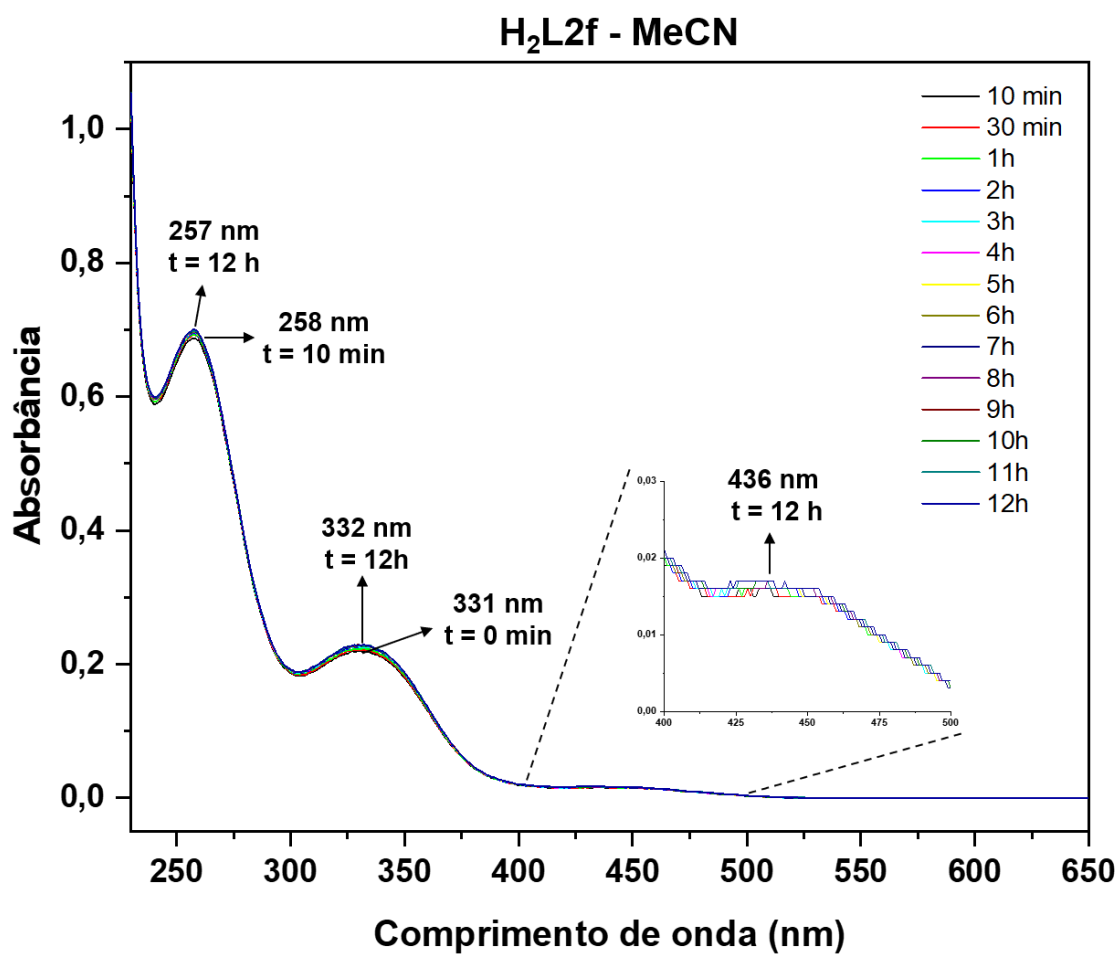


Figura C3 - Espectro de absorção na região do UV-Vis: **(a)** composto **H₂L2a** (sólido amarelo) e **(b)** composto **H₂L2f** (sólido branco) em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 2 h.

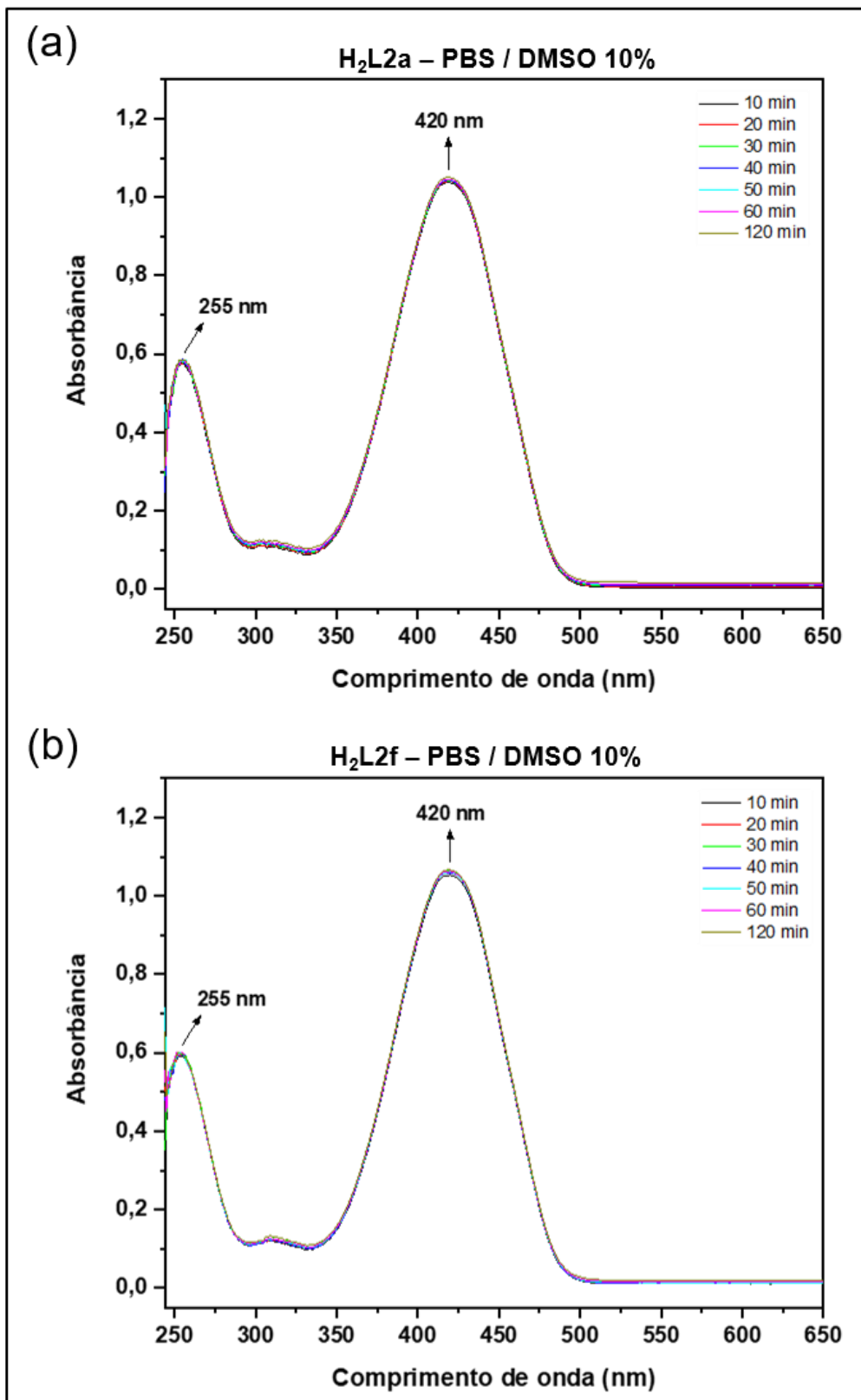


Figura C4 - Espectro de absorção na região do UV-Vis dos ligantes **H₂L1** e **H₂L2** em solução de DMSO.

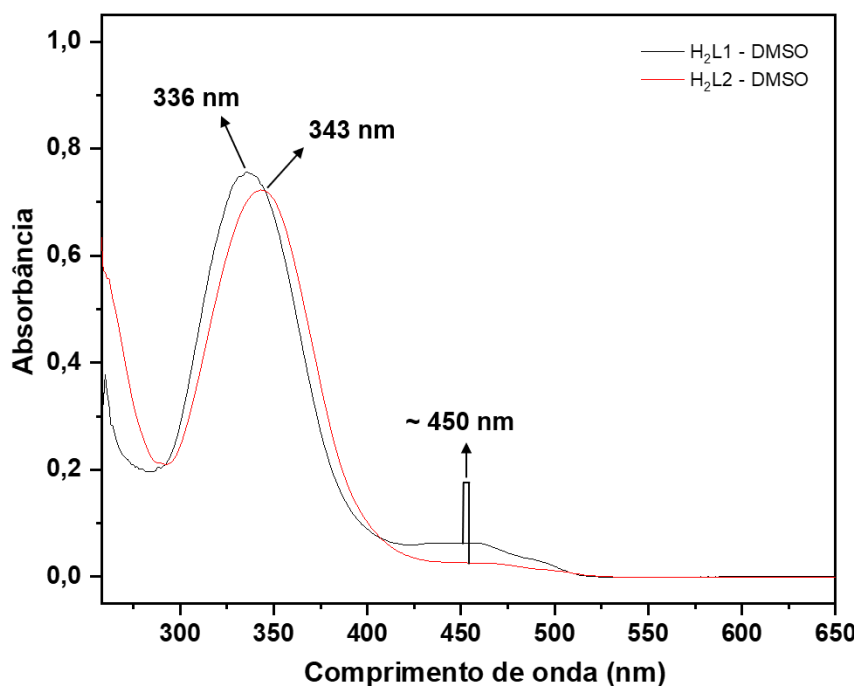


Figura C5 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo **GaL2** em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 24 h.

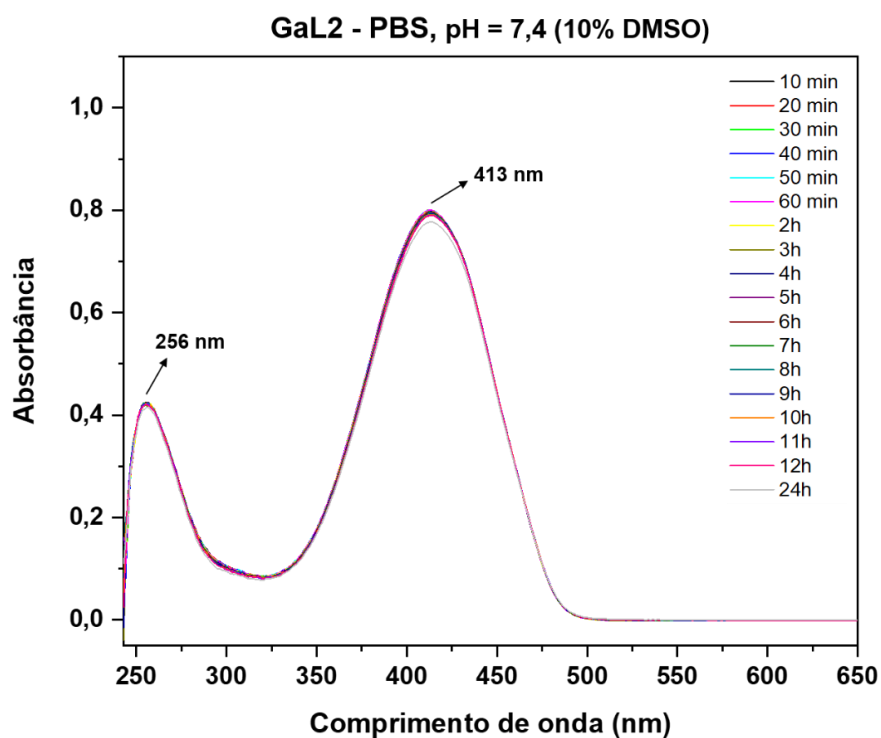
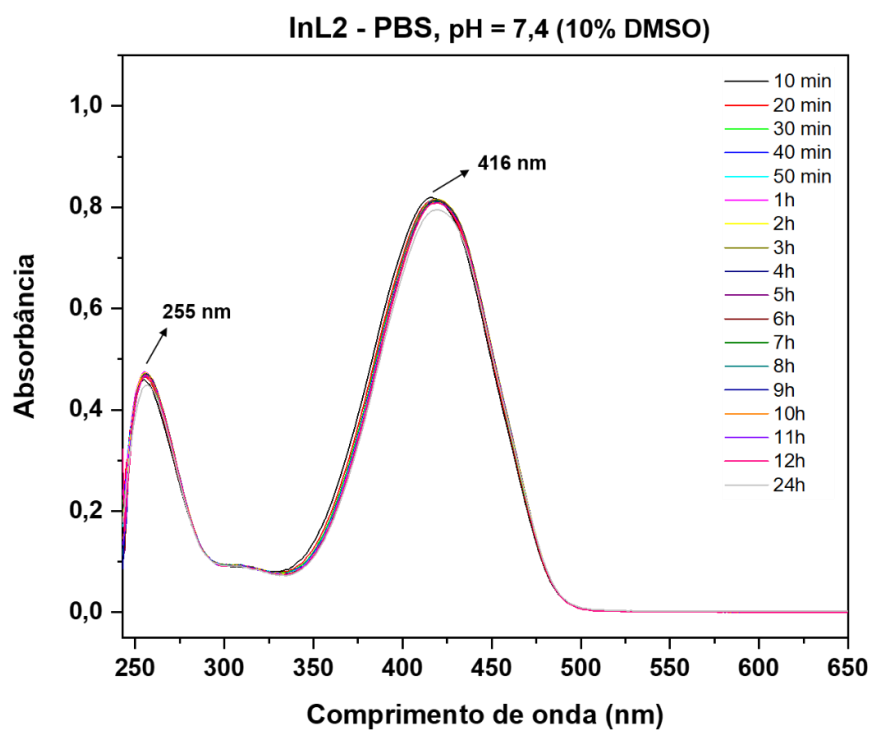


Figura C6 - Espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo **InL2** em solução de tampão PBS, pH = 7,4 (10% DMSO), monitorado ao longo de 24 h.



Apêndice D - Cálculos (DFT): Espectros simulados de UV-Vis e representação dos orbitais HOMO e LUMO

Figura D1 - Espectro de UV-Vis simulado por DFT do complexo **GaL2**, com as energias (eV) das principais transições HOMO-LUMO.

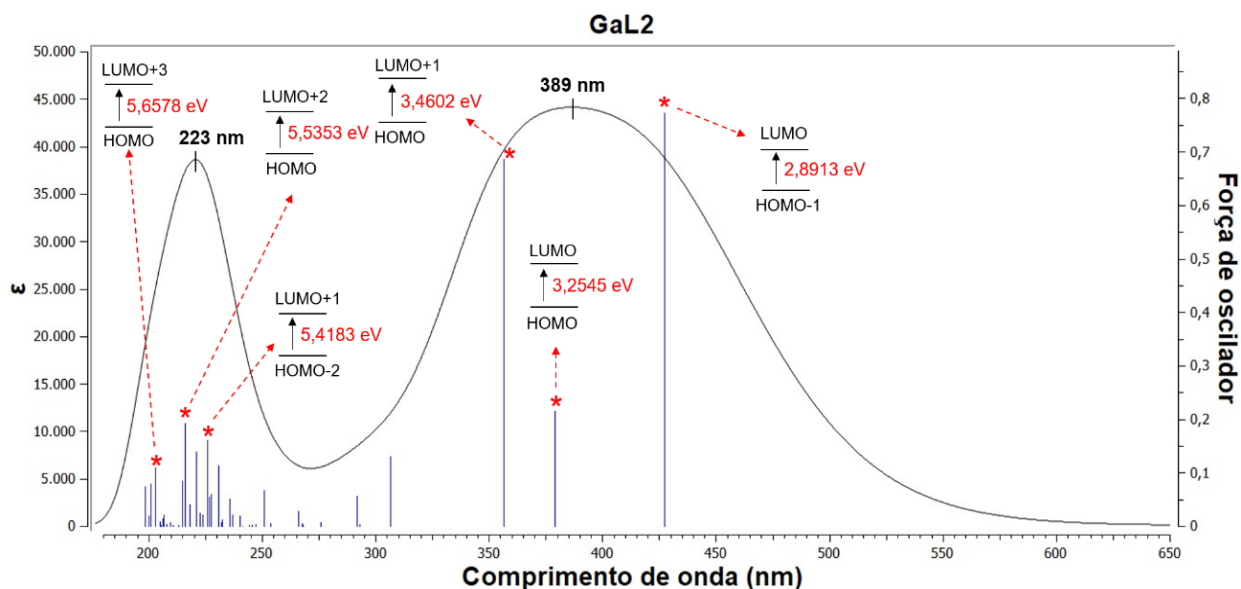


Figura D2 - Espectro de UV-Vis simulado por DFT do complexo **InL1**, com as energias (eV) das principais transições HOMO-LUMO.

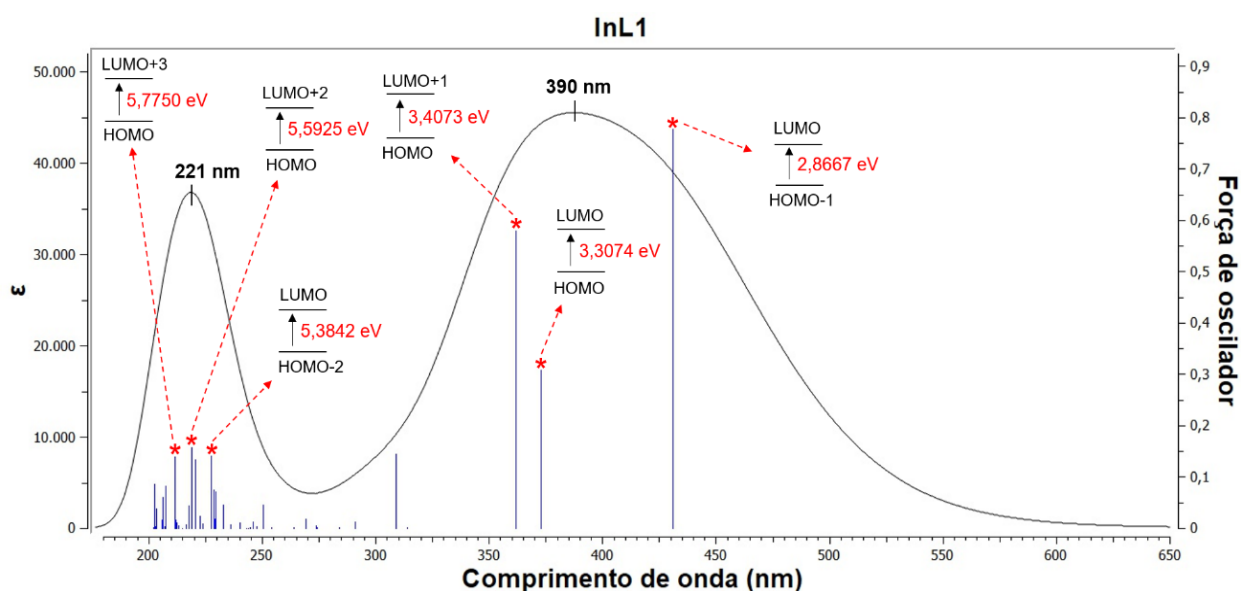


Figura D3 - Espectro de UV-Vis simulado por DFT do complexo **InL2**, com as energias (eV) das principais transições HOMO-LUMO.

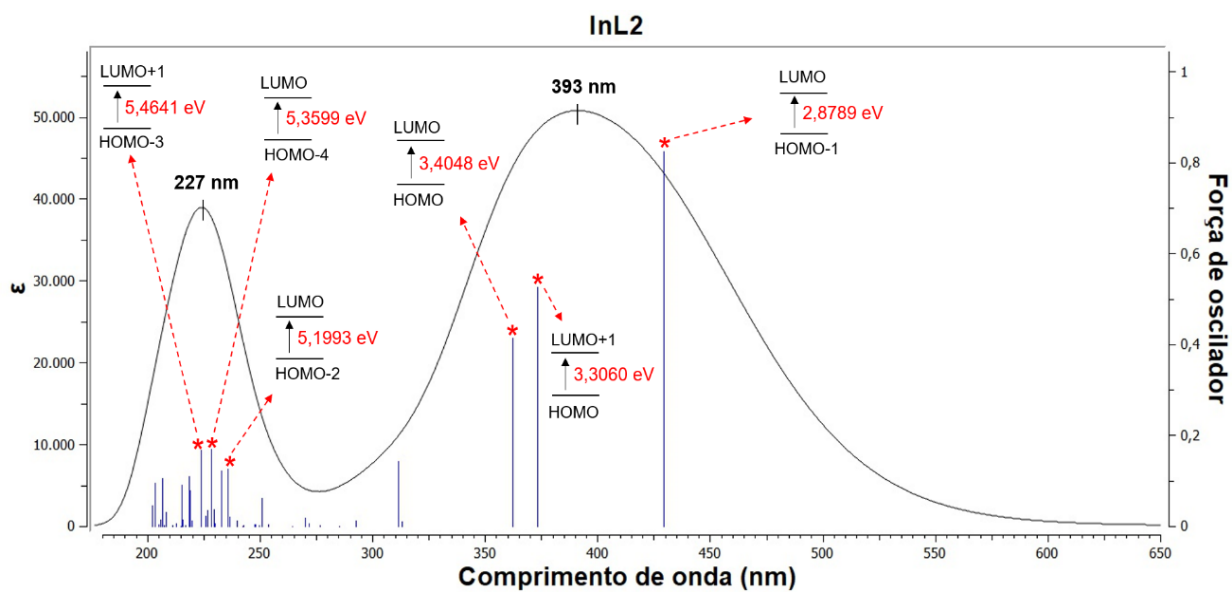


Figura D4 - Orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, das principais transições eletrônicas do complexo **GaL2**.

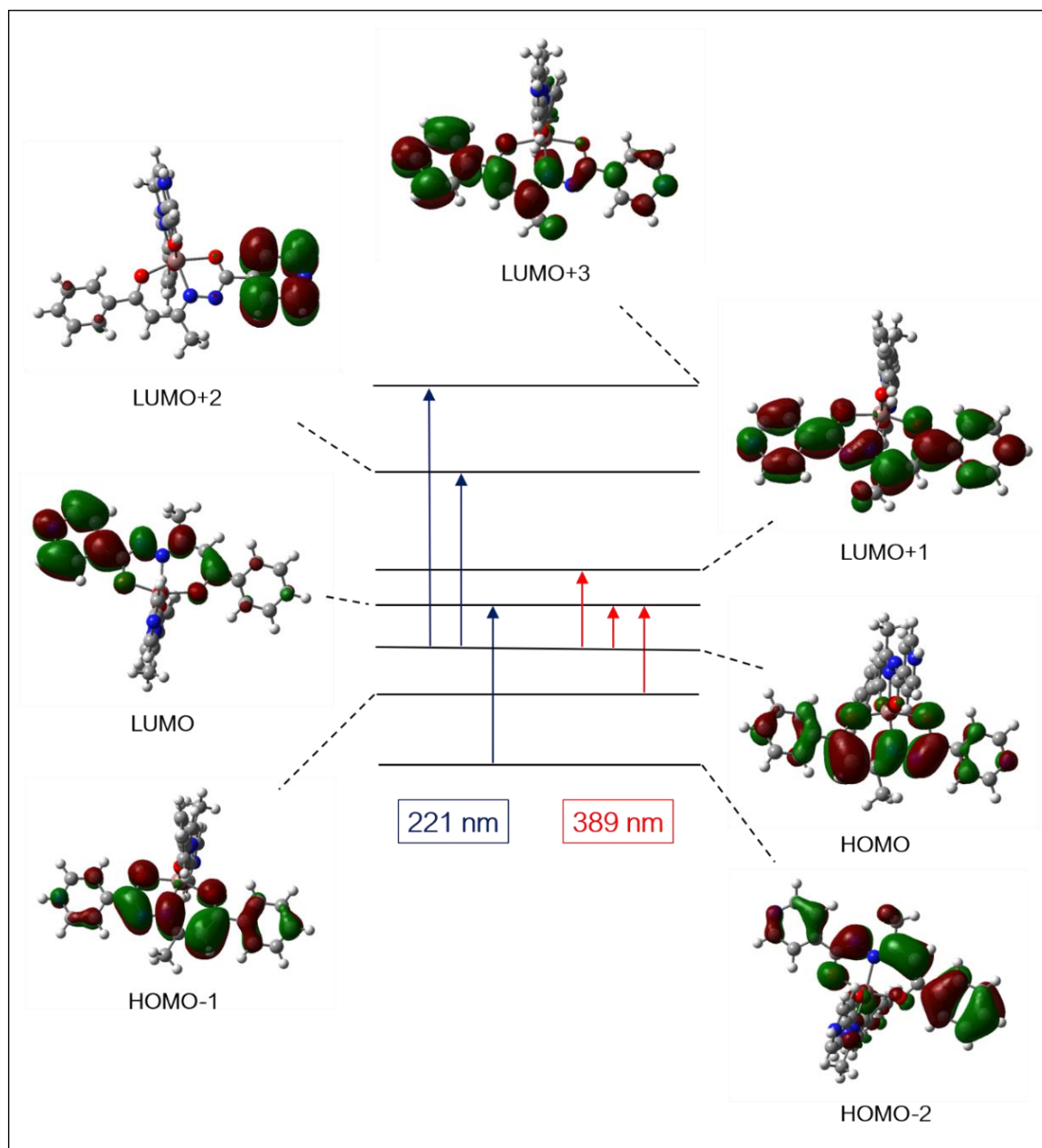


Figura D5 - Orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, das principais transições eletrônicas do complexo **InL1**.

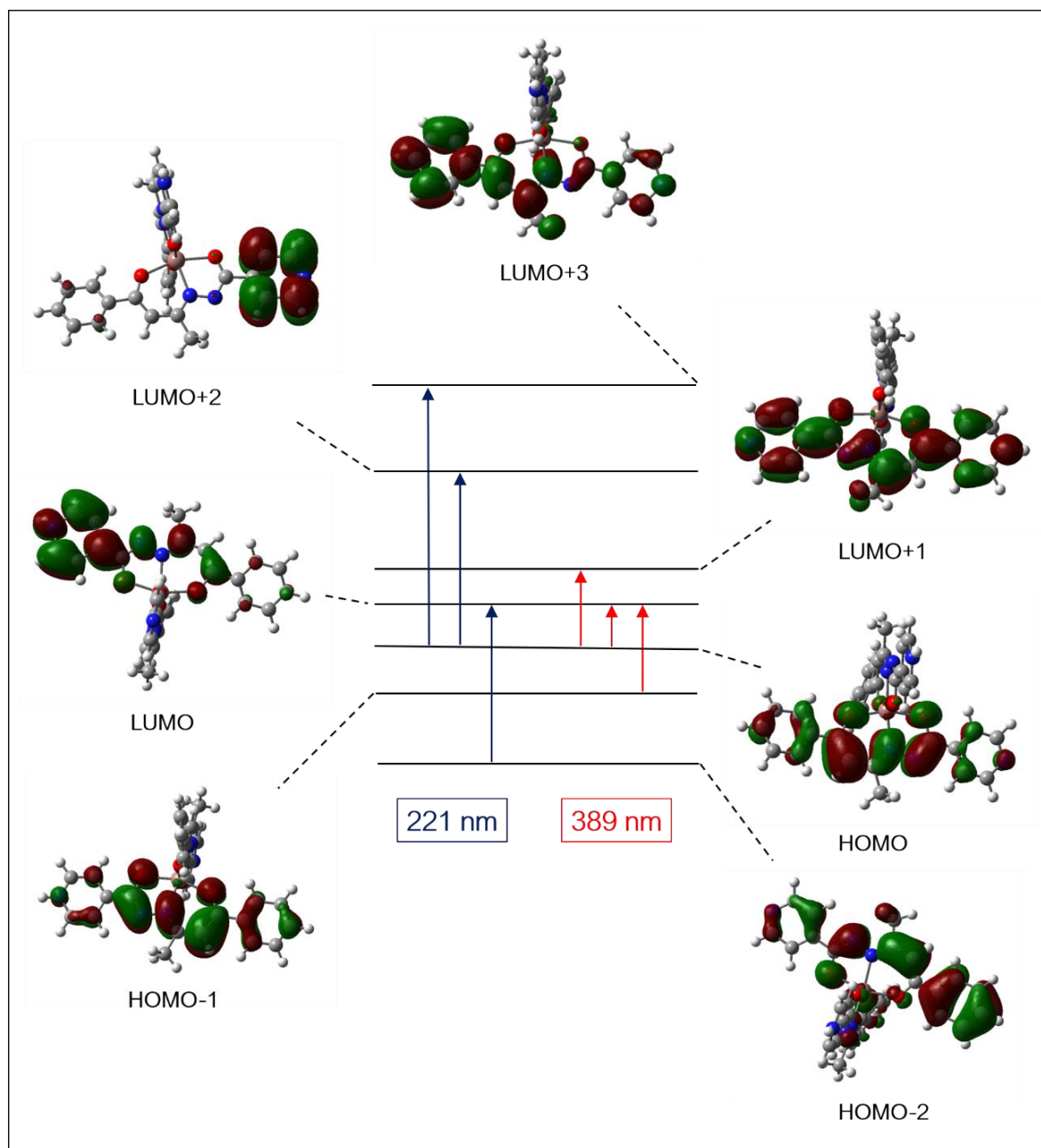
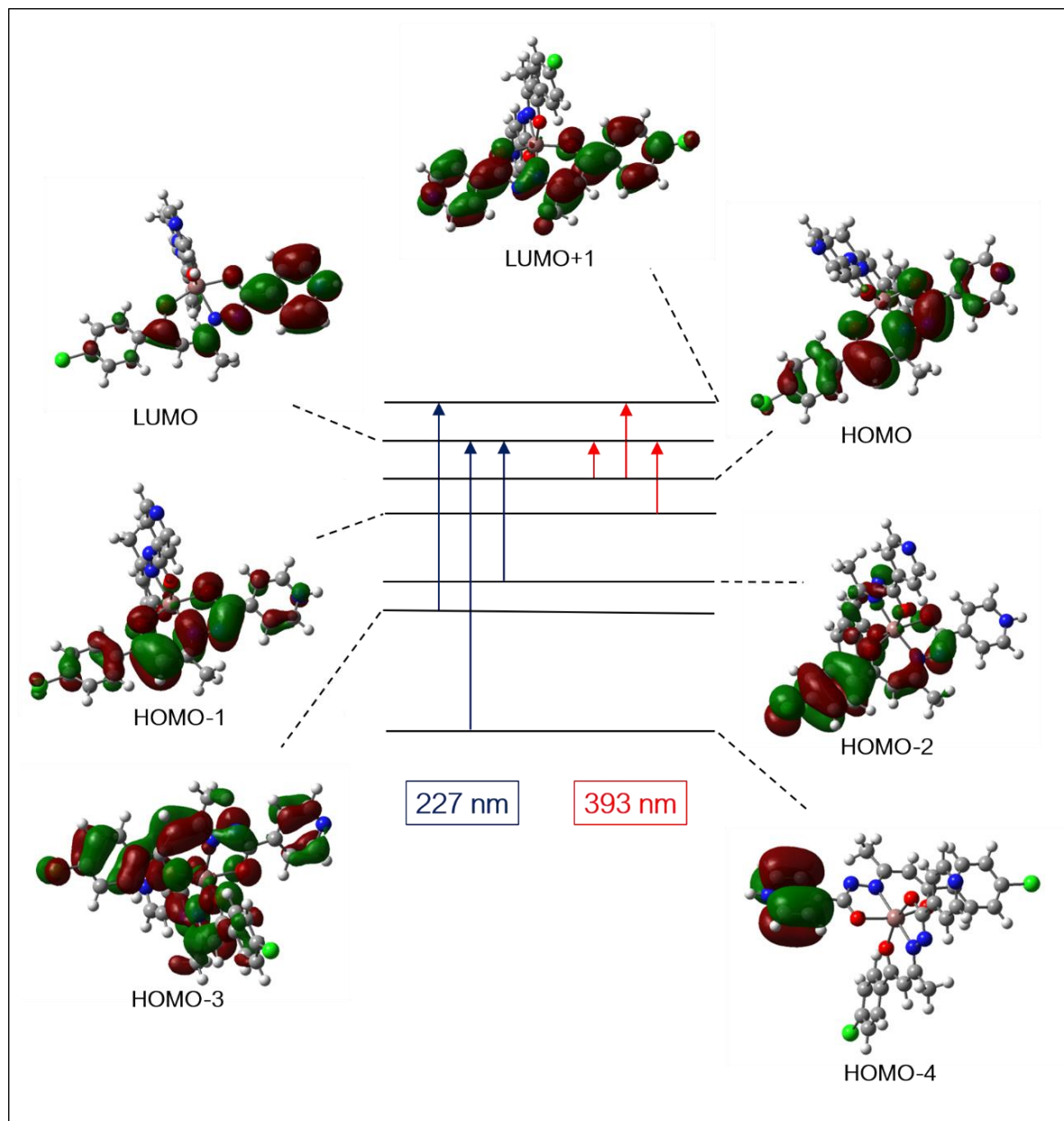


Figura D6 - Orbitais moleculares de fronteira calculados por DFT, das principais transições eletrônicas do complexo **InL2**.



Apêndice E - DRX de monocristal

Tabela E1 - Dados cristalográficos dos ligantes (**H₂L2f**, **H₂L2a**) e do complexo **GaL1**.

Composto	H₂L2f	H₂L2a	GaL1
Fórmula molecular	C ₁₆ H ₁₄ CIN ₃ O ₂ ·H ₂ O	C ₁₆ H ₁₄ CIN ₃ O ₂	C ₃₂ H ₂₇ GaN ₆ O ₄
Massa molecular	333,77	315,75	629,31
Temperatura (K)	296(2)	296(2)	296(2)
Comprimento de radiação (Å)	0,71073	0,71073	0,71073
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P21/c	P21/n	C2/c
Parâmetros da cela			
a (Å)	7,0811(6)	4,2175(5)	17,1745(16)
b (Å)	19,3636(16)	11,1297(14)	15,4313(16)
c (Å)	12,3296(10)	31,522(5)	11,8889(10)
σ (°)	90	90	90
β (°)	103,091(2)	90,814(7)	100,220(8)
γ (°)	90	90	90
V (Å ³)	1646,6(2)	1479,5(3)	3100,9(5)
Z	4	4	4
ρ _{calcd.} (mg.m ⁻³)	1,346	1,418	1,348
μ (mm ⁻¹)	0,250	0,269	0,933
Alcance de θ para coleta de dados (°)	1,995 a 26,422	1,940 a 26,407	1,787 a 25,405
Alcance dos índices	-8<=h<=4, -24<=k<=24, -15<=l<=15	-5<=h<=5, -13<=k<=13, -39<=l<=39	-20<=h<=18, -18<=k<=18, -14<=l<=14
Reflexões coletadas	22981	36035	18381
Reflexões independentes/R _{int}	3368/0,1339	3023/0,1208	2802/0,1037
Dados/restrições/ parâmetros	3368/0/232	3023/0/209	2802/0/196
GOF em F ²	0,859	1,034	1,026
Índices R finais [<i>I</i> >2σ(<i>I</i>)]	R ₁ = 0,0475, wR ₂ = 0,1010	R ₁ = 0,0581, wR ₂ = 0,1359	R ₁ = 0,0559 wR ₂ = 0,1151

Tabela E2 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para os tautômeros **H₂L2f-H₂O** e **H₂L2a**.

L2f		L2a	
Comprimentos (Å)			
Cl(1A)-C(14)	1,750(4)	Cl(1)-C(14)	1,734(3)
O(1)-C(6)	1,234(2)	O(1)-C(6)	1,212(4)
N(3)-C(7)	1,276(3)	N(3)-C(7)	1,334(4)
N(3)-N(2)	1,402(2)	N(3)-N(2)	1,396(3)
N(2)-C(10)	1,509(3)	C(7)-C(9)	1,383(4)
O(2)-C(10)	1,397(2)	O(2)-C(10)	1,244(4)
C(11)-C(16)	1,387(3)	C(11)-C(16)	1,381(5)
N(1)-C(2)	1,328(3)	N(1)-C(2)	1,334(4)
C(1)-C(2)	1,376(3)	C(1)-C(2)	1,384(4)
C(14)-C(15)	1,364(3)	C(14)-C(15)	1,367(5)
Ângulos (°)			
C(6)-N(2)-N(3)	122,23(17)	C(6)-N(2)-N(3)	121,3(3)
O(1)-C(6)-N(2)	121,4(2)	O(1)-C(6)-N(2)	124,1(3)
O(1)-C(6)-C(5)	118,9(2)	O(1)-C(6)-C(5)	120,8(3)
O(2)-C(10)-C(11)	108,71(18)	O(2)-C(10)-C(11)	117,9(3)
N(2)-C(10)-C(11)	110,16(18)	C(7)-N(3)-N(2)	123,7(3)
O(2)-C(10)-C(9)	113,7(2)	O(2)-C(10)-C(9)	122,6(3)
N(3)-C(7)-C(8)	120,9(2)	N(3)-C(7)-C(8)	119,4(3)
C(15)-C(14)-Cl(1A)	117,2(4)	C(15)-C(14)-Cl(1)	118,3(3)

Tabela E3 - Comprimentos (Å) e ângulos de ligação (°) selecionados para complexo GaL1.

GaL1			
Comprimentos (Å)		Ângulos (°)	
O(1)-C(6)	1,296(5)	C(6)-N(2)-N(3)	107,4(3)
N(3)-C(7)	1,314(5)	O(1)-C(6)-N(2)	126,3(4)
N(3)-N(2)	1,410(4)	O(1)-C(6)-C(5)	118,6(4)
N(2)-C(6)	1,309(5)	O(2)-C(10)-C(11)	115,2(4)
C(7)-C(9)	1,424(6)	C(7)-N(3)-N(2)	115,9(3)
O(2)-C(10)	1,304(5)	O(2)-C(10)-C(9)	123,9(4)
C(11)-C(16)	1,380(7)	N(3)-C(7)-C(8)	120,7(4)
N(1)-C(2)	1,338(5)	O(1)-Ga(01)-O(1_a)	86,72(17)
N(1)-C(3)	1,333(6)	O(2)-Ga(01)-O(2_a)	89,24(18)
C(1)-C(2)	1,379(6)	O(2)-Ga(01)-N(3)	88,68(13)
C(14)-C(15)	1,365(8)	N(3)-Ga(01)-O(1)	78,59(12)
Ga(01)-O(1)	2,013(3)	N(3)-Ga(01)-N(3_a)	173,45(17)
Ga(01)-O(2)	1,954(3)	O(2)-Ga(01)-O(1)	167,19(11)
Ga(01)-N(3)	1,962(3)	N(2)-N(3)-Ga(01)	115,5(2)

Apêndice F – Espectros de IV

Figura F1 - Espectro de IV do tautômero **H₂L2a** (pastilha de KBr).

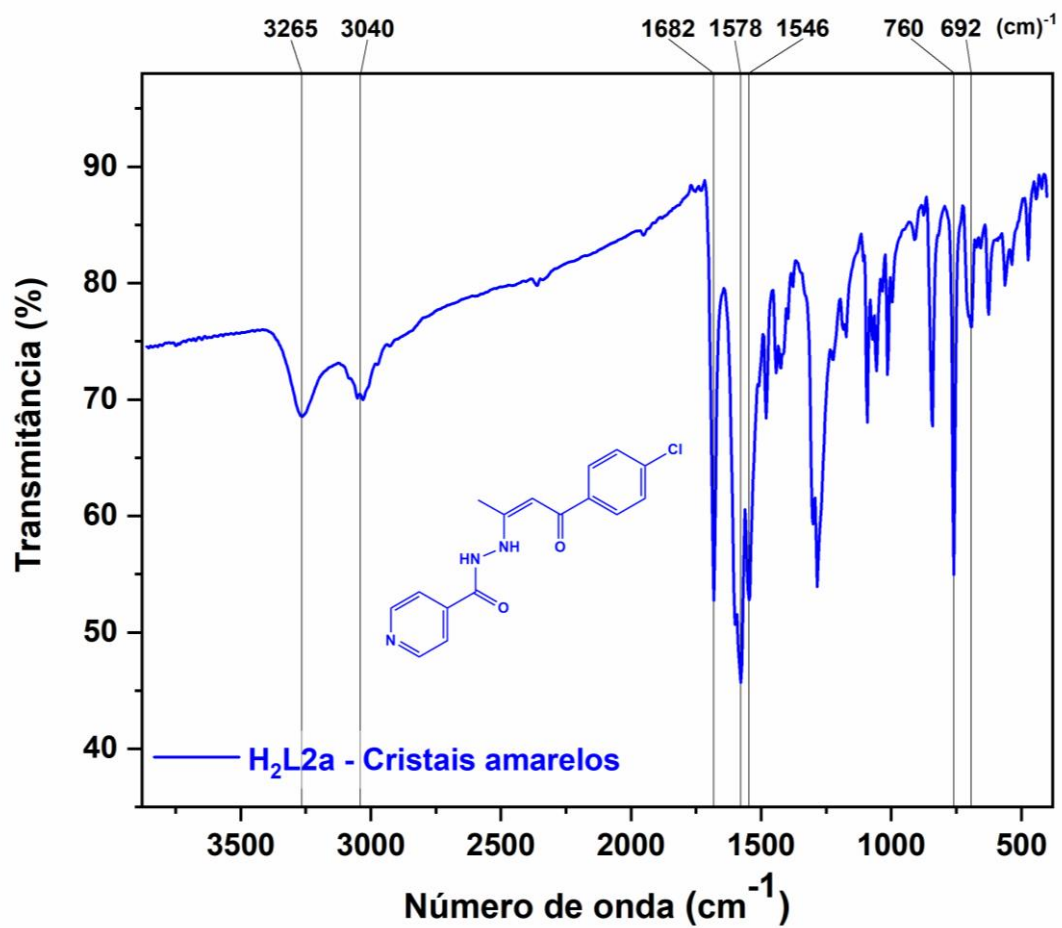


Figura F2 - Espectro de IV do tautômero **H₂L2f** (pastilha de KBr).

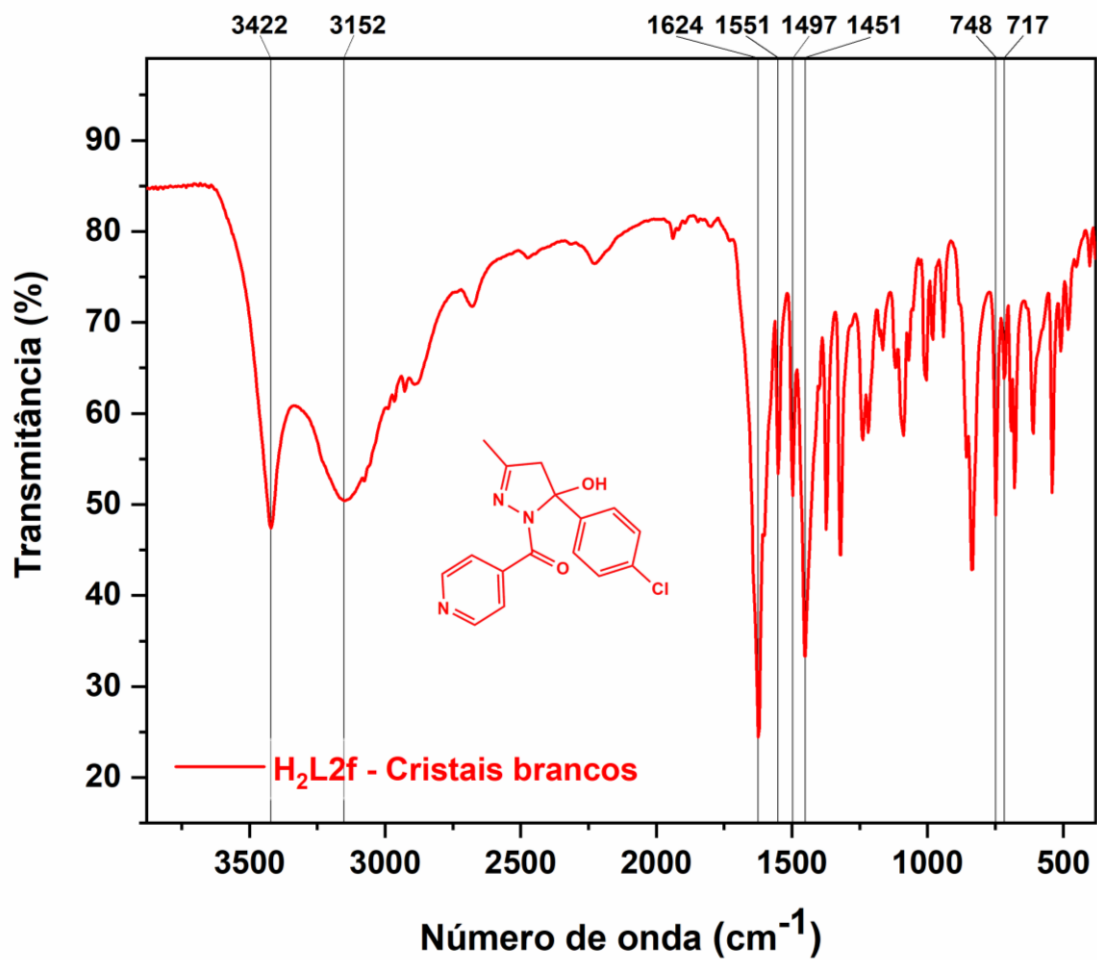


Figura F3 - Espectros de IV do composto **H₂L2f**, após aquecimento da amostra em diferentes temperaturas (pastilha de KBr).

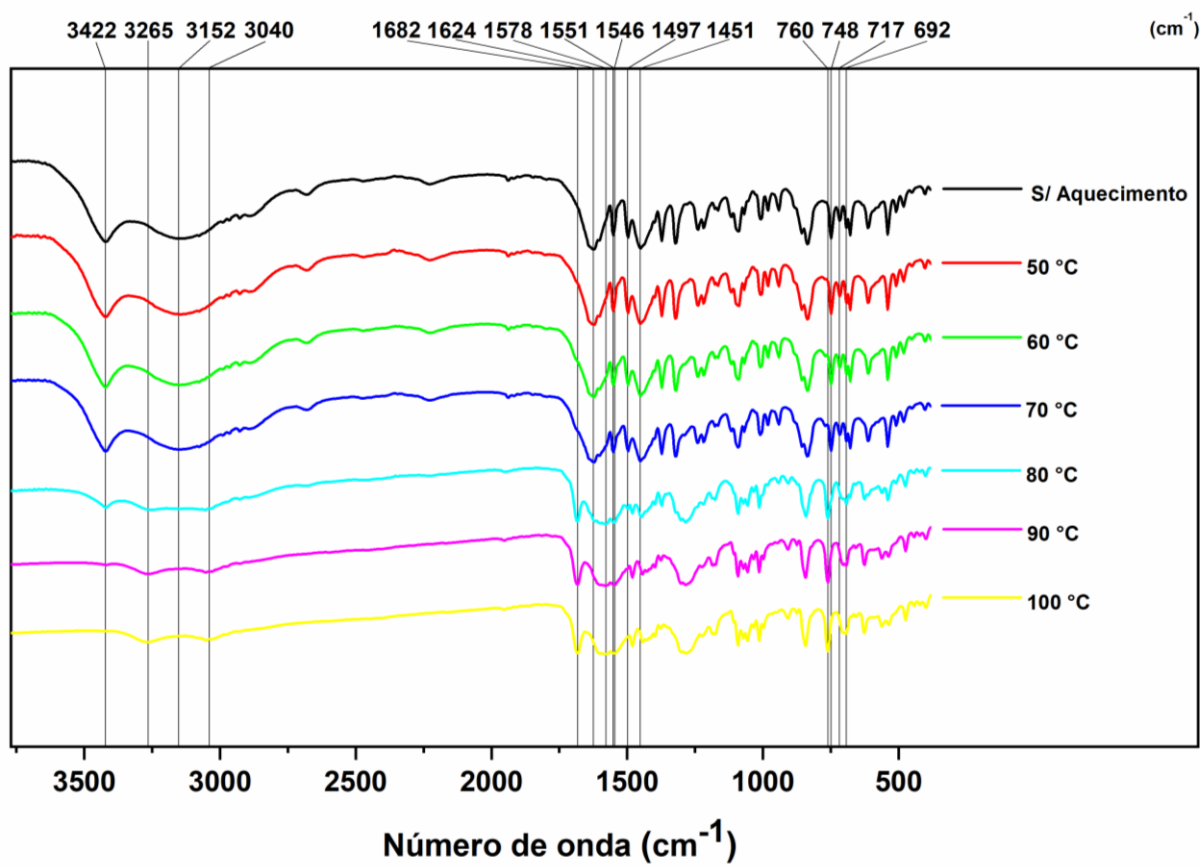


Figura F4 - Espectro de IV do complexo **GaL2** (pastilha de KBr).

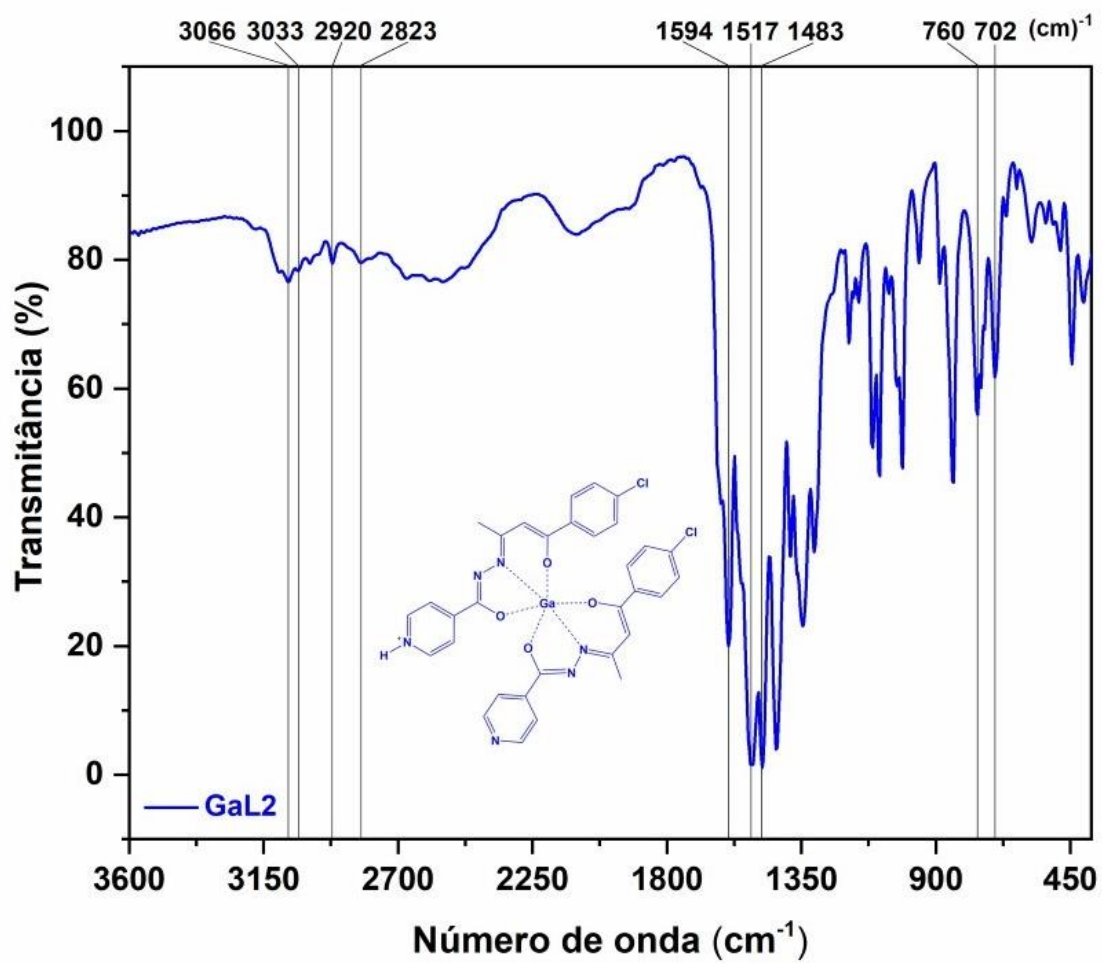
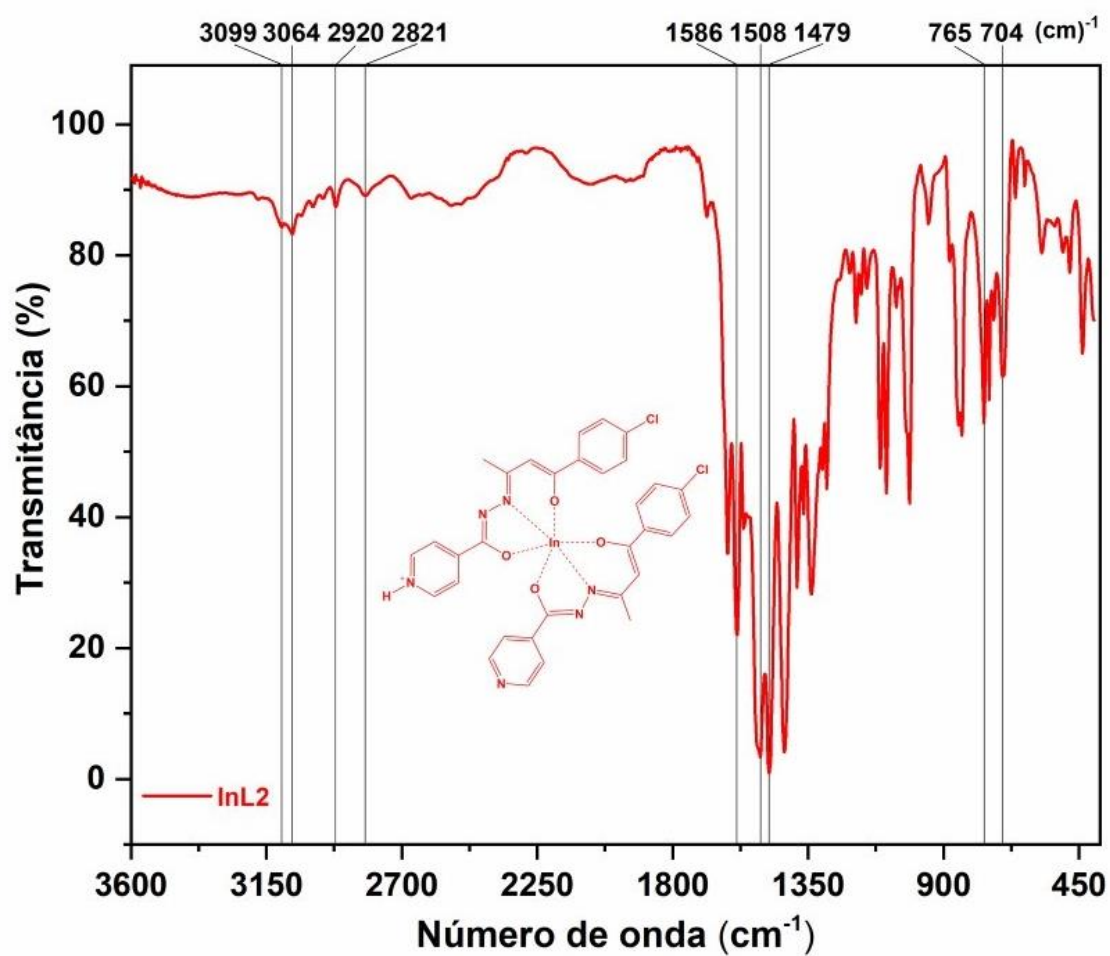


Figura F5 - Espectro de IV do complexo InL2 (pastilha de KBr).



Apêndice G - Marcação com gálio-67

Figura G1 - Cromatograma de HPLC (Nucleosil C18 5 μ m, A - 0,05% TFA, B - 100% MeCN) do tricloreto de gálio-67.

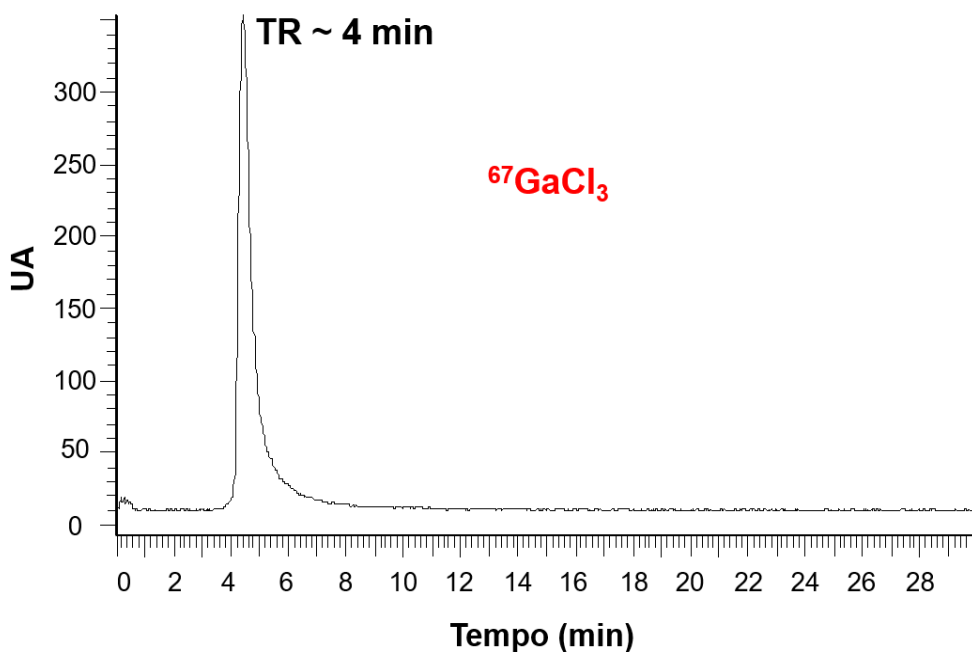


Figura G2 - Cromatograma de HPLC do radiocomplexo ⁶⁷GaL1, realizado com as condições cromatográficas descritas na **tabela G1**.

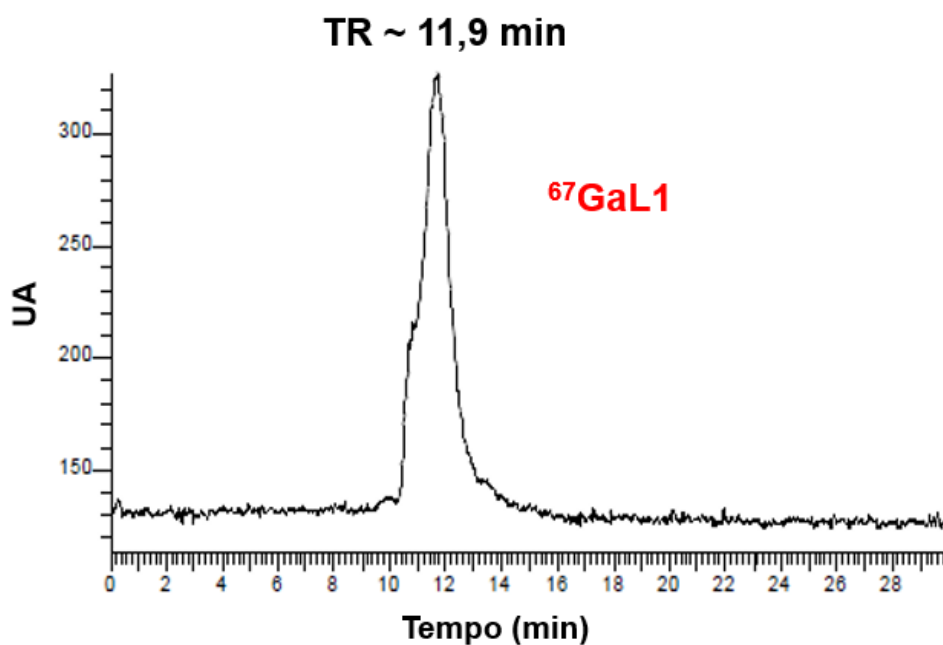
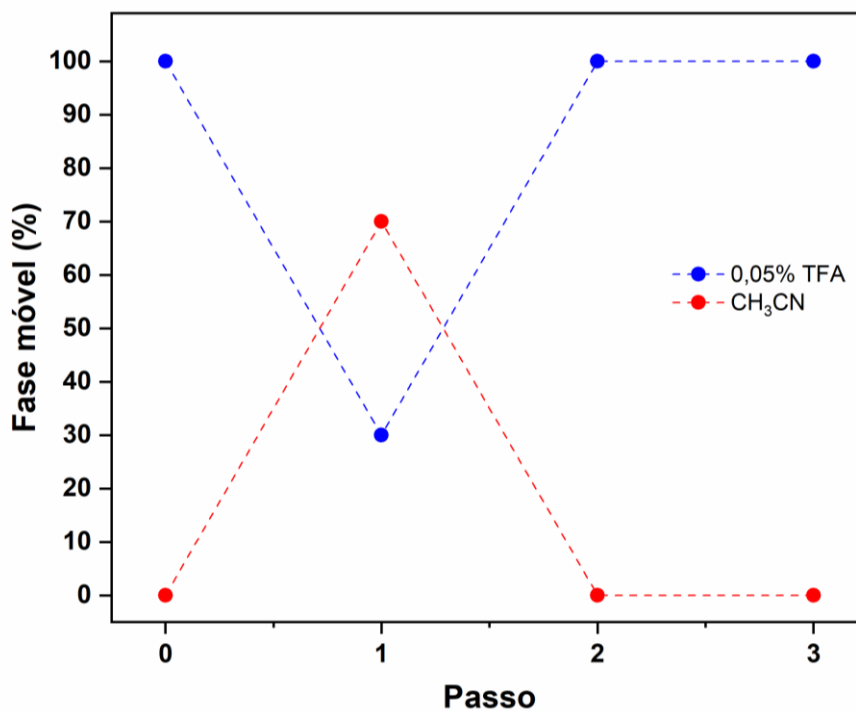


Tabela G1 - Condições gerais da análise de HPLC do radiocomplexo ⁶⁷GaL1 para os ensaios de estabilidade em SH. Coluna Nucleosil C-18, 5 μm (diâmetro interno de 4 mm), Fluxo: 1,0 mL/min, Gradiente A (0,05% TFA) e B (100% CH₃CN), comprimento de onda de 254 nm e solução do ligante de 1x10⁻² mol L⁻¹.

Passo	Tempo (min)	0,05% (TFA)	100% (CH ₃ CN)	Curva
0	5,0	100	0	0,0
1	20,0	30	70	1,0
2	1,0	100	0	1,0
3	9,0	100	0	0,0

Figura G3 - Curva do gradiente de eluição do método descrito na **tabela G1**.



Apêndice H - Interação com a albumina e o CT-DNA

Figura H1 - Espectros de fluorescência ($t = 298,15$ K) da HSA ($5 \mu\text{M}$) em tampão Trisma (10% DMSO) sem e com a adição dos complexos ($10\text{-}50 \mu\text{M}$) (a) **GaL1** e (c) **InL1**. Gráficos F_0/F vs. $[Q]$ dos complexos (b) **GaL1** e (d) **InL1**, nas temperaturas de $298,15$ e $310,15$ K.

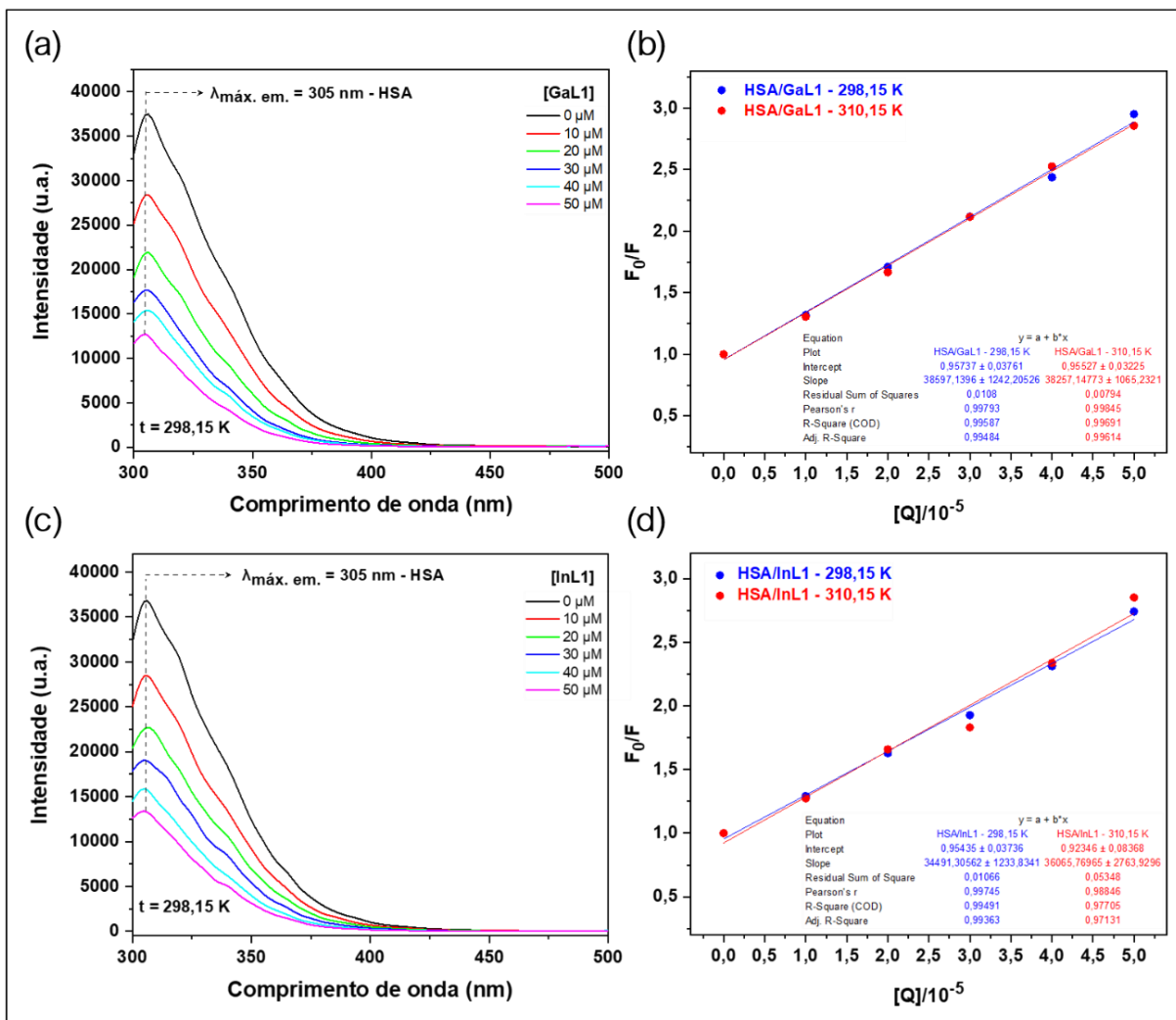


Figura H2 - Efeito do composto laranja de tiazol na viscosidade relativa do CT-DNA.

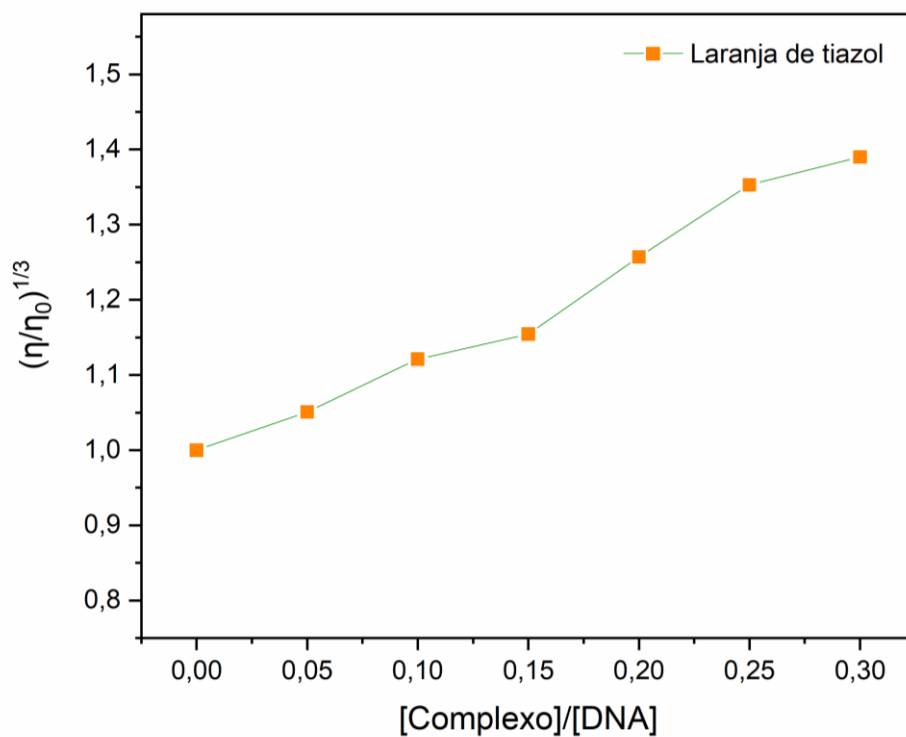


Figura H3 - Espectro de dicroísmo circular do CT-DNA [100 μM] em tampão Trizma (10% DMSO).

