

Alexandra de Souza Fonseca

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE  
CITOTOXICIDADE DE NOVOS LIGANTES NÃO-SIMÉTRICOS  
E SEUS COMPLEXOS MONONUCLEARES, HOMO E  
HETEROBINUCLEARES**

Tese submetida ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Adailton João Bortoluzzi.

Florianópolis  
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária  
da UFSC.

Fonseca, Alexandra de Souza

Síntese, caracterização e avaliação de citotoxicidade de novos ligantes não-simétricos e seus complexos mononucleares, homo e heterobinucleares <sup>1</sup>/Alexandra de Souza Fonseca; orientador, Adailton João Bortoluzzi – Florianópolis, SC, 2014.  
230 p.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.  
Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui Referências

1. Química. 2. Agentes antineoplásicos. 3. Radiofármacos. 4. Complexos mononucleares de gálio e índio. 5. Complexos heterobinucleares de gálio/cobre, índio/cobre. 6. Ligantes não-simétricos. I. Bortoluzzi, Adailton João. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Alexandra de Souza Fonseca

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE  
CITOTOXICIDADE DE NOVOS LIGANTES NÃO-SIMÉTRICOS  
E SEUS COMPLEXOS MONONUCLEARES, HOMO E  
HETEROBINUCLEARES**

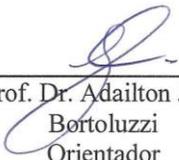
Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutora em Química, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química.

Florianópolis, 19 de dezembro de 2014.

---

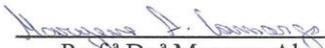
Prof. Dr. Hugo Gallardo  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**



---

Prof. Dr. Adailton João  
Bortoluzzi  
Orientador  
UFSC



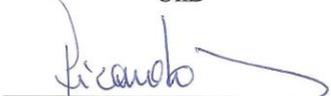
---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maryene Alves  
Camargo  
Relatora  
UnB



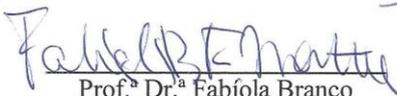
---

Prof. Dr. Ademir Neves  
UFSC



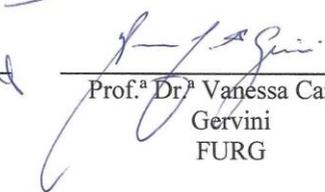
---

Prof. Dr. Ricardo José Nunes  
UFSC



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fabíola Branco  
Filippin Monteiro  
UFSC



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Carratu  
Gervini  
FURG



Ao meu pai, Valdemar Fonseca (*in memoriam*). Isso só foi possível porque lá no início ele sonhou os meus sonhos comigo.



## AGRADECIMENTOS

- A Deus, pela força, coragem e persistência ao longo da jornada.
- Aos meus pais (*in memoriam*). Eles ajudaram a regar a semente dos meus sonhos quando ela mais precisava; pois bem, acho que valeu a pena!
- À minha família: irmãos, irmã, cunhadas, sobrinho e sobrinhas. Obrigada por entenderem que a distância fazia parte da realização dos meus sonhos. Obrigada pelo carinho, amor, preocupação e por me mostrarem o real valor de uma “família”.
- Ao meu amado noivo Hilton. Poucos compreenderiam como ele, quase ninguém entenderia e por fim, só ele teria a sensibilidade para dizer: - Você não vai desistir! Não esqueça o que você sonhou lá no início! Obrigada por ter tamanha paciência e compreensão.
- Ao meu orientador Professor Dr. Adailton João Bortoluzzi, pela orientação, pelo incentivo, pelas longas conversas (ensinamentos). Mais do que isso, por confiar e acreditar em mim quando nem eu mesma confiava.
- Às Professoras Dra. Tânia Beatriz Crezynski Pasa e Professora Dra. Fabíola Filippin Monteiro, pelas análises de citotoxicidade realizadas no laboratório de Interações entre Micro e Macromoléculas (GEIMM) e pelo auxílio na discussão dos resultados de atividade dos compostos.
- À querida Luiza Helena, minha IC, sempre tão prestativa para desenvolver o nosso trabalho. Obrigada pela ajuda durante as etapas de síntese, pela compreensão e carinho que sempre teve comigo! Levo-a no meu coração, como uma mãe leva uma filha. Ah, e não me esqueci dos bilhetes; claro que não, foram vários e de todos os tamanhos; pois bem, um dia publicaremos um livro com eles e riremos muito!
- Aos demais professores do LABINC, Ademir Neves, Bernardo Souza e Rosely Peralta.
- Aos LABINQUIANOS, colegas e amigos muito especiais. Bruna (obrigada pela ajuda e por sempre me mostrar o lado bom das coisas); Marcos (a “Alerrandra” não o importará mais!); Alfredo (meu amigo, obrigada por tamanha paciência, explicando-me os equipamentos e ajudando-me no uso deles); Bernardo (ninguém mais irá brigar pelas chapas... E agradeço também pelos conselhos e pelas conversas), Graciela, Cláudia, Renata H., Thaisy, Thiago V., Tiago P., André, Sheila (e ainda vai faltar alguém...).
- Quero, também, agradecer a duas pessoas em especial: à pós-doc “que tem coração” Renata Osório. Obrigada por me suportar, me ajudar e por ser sempre tão generosa com todos. Ao Sandro Mireski, pela ajuda nas

etapas de síntese, por dividir vários finais de semana no LABINC, pelas longas conversas durante o café e por ser um grande amigo. Já estava esquecendo: também por cuidar dos meus cristais durante a semana!

- Aos que passaram pelo LABINC e fizeram parte da minha história, nesses quatro anos:

- À Maryene, à Katia e à Sara, pela amizade e companhia no meu primeiro e segundo ano de LABINC. A saudade que tenho delas é imensa! Além disso, não poderia deixar de agradecer à Sara por descer vários tubos de RMN e por dividir a bancada comigo.

- À Geovana Terra, pela ajuda, incentivo e amizade, principalmente no primeiro ano de LABINC. E pelas mateadas!

- À minha amiga e irmã inseparável Adriana Neves Dias. Muito obrigada por fazer dos meus finais de semana em Florianópolis dias tão agradáveis, me ajudar imensamente, compreender, ouvir e fazer por mim só o que uma irmã faria.

- Aos meus colegas, amigos e alunos do IFRS – Campus Ibirubá e IFRS-Campus Caxias do Sul, pelo incentivo e compreensão.

- Por fim, agradeço à CAPES pela bolsa de estudo durante o primeiro ano de doutorado.

*“Em meio às dificuldades encontra-se a oportunidade”  
“Algo só é impossível até que alguém duvide e prove o contrário”.  
(Albert Einstein)*



## RESUMO

Os fármacos utilizados na terapia do câncer apresentam elevados graus de toxicidade, resultando em uma série de efeitos colaterais. Frente a esses obstáculos e ao número crescente de indivíduos diagnosticados com câncer, torna-se necessária a investigação por novos fármacos e radiofármacos, no caso, compostos capazes de atuar no diagnóstico e na terapia dessa doença. Os elementos gálio e índio se destacam pela utilização dos seus radionuclídeos ( $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{111}\text{In}$ ) em radiofármacos. Além do uso como radiofármacos, complexos de  $\text{Ga}^{\text{III}}$  têm demonstrado potencial para atuar como agentes antineoplásicos. Já os complexos de  $\text{In}^{\text{III}}$  são mais conhecidos pelo potencial antibacteriano. Os complexos de cobre tiveram seu potencial antineoplásico primeiramente descrito por potencializarem a atividade de ligantes tiossemicarbazonas. Desde então, a atividade biológica dos complexos com  $\text{Cu}^{\text{II}}$  tem sido investigada. Em virtude do que foi exposto, descreve-se nesse trabalho a síntese, caracterização e avaliação citotóxica de novos ligantes não-simétricos e seus complexos com os metais gálio, índio e cobre. Os compostos foram obtidos com vistas ao seu potencial como agentes antineoplásicos ou radiofármacos. Assim, foram sintetizadas três séries de novos ligantes não-simétricos e seus complexos. Os novos ligantes mononucleantes (HLM1, H<sub>2</sub>LM2, H<sub>3</sub>LM3, H<sub>4</sub>LM4) e binucleantes (HLB1, HLB2, H<sub>2</sub>LB3, H<sub>2</sub>LB4, H<sub>3</sub>LB5, H<sub>3</sub>LB6 e H<sub>3</sub>LB7) foram caracterizados por espectroscopia no IV, espectroscopia de RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) e espectrometria de massa. Além desses, foram sintetizados e caracterizados por espectrometria de massa e espectroscopia no IV os complexos: mononucleares  $[\text{GaLM2}]\text{ClO}_4$  – **1**,  $^2\text{NO}_3$  – **2**,  $[\text{GaLM3}]$  – **3**,  $[\text{InLM3}]$  – **4**,  $[\text{GaLM4}]\text{Et}_3\text{NH}$ – **5** e  $[\text{InLM4}]\text{Et}_3\text{NH}$ – **6**; heterobinucleares  $[\text{GaCuLB7}]\text{ClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} \cdot \text{CH}_3\text{CN}$  – **7** e  $[\text{InCuLB7}]\text{ClO}_4$  – **8**; homobinucleares  $[\text{Cu}_2\text{LB4}]\text{ClO}_4$  – **9** e  $[\text{Cu}_2\text{LB6}]\text{ClO}_4$  – **10**. Os complexos do **7** ao **8**, além das técnicas já mencionadas (**1** a **6**), foram caracterizados por UV/VIS e eletroquímica. Os complexos **2**, **3**, **4**, **6**, **7**, **9** e **10** foram caracterizados também por difratometria de raios X. A citotoxicidade dos ligantes (HLM1, H<sub>2</sub>LM2, H<sub>3</sub>LM3, H<sub>4</sub>LM4, HLB1, H<sub>2</sub>LB3, H<sub>3</sub>LB5 e H<sub>3</sub>LB7) e dos complexos (**1** a **8**) foi avaliada frente a células leucêmicas (L1210) e de melanoma (B16F10). Verificou-se que os complexos **4** e **7** são potenciais quimioterápicos, enquanto os complexos **1** e **3** são promissores para o desenvolvimento de radiofármacos de diagnóstico.

**Palavras-chave:** quimioterápicos e radiofármacos; complexos de gálio, índio e cobre; ligantes não-simétricos.



## ABSTRACT

The drugs used in cancer therapy have elevated toxicity levels, resulting in a number of side effects. Facing these obstacles and the growing number of individuals diagnosed with cancer, it becomes necessary to research new drugs and radiopharmaceuticals. In this case, compounds capable of acting in the diagnosis and therapy of this disease. The gallium and indium elements are distinguished by the use of their radionuclides ( $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{111}\text{In}$ ) in radiopharmaceuticals. Apart from use as radiopharmaceuticals, complexes of  $\text{Ga}^{\text{III}}$  have shown potential to act as antineoplastic agents, while  $\text{In}^{\text{III}}$  compounds are known by their antibacterial property. Copper complexes had their anticancer potential first described by potentiating the activity of thiosemicarbazones ligands. Since then, the biological activity of  $\text{Cu}^{\text{II}}$  complexes have been investigated. In view of the foregoing, in this work describes the synthesis and characterization of new not symmetrical ligands and their complexes with the metals gallium, indium and copper. The compounds were obtained with a view of their potential to act as antineoplastic agents and radiopharmaceuticals. Therefore, three series of new not symmetrical ligands and their complexes were developed. The ligands mononucleates (HLM1, H<sub>2</sub>LM2, H<sub>3</sub>LM3, H<sub>4</sub>LM4) and the binucleates (HLB1, HLB2, H<sub>2</sub>LB3, H<sub>2</sub>LB4, H<sub>3</sub>LB5, H<sub>3</sub>LB6 e H<sub>3</sub>LB7) were characterized by IR spectroscopy, RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) spectroscopy and mass spectrometry. Besides these, IR spectroscopy complexes have been synthesized and characterized by mass spectrometry: mononuclear [GaLM2](ClO<sub>4</sub>) – **1**,  $^2\text{NO}_3$  – **2**, [GaLM3] – **3**, [InLM3] – **4**, [GaLM4]Et<sub>3</sub>NH – **5** and [InLM4]Et<sub>3</sub>NH– **6**; heterobinuclear [GaCuLB7]ClO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O.CH<sub>3</sub>CN – **7** and [InCuLB7]ClO<sub>4</sub> – **8**; binuclear [Cu<sub>2</sub>LB4]ClO<sub>4</sub> – **9** and [Cu<sub>2</sub>LB6]. ClO<sub>4</sub> – **10**. The complexes of **7** to **8**, in addition to mass spectrometry, IR spectroscopy have been characterized by UV/VIS spectroscopy and electrochemistry. Complexes **2**, **3**, **4**, **6**, **7**, **9** and **10** were characterized by X-rays diffraction. The cytotoxicity of the ligands (HLM1, H<sub>2</sub>LM2, H<sub>3</sub>LM3, H<sub>4</sub>LM4, HLB1, H<sub>2</sub>LB3, H<sub>3</sub>LB5, H<sub>3</sub>LB7) and of the complexes (**1** a **8**) against leukemia cells (L1210) and melanoma cells (B16F10) were assessed. It was found that complexes **4** and **7** are potential chemotherapeutics, and complexes **1** and **3** are promising for the development of diagnostic radiopharmaceuticals.

**Keywords:** chemotherapeutic and radiopharmaceutical, gallium, indium and copper complexes, not symmetrical ligands.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do modo de atuação dos compostos de Ga <sup>III</sup> . .....	37
Figura 2 - Representação estrutural para os complexos maltolato de gálio e KP46. ....	38
Figura 3 - Representação estrutural dos ligantes curcumim e diacetilcurcumim. ....	39
Figura 4 - Representação estrutural para os complexos InL3, InL5, GaL5. <sup>34</sup> .....	40
Figura 5 - complexo (A) = CasIII-ia ([Cu(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)(acetilacetato)]NO <sub>3</sub> ); complexo (B) = CasIII-Ea ([Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(acetil-acetonato)]NO <sub>3</sub> ); complexo (C) = CasII-gly ([Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO <sub>3</sub> ). <sup>65</sup> .....	41
Figura 6 - Complexo de Cu <sup>II</sup> com o ligante 1,4,7,10-tetraazaciclododecano. ....	43
Figura 7 - Representação estrutural do complexo de <sup>111</sup> In(oxiquinolina) <sub>3</sub> . .48	
Figura 8 - Representação estrutural do complexo [ <sup>67</sup> Ga(citrato) <sub>2</sub> ] <sup>3-</sup> . ....	49
Figura 9 - Representação de um radiofármaco bioconjugado. ....	51
Figura 10 - Estrutura de alguns quelatos bifuncionais (DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético), DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N,N,N-tetraacético), e o NOTA (ácido1,4,7-triazaciclononano-N,N,N-triacético) contendo conectores. ....	52
Figura 11 - Representação do composto <sup>111</sup> In-DTPA-Octreotide (OctreoScan®). ....	52
Figura 12 - Representação do composto <sup>68</sup> Ga-DOTA-TOC. ....	53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Alguns complexos metálicos que atuam como pequenos radiofármacos para terapia. ....	47
Tabela 2 - Alguns complexos metálicos que atuam como radiofármacos alvo-específicos para o diagnóstico e/ou terapia. ....	50

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - síntese do precursor 1.....	55
Esquema 2 - síntese do precursor 2.....	56
Esquema 3- Síntese dos precursores 3 e 4.....	600
Esquema 4 - Síntese do ligante H <sub>4</sub> LM4. ....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

alif – Alifático

ar- Aromático

ald. – Aldeído

ATMS – Diacetil-bis(N4-metiliossemicarbazona)

bpma – N-bis-(2-piridilmetil)amina

bmpaNH<sub>2</sub> – N,N'-(2-metilpiridil)-propano-1,3-diamina

bmpamcf.HCl - 2-bis(2-piridilmetil)aminometil-4-metil-6-clorometil fenol hidrocloreto

CMFF – 2-clorometil-4-metil-6-formilfenol

d – Dubleto

dd – Duplo dubleto

DMSO - Dimetilsulfóxido

DNA – Ácido desoxirribnucléico

DOTA - (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N,N,N-tetraacético)

DOTA-TOC - 2-[4-[2-[[*(2R)*-1-[[*(4R,7S,10S,13R,16S,19R)*-10-(4-aminobutil)-4-[[*(2R,3R)*-1,3-dihidroxibutano-2-il]carbamoil]-7-[[*(1R)*-1-hidroxiethyl ] - 16- [ (4-hidroxifenil) methyl]- 13- (*1H*-indol-3-ilmetil)-6, 9, 12, 15, 18 -pentaóxo-1, 2 – ditil - 5, 8, 11, 14, 17-pentazacicloicos-19 –il]amino ]- 1 – oxo – 3 – fenilpropano - 2- il] amino]- 2- oxoetil]-7,10-bis(carboximetil)-1,4,7,10-tetrazaciclododec-1-il]ácido acético

DTPA – Ácido dietilenotriamina pentacético

E1/2 – Potencial de meia onda

EDTMP – Etilenodiamina-tertrametileno-fosfato

en – etilenodiamina

ESI-MS - Espectrometria de massa com ionização via eletrospray

Et<sub>3</sub>N – Trietilamina

Fc<sup>+</sup>/Fc – par redox ferrocínio/ferroceno

FS - Fosfolipídeo fosfatidilserina

Grau “MS” – Solvente com pureza adequada para análise de espectrometria de massa.

HEDP – 1-hidróxi-etileno-di-fosfonato

CC<sub>50</sub> – Concentração citotóxica que reduz a viabilidade celular em 50%.

IS – Índice de seletividade

IV – Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

m - Multiplete

MeOH – Metanol

MTT – Brometo de (3-(4,5 –dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil brometo tetrazólico)

m/z – Razão massa carga

NOTA - (ácido 1,4,7-triazaciclononano-N,N,N-triacético)

OMS – Organização mundial da saúde

PET– Tomografia por emissão de pósitrons

PF – Ponto de Fusão

RMN – Ressonância magnética nuclear

s - Singleto

SPECT– Tomografia computadorizada por emissão de fótons

<sup>99m</sup>Tc – Tecnécio metaestável

t - Tripleto

TFA – ácido trifluoracético

THF – tetrahydrofurano

TMS – tetrametilsilano

$\epsilon$  – coeficiente extinção molar

$\delta$  – deformação angular (IV)

$\delta H$  – deslocamento químico do hidrogênio (RMN<sup>1</sup>H)

$\nu$  – estiramento (IV)

2 pyNH - N', N'-bis(2-metilpiridil)- propano-1,3-diamina

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>33</b>
1.1 O POTENCIAL DOS COMPLEXOS DE GÁLIO, ÍNDIO E COBRE PARA ATUAR COMO AGENTES ANTINEOPLÁSICOS..	36
1.2 MEDICINA NUCLEAR.....	44
<b>1.2.1 Radiofármacos Terapêuticos.....</b>	<b>46</b>
<b>1.2.2 Radiofármacos para o diagnóstico por imagem.....</b>	<b>47</b>
<b>3 PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>55</b>
<b>3.1 SÍNTESE DOS LIGANTES.....</b>	<b>55</b>
<b>3.1.1 Síntese dos precursores 1, 2, 3 e 4.....</b>	<b>55</b>
<b>3.1.1.1 Síntese do precursor N<sup>2</sup>, N<sup>2</sup>-bis(2-metilpiridil)- propano-1,3-diamina - precursor 1 (2pyNH<sub>2</sub>).....</b>	<b>55</b>
<b>3.1.1.2 Síntese do precursor cloridrato de 2-bis(2-piridilmetil)aminometil-4-metil-6-clorometilfenol hidrocloreto (bmpamcf.HCl) – precursor 2.....</b>	<b>56</b>
<b>3.1.1.3 Síntese dos precursores N, N<sup>2</sup>-(2-metilpiridil) – etileno-1,2-diamina (precursor 3) e N, N<sup>2</sup>-(2-hidroxibenzil) – etileno-1,2-diamina (precursor 4).....</b>	<b>60</b>
<b>3.2.2 Síntese dos ligantes mononucleantes.....</b>	<b>61</b>
<b>3.2.2.4 Síntese do novo ligante N,N,N<sup>2</sup>-tris(2-hidroxibenzil)-N<sup>2</sup>-(2-hidroxi-5-metilbenzil)-1,2-etanodiamina - H<sub>4</sub>LM4.....</b>	<b>62</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das grandes contribuições da química para a ciência médica e a saúde humana foi o desenvolvimento dos medicamentos. O entendimento das propriedades farmacológicas de determinadas substâncias, aliado ao aprimoramento das técnicas laboratoriais, permitiu a síntese em escala industrial de moléculas com propriedades: anti-inflamatórias, anticancerígenas, antibacterianas, entre outras. Assim, tornou-se possível o tratamento e até mesmo a cura de determinadas doenças, tais como: hepatite, sarampo e câncer.

Os fármacos são tradicionalmente conhecidos por serem compostos orgânicos à base de carbono<sup>1</sup>, tais como a Aspirina (ácido acetilsalicílico) e a penicilina (estrutura geral = ácido 6 aminopenicilânico)<sup>2,3</sup> No entanto, ao longo das últimas décadas, as reações químicas específicas dos metais, suas propriedades magnéticas e nucleares e a variedade estrutural dos seus complexos despertaram o interesse para o desenvolvimento de compostos inorgânicos com aplicação biomédica.<sup>1,2</sup>

O interesse por compostos metálicos contendo atividade biológica não se restringe apenas às propriedades químicas e físicas dos metais, mas também à sua função no meio biológico. Muitos íons metálicos, tais como: Fe<sup>III</sup> e Cu<sup>II</sup> são considerados essenciais aos organismos vivos<sup>4</sup> e podem ser uma estratégia no desenvolvimento de fármacos menos tóxicos ao organismo e, ao mesmo tempo, mais seletivos.<sup>5</sup>

A área que estuda a função dos íons metálicos em meio biológico é denominada de “bioinorgânica”.<sup>6</sup> Essa é uma área amplamente interdisciplinar que envolve profissionais da química, biologia, bioquímica, biofísica, medicina, entre outros.<sup>7</sup> As pesquisas de interesse bioinorgânico estão focadas nos íons metálicos e nas propriedades químicas que são capazes de exibir e conferir a um organismo vivo. Essas propriedades envolvem a interação com ligantes, catálise, sinalização, sensibilidade, defesa, suporte estrutural e a capacidade de atuar como um fármaco.<sup>8</sup>

O interesse de desenvolver e aplicar medicamentos contendo metais, sequestrantes de metais, ou complexos metálicos originou a química inorgânica medicinal.<sup>9</sup> Os estudos nessa área estão focados principalmente no desenvolvimento de complexos metálicos para fins de diagnóstico ou terapia e na projeção de ligantes orgânicos (quelantes).<sup>10,11</sup> A utilização de um ligante livre toma espaço quando o objetivo é a

queação de um metal exógeno (ex.: intoxicação por Pb ou Hg), ou ainda quando a intenção é o tratamento de uma doença (ex.: doença de Wilson, caracterizada pelo excesso de cobre).<sup>12</sup>

Dos complexos metálicos em uso clínico, sem dúvida a cis-diaminodichloroplatina (II), ou cisplatina, representa a principal descoberta na área de metalofármacos. As propriedades antitumorais desse complexo foram observadas por Rosenberg e colaboradores no final dos anos 60 e sua aprovação pela FDA (Administração de Alimentos e Drogas) ocorreu em 1978.<sup>13-15</sup> Desde então a cisplatina é mundialmente utilizada para tratar tumores sólidos tais como: de ovário, testículo, pescoço, bexiga, próstata e melanoma maligno.<sup>13, 14, 16-18</sup> Para os casos de câncer testicular, a taxa de cura é aproximadamente 90%, se diagnosticado precocemente.<sup>19</sup>

Além da cisplatina, outros compostos metálicos são rotineiramente empregados na área médica, seja como agentes de imagem e diagnóstico, ou como agentes terapêuticos.<sup>20</sup> No campo de diagnóstico por imagem se destacam complexos de: Gd (ex.: Dotarem - agente de contraste em ressonância magnética por imagem), <sup>99m</sup>Tc (ex.: Cardiolite® – usado para imagem cardiovascular) e <sup>67</sup>Ga (ex.: citrato de gálio – diagnóstico clínico de neoplasias).<sup>21</sup> Já para fins terapêuticos são usados compostos de: Au (ex.: Aurofin- tratamento de artrite), Li (ex.: carbonato de lítio- antidepressivo) e Sm (ex.: <sup>153</sup>Sm-EDTMP-utilizado no tratamento de metástase no câncer de ossos).<sup>1, 21, 22</sup>

Entre as doenças que podem ser diagnosticadas e tratadas com compostos inorgânicos, sem dúvida o câncer é a principal delas. Complexos de platina estão entre os fármacos mais utilizadas na terapia do câncer, enquanto complexos de tecnécio, gálio e índio são aplicados para o diagnóstico dessa doença.<sup>23</sup>

O câncer é uma doença caracterizada pelo desvio dos mecanismos de controle que dirigem a proliferação e a diferenciação celulares.<sup>3</sup> As células que sofrem transformação neoplásica proliferam excessivamente e formam tumores locais, que podem comprimir ou invadir estruturas adjacentes normais.<sup>3</sup> Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, o câncer foi responsável por 7,6 milhões de mortes no ano de 2008, ou seja, 13% de todas as mortes ocorridas nesse ano.<sup>24</sup> As últimas estatísticas da OMS indicam que 1 em cada 3 pessoas deverão desenvolver alguma forma de câncer durante sua vida e em 2030 estima-se que haverá 21,4 milhões de novos casos diagnosticados em todo o mundo.<sup>25, 26</sup>

Em particular o câncer de pele, do tipo melanoma, e no sangue ou medula óssea (leucemia) correspondem a dois dos tipos de cancro

mais perigosos.<sup>27</sup> No Brasil, o câncer de pele é o mais frequente, correspondendo a 25% dos tumores malignos registrados no país; desses, 4% são melanomas, o tipo mais grave de câncer devido à sua alta possibilidade de metástase.<sup>27</sup> A leucemia, por sua vez, é uma doença maligna relacionada aos glóbulos brancos.<sup>27</sup> O tratamento envolve a associação de medicamentos, ou até mesmo o transplante de medula óssea. Estima-se que no Brasil, até o final desse ano (2014), tenham surgidos 11.370 novos casos de leucemia.<sup>27</sup>

Apesar de a cisplatina e seus derivados (carboplatina e oxaliplatina) serem fármacos de primeira linha para o combate a tumores, a terapia através desses fármacos nem sempre é eficiente, pois costuma ser acompanhada de severos inconvenientes. Dentre os problemas enfrentados estão: a alta toxicidade, os efeitos colaterais (nefrotoxicidade, neurotoxicidade e ototoxicidade) e a resistência inerente ou adquirida.<sup>27</sup> Além disso, esses medicamentos são hábeis para tratar um subgrupo de cânceres, não sendo eficazes para tratar todos os tipos dessa doença. Problemas como esses tem estimulado a pesquisa por novos metalofármacos compostos que sejam mais seletivos para as células do câncer e conseqüentemente mais eficazes.<sup>28</sup>

Na busca por novos metalofármacos, complexos metálicos não-platina representam uma alternativa promissora, uma vez que podem apresentar mecanismo de ação, biodistribuição e toxicidade diferentes daqueles da cisplatina. Dos metais que atualmente vêm sendo investigados para atuar como fármacos no combate ao câncer, destacam-se complexos de: Ru, Ga, Cu, Au, V, Ti, e Ge.<sup>16, 29-32</sup> No entanto, o tratamento, ou mesmo a cura de um câncer não depende apenas do uso de medicamentos terapêuticos, mas também do diagnóstico precoce e da caracterização adequada do local. Nesse sentido, a química inorgânica medicinal tem buscado desenvolver novos complexos metálicos contendo isótopos como o <sup>68</sup>Ga e o <sup>64</sup>Cu, além dos já utilizados <sup>67</sup>Ga, <sup>111</sup>In e <sup>99m</sup>Tc, com o objetivo de obter novos agentes de imagem para o diagnóstico do câncer.<sup>33</sup>

Nesse contexto, o presente trabalho tem como intuito a projeção de novos ligantes e complexos ( $\text{Ga}^{\text{III}}$ ,  $\text{In}^{\text{III}}$  e  $\text{Ga}^{\text{III}}/\text{Cu}^{\text{II}}$ ,  $\text{In}^{\text{III}}/\text{Cu}^{\text{II}}$ ) que possam vir atuar como fármacos e/ou radiofármacos para a terapia e diagnóstico do câncer. As propriedades de decaimento dos isótopos de gálio e índio permitem que complexos, desses metais, sejam explorados como agentes de diagnóstico através de imagem. Além dos isótopos radioativos, estudos mais recentes têm demonstrado que alguns complexos de gálio e índio exibem atividade anticâncer<sup>31, 34</sup> e esse é, também, um dos focos desse trabalho. Já em relação ao cobre a ideia é

explorar o seu amplo espectro de atividade para desenvolver complexos que exerçam atividade anticâncer através do centro de cobre.

## 1.1 O POTENCIAL DOS COMPLEXOS DE GÁLIO, ÍNDIO E COBRE PARA ATUAR COMO AGENTES ANTINEOPLÁSICOS

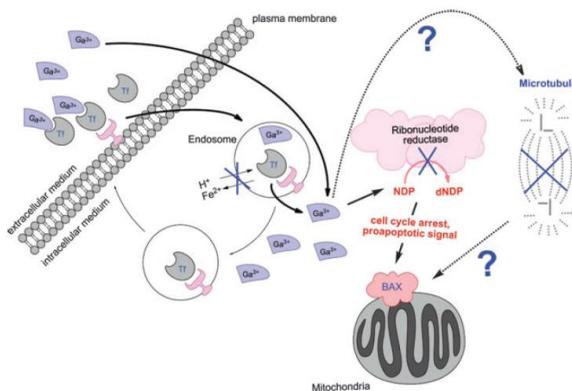
Apesar de não possuírem uma função fisiológica reconhecida no organismo, gálio e índio podem interagir com certos processos celulares e proteínas específicas (por ex.: a transferrina e a ferritina).<sup>35, 36</sup> A interação do  $\text{Ga}^{\text{III}}$  e  $\text{In}^{\text{III}}$  com a transferrina é facilmente estabelecida, devido à similaridade entre esses íons e o íon  $\text{Fe}^{\text{III}}$ .<sup>35</sup> As características mais comuns incluem raio iônico ( $\text{Ga} = 0,62 \text{ \AA}$ ,  $\text{Fe} = 0,65 \text{ \AA}$ ,  $\text{In} = 0,90 \text{ \AA}$ ), estado de oxidação mais comum (+III), afinidade eletrônica e geometria de coordenação.<sup>35, 37</sup> No entanto, diferentemente do  $\text{Fe}^{\text{III}}$  os íons  $\text{Ga}^{\text{III}}$  e  $\text{In}^{\text{III}}$  são considerados redox-inativos, o que resulta em efeitos fisiológicos diferentes daqueles do ferro.

Evidências da atividade antitumoral do gálio surgiram em 1969 a partir da aplicação do citrato de gálio como agente para diagnóstico de câncer nos ossos.<sup>38, 39</sup> Verificou-se que pacientes portadores de outros tipos de tumores como: carcinoma de pulmão, cólon e linfoma de Hodgkin (câncer nos gânglios do sistema linfático), apresentavam um acúmulo do  $^{67}\text{Ga}$  nessas regiões.<sup>38, 39</sup> Isso sugeriu a possibilidade de aplicação do gálio não só como radiofármaco, mas também como um possível agente anticâncer. Assim, em 1970 foram realizados experimentos com o objetivo de avaliar as propriedades antitumorais do Ga e de outros elementos do grupo 13 da tabela periódica (Al, In e Tl). Os experimentos com os sais desses quatro metais demonstram que o  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  e o  $\text{In}(\text{NO}_3)_3$  eram eficazes para evitar o crescimento tumoral.<sup>38</sup> Entretanto, os estudos posteriores focaram apenas no  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$ , uma vez que esse sal foi o único a apresentar propriedades terapêuticas adequadas para o desenvolvimento clínico.<sup>38</sup>

A eficácia do  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  em suprimir o crescimento tumoral estimulou as pesquisas por agentes anticâncer contendo gálio e tornaram o íon  $\text{Ga}^{\text{III}}$ , o segundo íon metálico, após  $\text{Pt}^{\text{II}}$ , a ser usado no tratamento do câncer.<sup>40</sup> Atualmente o sal  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  é aprovado pela FDA para o tratamento de hipercalcemia relacionada a tumores malignos, uma complicação que afeta mais de 30% dos pacientes com câncer e caracteriza-se pelo nível elevado de Ca no sangue.<sup>41, 42</sup> Além de atuar como fármaco para o tratamento de hipercalcemia, o  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  exerce

forte atividade antineoplásica no tratamento de linfoma não-Hodgkin e câncer de bexiga.<sup>41, 43</sup>

A atividade antineoplásica do  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  está relacionada à capacidade do íon  $\text{Ga}^{\text{III}}$  em interferir no metabolismo do ferro. Em particular, estudos sobre o mecanismo de ação e liberação do íon  $\text{Ga}^{\text{III}}$  no organismo, demonstram que o  $\text{Ga}^{\text{III}}$  afeta a aquisição celular do  $\text{Fe}^{\text{III}}$  por meio de ligação competitiva à transferrina.<sup>40, 44</sup> Assim, as células cancerígenas que possuem uma grande disponibilidade de transferrina passam a receber uma elevada quantidade de  $\text{Ga}^{\text{III}}$ . O excesso de gálio faz com que o elemento acumule-se nos endossomos, impedindo a acidificação e liberação de ferro intracelular.<sup>36, 45</sup> Tendo sido absorvido pela célula cancerígena, o cátion  $\text{Ga}^{\text{III}}$  compete e substitui o  $\text{Fe}^{\text{III}}$  no sítio ativo da enzima ribonucleotídeo redutase, a qual atua no processo de replicação do DNA.<sup>15, 49</sup> Como consequência, ocorre a interrupção do ciclo celular (da síntese do DNA), levando à morte da célula por apoptose via mitocondrial; a Figura 1 mostra um esquema do processo.<sup>15</sup> Nesse contexto, a enzima ribonucleotídeo redutase é reconhecida como o principal alvo para a atividade anticancerígena do gálio.<sup>15</sup>

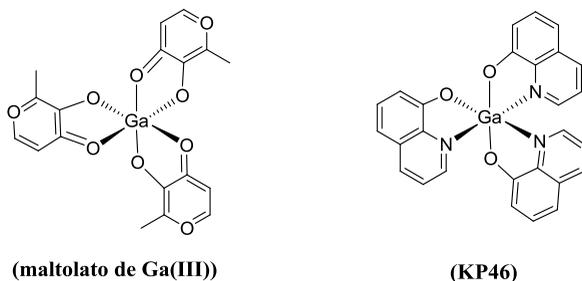


**Figura 1** - Representação esquemática do modo de atuação dos compostos de  $\text{Ga}^{\text{III}}$ .<sup>15</sup>

Embora o  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  exerça considerável atividade antineoplásica, sua aplicabilidade é limitada a baixas doses devido à toxicidade renal e problemas ópticos (no caso de infusão contínua, isto é, administração contínua do medicamento em tempo superior a 60 minutos).<sup>15</sup> Além disso, sais de  $\text{Ga}^{\text{III}}$  não são suficientemente

biodisponíveis, pois apresentam tendência a hidrólise em meio fisiológico, o que dificulta a permeação através da membrana e a absorção.<sup>46</sup> Uma alternativa para contornar os problemas de biodisponibilidade tem sido a complexação do Ga<sup>III</sup> com ligantes orgânicos.<sup>47, 48</sup> A formação de um complexo evita esses inconvenientes, pois estabiliza o íon Ga<sup>III</sup> contra a hidrólise, facilita sua permeabilidade através da membrana e melhora a absorção intestinal.<sup>49</sup>

Nesse sentido, vários complexos de gálio têm sido preparados e avaliados frente a células tumorais.<sup>31,50</sup> Dentre os complexos de gálio sob investigação, dois estão no estágio mais avançado de triagem clínica, isto é, sendo testados em humanos. Esses complexos são o tris(8-quinolinolato)gálio(III), também conhecido como KP46, e o maltolato de gálio, Figura 2. Ambos os complexos, tris(8-quinolinolato)gálio(III) e KP46, foram projetados para serem administrados por via oral. O tris(8-quinolinolato)gálio(III) é ativo em tumores de: melanoma, ovário, mama, cólon e câncer de pulmão.<sup>51, 52</sup> Diferentemente, o maltolato de gálio é ativo frente a células de câncer hepático, bexiga e linfomas.<sup>31, 52</sup>



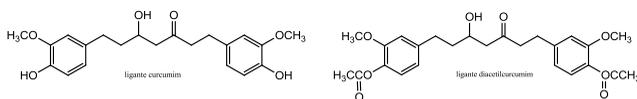
**Figura 2** - Representação estrutural para os complexos maltolato de gálio e KP46.<sup>29</sup>

O mecanismo de ação dos complexos tris(8-quinolinolato)gálio(III) e maltolato de gálio ainda está sob investigação. No entanto, estudos com o primeiro complexo têm demonstrado que o mesmo não atua via transferrina, diferentemente do que é observado para o maltolato de gálio, o GaNO<sub>3</sub> e o GaCl<sub>3</sub>.<sup>31</sup> Em 2012, Hummer e colaboradores investigaram a interação do tris(8-quinolinolato)gálio(III) com proteínas do soro (apo-transferrina e albumina do soro humano).<sup>53</sup> Essas proteínas são conhecidas como as mais relevantes no transporte de íons metálicos “in vivo”. Os resultados demonstraram que não há

interação do centro metálico com a apo-transferrina, ou com a albumina.<sup>53</sup> Logo, a atividade citotóxica do tris(8-quinolinolato)Ga(III) pode não estar relacionada ao Ga<sup>III</sup>, mas sim ao complexo “como um todo”.

Complexos de gálio com ligantes não-simétricos, contendo grupos fenólicos e piridinas, também têm despertado interesse para o desenvolvimento de agentes antineoplásico.<sup>54, 55</sup> Alguns complexos, contendo essa classe de ligantes, estão em desenvolvimento pré-clínico e o mecanismo de ação demonstrado por tais complexos é o de inibir a função proteossoma, responsável pela degradação de proteínas defeituosas.<sup>29, 52, 55</sup> Como essa função é um fator crítico para manter a homeostase celular, o resultado observado é a morte da célula por apoptose.<sup>55, 29</sup> A forma como os complexos de Ga<sup>III</sup> exercem atividade inibidora do proteossoma ainda não está clara.

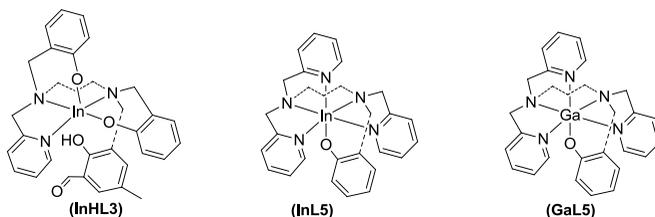
Diferentemente dos compostos de gálio, somente um pequeno número de complexos com índio têm sido avaliados como agentes anticâncer. Dentre os poucos trabalhos reportados na literatura sobre a atividade antineoplásica do índio estão os estudos desenvolvidos por Mohammadi e colaboradores com o ligante curcumina (cur) e diacetilcurcumim (DAC), Figura 3.<sup>57</sup> Esses autores avaliaram o potencial citotóxico dos complexos e dos ligantes livres. Os resultados demonstraram que ambos são ativos frente às células L1210 de linfoma de rato. No entanto, os complexos com curcumim são mais ativos que o ligante livre, enquanto os complexos de In(DAC) são menos ativos que o DAC livre.<sup>56, 57</sup>



**Figura 3** - Representação estrutural dos ligantes curcumim e diacetilcurcumim.<sup>57</sup>

Em data mais recente, no ano de 2012, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um trabalho de doutorado com ligantes não-simétricos e complexos de In<sup>III</sup> e Ga<sup>III</sup>.<sup>34</sup> O estudo avaliou a toxicidade de ligantes e complexos frente às células de leucemia aguda monocítica (THP-1) e linfoma histiocítico (U937). Os resultados obtidos demonstraram que tanto os ligantes como os complexos são ativos nas duas linhagens celulares testadas.<sup>34</sup> Dentre esses compostos o InL5, InHL3 e o GaL5,

Figura 4, apresentaram valores de  $CC_{50}$  (concentração citotóxica) promissores, entre  $5,0 \mu\text{M}$  e  $12,0 \mu\text{M}$ . Desses três complexos, o GaL5 se mostrou o mais seletivo para células de leucemia (THP-1), com índice de seletividade igual a 4,11. O complexo de índio (InL5) foi hábil para inibir o crescimento celular em ambas as linhagens testadas, porém o índice de seletividade encontrado foi de 1,5, consideravelmente menor que o observado para o GaL5.<sup>34</sup>



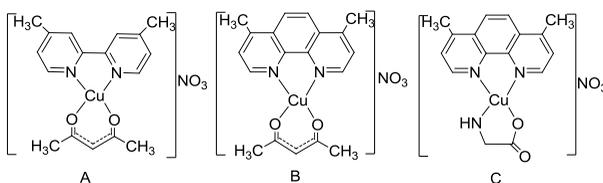
**Figura 4** - Representação estrutural para os complexos InL3, InL5, GaL5.<sup>34</sup>

Se, por um lado, a atividade antineoplásica dos complexos de  $\text{In}^{\text{III}}$  é pouco explorada, o mesmo não ocorre com seu potencial antibacteriano.<sup>56, 58</sup> A atividade antibacteriana desses compostos foi observada, pela primeira vez, em 1980 contra a bactéria *Klebsiella pneumoniae*.<sup>59</sup> Essa bactéria é um importante patógeno de infecções hospitalares, pode levar a pneumonia e oferece resistência a determinados antibióticos.<sup>60</sup> Outra bactéria que sofre forte inibição por complexos  $\text{In}^{\text{III}}$  é a *Mycobacterium tuberculosis*. Experimentos realizados com complexos de  $\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{V}^{\text{IV}}$ ,  $\text{As}^{\text{III}}$  e  $\text{In}^{\text{III}}$  e o ligante 1, 4, 8, 11 – tetraazaciclodecane - 1, 4, 8, 11- tetra-acético (TETA) demonstraram que o complexo de índio ( $[\text{In}(\text{TETA})]^{+}$ ) inibe o crescimento bacteriano em 99%, sendo o mais ativo entre os compostos testados.<sup>61</sup>

Outra classe de compostos metálicos que tem se destacado como promissores agentes anticâncer são os complexos de cobre. Diferentemente do gálio e do índio, o elemento cobre é um metal bioessencial, importante para a função de várias enzimas e proteínas, tais como: a hemocianina (responsável pelo transporte de  $\text{O}_2$ ), Cu-Zn superóxido dismutase (que atua na defesa antioxidante do organismo) e a citocromo c (envolvida no transporte de elétrons e na respiração).<sup>62,63</sup> A atuação dessas enzimas envolve reações de oxidação/redução em que o cobre participa através do ciclo redox  $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ .<sup>64</sup>

A rica química redox do cobre é um dos fatores que mais desperta interesse para utilização dos seus complexos como metalofármacos. A capacidade de participar ativamente de reações redox permite ao cobre atuar tanto em mecanismos de defesa do organismo (ex.: Cu-Zn superóxido dismutase), como em processos maléficis (ex.: geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e o conseqüente stress oxidativo).<sup>62</sup> A geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) é um dos principais mecanismos propostos para explicar a toxicidade induzida pelo cobre<sup>64</sup> e por muitos dos seus complexos, pois essas são espécies prejudiciais às células devido ao seu alto grau de reatividade.<sup>62</sup> Em particular tem sido demonstrado que o cobre é capaz de induzir à clivagem do DNA e à oxidação de bases nucleicas através da produção de espécies reativas de oxigênio.<sup>64</sup>

Entre os complexos de Cu<sup>II</sup>, sob investigação como agente antineoplásico, as Casiopeinas® representam um dos grupos mais promissores. Esses complexos são uma mistura de quelatos de Cu<sup>II</sup>, representados pela fórmula geral [Cu(N-N)(O-O)]NO<sub>3</sub> ou [Cu(N-N)(O-N)]NO<sub>3</sub>.<sup>65</sup> Nesse caso, o N-N pode ser a 1,10-fenantrolina ou 2,2'-bipiridina substituídas, o O-N representa um α-aminoácido ou peptídeo e O-O é usado para representar o acetilacetato ou o salicilaldeído.<sup>65</sup> Dentro da classe das Casiopeinas®, os complexos representados na Figura 5 são considerados os mais promissores. A Casiopeina CasIII-ia (A) e a Cas-IIgly (B), Figura 5, correspondem a dois dos poucos complexos de cobre com atividade antitumoral “*in vivo*”.<sup>5,64, 65</sup>



**Figura 5** - complexo (A) = CasIII-ia ([Cu(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)(acetilacetato)]NO<sub>3</sub>); complexo (B) = CasIII-Ea ([Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(acetil-acetonato)]NO<sub>3</sub>); complexo (C) = CasII-gly ([Cu(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)(glicinato)]NO<sub>3</sub>).<sup>65</sup>

As Casiopeinas® têm apresentado atividade antineoplásica contra várias linhagens de células tumorais, incluindo leucemia (L1210), carcinoma de ovário (CH1), carcinoma de colo (HCT-15) e glioma

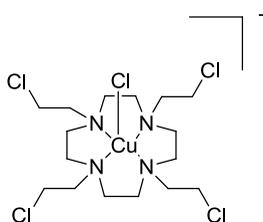
murino (C6).<sup>62, 66-68a</sup> Apesar dos resultados promissores de atividade antitumoral, pouco se sabe sobre o modo como essa classe de compostos exerce sua função citotóxica. Evidências mais recentes sustentam que as Casiopeínas®<sup>2</sup> são hábeis para inibir a proliferação celular, causando morte da célula por via apoptótica.<sup>68b, 5</sup> Esse mecanismo pode ser mediado através de espécies reativas de oxigênio (ROS), toxicidade mitocondrial ou interação direta com o DNA.<sup>65</sup> Em particular, estudos realizados com as Casiopeínas® da Figura 5 demonstraram que esses complexos clivam o DNA por um mecanismo que envolve a geração de radicais livres (ROS).<sup>65</sup>

Complexos de cobre também têm atraído interesse para o desenvolvimento de pró-fármacos biorredutíveis, isto é, compostos capazes de serem bioativados diretamente no local do tumor.<sup>16</sup> A utilização de compostos biorredutíveis é vista como uma estratégia promissora para o tratamento de tumores sólidos. A relevância desses compostos está relacionada à sua habilidade de serem seletivamente ativados no ambiente hipóxico do tumor (região redutora com baixa concentração de oxigênio e pouca vascularização).<sup>69</sup> A condição de hipóxia, considerada um obstáculo para as terapias convencionais, (quimioterapia e radioterapia) providencia a seletividade que diferencia as células saudáveis das cancerosas.<sup>70, 71</sup>

A química do cobre é atraente para o desenvolvimento de fármacos seletivos à regiões de hipóxia, pois o cobre é um metal redox ativo passível de reações de oxirredução em meio biológico. Assim, um complexo contendo  $\text{Cu}^{\text{II}}$  pode ter seu centro metálico reduzido a  $\text{Cu}^{\text{I}}$ , devido ao ambiente redutor da região em hipóxia.<sup>72</sup> A redução do centro metálico pode desproporcionar o complexo e liberar um ligante ativo, ou ainda tornar o complexo ativo pela presença do  $\text{Cu}^{\text{I}}$ .<sup>16</sup> Um composto com essa característica exerce o potencial citotóxico de forma seletiva, impede reações secundárias e minimiza os efeitos colaterais.<sup>16</sup>

Em 2004, Parker e colaboradores obtiveram complexos de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  com ligantes mostardas e testaram sua seletividade para regiões de hipóxia.<sup>73</sup> Quando administrados em meio biológico, essa classe de ligantes interage covalentemente com muitos componentes celulares, tais como enzimas e o DNA, resultando em elevada toxicidade ( $\text{CC}_{50} = 10^{-6}$  M).<sup>73, 74</sup> A alta toxicidade constitui uma desvantagem aos compostos, pois os mesmos não são capazes de distinguir as células saudáveis das demais.<sup>73</sup> A complexação a um cátion metálico como o  $\text{Cu}^{\text{II}}$ , formando um complexo biorredutível, pode ser a alternativa para resolver os problemas de seletividade do ligante. Os estudos realizados por Parker e colaboradores demonstraram que a formação de um

complexo de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  com esses ligantes protegeu o composto da hidrólise em meio aquoso e permitiu a ativação da pró-droga “in situ” (no tumor).<sup>73</sup> Os complexos foram testados contra células de câncer de pulmão, e o complexo 1,4,7,10-Tetra(2-cloroetil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecano- $[\text{Cu}(\text{II})]\text{Cl}_2$ , Figura 6, mostrou-se 24 vezes mais tóxico em condições de hipóxia do que em condições óxidas.<sup>16, 73</sup>



**Figura 6** - Complexo de  $\text{Cu}^{\text{II}}$  com o ligante 1,4,7,10-tetraazaciclododecano.<sup>29</sup>

Na busca por novos fármacos antineoplásicos é preciso considerar além dos complexos seus respectivos ligantes. Os ligantes podem influenciar grandemente na natureza lipofílica ou hidrofílica do complexo formado, na sua solubilidade em fluidos extracelulares e na permeabilidade através da membrana.<sup>62</sup> Além disso, é preciso considerar que muitos ligantes são potencialmente ativos como, por exemplo, os ligantes tiossemicarbazonas, já citados anteriormente. A atividade antineoplásica desses ligantes foi descoberta em 1956, quando a 2-formilpiridina tiossemicarbazona apresentou atividade antileucêmica.<sup>75</sup> Na atualidade, esses compostos representam uma importante classe de ligantes orgânicos com ampla atividade biológica. Tiossemicarbazonas apresentam atividade como: agentes antitumorais, antivirais, antifúngicos, antibacterianos e antimaláricos.<sup>75</sup>

A capacidade de um ligante livre atuar como um pró-fármaco ou fármaco não depende apenas do seu potencial citotóxico, mas também da sua capacidade de quelar determinados metais. Isso é importante se considerarmos que alguns tipos de tumores, tais como: os de mama, próstata, pulmão e cérebro, apresentam níveis elevados de cobre.<sup>5</sup> A função do cobre, nesse caso, está relacionada à angiogênese e ao crescimento tumoral.<sup>19</sup> Para contornar esse problema, a alternativa tem sido a administração de um fármaco capaz de quelar o íon cobre (ex.: D-penicilamina).<sup>5</sup>

## 1.2 MEDICINA NUCLEAR

Medicina Nuclear é uma especialidade médica que utiliza moléculas marcadas com um radionuclídeo, isto é, um radiofármaco para fins de diagnóstico ou terapia. Como ferramenta de diagnóstico, essa especialidade médica usa técnicas de imagem para avaliar o estágio de determinada doença e os órgãos afetados. Quando o objetivo é a terapia, são usados radiofármacos capazes de levar doses específicas de radiação a um tecido lesionado.<sup>76-78</sup>

O radiofármaco é um fármaco radioativo, ou seja, um composto que possui na sua estrutura um radionuclídeo capaz de emitir radiação.<sup>79,</sup>  
<sup>80</sup> Em outras palavras, um radiofármaco pode ser uma pequena molécula orgânica, inorgânica ou uma estrutura bioquímica, marcada com um determinado radionuclídeo.<sup>79, 81</sup> Entre as estruturas bioquímicas usadas para esse fim estão: anticorpos, peptídeos e proteínas.<sup>82, 83</sup> De acordo com sua aplicação médica, os radiofármacos são divididos em agentes de diagnóstico ou de terapia.<sup>82-84</sup>

O radionuclídeo é um elemento químico que apresenta atividade nuclear, ou seja, um radioisótopo capaz de emitir radiação. Esse elemento é responsável pelas propriedades físicas do radiofármaco e irá contribuir para a eficiência final do composto.<sup>85</sup> Para a escolha de um radionuclídeo adequado é preciso considerar: características de emissão nuclear (desintegração espontânea, tipos de emissão e energia de radiação); disponibilidade (custo de produção e o tempo de meia vida) e, eventualmente a possibilidade de ser ligado a uma determinada molécula.<sup>34, 77, 84</sup>

Para realizar um exame de diagnóstico, a medicina nuclear utiliza-se de diferentes técnicas de análise, dependentes do tipo de radiação emitida pelo radionuclídeo.<sup>86</sup> As técnicas mais utilizadas são a tomografia computadorizada por emissão de fótons (SPECT, também conhecida como cintigrafia) que requer radionuclídeos emissores de raios gama ( $\gamma$ ) e a tomografia computadorizada por emissão de pósitrons (PET) que precisa de radionuclídeos emissores de pósitron ( $\beta^+$ ).<sup>87, 88</sup> Em ambos os casos o  $t_{1/2}$  do radionuclídeo deve ser suficiente para: a síntese do radiofármaco, administração ao paciente, localização do tecido alvo e coleta de imagens.<sup>83, 84</sup> No geral, necessita-se de um tempo de meia vida suficientemente curto para minimizar a exposição do paciente à radiação, porém adequado à realização dos procedimentos médicos.<sup>84, 85</sup>

Para a obtenção da imagem, a cintigrafia se utiliza de câmeras gama associadas a computadores que fazem a aquisição e o tratamento de dados. O resultado é uma imagem tomográfica que mostra a

distribuição da radiação, no corpo do paciente, à medida que o detector vai rodando de  $180^\circ$  a  $360^\circ$ .<sup>85</sup> Na prática são requeridos radionuclídeos emissores de raios gama com energia entre 100 e 200 keV, pois essa é a faixa adequada aos sistemas de detecção dos equipamentos.<sup>85, 87</sup> Já na tomografia computadorizada por emissão de pósitrons, o decaimento de pósitrons resulta na emissão simultânea de dois fótons de mesma energia (511keV), orientados  $180^\circ$  um em relação ao outro.<sup>87, 88</sup> A radiação resultante é detectada por uma câmara especial e geometricamente construída, originando uma imagem tridimensional.<sup>87</sup>

Os radionuclídeos utilizados em cintigrafia são necessariamente diferentes dos usados nos exames de tomografia computadorizada por emissão de pósitrons (PET), já que essa última se baseia na emissão de pósitrons e a primeira na emissão de fótons gama. Assim, na técnica de cintigrafia (SPECT), o principal radionuclídeo utilizado é o  $^{99m}\text{Tc}$  (emissor  $\gamma$ ,  $t_{1/2} \approx 6,02$  horas e energia de radiação = 140 keV).<sup>81</sup> Além do Tc, os elementos Ga e In também possuem isótopos adequados para o uso em cintigrafia: o  $^{67}\text{Ga}$  (emissor  $\gamma$ ,  $t_{1/2} \approx 78$  horas / energia da radiação ( $\gamma$ ) = 93, 184, 296 keV) e o  $^{111}\text{In}$  (emissor  $\gamma$ ,  $t_{1/2} \approx 67,5$  horas / energia de radiação ( $\gamma$ ) = 172,5, 247 keV).<sup>87</sup> Na atualidade, os radionuclídeos  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{67}\text{Ga}$  e  $^{111}\text{In}$  são os mais utilizados em radiofármacos para diagnóstico através de cintigrafia.

Já na tomografia por emissão de pósitrons (PET) destacam-se os radionuclídeos:  $^{18}\text{F}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{N}$  e o  $^{15}\text{S}$ .<sup>88</sup> Nessa técnica, o radioisótopo mais usado é o  $^{18}\text{F}$  (emissor  $\beta^+$ ,  $t_{1/2} \approx 1,8$ h e energia de radiação = 249,8 keV). O  $^{18}\text{F}$  é o radionuclídeo empregado mundialmente para marcar a desoxiglicose (F-18 FDG-fluordesoxiglicose), um radiofármaco aplicado para obter informações referentes à metabolização da glicose (alterações na distribuição da glicose, ácidos graxos ou aminoácidos).<sup>34</sup> A fluordesoxiglicose é usada para avaliar a viabilidade do miocárdio, o metabolismo de tumores e lesões malignas.<sup>89</sup>

Apesar de a tomografia computadorizada por emissão de pósitrons (PET) ser uma técnica onde predomina o uso do  $^{18}\text{F}$  (fluordesoxiglicose), nos últimos anos alguns radionuclídeos metálicos têm ganhado espaço. Nessa nova geração de agentes de imagens para a técnica de PET destacam-se aqueles contendo os radionuclídeos  $^{68}\text{Ga}$  (emissor  $\beta^+$ ,  $t_{1/2} \approx 1$ h, energia de radiação = 1889 keV) e  $^{64}\text{Cu}$  (emissor  $\beta^+$ ,  $t_{1/2} \approx 13$  h, energia de radiação = 511 keV).<sup>33, 88</sup> Agentes de imagem contendo  $^{68}\text{Ga}$  estão em fase de triagem clínica, enquanto aqueles com  $^{64}\text{Cu}$  estão sendo testados “*in vivo*”(ratos); em ambos os casos os

compostos têm apresentado perfil clínico adequado para a aplicação como radiofármacos.<sup>33</sup>

Em suma, o uso das técnicas de cintigrafia (SPECT) e PET representa um grande avanço para a medicina, particularmente na oncologia, neurologia e cardiologia.<sup>33</sup> Entre outros benefícios, essas técnicas permitem: a avaliação rápida e não-invasiva dos órgãos ou tecidos; possibilitam a avaliação não só da morfologia do órgão, mas também da sua função; permitem a detecção precoce de doenças e possibilitam a avaliação durante a terapia.<sup>90</sup> Além dessas vantagens, essas técnicas apresentam alta sensibilidade, os radiofármacos são utilizados em concentrações da ordem de  $10^{-6}$  M na técnica de SPECT, e  $10^{-8}$  a  $10^{-10}$  M para a técnica PET.<sup>88</sup>

### 1.2.1 - Radiofármacos terapêuticos

Quando o objetivo é a terapia, a medicina nuclear se utiliza de radiofármacos projetados para entregar doses terapêuticas de radiação ionizante nos locais afetados pela doença.<sup>91</sup> Nesse caso, o radionuclídeo deve ser um emissor de partículas ( $\alpha$ ,  $\beta^-$ , e<sup>-</sup> Auger) com  $t_{1/2}$  entre 1 e 10 dias.<sup>91</sup> O tipo de partícula a ser utilizada dependerá do tamanho do tumor, da distribuição intratumoral (ex.: grau de heterogeneidade de deposição do radiofármaco) e da farmacocinética do radionuclídeo.<sup>84</sup>

A aplicação de radiação ionizante envolve destruição celular, logo, o radiofármaco deve atingir o tumor em concentrações suficientes para liberar a radiação citotóxica na célula tumoral e deve, ao mesmo tempo, ser eliminado rapidamente da corrente sanguínea e de órgãos não cancerosos, a fim de minimizar os danos provocados pela radiação.<sup>91</sup> A radiação ionizante (citotóxica) pode ser entregue no local da doença de três formas. Através de radioterapia externa; nesse caso, o paciente recebe radiação de uma fonte externa.<sup>81, 83</sup> Pela braquiterapia, que envolve o uso de “sementes”, isto é, pequenas cápsulas que são implantadas no corpo do paciente, próximas ao tumor.<sup>81, 83</sup> Além das duas formas anteriores, pode-se fazer o uso da administração sistêmica; nesse caso, são utilizados radiofármacos específicos, ou seja, compostos projetados para se posicionarem diretamente no local do tumor.<sup>81, 83</sup>

Dentre os radionuclídeos usados para terapia, o  $^{131}\text{I}$  (emissor  $\beta^-$ , energia de radiação = 806 keV,  $t_{1/2} \approx 8,02$  dias) desempenha papel fundamental e histórico, pois é o primeiro radionuclídeo terapêutico e o mais utilizado até a atualidade.<sup>77, 80</sup> Dos radiofármacos utilizados para fins terapêuticos destacam-se: o iodeto de sódio ( $^{131}\text{I}$ - doenças da tireóide), o cloreto de estrôncio ( $^{89}\text{Sr}$  - metástase óssea) e o fosfato de

sódio ( $^{32}\text{P}$ - metástase óssea).<sup>77,84</sup> Na Tabela 1 estão destacados alguns complexos metálicos que atuam como radiofármacos terapêuticos ou que estão em fase de desenvolvimento clínico.

**Tabela 1** - Alguns complexos metálicos que atuam como pequenos radiofármacos para terapia.<sup>80,82, 83,92</sup>

<b>Radiofármaco</b>	<b>Nome Comercial</b>	<b>Emprego</b>
$^{186}\text{Re}$ - HEDP®	_____	Tratamento paliativo da dor óssea metatática, associada ao câncer de próstata, mama e colorretal.
$^{153}\text{Sm}$ -EDTMP	(Quadramet®)	Tratamento paliativo da dor óssea em pacientes com metástase esquelatal.
$^{117\text{m}}\text{Sn}$ -DTPA	Sob investigação	Tratamento de mestástase óssea.

### 1.2.2 - Radiofármacos para o diagnóstico por imagem

Os radiofármacos utilizados para obtenção de imagem (compostos de maior interesse nesse trabalho) são predominantemente complexos metálicos.<sup>81, 82</sup> A utilização de complexos torna-se interessante devido à variedade de radionuclídeos disponíveis, as propriedades nucleares desses radionuclídeos (tipo de radiação, radiação beta ou gama e  $t_{1/2}$ ) e à rica química de coordenação.<sup>82, 83</sup> As propriedades nucleares diversificadas ampliam as possibilidades de técnicas, pois pode ser escolhido um radionuclídeo adequado a determinada técnica.<sup>33</sup> A grande variedade de radionuclídeos metálicos permite a adaptação exata do  $t_{1/2}$  do radioisótopo com o tempo que o radiofármaco necessita para localizar-se no tecido lesionado. Em relação à química de coordenação, a vantagem está na simplicidade e modularidade de utilizar diferentes quelantes e radionuclídeos, o que permite a criação de uma ampla variedade de agentes de imagem.<sup>33</sup> Por fim, as reações de radiometalação são rápidas e os procedimentos de purificação são simples.<sup>33</sup>

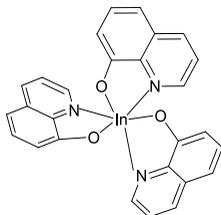
Históricamente os primeiros complexos metálicos, utilizados como radiofármacos de diagnóstico, tinham como radionuclídeo o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , coordenado por ligantes simples e pequenos.<sup>87</sup> Esses compostos

eram predominantemente radiofármacos de perfusão, isto é, se distribuíam conforme o fluxo sanguíneo.<sup>81</sup> São exemplos desses radiofármacos o ânion complexo  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  (pertechnetato), usado como agente de diagnóstico para tireoide;<sup>83</sup> o  $^{99m}\text{Tc}$ -sestamibi, o qual pode ser representado pelo cátion  $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CNR})_6]^+$  (CNR= (2-metoxi-2-metilpropil)isonitrila), ainda utilizado para imagem do miocárdio com o nome de Cardiolite®<sup>93</sup> e, o complexo neutro  $^{99m}\text{Tc}$ Bisicate  $[\text{TcO}(\text{ECD})]$  (ECD = L, L- etilenodiamina-dietil-éter) empregado em medidas de fluxo sanguíneo cerebral.<sup>79, 87, 86, 94</sup>

Os resultados promissores obtidos com os primeiros radiofármacos de tecnécio, aliados ao desenvolvimento dos reatores nucleares e à tecnologia dos cíclotrons, tornaram viável o desenvolvimento de novos radiofármacos contendo radionuclídeos diferentes do tecnécio.<sup>94</sup> Assim, passou-se a utilizar complexos contendo outros radionuclídeos metálicos, como o  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{86}\text{Y}$ ,  $^{82}\text{Rb}$  e mais recentemente o  $^{60}\text{Cu}$ ,  $^{68}\text{Ga}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{89}\text{Zr}$  e o  $^{82}\text{Rb}$ .<sup>23, 33</sup>

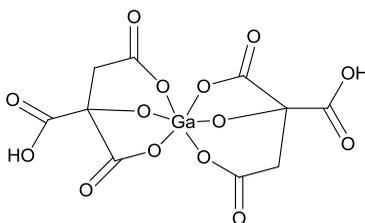
Em relação aos complexos de gálio e índio, utilizados como radiofármacos para a imagem, o  $^{111}\text{In}(\text{oxiquinolina})_3$ , Figura 7, e o  $[\text{}^{67}\text{Ga}(\text{citrato})_2]^{3-}$ , Figura 8, destacam-se no campo de pequenos complexos metálicos. Esses dois complexos são radiofármacos utilizados mundialmente para obtenção de imagem através da técnica de cintigrafia (SPECT).<sup>87, 95</sup>

O complexo de  $^{111}\text{In}(\text{oxiquinolina})_3$ , Figura 7, é um radiofármaco amplamente utilizado no diagnóstico de processos infecciosos e inflamatórios. Esse radiofármaco é um composto de coordenação que atravessa a membrana dos glóbulos brancos, onde é retido pelos componentes do citoplasma.<sup>91</sup> Os glóbulos brancos, que fazem parte do sistema imunológico, acumulam-se nos locais infectados ou inflamados.<sup>91</sup> Com isso, as células marcadas concentram o radionuclídeo nesses pontos e, dessa forma, permitem o diagnóstico precoce desses processos.<sup>83, 91</sup>



**Figura 7** - Representação estrutural do complexo de  $^{111}\text{In}(\text{oxiquinolina})_3$ .<sup>91</sup>

No que se refere aos radiofármacos de gálio, o ponto determinante foi a descoberta das propriedades do citrato de gálio-67,  $[^{67}\text{Ga}(\text{citrato})_2]^{3-}$ , Figura 8. Esse complexo é um radiofármaco usado para o diagnóstico de alguns tipos de tumores, processos infecciosos e inflamatórios.<sup>91</sup> Quando o citrato de gálio é introduzido na corrente sanguínea, o íon  $\text{Ga}^{\text{III}}$  é imediatamente sequestrado pela transferrina.<sup>91</sup> A troca de ligantes é uma consequência da baixa constante de estabilidade do complexo (Ga/Citrato), bem como da semelhança entre o  $\text{Ga}^{\text{III}}$  e o  $\text{Fe}^{\text{III}}$ . Nesse caso, o radiofármaco efetivo é o complexo resultante da coordenação da transferrina ao íon  $\text{Ga}^{\text{III}}$ .<sup>86, 91, 95</sup>



**Figura 8** - Representação estrutural do complexo  $[^{67}\text{Ga}(\text{citrato})_2]^{3-}$ .<sup>96</sup>

A aplicação dos radiofármacos para o diagnóstico ocorre, em sua maioria, por via intravenosa<sup>82</sup> e suas características de biodistribuição os dividem em: radiofármacos de perfusão e radiofármacos específicos para o alvo.<sup>81, 83, 85</sup> Os radiofármacos de perfusão têm a biodistribuição determinada, quase que exclusivamente, por suas propriedades físico-químicas, são radiofármacos de fluxo sanguíneo, ou seja, são transportados pelo sangue e atingem o órgão ou tecido alvo na proporção do fluxo sanguíneo.<sup>81, 83, 85</sup> Já os radiofármacos específicos são projetados para se posicionarem diretamente no local do tumor. Para gerar essa especificidade podem ser usadas biomoléculas que tenham afinidade por determinados órgãos, tecidos, ou receptores biológicos.<sup>81, 83, 85</sup>

### 1.2.3 – Radiofármacos alvo-específicos

Algumas propriedades devem ser consideradas na hora de projetar um radiofármaco. Entre essas propriedades estão o tipo de emissão nuclear do radionuclídeo, o  $t_{1/2}$ , a estabilidade termodinâmica do complexo radionuclídeo-ligante, a farmacocinética do radiofármaco

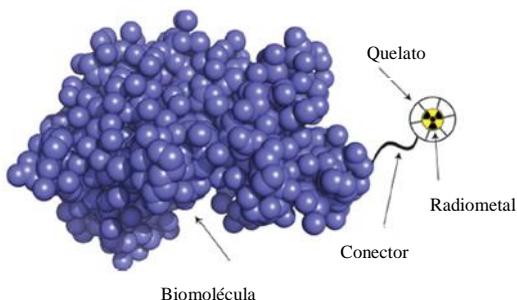
(refere-se ao movimento da droga no organismo e inclui: a absorção, distribuição, metabolismo e eliminação do radionuclídeo), a especificidade, o custo e a disponibilidade.<sup>83</sup> Dessas propriedades, sem dúvida, a especificidade é uma das características mais almejadas, pois torna o radiofármaco mais eficaz; seja esse um radiofármaco para diagnóstico ou terapia.<sup>77, 80</sup>

Para obter um radiofármaco seletivo, passou-se a considerar, além das características físico-químicas, as propriedades bioquímicas do composto radiomarcado. Assim, muitas biomoléculas, incluindo anticorpos monoclonais, pequenos peptídeos e açúcares, têm sido usadas para liberar o radionuclídeo diretamente no tecido alvo.<sup>77, 97, 98</sup> Alguns exemplos de complexos metálicos que atuam como radiofármacos alvo-específicos para o diagnóstico e/ou terapia estão destacados na Tabela 2.

**Tabela 2** - Alguns complexos metálicos que atuam como radiofármacos alvo-específicos para o diagnóstico e/ou terapia.<sup>80, 82, 83</sup>

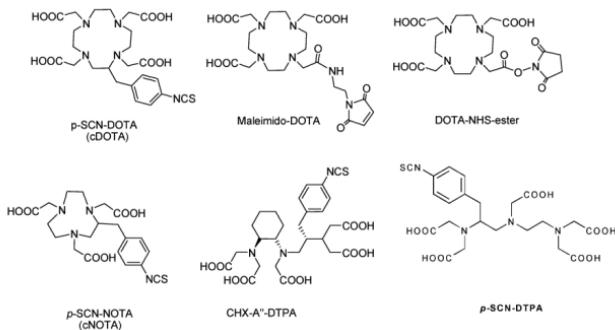
Radiofármaco	Nome Comercial	Emprego
<sup>111</sup> In- Capromab Pentetide	ProstaScint®	Imagem de câncer de próstata
<sup>111</sup> In- Satumomab Pentetide	OncoScint®	Imagem de metástases associadas ao câncer de ovário e de colo do útero.
<sup>111</sup> In- Imciromab Pentetide	MyoScint®	Detecção de áreas necrosadas no infarto do miocárdio
<sup>90</sup> Y- Ibitumomab tiuxetan	Zevalin®	Tratamento de linfomas não – Hodgkin

A principal estratégia para obter radiofármacos mais seletivos tem sido o desenvolvimento de compostos bioconjugados. Um radiofármaco bioconjugado é constituído por quatro partes: uma biomolécula direcionadora, um grupo conector ou espaçador, um quelato bifuncional (QBF) e um radionuclídeo metálico, Figura 9.<sup>81, 84, 88, 99.</sup>



**Figura 9** - Representação de um radiofármaco bioconjugado.<sup>88</sup>

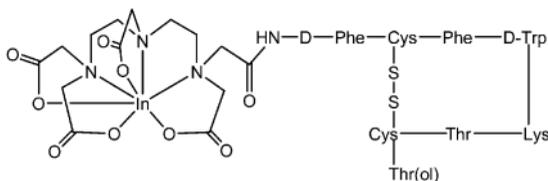
Cada parte que compõe o radiofármaco bioconjugado deve ser cuidadosamente planejada. A biomolécula direcionadora pode ser: anticorpos, fragmentos de anticorpos ou pequenos peptídeos e serve como veículo para transportar o radionuclídeo até o tecido doente (alvo).<sup>88, 100</sup> O radionuclídeo metálico é responsável pela emissão da radiação; logo, deve ser escolhido de acordo com a função do radiofármaco (terapia ou diagnóstico).<sup>79, 84, 99</sup> O quelato bifuncional (QBF) é um ligante capaz de formar um complexo estável com o radionuclídeo e, ao mesmo tempo, estabelecer uma ligação covalente com uma biomolécula.<sup>100, 101</sup> O QBF tem dois polos, um responsável pela formação do complexo e outro constituído por grupos funcionais (aminas, iminas, carboxilatos, aldeídos) que permitem o acoplamento do ligante à biomolécula.<sup>101</sup> O grupo conector, como o próprio nome diz, permite a conexão entre a biomolécula e o QBF.<sup>88, 94</sup> Esse grupo pode ser usado com o interesse de modificar as propriedades farmacocinéticas do radiofármaco.<sup>79, 102</sup> Dessa forma, se o objetivo for elevar a lipofilicidade do composto, pode-se usar uma cadeia de hidrocarboneto;<sup>79</sup> já a adição de uma sequência peptídica é capaz de aumentar a hidrofiliabilidade e a eliminação renal.<sup>79</sup> Alguns exemplos de quelatos bifuncionais contendo grupos conectores estão representados na Figura 10.



**Figura 10** - Estrutura de alguns quelatos bifuncionais (DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético), DOTA (ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N,N,N-tetraacético), e o NOTA (ácido 1,4,7-triazaciclononano-N,N,N-triacético) contendo conectores).<sup>88, 94</sup>

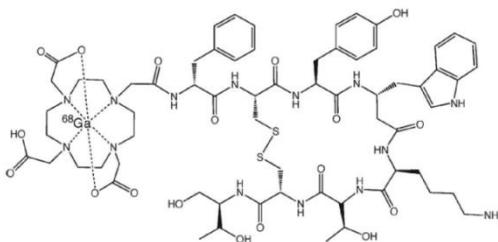
Dentre os radiofármacos bioconjugados de  $\text{Ga}^{\text{III}}$  e  $\text{In}^{\text{III}}$  destacam-se: o  $^{111}\text{In}$ -DTPA-octreotide (Octreoscan®), Figura 10, e o seu análogo  $^{68}\text{Ga}$ -(DOTA-TOC), Figura 11. O  $^{111}\text{In}$ -DTPA-octreotide é um radiofármaco amplamente utilizado para obtenção de imagens em cintigrafia (SPECT),<sup>79, 82</sup> já  $^{68}\text{Ga}$ -(DOTA-TOC) está em fase de triagem clínica para ser usado como agente de imagem na técnica de PET.<sup>33, 88</sup>

A descoberta e sucessiva aplicação do  $^{111}\text{In}$ -DTPA-Octreotide (Octreoscan®), Figura 11, foi um ponto fundamental para o desenvolvimento de radiofármacos alvo-específicos.<sup>79,103</sup> O Octreoscan® tem como alvo os receptores da somatostatina, um hormônio proteico produzido pelo pâncreas.<sup>100</sup> Na atualidade, o  $^{111}\text{In}$ -DTPA-Octreotide é usado para obter imagem de tumores pancreáticos (gastrinomas) em pacientes com síndrome de Zollinger-Ellison, e em tumores neuroendócrinos.<sup>79, 82, 83, 104</sup>



**Figura 11** - Representação do composto  $^{111}\text{In}$ -DTPA-Octreotide (Octreoscan®).<sup>83</sup>

O  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-D-Phe<sup>1</sup>-Tyr<sup>3</sup>-octreotídeo), Figura 11, é similar ao  $^{111}\text{In}$ -DTPA-Octreotide, porém foi projetado para ser usado na técnica de PET. Esse radiofármaco é usado para o diagnóstico precoce de tumores neuroendócrinos e em metástase óssea.<sup>105</sup> O  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC é semelhante à somatostatina e apresenta potencial superior ao do traçador  $^{18}\text{F}$ -FDG. Diferentemente do  $^{18}\text{F}$ -FDG, o  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC possui alta sensibilidade para detectar tumores de baixa atividade metabólica e crescimento lento.<sup>106a</sup>



**Figura 12** - Representação do composto  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC.<sup>88</sup>

Em virtude do que foi exposto até aqui, desenvolveu-se nesse trabalho um estudo de síntese, caracterização e avaliação de citotoxicidade de novos ligantes não-simétricos e seus complexos. Obteve-se uma série de complexos mononucleares contendo os cátions metálicos  $\text{Ga}^{\text{III}}$  e  $\text{In}^{\text{III}}$  com o intuito de avaliar o potencial desses complexos para atuar em análises de diagnóstico de doenças, ou na terapia do câncer. Além dos complexos mononucleares, foram sintetizados complexos heterobinucleares de  $\text{Ga}^{\text{III}}/\text{Cu}^{\text{II}}$  e  $\text{In}^{\text{III}}/\text{Cu}^{\text{II}}$ , a fim de investigar o potencial desses complexos (heterobinucleares) para exercer dupla função, isto é, agentes de diagnóstico através dos centros de  $\text{Ga}^{\text{III}}$  ou  $\text{In}^{\text{III}}$  e terapia através do centro  $\text{Cu}^{\text{II}}$ . Convém destacar que até o momento não existem relatos na literatura que descrevam complexos heterobinucleares de  $\text{Ga}^{\text{III}}/\text{Cu}^{\text{II}}$  e  $\text{In}^{\text{III}}/\text{Cu}^{\text{II}}$  com a função de atuar como agente bifuncional. Além disso, o uso de radiofármacos que desempenhem a dupla função (agente de diagnóstico/terapia) não é conhecido. Os radiofármacos atuais destinam-se ao diagnóstico ou à terapia, não se tem conhecimento de nenhum composto em uso clínico que desempenhe dupla função, como se almeja nesse trabalho.

Em relação aos novos ligantes, foram obtidas três séries de compostos, uma contendo ligantes mononucleantes e duas com ligantes binucleantes. Os novos ligantes mononucleantes assimétricos foram

inspirados nos ligantes mononucleantes simétricos, H<sub>2</sub>BBPEN e H<sub>2</sub>BBPN obtidos por Neves e colaboradores.<sup>106 b,c</sup>

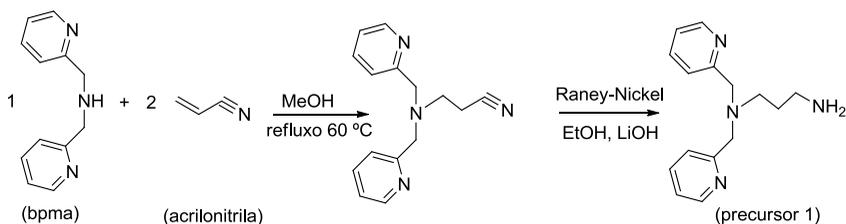
Os novos ligantes mononucleantes assimétricos apresentam um aldeído livre, o que possibilita a reação com grupos amino presentes em biomoléculas. Assim, esses compostos se mostram promissores para a obtenção de radiofármacos alvo-específicos. Já os demais ligantes, isto é, as duas séries de ligantes binucleantes foram projetadas com o intuito de obter complexos heterobinucleares, além de avaliar a influência do tamanho do grupo espaçador na química de coordenação dos respectivos ligantes. Por fim, convém salientar que os ligantes podem, ainda, atuar como potenciais agentes citotóxicos, já que muitos fármacos usados na rotina de tratamento do câncer são moléculas exclusivamente orgânicas.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 SÍNTESE DOS LIGANTES

##### 3.1.1 Síntese dos precursores 1, 2, 3 e 4

###### 3.1.1.1 Síntese do precursor N', N'-bis(2-metilpiridil)-propano-1,3-diamina - precursor 1 (2pyNH<sub>2</sub>)



#### Esquema 1 - síntese do precursor 1.

O precursor **1** foi sintetizado a partir de pequenas modificações nos métodos descritos na literatura.<sup>34, 112</sup> Primeiramente sintetizou-se o *N*-bis-(2-piridilmetil)amina (bpma), conforme método descrito na literatura.<sup>113</sup> Em um balão de 100 mL, contendo uma solução do 2-(aminometil)piridina (100 mmol; 10,80 g) em metanol (50 mL) e resfriado a 0 °C, foi adicionado, lentamente e sob agitação, 2-piridinacarboxialdeído (100 mmol; 10,70 g). A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 1 hora e à solução resultante adicionou-se 1 g de paládio/carbono 5%, que ficou sob agitação e em atmosfera de hidrogênio a 40 psi durante 15 horas. A solução resultante foi então filtrada e o solvente evaporado à pressão reduzida, obtendo-se o produto desejado com rendimento quantitativo.

**RMN 1H (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>), em ppm:** δ 2,90 (sl, 1 H, NH); 3,98 (s, 4 H, CH<sub>2</sub>); 7,15(dd, 2 H, CHar); 7,35 (d, 2H, CHar); 7,63 (dd, 2H, CHar); 8,56 (d, 2 H, CHar).

**IV (filme KBr), em cm-1:** ν (N-H) 3300; ν (C-Har e C-Halif) 3062-2828; ν (C=N e C=C) 1592-1434; ν (C-N) 1148; δ (C-Har) 758.

Para obtenção do precursor **1** foram dissolvidos 2,98 g do bpma (15 mmol; 199,11 g mol<sup>-1</sup>) em 50 mL de MeOH. Essa solução foi então transferida para um balão de 250 mL, adicionando-se lentamente 1,99 mL de acrilonitrila (30 mmol; 53,06 g mol<sup>-1</sup>; 0,081 g mL<sup>-1</sup>). A reação foi

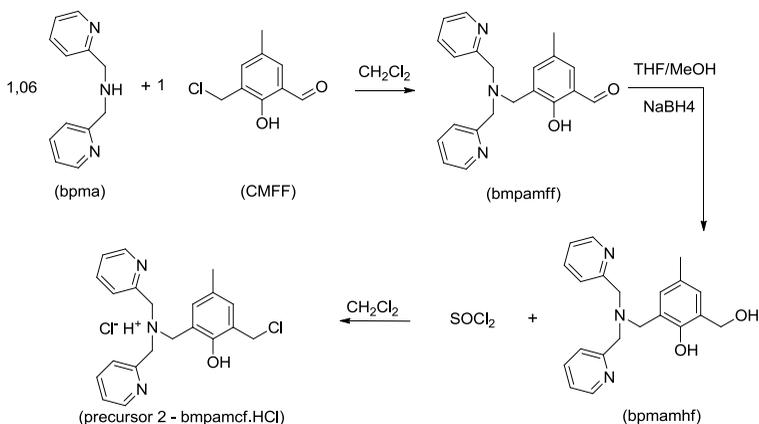
refluxada entre 60 e 65 °C por 25 horas. Em seguida, o solvente foi evaporado a uma pressão reduzida, obtendo-se um óleo de coloração amarela. O óleo resultante foi dissolvido em 70 mL de MeOH e, a esse, foram adicionados 3,35 g de catalisador Raney-Nickel (solução aquosa) e 1,67 g de LiOH (69,93 mmol; 23,95 g mol<sup>-1</sup>). A reação permaneceu 15 horas sob agitação em atmosfera de H<sub>2</sub> (hidrogenação). Após esse período, a reação foi filtrada em celite e o solvente evaporado, resultando em um sólido contendo LiOH e o produto. Para extrair o produto, foram adicionados ao sólido 50 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A solução amarela do precursor **1** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, foi filtrada e o solvente evaporado. Foram obtidos 4,93 g do precursor **1**, na forma de um óleo amarelo (19,23 mmol; 256,35 g mol<sup>-1</sup>).

Rendimento: 89% em relação ao bpma.

**IV (KBr) em cm<sup>-1</sup>**: ν(N-H)3380; ν(C-H<sub>ar</sub> e C-H<sub>alif</sub>) 3062-2824; ν(C=N e C=C) 1589-1473; δ(C-H<sub>ar</sub>) 760.

**RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (δ, ppm)**: 1,68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2,17 (s, 2H, N-H); 2,58 (t, 2H, CH<sub>2</sub>); 2,71 (t, 2H, CH<sub>2</sub>); 3,78 (s, 4H, CH<sub>2</sub>); 7,13(ddd,1H, CH<sub>ar</sub>); 7,47 (d, 2H, CH<sub>Ar</sub>); 7,63 (td, 2H, CH<sub>Ar</sub>); 8,51 (m,2H, CH<sub>py</sub>).

### 3.1.1.2 Síntese do precursor cloridrato de 2-bis(2-piridilmetil)aminometil-4-metil-6-clorometilfenol hidrocloreto (bmpamcf.HCl) – precursor **2**



**Esquema 2** - síntese do precursor **2**.

O precursor bnpamcf.HCl foi preparado conforme método descrito na literatura.<sup>113</sup> O procedimento de síntese foi realizado em quatro etapas.

Primeiramente preparou-se o CMFF de acordo com metodologia já descrita.<sup>113</sup> Inicialmente, fez-se necessária a formação do intermediário 2-hidroxi-5-metoxibenzaldeído (hmb): A um balão de três bocas de 5 L, equipado com um agitador mecânico, adicionou-se 3 L de clorofórmio e *p*-cresol (1,60 mol; 173,71 g). Em torno de 60 °C e sob agitação, NaOH (12 mol; 480 g), previamente dissolvido em cerca de 300 mL de água destilada, foi adicionado lentamente (nas três primeiras horas de reação) à mistura reacional. A solução resultante foi mantida sob agitação e refluxo por mais uma hora e, então, deixou-se resfriar até a temperatura ambiente. A seguir, foram adicionados cerca de 1,5 L de água destilada e HCl concentrado até pH 2. A fase orgânica foi separada, lavada com água destilada, seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e o solvente evaporado à pressão reduzida. O material restante (óleo escuro e viscoso) foi destilado à pressão reduzida, com auxílio de uma colunavigreux de 40 cm (55 – 65 °C a 0,1 mmHg), obtendo o produto desejado (hmb) com rendimento de 46%.

**IV (filme KBr), em cm<sup>-1</sup>:** ν (C-Har e C-Halif) 3024-2864; ν (C-Hald) 2738; ν (C=O)1658; ν (C=C) 1590-1484; δ (O-H) 1372; ν (C-Ofenol) 1282; δ (C-Har) 742.

**RMN <sup>1</sup>H (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>), em ppm:** δ 2,34 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 6,90 (d, 1 H, CHar); 7,34 (sl, 2 H, CHar); 9,85 (s, 1 H, CHald); 10,84 (s, 1 H, OHfenol).

A partir do intermediário hmb, a segunda e última etapa para a formação do CMFF foi realizada: Em um balão de 250 mL de três bocas, foi adicionado 2- hidróxi-5-metilbenzaldeído (0,24 mol; 32 g), seguido de formaldeído 37% (1,30 mol; 37,50 mL) e 125 mL de HCl concentrado. A mistura foi submetida a refluxo e agitação por 30 minutos e, em seguida, foi resfriada a 0 °C, formando uma massa compacta no fundo do balão, a qual foi filtrada sob vácuo e lavada com HCl concentrado. O sólido obtido foi recristalizado em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, levando ao produto 3-clorometil-5-metilsalicilaldeído (CMFF) com 70% de rendimento.

**IV (filme KBr), em cm<sup>-1</sup>:** ν (C-Har e C-Halif) 3048-2852; ν (C-Hald) 2749; ν (C=O) 1664; ν (C=C) 1600-1470; δ (O-H) 1378; ν (C-Ofenol) 1257; δ (C-Har) 703; ν (C-Cl) 613.

**RMN <sup>1</sup>H (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>), em ppm:** δ 2,35 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 4,66 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 7,34 (s, 1 H, CHar); 7,45 (s, 1 H, CHar); 9,86 (s, 1 H, CHald); 11,24 (s, 1 H, OHfenol).

**CUIDADOS:** Durante essa segunda etapa para a formação do cmff, pode-se formar o subproduto bis-(clorometil)éter, altamente tóxico e potente agente carcinogênico. Portanto, essa reação foi realizada em capela com boa exaustão, utilizando-se máscara e luvas, e todo o material utilizado foi lavado com solução alcalina (por exemplo, etanol/água/KOH: 60 mL/40 mL/5 g, na capela), promovendo a hidrólise do bis-(clorometil)éter para formaldeído. A solução reacional e todos os resíduos foram descartados somente após correção do pH ( $\text{pH} > 9,0$ ) por adição de hidróxido de sódio ou potássio.

Obtendo-se o CMFF foi possível a síntese do precursor 2-[bis-(piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-formil-fenol (bmpamff) conforme procedimento a seguir. Em balão de 250 mL adicionou-se 2,80 g do CMFF (2-clorometil-4-metil-6-formilfenol) (15 mmol;  $184,62 \text{ g mol}^{-1}$ ), conforme descrito na literatura.<sup>114</sup> A respectiva massa de CMFF foi dissolvida em 40 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e mantida sob agitação e banho de gelo durante 15 minutos. Simultaneamente, 3,00 g do composto bpma<sup>113</sup> (15,06 mmol;  $199,11 \text{ g mol}^{-1}$ ) foram dissolvidos em 40 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e adicionados à solução contendo o CMFF. A mistura reacional permaneceu sob agitação por 3 horas, quando foi interrompida, transferida para funil de separação e lavada com solução aquosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (6 x 50 mL). A fase orgânica foi filtrada em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e o solvente evaporado a uma pressão reduzida. Obteve-se um óleo amarelo, o qual foi cristalizado em isopropanol. Após cristalização foram obtidos 4,02 g do produto bpmamff (11,57 mmol;  $347,16 \text{ g mol}^{-1}$ ), na forma de um pó amarelo.

Rendimento: 77 % em relação ao bpma.

**IV (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ :**  $\nu(\text{C-H}_{\text{Ar}}$  e  $\text{C-H}_{\text{Alif}})$  3038-2849;  $\nu(\text{C=O})$  1680;  $\nu(\text{C=N}$  e  $\text{C=C})$  1591-1437;  $\delta(\text{O-H fenol})$  1378;  $\nu(\text{C-O}_{\text{fenol}})$  1276;  $\nu(\text{C-N})$  1114;  $\delta(\text{C-H}_{\text{Ar}})$  773.

**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ), ( $\delta$ , ppm):** 2,28 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 3,87 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 3,96 (s, 4H,  $\text{CH}_2$ ); 7,19-7,27 (m, 3H,  $\text{CH-Ar}$ ); 7,41-7,45 (m, 3H,  $\text{CH-Ar}$ ); 7,64-7,68 (m, 2H,  $\text{CH-Ar}$ ); 8,57 (t, 2H,  $\text{CH-Ar}$ ); 10,41 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{aldeído}}$ ).

A segunda etapa envolve a síntese do precursor 2-[N-bis-(piridilmetil)aminometil]-4-metil-6-hidroximetilfenol (bpmamhf), o qual foi obtido a partir da redução do bmpamff com  $\text{NaBH}_4$ . Em balão de 100 mL, contendo uma mistura de THF:MeOH (50:20 mL), foram dissolvidos 13,60 g de bpmamff (39,00 mmol;  $347,16 \text{ g mol}^{-1}$ ). Sob banho de gelo, adicionou-se a essa solução 1,50 g de  $\text{NaBH}_4$  (39 mmol;  $37,83 \text{ g mol}^{-1}$ ), em pequenas alíquotas. Após 1 hora de agitação, o pH

da solução foi ajustado para 7,00 pela adição gota a gota de solução aquosa de HCl (2,00 mol L<sup>-1</sup>). O solvente foi evaporado, resultando em um óleo viscoso, que foi dissolvido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavado com solução aquosa de NaHCO<sub>3</sub> e filtrado em Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. A fase orgânica foi evaporada a uma pressão reduzida e o produto obtido na forma de um óleo amarelo. Foram obtidos 13,39 g do produto (38,33 mmol; 349,43 g mol<sup>-1</sup>).

Rendimento: 98% em relação ao bmpamff.

**IV (KBr), em cm<sup>-1</sup>:**  $\nu(\text{O-H})$  3461;  $\nu(\text{C-H}_{\text{Ar}}$  e  $\text{C-H}_{\text{Alif}}$ ) 3043-2828;  $\nu(\text{C=N}$  e  $\text{C=C})$  1592-1436;  $\delta(\text{O-H}_{\text{fenol}})$  1363;  $\nu(\text{C-O}_{\text{fenol}})$  1228;  $\delta(\text{C-H}_{\text{Ar}})$  771.

**RMN <sup>1</sup>H (200 MHz; CDCl<sub>3</sub>), ( $\delta$ , ppm):** 2,23 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 3,76 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 3,88 (s, 4 H, CH<sub>2</sub>); 4,73 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 6,82 (s, 1 H, CH<sub>Ar</sub>); 6,95 (s, 1 H, CH<sub>Ar</sub>); 7,17 (t, 2 H, CH<sub>Ar</sub>); 7,30 (t, 2 H, CH<sub>Ar</sub>); 7,59-7,68 (m, 2 H, CH<sub>Ar</sub>); 8,56 (d, 2 H, CH<sub>Ar</sub>).

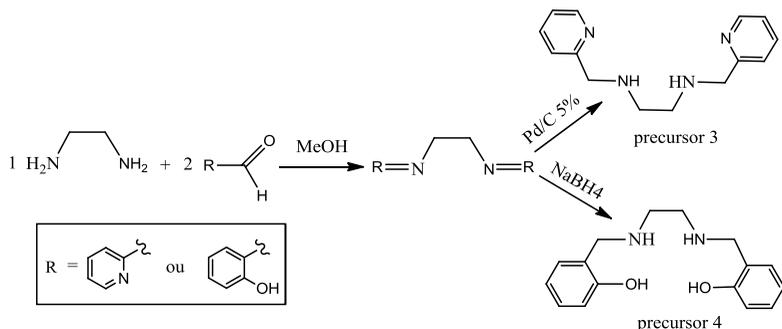
A terceira e última etapa envolve a reação entre bpmamhf e SOCl<sub>2</sub>, de modo a obter o 2-bis(2-piridilmetil)aminometil-4-metil-6-clorometilfenol hidrocloreto (bmpamcf.HCl). Para obtenção do produto foram dissolvidos 13,30 g do bpmamhf (38 mmol; 349,43 g mol<sup>-1</sup>) em 60 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A essa solução foram adicionados, sob agitação magnética e banho de gelo, 3,30 mL SOCl<sub>2</sub> (46 mmol; 118,97 g mol<sup>-1</sup>; 1,638 g mL<sup>-1</sup>). A reação foi mantida sob agitação durante 1 hora e o solvente evaporado a uma pressão reduzida. Obteve-se uma espuma de coloração amarela escura, que foi dissolvida em 50 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e o solvente evaporado. Esse procedimento foi repetido várias vezes, até obtenção de uma espuma amarelo palha, ou seja, bmpamcf.HCl. Foram obtidos 15,38 g do produto (38,06 mmol; 404,33 g mol<sup>-1</sup>).

Rendimento: 95% em relação ao bpmamhf.

**IV (KBr), em cm<sup>-1</sup>:**  $\nu(\text{O-H})$  3398;  $\nu(\text{C-H}_{\text{Ar}}$  e  $\text{C-H}_{\text{Alif}}$ ) 3057-2870;  $\nu(\text{C=N}$  e  $\text{C=C})$  1610-1465;  $\delta(\text{O-H}_{\text{fenol}})$  1380;  $\nu(\text{C-O}_{\text{fenol}})$  1213;  $\delta(\text{C-H}_{\text{Ar}})$  765.

**RMN <sup>1</sup>H (200 MHz; D<sub>2</sub>O), ( $\delta$ , ppm):** 2,07 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>); 3,71 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>); 4,41 (d, 4 H, CH<sub>2</sub>); 4,82 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,74 (s, 1 H, CH<sub>Ar</sub>); 6,87 (s, 1 H, CH<sub>Ar</sub>); 7,80-7,93 (m, 4 H, CH<sub>Ar</sub>); 8,42 (t, 2 H, CH<sub>Ar</sub>); 8,64 (d, 2 H, CH<sub>Ar</sub>).

### 3.1.1.3 Síntese dos precursores N, N'-(2-metilpiridil) – etileno-1,2-diamina (precursor **3**) e N, N'-(2-hidroxibenzil) – etileno-1,2-diamina (precursor **4**)



#### Esquema 3- Síntese dos precursores **3** e **4**.

O precursor **3** foi obtido conforme método descrito na literatura,<sup>115</sup> porém foram feitas pequenas modificações na etapa de redução. Em balão de 250 mL, contendo 40 mL de MeOH e 2,67 mL de etilendiamina (40 mmol; 60,10 g mol<sup>-1</sup>; 0,897 g/cm<sup>3</sup>), foram adicionados 7,65 mL de piridilcarboxialdeído (80 mmol; 107,11 g mol<sup>-1</sup>; 1,12 g/cm<sup>3</sup>), dissolvidos em 20 mL de MeOH. O procedimento foi realizado mantendo-se o sistema sob banho de gelo, durante a adição, e agitação magnética, sendo esta mantida por mais 4 horas. Transcorrido esse tempo, o solvente foi evaporado, a pressão reduzida, e o óleo resultante (imina) foi dissolvido em 50 mL de EtOH. A solução etanólica, contendo a imina, foi transferida para recipiente apropriado à hidrogenação e foram adicionados lentamente 5,35 g de catalisador paládio/carbono 5%. A reação permaneceu durante 15 horas em atmosfera de hidrogênio, pressão de 45 psi e agitação. Após esse período, a reação foi interrompida e deixada em repouso por 1 hora, antes da abertura do sistema. Posteriormente, o catalisador foi separado da solução por filtração e o solvente evaporado. O produto foi obtido na forma de um óleo amarelo claro.

Rendimento: 88% (8,52 g; 35,18 mmol; 242,32 g mol<sup>-1</sup>) em relação à etilendiamina.

**IV (KBr) em cm<sup>-1</sup>:** ν(N-H) 3300; ν(C-H<sub>ar</sub> e C-H<sub>alif</sub>) 3062-2830; ν(C=N e C=C) 1589 –1430; δ(C-H<sub>ar</sub>) 764.

**RMN <sup>1</sup>H- δ (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>) (δ, ppm):** 2.28 (s, 2 H<sub>N-H</sub>) 2.83 (s, 4 H, CH<sub>2</sub>) 3.92 (s, 4 H; CH<sub>2</sub>) 7.08 - 7.24 (m, 2 H, CH<sub>Ar</sub>) 7.28 - 7.37 (m, 2 H, CH<sub>Ar</sub>) 7.64 (t, 2 H, CH<sub>Ar</sub>) 8.55 (d, 2 H, CH<sub>py</sub>).

Para a obtenção do precursor **4** procedeu-se de forma semelhante à do precursor **3** e conforme procedimento descrito na literatura<sup>116</sup>. Em balão de 250 mL, contendo 80 mL de MeOH e 2,67 mL de etilenodiamina (40 mmol; 0,897 g/cm<sup>3</sup>; 60,10 g.mol<sup>-1</sup>) foram adicionados, gota a gota, 8,30 mL de aldeído salicílico (80 mmol; 1,14 g/cm<sup>3</sup>; 122,12 g.mol<sup>-1</sup>). Imediatamente, após a adição do aldeído, observou-se a formação de grande quantidade de um sólido amarelo (imina). A formação do precipitado tornou necessária a adição de mais 50 mL de MeOH, a fim de manter a agitação do sistema. O procedimento foi realizado mantendo-se o sistema sob banho de gelo, durante a adição, e agitação magnética, sendo esta mantida por mais 1 hora. Transcorrido esse tempo, realizou-se a redução da imina através da adição de 1,80 g de NaBH<sub>4</sub> (50 mmol; 37,83 g mol<sup>-1</sup>), em pequenas porções. Durante a redução o sistema foi mantido sob banho de gelo. A reação permaneceu sob agitação por mais 2 horas, obtendo-se um precipitado branco. O precipitado foi separado através de filtração, lavado com água gelada, seguido de metanol gelado e seco em dessecador.

Rendimento: 95 % (10,08 g; 37,04 mmol; 272,34 g mol<sup>-1</sup>) em relação à etilenodiamina.

PF: 124°C.

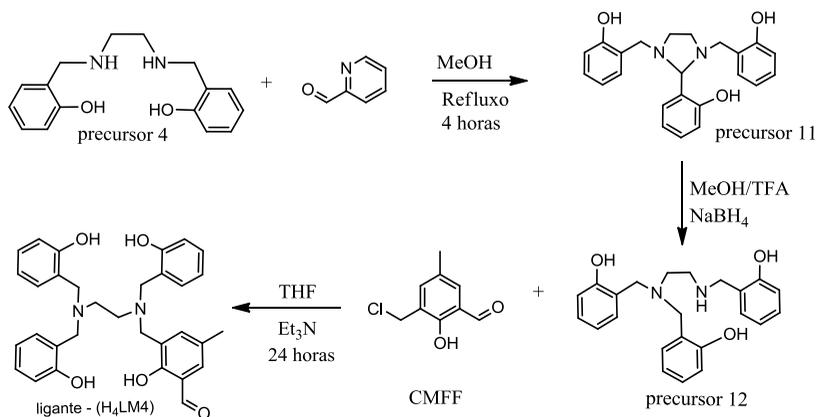
**IV (KBr) em cm<sup>-1</sup>:** ν(O-H) 3286; ν(N-H) 3445; ν(C-H<sub>ar</sub> e C-H<sub>alif</sub>) 3035-2854; ν(C=C) 1602 - 1400; δ(O-H) 1380; ν(C-O<sub>fenol</sub>) 1252; δ(C-H<sub>ar</sub>) 757.

**RMN <sup>1</sup>H- (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>) (δ, ppm):** 2,18 (s, 2 H<sub>N-H</sub>) 2.85 (s, 4 H, CH<sub>2</sub>) 4,01 (s, 4 H, CH<sub>2</sub>) 6,77 – 6,81 (m, 2 H, CH<sub>Ar</sub>) 6,84 (d, 2 H, CH<sub>Ar</sub>) 6,99 (d, 2 H, CH<sub>Ar</sub>) 7,18 (t, 2 H, CH<sub>Ar</sub>).

### 3.2.2 Síntese dos ligantes mononucleantes

A síntese dos novos ligantes mononucleantes foi realizada a partir do procedimento descrito na literatura para ligantes similares,<sup>34</sup> com algumas modificações, tais como: solvente utilizado, tempo de reação e ordem de adição dos produtos.

### 3.1.2.4 Síntese do novo ligante N,N,N'-tris(2-hidroxibenzil)-N'-(2-hidroxi-5-metilbenzil)-1,2-etanodiamina - H<sub>4</sub>LM4



**Esquema 4** - Síntese do ligante H<sub>4</sub>LM4.

O procedimento de síntese do novo ligante H<sub>4</sub>LM4 é semelhante ao descrito anteriormente para a síntese dos outros três ligantes mononucleantes.

A primeira etapa envolve a reação ciclização entre o precursor **4** e o aldeído salicílico, de forma a obter o precursor **11** (2,2'-{2-(2-hidroxifenol)imidazolidina}-1,3-bis(metileno)difenol). Para obtenção do precursor **11** procedeu-se conforme a rota sintética descrita por Schmitt e colaboradores.<sup>119</sup> Foram adicionados 1,33 mL de aldeído salicílico (12,92 mmol; 1,14 g cm<sup>-3</sup>; 122,12 g mol<sup>-1</sup>) a uma solução metanólica do precursor **4** (3,49 g; 13,9 mmol; 272,15 g.mol<sup>-1</sup>; 100 mL de MeOH). A reação permaneceu sob refluxo durante 1 hora, quando se verificou a formação de um sólido amarelo escuro. O sólido foi filtrado, transferido para béquer de 500 mL contendo *n*-hexano e aquecido até ebulição. O aquecimento foi mantido até a mudança de coloração do precipitado de amarelo escuro para amarelo claro, “quase branco”. Após essa etapa o precipitado foi resfriado, filtrado e lavado com *n*-hexano gelado e transferido para dessecador.

Rendimento: 93% (4,48 g; 11,92 mmol; 363,19 g mol<sup>-1</sup>) em relação ao precursor **4**.

PF: 158,3 – 159.1°C

**IV (KBr) em cm<sup>-1</sup>**:  $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$  e  $\text{C-H}_{\text{alif}})$  3048-2831(2619);  $\nu(\text{C}=\text{C})$  1589 – 1483;  $\delta(\text{O-H})$  1378;  $\nu(\text{C-O})$  1252;  $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$  760 (espectro no Anexo 10).

**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) ( $\delta$ , ppm):** 2,57 – 2,61 (m, 2H,  $\text{CH}_{2\text{en}}$ ) 3,08 – 3,12 (m, 2H,  $\text{CH}_{2\text{en}}$ ) 3,49 – 3,53 (d, 2 H,  $\text{CH}_2$ ) 3,69 – 3,73 (d, 2 H,  $\text{CH}_2$ ) 4,20 (s, 1 H,  $\text{CH}_{\text{alif}}$ ) 6,67 – 6,77 (m, 4 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 6,78 – 6,86 (m, 2 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 7,01 – 7,13 (m, 4 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 7,18 – 7,24 (m, 1 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 7,32 (dd, 1 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) ( $\delta$ , ppm):** 49,3; 51,5; 85,5; 115,12; 116,1; 118,8; 121,7; 122,9; 128,1; 129,2; 129,8; 130,8; 155,8; 157,7.  
(espectro de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  no Anexo A).

A segunda etapa sintética refere-se à obtenção do precursor **12** (N,N,N'-tris(2-hidroxibenzil)-etano-1,2-diamina) e segue o método descrito por Schmitt<sup>121</sup>. Em balão de 250 mL foram adicionados 3,00 g (7,97 mmol; 376,18 g.mol<sup>-1</sup>) do precursor **11** e 50 mL de MeOH. A mistura foi então resfriada drasticamente até -100 °C, usando nitrogênio líquido. Obtida essa temperatura, procedeu-se à adição lenta de 0,6 mL de TFA (7,96 mmol; 1,49 g cm<sup>-3</sup>; 114,02 g mol<sup>-1</sup>), seguida de 0,493 g NaBH<sub>4</sub> (13,03 mmol; 37,83 g. mol<sup>-1</sup>) em pequenas alíquotas. A reação permaneceu sob resfriamento durante 4h. Após esse período, a temperatura foi gradativamente elevada até 25 °C e a reação mantida sob agitação, com proteção de cloreto de cálcio, durante 18 horas. Posteriormente o sólido foi filtrado, lavado com n-hexano gelado e seco em dessecador.

Obs: durante todo o período de síntese o composto permaneceu na forma sólida.

Rendimento: 80% (3,01 g; 7,97 mmol; 378,19 g mol<sup>-1</sup>) em relação ao precursor **11**.

PF = 168,0- 169,5 °C

**IV (KBr) em cm<sup>-1</sup>:**  $\nu(\text{O-H})$  3334;  $\nu(\text{N-H})$  3276;  $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$  e  $\text{C-H}_{\text{alif}}$ ) 3048-2732;  $\nu(\text{C=C})$  1614 – 1416;  $\delta(\text{O-H})$  1363;  $\nu(\text{C-O})$  1257;  $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$  750 (espectro no Anexo A).

**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) ( $\delta$ , ppm):** 2,55 – 2,58 (m, 2 H,  $\text{CH}_{\text{en}}$ ) 2,71 – 2,74 (m, 2 H,  $\text{CH}_{\text{en}}$ ) 3,63 – 3,69 (m, 6 H,  $\text{CH}_2$ ) 6,69 – 6,76 (m, 6 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 7,01 – 7,14 (m, 6 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) ( $\delta$ , ppm):** 45,2; 49,9; 51,9; 54,3; 115,4; 115,6; 118,7; 118,9; 123,5; 128,0; 128,6; 130,3; 156,7; 157,1 (espectro de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  no Anexo A).

A terceira etapa refere-se à obtenção do ligante H<sub>4</sub>LM4 e segue conforme esquema 7. Foram utilizados 2,50 g do precursor **12** (6,6 mmol; 378,19 g mol<sup>-1</sup>) e 0,96 mL de Et<sub>3</sub>N (6,6 mmol; 726 g cm<sup>-3</sup>; 101,19 g mol<sup>-1</sup>) em THF. A essa solução foram adicionados 1,19 g do CMFF (6,6 mmol; 184,62 g mol<sup>-1</sup>) previamente dissolvido em 20 mL de

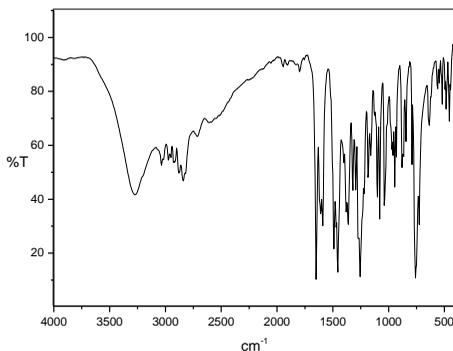
THF. Após o término da reação, o solvente foi removido e o produto obtido como uma mistura óleo/sólido. A mistura foi dissolvida em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , lavada 3 vezes com solução aquosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , filtrada em  $\text{NaSO}_4$  anidro e o solvente evaporado. O ligante  $\text{H}_4\text{LM4}$  foi obtido como um sólido amarelo palha. Para purificação do produto, o sólido foi suspenso numa mistura de n-hexano/ $\text{CHCl}_3$  (2:1) e aquecido até a ebulição. Esse procedimento foi repetido várias vezes ( $\approx 4$  vezes), até que o sólido se tornasse branco. A mistura sólido n-hexano foi resfriada, filtrada, lavada com n-hexano gelado e transferida para dessecador. Foram obtidos 3,12 g do novo ligante  $\text{H}_4\text{LM4}$  (5,93 mmol;  $526,25 \text{ g mol}^{-1}$ ) na forma de um sólido amarelado.

Rendimento: 90% em relação ao precursor **12**.

PF: 171.8 – 172.4 °C

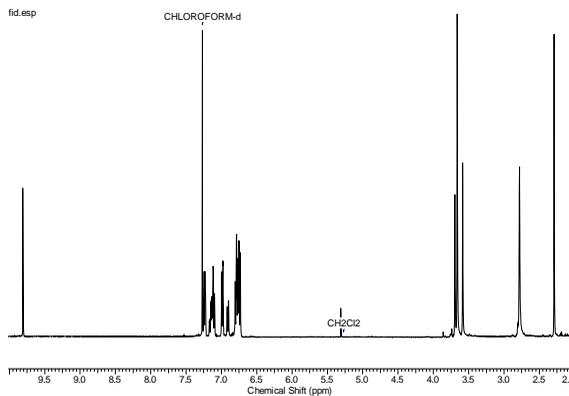
Estrutura cristalina no Anexo B. Cristais do ligante  $\text{H}_4\text{LM4}$  foram obtidos a partir da evaporação lenta de uma solução do ligante em acetato de etila.

**IV (KBr) em  $\text{cm}^{-1}$ :**  $\nu(\text{O-H})$  3273;  $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}}$  e  $\text{C-H}_{\text{alif}})$  3042-2718;  $\nu(\text{C=O})$  1655;  $\nu(\text{C=C})$  1615 – 1457;  $\delta(\text{O-H})$  1365;  $\nu(\text{C-O})$  1252;  $\delta(\text{C-H}_{\text{ar}})$  757.



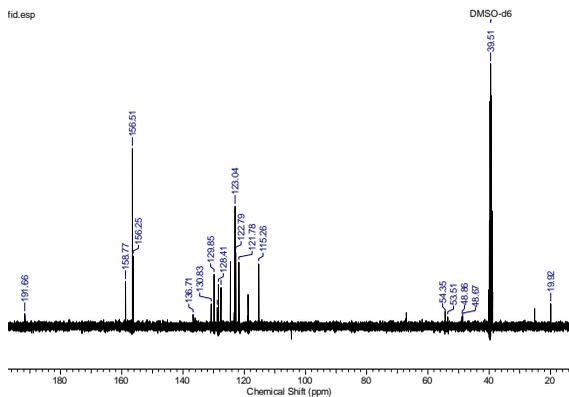
**Figura 13** - Espectro no infravermelho do ligante  $\text{H}_4\text{LM4}$ .

**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$ , ppm):** 2,29 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ) 2,78 (s, 4 H,  $\text{CH}_{2\text{en}}$ ) 3,58 – 3,69 (m, 8 H,  $\text{CH}_2$ ) 6,73 – 6,80 (m, 6 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 6,92 (d, 1 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 7,00 (d, 2 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 7,07 – 7,17 (m, 3 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 7,23 (d, 2 H,  $\text{CH}_{\text{ar}}$ ) 9,81 (s, 1 H,  $\text{COH}_{\text{ald}}$ ), o espectro integrado encontra-se no Anexo A.



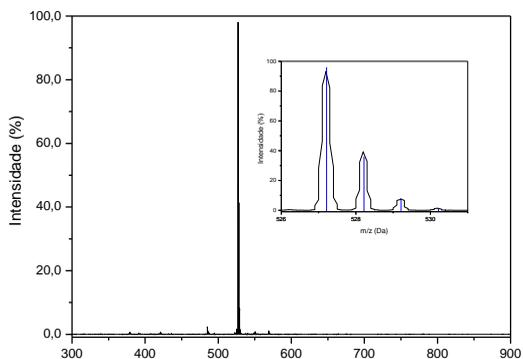
**Figura 14** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do ligante  $\text{H}_4\text{LM4}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta$ , ppm):** 19,9; 48,6; 48,8; 53,5; 54,3; 115,2; 121,7; 122,7; 123,2; 124,5; 127,6; 128,4; 128,7; 129,8; 130,8; 136,7; 156,2; 156,5; 158,7; 191,6.



**Figura 15** - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do ligante  $\text{H}_4\text{LM4}$  - (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ).

Espectrometria de massa (ESI-MS):  $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5^-$ ; espécie  $[\text{H}_4\text{LM4}]^-$  ( $m/z = 527,19$  Da).



**Figura 16** - Espectro de massa para o ligante H<sub>4</sub>LM4 em CH<sub>3</sub>CN, perfil isotópico experimental sobreposto ao perfil simulado (dentro), ESI-MS (-).

**OBS:** Em todas as etapas de síntese é importante que se mantenha o resfriamento do sistema e proteção com CaCl<sub>2</sub> ou NaSO<sub>4</sub>. Tais cuidados são importantes, principalmente, nas etapas de abertura dos anéis dos precursores cíclicos (aminais). Caso contrário, o equilíbrio pode ser deslocado em direção à reação com água e assim pode ocorrer a perda do anel.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – OTTO, I; GUST, R. Non Platinum Metal Complexes as Anti-cancer Drugs **Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences**, v. 340, p. 117 - 126, 2007.
- 2 - JONES, C.; THORBACK, R. J. Metallopharmaceuticals -General Requirements **Medicinal Applications of Coordination Chemistry**, 2007. p. 6 -11.
- 3- FARIAS, R. F. **Química de Coordenação - Fundamentos e Atualidades**. 2. Ed. Campinas: Átomo, 2009.
- 4 - BARAN, E. J. Trace Elements Supplementation: Recent Advances and Perspectives. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 1-9, 2004.
- 5 – SANTINI, C. et al. Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents. **Chemical Reviews**, v. 114, p. 815–862, 2014.
- 6 - BEINERT, H. Bioinorganic chemistry: A new field or discipline? Words, meanings, and reality **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 41, p. 37967-37972, 2002.
- 7- KARLIN, K. D.; BARTON, J. K. Bio-inorganic chemistry: New advances, new directions and new investigators. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 5, p. 165-167, 2001.
- 8 - SHRIVER, D. F. A. Tradução R. B. Faria P. W. **Química Inorgânica**.4. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.
- 9 - MURAD, A. M.; KaATZ, A. **Oncologia: Bases Clínicas do Tratamento**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 41
- 10 – ORVIG, C. ABRAMS, M. J. Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 9, p. 2201 - 2202, 1999.
- 11 – RONCONI, L.; SADLER, L. P. Using coordination chemistry to design new medicines. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 251, p. 1633 - 1648, 2007.

12 - CRISPONI, G. et al. Copper-related diseases: From chemistry to molecular pathology. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 254, p. 876–889, 2010.

13 - ROSENBERG, B.; AL, E. Platinum Compounds: a new Class of Potent Antitumour Agents. **Nature**, v. 222, n. 5191, p. 385, 1969.

14 - ROSENBERG, B. Biological effects of platinum compounds. New agents for the control of tumors. **Platinum Metals Review**, v. 15, n. 2, p. 42, 1971.

15 - JAKUPEC, M. A. et al. Antitumour metal compounds: more than theme and variations. **Dalton Transactions**, p. 183-194, 2008.

16 - GRAF, N.; LIPPARD, S. J. Redox activation of metal-based prodrugs as a strategy for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 11, p. 993-1004, 2012.

17 - DYSON, P. J.; SAVA, G. Metal-based antitumour drugs in the post genomic era. **Dalton Transactions**, n. 16, p. 1929-1933, 2006.

18 - REEDIJK, J. New clues for platinum antitumor chemistry: Kinetically controlled metal binding to DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 7, p. 3611-3616, 2003.

19 - STEINER, R. A. et al. Synthesis, characterization, crystal structures and biological activity of set of Cu(II) benzothiazole complexes: Artificial nucleases with cytotoxic activities **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 137, p. 1 - 11, 2014.

20 - THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. Metal complexes in medicinal chemistry: new vistas and challenges in drug design. **Dalton Transactions**, n. 6, p. 761-764, 2006.

21 - COHEN, S. M. New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 11, p. 115–120, 2007.

- 22 - HAMBLEY, T. W. Developing new metal-based therapeutics: challenges and opportunities. **Dalton Transactions**, n. 43, p. 4929-4937, 2007.
- 23 - GAYNOR, D.; GRIFFITH, D. M. The prevalence of metal-based drugs as therapeutic or diagnostic agents: beyond platinum. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 43, p. 13239-13257, 2012.
- 24 - World Health organization, Cancer. Disponível em: <http://www.who.int/topics/cancer/en/>, acessado em julho de 2014.
- 25 - JEMAL, A. et al. Global Cancer Statistics. **Cancer Journal for Clinicians**, p. 69 - 90, 2011.
- 26 - CENTER, M.; SIEGEL, R.; JEMAL, A. Global Cancer Facts & Figures. **Atlanta: American Cancer Society**. p. 1 – 57, 2011.
- 27 - INCA. **Tipos de Câncer/ Leucemia/Melanoma**. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/definicao>, acessado em julho de 2014.
- 28 - FREZZA, M. et al. Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, p. 1813-1825, 2010.
- 29 - VERANI, C. N. Metal complexes as inhibitors of the 26S proteasome in tumor cells. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 106, n. 1, p. 59-67, 2012.
- 30 - RIJT, S. H. V.; SADLER, P. J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs **Drug Discovery Today**, v. 14, p. 1089-1097, 2009.
- 31 - LESSA, J. A.; PARRILHA, G. L.; BERALDO, H. Gallium complexes as new promising metallodrug candidates. **Inorganic Chimica Acta**, v. 393, p. 53–63, 2012.
- 32 - LAINÉ, A.; PASSIRANI, C. Novel metal-based anticancer drugs: a new challenge in drug delivery. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 12, p. 420-426, 2012.

33 – ZEGLIS, B. M. et al. Underscoring the Influence of Inorganic Chemistry on Nuclear Imaging with Radiometals **Inorganic Chemistry**, v. 53, p. 1880–1899, 2014.

34 - TERRA, G. G. **Novos complexos mononucleares de Ga(III) e In(III) com ligantes não-simétricos: potenciais agentes quimioterápicos e radiofármacos**. 2012. (tese de doutorado). Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

35 - 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**, v. 228, n. 2, p. 237-262, 2002.

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

37 - ENYEDY, É. A. et al. Comparative solution equilibrium studies of anticancer gallium(III) complexes of 8-hydroxyquinoline and hydroxy(thio)pyrone ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 117, p. 189–197, 2012.

38 - HART, M. M.; ADAMSON, R. H. Antitumor Activity and Toxicity of Salts of Inorganic Group IIIa Metals: Aluminum, Gallium, Indium, and Thallium. **Medical Sciences: Hart and Adamson**, v. 68, n. 7, p. 1623-1626, 1971.

39 - EDWARDS, C. L.; HAYES, R. L. Tumor Scanning with  $^{67}\text{Ga}$  citrate. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 10, p. 103 - 105, 1969.

40 - JAKUPEC, M. A.; KEPPLER, B. K. Gallium in Cancer Treatment. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 4, n. 15, p. 1575-1583, 2004.

41 - CHITAMBAR., C. R. Medical Applications and Toxicities of Gallium Compounds. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, p. 2337-2361, 2010.

- 42 - REAGAN, P.; PANI, A.; ROSNER, M. H. Approach to Diagnosis and Treatment of Hypercalcemia in a Patient With Malignancy. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 63, n. 1, p. 141-147, 2014.
- 43 - VOLPE, A. et al. Advanced bladder cancer: New agents and new approaches. A review. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 31, p. 9–16, 2013.
- 44 - FREZZA, M. et al. The Therapeutic Potential of Gallium-Based Complexes in Anti-Tumor Drug Design **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 4, p. 311-317, 2007.
- 45 - CHUA, M. et al. Gallium Maltolate is a Promising Chemotherapeutic Agent for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma. **Anticancer Research**, v. 26, p. 1739-1744, 2006.
- 46 - BERNSTEIN, L. R. Mechanisms of Therapeutic Activity for Gallium. **Pharmacological Reviews**, v. 50, n. 4, p. 665 - 682, 1998.
- 47 - GALANSKI, M. et al. Recent Developments in the Field of Tumor-Inhibiting Metal Complexes. **Current Pharmaceutical Design**, v. 9, p. 2078-2089, 2003.
- 48 - MENDES, I. C. et al. Gallium(III) complexes of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones: cytotoxic activity against malignant glioblastoma. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 1870–1877, 2009.
- 49 - HANNON, M. J. Metal-based anticancer drugs: From a past anchored in platinum chemistry to a post-genomic future of diverse chemistry and biology. **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 12, p. 2243–2261, 2007.
- 50 - LESSA, J. A. et al. Gallium(III) complexes with 2-acetylpyridine-derived thiosemicarbazones: antimicrobial and cytotoxic effects and investigation on the interactions with tubulin. **Biometals**, v. 26, p. 151–165, 2013.
- 51 - VALIAHDIA, S. M. et al. The gallium complex KP46 exerts strong activity against primary explanted melanoma cells and induces

apoptosis in melanoma cell lines **Melanoma Research**, v. 19, p. 283–293, 2009.

52 - CHITAMBAR, C. R.; ANTHOLINE, W. E. Iron-Targeting Antitumor Activity of Gallium Compounds and Novel Insights Into Triapine - Metal Complexes **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 8, p. 956 -972, 2013.

53 - HUMMER, A. A. et al. X-ray Absorption Spectroscopy of an Investigational Anticancer Gallium(III) Drug: Interaction with Serum Proteins, Elemental Distribution Pattern, and Coordination of the Compound in Tissue **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 5601–5613, 2012.

54 - SHAKYA, R. et al. Synthesis, Structure, and Anticancer Activity of Gallium(III) Complexes with Asymmetric Tridentate Ligands: Growth Inhibition and Apoptosis Induction of Cisplatin-Resistant Neuroblastoma Cells **Inorganic Chemistry**, v. 45, p. 6263-6268, 2006.

55 - CHEN, D. et al. Metal Complexes, their Cellular Targets and Potential for Cancer Therapy. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, p. 777-791, 2009.

56 - TAJBAKHSI, K. M. S. et al. Antibacterial activity of indium curcumin and indium diacetylcurcumin. **African Journal of Biotechnology**, v. 7 n. 21, p. 3832-3835 2008.

57 - MOHAMMADI, K. et al. Synthesis and characterization of dual function vanadyl, gallium and indium curcumin complexes for medicinal applications. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, p. 2217-2225, 2005.

58 - SONAWANE, D. X. Structural and physical correlations in the biological properties of transition metal heterocyclic thiosemicarbazone and S-alkyldithiocarbamate complexes. **Structure and Bonding**, v. 76, p. 1-50, 1991.

59 - WOODS, H. J. Antibacterial Effect of Scandium and Indium complexes of Entochelin on *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 18, n. 1, p. 63-68, 1980.

- 60 - CASSETTARI, V. C. et al. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an intermediate-risk neonatal unit linked to onychomycosis in a healthcare worker. **Jornal de Pediatria**, v. 82, p. 313 - 316, 2006.
- 61 - DAVID, S. et al. In vitro effect of free and complexed indium(III) against *Mycobacterium tuberculosis* **Microbiology Letters**, v. 251, p. 119–124, 2005.
- 62 - TARDITO, S.; MARCHIO, L. Copper Compounds in Anticancer Strategies. **Current Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 1325-1348, 2009.
- 63 - ZHOU, Y.-H. et al. Synthesis, structure, and activity of supramolecular mimics for the active site and Arg141 residue of copper, zinc-superoxide dismutase. **Inorganic Chemistry**, v. 46, n. 3, p. 734-739, 2007.
- 64 - MARZANO, C. et al. Copper Complexes as Anticancer Agents. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 9, n. 2, p. 185-211, 2009.
- 65 - BECCO, L. et al. New achievements on biological aspects of copper complexes Casiopeinas (R): Interaction with DNA and proteins and anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 109, p. 49-56, 2012.
- 66 - TREJO-SOLIS, C. et al. CasIIgly Induces Apoptosis in Glioma C6 Cells In Vitro and In Vivo through Caspase-Dependent and Caspase-Independent Mechanisms. **Neoplasia**, v.6 p. 563-574, 2005.
- 67 - CHAIGNEAU, F.C. et al. Casiopeina III-ia induces apoptosis in HCT-15 cells in vitro through caspase-dependent mechanisms and has antitumor effect in vivo. **BioMetals**, v. 21, p. 17-28, 2008.
- 68 - a) DE VIZCAYA-RUIZ, A. et al. Induction of apoptosis by a novel copper-based anticancer compound, casiopeina II, in L1210 murine leukaemia and CH1 human ovarian carcinoma cells. **Toxicology in Vitro**, v. 14, n. 1, p. 1-5, 2000.  
b) BRAVO-GÓMEZ, M. et al. Antiproliferative activity and QSAR study of copper(II) mixed chelate [Cu(N–N)(acetylacetonato)]NO<sub>3</sub> and

[Cu(N–N)(glycinato)]NO<sub>3</sub> complexes,(Casiopéínas). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 103, p. 299-309, 2009.

69 - OLIVEIRA, R. B. Agentes Antineoplásicos biorredutíveis: Uma nova alternativa para o tratamento de tumores sólidos. **Química Nova**, v. 25, p. 976-984, 2002.

70 - BUSTAMANTE, L. S. et al. Lawsone Dimerization in Cobalt(III) Complexes toward the Design of New Prototypes of Bioreductive Prodrugs **Inorganic Chemistry**, v. 52, p. 1167–1169, 2013.

71 - JAIN, M.; KWON, C. H. 1,2-Benzisoxazole Phosphorodiamidates as Novel Anticancer Prodrugs Requiring Bioreductive Activation **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 5428-5436, 2003.

72 - BLOWER, P. J. et al. Towards new transition metal-based hypoxic selective agents for therapy and imaging. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 85, n. 1, p. 15-22, 2001.

73 - LAURIE L. PARKER et al. A Novel Design Strategy for Stable Metal Complexes of Nitrogen Mustards as Bioreductive Prodrugs. **Journal of Medicine Chemistry**, v. 47, p. 5683-5689, 2004.

74 - RINK, M. S.; HOPKINS., P. B. Direct evidence for DNA intrastrand cross-linking by the nitrogen-mustard mechlorethamine in synthetic oligonucleotides. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 5, p. 2845-2850, 1995.

75 - BERALDO, H. Semicarbazonas e Tiosemicarbazonas: O amplo perfil farmacológico e usos clínicos. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 461-471, 2004.

76 - BLOWER, P. Towards molecular imaging and treatment of disease with radionuclides: the role of inorganic chemistry. **Dalton Transactions**, n. 14, p. 1705-1711, 2006.

77 - HEEG, M. J.; JURISSON, S. S. The role of inorganic chemistry in the development of radiometal agents for cancer therapy. **Accounts of Chemical Research**, v. 32, n. 12, p. 1053-1060,1999.

78 - CHOW, R. C. A tomografia por emissão de pósitrons: uma nova modalidade na medicina nuclear brasileira. **Pan American journal of public health**, v. 20, n. 143, 2006.

79 - DELGADO, R. et al. Metal complexes of cyclen and cyclam derivatives useful for medical applications: a discussion based on thermodynamic stability constants and structural data. **Dalton Transactions**, n. 26, p. 2734-2745, 2007.

80 – DAS, T.; PILLAI, M. R. A. Options to meet the future global demand of radionuclides for radionuclide therapy. **Nuclear Medicine and Biology**, v. 40, n. 1, p. 23-32, 2013.

81 - LIU, S.; CHAKRABORTY, S. Tc-99m-centered one-pot synthesis for preparation of Tc-99m radiotracers. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 23, p. 6077-6086, 2011.

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

83 – LIU, S. The role of coordination chemistry in the development of target-specific radiopharmaceuticals. **Chemical Society Reviews**, v. 33, n. 7, p. 445-461, 2004.

84 -VOLKERT, W. A.; HOFFMAN, T. J. Therapeutic radiopharmaceuticals. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 9, p. 2269-2292, 1999.

85 - OLIVEIRA, R. et al. Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, p. 151-165, 2006.

86 - ANDERSON, C. J.; WELCH, M. J. Radiometal labeled agents (non-technetium) for diagnostic imaging. **Chemical Reviews**, v. 99, n. 9, p. 2219-2234, 1999.

87 – REICHERT, D. E.; L J. SEWIS; C. J.ANDERSON. Metal complexes as diagnostic tools. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 184, p. 3-66, 1999.

88 - ZEGLIS, B. M.; LEWIS, J. S. A practical guide to the construction of radiometallated bioconjugates for positron emission tomography. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 23, p. 6168-6195, 2011.

89 - Instituto de Pesquisas Nucleares, Centro de Aceleradores de Cíclotron: serviços e consultoria. Disponível em: <http://www.ipen.br/sitio/index.php?idc=316>, acessado em 05 de agosto de 2014.

90 - BARTHOLOMAE, M. D. et al. Technetium and Gallium Derived Radiopharmaceuticals: Comparing and Contrasting the Chemistry of Two Important Radiometals for the Molecular Imaging Era. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 5, p. 2903-2920, 2010.

91 - JURISSON, S. et al. Coordination-compounds in Nuclear-medicine. **Chemical Reviews**, v. 93, n. 3, p. 1137-1156, 1993.

92 - LEWINGTON, V. J. Bone-Seeking Radionuclides for Therapy. **The Journal of Nuclear Medicine**, v. 46, n. 1, 2005.

93 - CRIM, J. A.; PETERING, H. G. The Antitumor Activity of Cu(II)KTS, the Copper(II) Chelate of 3-Ethoxy-2-oxobutylaldehyde Bis(thiosemicarbazone). **Cancer Research**, v. 27, p. 1278 - 1285, 1967.

94 - BHATTACHARYYA, S.; DIXIT, M. Metallic radionuclides in the development of diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 23, p. 6112-6128, 2011.

95 - THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. Boon and bane of metal ions in medicine. **Science**, v. 300, n. 5621, p. 936-939, 2003.

96 - O'BRIEN, P.; SALACINSKI, H.; MOTEVALLI, M. The X-ray single crystal structure of a gallium citrate complex  $(\text{NH}_4)_3[\text{Ga}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . **Journal of the American Chemical Society**, v. 119, n. 51, p. 12695-12696, 1997.

97 - BLOK, D. et al. Peptide radiopharmaceuticals in nuclear medicine. **European Journal of Nuclear Medicine**, v. 26, n. 11, p. 1511-1519, 1999.

98 - STORR, T. et al. A glucosamine–dipicolylamine conjugate of  $^{99m}\text{Tc}(\text{I})$  and  $^{186}\text{Re}(\text{I})$  for use in imaging and therapy. **Dalton Transactions**, 2005.

99 - HOLLAND, J. P. et al. Functionalized bis(thiosemicarbazonato) complexes of zinc and copper: Synthetic platforms toward site-specific radiopharmaceuticals. **Inorganic Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 465-485, 2007.

100 - LIU, S.; EDWARDS, D. S.  $^{99m}\text{Tc}$ -Labeled Small Peptides as Diagnostic Radiopharmaceuticals. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2235–2268, 1999.

101 - SUN, Y. et al. Synthesis and Stabilities of the Ga(III) and In(III) Chelates of A New Diaminodithiol Bifunctional Ligand. **Tetrahedron**, v. 54, p. 4203 - 4210, 1998.

102 - DIJKGRAAF, I. et al. Effects of linker variation on the in vitro and in vivo characteristics of an  $^{111}\text{In}$ -labeled RGD peptide **Nuclear Medicine and Biology**, v. 34, p. 29 – 35, 2007.

103 - FAINTUCH, B. E. A. Lanreotide and Octreotide Complexed with Technetium-99m: labeling, stability and biodistribution studies. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, p. 101, 2004.

104 - CORREIA, J. D. G. et al. Radiometallated peptides for molecular imaging and targeted therapy. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 23, p. 6144-6167, 2011.

105 - EBERLEIN, U.; LASSMANN, M. Dosimetry of [ $^{68}\text{Ga}$ ]-labeled compounds. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 76, p. 70, 2013.

106 – (a) - RAMOS, C.; SOARES, J. PET e PET/CT em oncologia: Sociedade Brasileira de Biologia Nuclear e Imagem Nuclear. São Paulo: Atheneu, 2011; (b) - NEVES, A.; CECCATO, A. S.; ERTHAL, S. M.D.; VENCATO, I.; NUBER, B.; WEISS, J. A new N,O - donor hexadentate ligand and its first vanadium (III) complex. **Inorganic Chemica Acta**, v.187, p. 119-121,1991; (c) - NEVES, A.; ERTHAL, S. M. D.; VENCATO, I.; CECCATO, A. S.; MASCARENHAS, Y. P.; NASCIMENTO, O. R.; HORNER, M.; BATISTA, A. A. Synthesis, crystal structure, electrochemical and spectroelectrochemical properties

of the new manganese (III) complex [Mn(III)(BBPEN)]PF<sub>6</sub>. [H<sub>2</sub>BBPEN = N,N'- bis(2-hydroxybenzyl)-N, N'- bis(2-methylpyridyl) ethylenediamine]. **Inorganic Chemistry**, v.31, p.4749-4755, 1992.

107 - BRADLEY, B.; WILLIAMS, G.; LAWTON, M. Drying of Organic Solvents: Quantitative Evaluation of the Efficiency of Several Desiccants. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 75, p. 8351 - 8354, 2010.

108 – (a) - ALTOMARE, A., et al. SIR97: a new tool for crystal structure determination and refinement. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, p. 115-119, 1999; (b) - SHELDRICK, G. M. **SHELXL-97: program for the refinement of crystal structures**. University of Göttingen, Germany, 1997; (c) - SPEK, A. L. Structure validation in chemical crystallography. **Acta Crystallographica**, v. D65, p. 148-155, 2009.

109 - GAGNÉ, R. A.; KOVAL, C. A.; LISENSKY, G. C. Ferrocene as an internal standard for electrochemical measurements. **Journal of the American Chemical Society**, n. 19, p. 2854-2855, 2854-2855.

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

111 - CALLACONDO-RIVA, D. et al. Actividad citotóxica del extracto etanólico de gnaphalium spicatum “keto keto” en cultivos de líneas celulares tumorales humanas. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica**, v. v.25 p. 1726-4634, 2008.

112 - YAMANAKA, S. et al. Tetracopper assembly complexes comprised of one dimetallic core and two monometallic auxiliaries: Intramolecular electron-transfer relevant to multicopper oxidases. **Inorganic Chemistry**, v. 38, n. 8, p. 1825-1830,1999.

113 - LANZMASTER, M. et al. Synthesis, Structure, Properties, and Phosphatase-Like Activity of the First Heterodinuclear Fe<sup>III</sup>Mn<sup>II</sup> Complex with the Unsymmetric Ligand H<sub>2</sub>BPBPMP as a Model for the PAP in Sweet Potato **Inorganic Chemistry**, v. 41, p. 4624 - 4626, 2002.

114 - THOER, A. et al. The reimer-tiemann reaction in slightly hydrated solid-liquid medium - A new method for the synthesis of formyl and diformyl phenols. **Synthetic Communications**, v. 18, n. 16-17, p. 2095-2101, 1988.

115 - DOS ANJOS, A. et al. Synthesis, characterization and structure of a new zinc(II) complex containing the hexadentate N,N',N'',N'''-bis[(2-hydroxy-3,5-di-tert-butylbenzyl) (2-pyridylmethyl)]-ethylenediamine ligand: Generation of phenoxy radical species. **Inorganica Chimica Acta**, v. 358, p. 3106-3114, 2005.

116 - NEVES, A. et al. Synthesis, crystal structure, electrochemical, and spectroelectrochemical properties of the new manganese(III) complex [MnIII(BBPEN)][PF<sub>6</sub>][H<sub>2</sub>BBPEN=N,N'-bis(2-hydroxybenzyl)-N,N'-bis(2-methylpyridyl)ethylenediamine]. **Inorganic Chemistry**, v. 31, n. 23, p. 4749-4755, 1992.

117 - HUREAU, C. et al. Syntheses, X-ray Structures, Solid State High-Field Electron Paramagnetic Resonance, and Density-Functional Theory Investigations on Chloro and Aqua Mn<sup>II</sup> Mononuclear Complexes with Amino-Pyridine Pentadentate Ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 47, n. 20, p. 9238-9247, 2008.

118 - HUREAU, C. et al. Chemical access to the mononuclear Mn(III) [(mL)Mn(OMe)]<sup>+</sup> complex (mLH = N,N'-bis-(2-pyridylmethyl)-N-(2-hydroxybenzyl)-N'-methyl-ethane-1,2-diamine) and electrochemical oxidation to the Mn(IV) [(mL)Mn(OMe)]<sup>2+</sup> species. **Inorganica Chimica Acta**, v. 359, n. 1, p. 339-345, 2006.

119 - SCHMITT, H. et al. Synthesis, redox properties, and EPR spectroscopy of manganese(III) complexes of the ligand N,N-bis(2-hydroxybenzyl)-N'-2-hydroxybenzylidene-1,2-diaminoethane: Formation of mononuclear, dinuclear, and even higher nuclearity complexes. **Chemistry-a European Journal**, v. 8, n. 16, p. 3757-3768, 2002.

120 - NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 6. Ed. New York: Wiley, 1978.

121 - SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. Tradução Alencastro, R. B. **Identificação Espectrofotométrica de Compostos Orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

122 - MORAES, M. C. B. Espectrometria de Massas com Ionização por “Electrospray” Aplicada ao Estudo de Espécies Inorgânicas e Organometálicas. **Química Nova**, v. 26, p. 556-563, 2003.

123 - JIANG, W.; GORDEN, J. D.; GOLDSMITH, C. R. Catalysis of Alkene Epoxidation by a Series of Gallium(III) Complexes with Neutral N-Donor Ligands **Inorganic Chemistry**, v. 52, p. 5814–5823, 2013.

124 - WONG, E. et al. Gallium and Indium Complexes of Hexadentate Ligands Containing Pendant Pyridyl and Phenolate Groups. **Inorganic Chemistry**, v. 34, p. 3057-3064, 1995.

125 - SETYAWATI, I. A. et al. Homotrinary Lanthanide(III) Arrays: Assembly of and Conversion from Mononuclear and Dinuclear Units. **Inorganic Chemistry**, v. 39, p. 496-507, 2000.

126 - PATEL, R.N. et al. E.S.R., magnetic, electronic and superoxide dismutase studies of imidazolate-bridged Cu(II)–Cu(II) complexes with ethylenediamine as capping ligand. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, p. 1893–1897, 2005.

127 - FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a graphical User Interface (GUI). **Journal of Applied Crystallography**, v. 30, n. 5-1, p. 565, 1997.

128 - WADAS, T. J. et al. Coordinating Radiometals of Copper, Gallium, Indium, Yttrium, and Zirconium for PET and SPECT Imaging of Disease. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 5, p. 2858-2902, 2010.

129 - BAILEY, G. A. et al. H(2)azapa: a Versatile Acyclic Multifunctional Chelator for  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{64}\text{Cu}$ ,  $^{111}\text{In}$ , and  $^{177}\text{Lu}$ . **Inorganic Chemistry**, v. 51, n. 22, p. 12575-12589, 2012.

130 - LIU, S.; RETTIG, S. J.; ONIG, C. Polydentate Ligand Chemistry of Group 13 Metals: Effects of the Size and Donor Selectivity of Metal Ions on the Structures and Properties of Aluminum, Gallium, and Indium Complexes with Potentially heptadentate ( $\text{N}_4\text{O}_3$ ) Amine Phenol Ligands **Inorganic Chemistry**, v. 31, p. 5400-5407, 1992.

131- WONG, E. et al. Selectivity of Potentially Hexadentate Amine Phenols for  $\text{Ga}^{3+}$  and  $\text{In}^{3+}$  in Aqueous Solution. **Inorganic Chemistry**, 35, p. 715–724, 1996.

132 - BOLLINGER, J. E. et al. Lipophilic hexadentate gallium, indium and iron complexes of new phenolate-derivatized cyclohexanetriamines as potential *in vivo* metal-transfer reagent. **Dalton Transactions**, p. 1677 - 1678, 1995.

133 - Dos ANJOS, A. Novos complexos metalo-radicalares de Relevância Bioinorgânica: 1) Modelos biomiméticos para a enzima galactose oxidases, 2) Modelos complexos metalo-fenoxil. 2005. 241 (**tese de doutorado**). Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

134 - HSIAOA, Y. et al. Polydentate Ligand Chemistry of Group 13 Metals: Effects of the Size and Donor Selectivity of Metal Ions on the Structures and Properties of Aluminum, Gallium, and Indium Complexes with Potentially Heptadentate ( $\text{N}_4\text{O}_3$ ) Amine Phenol Ligands **Inorganic Chemistry**, v. 31, p. 5400-5407, 1992.

135 - SCHOLER, R.P.; MERBACH, E.A. Raman and Infrared Study of Hexamethyl phosphoramidate Complexes of Lanthanide Perchlorates. **Inorganica Chimica Acta**, v. 15, p. 15 - 20, 1975.

136 - THIRUMAVALAVAN, M.; AKILAN, P.; KANDASWAMY, M. Synthesis of Lateral Macrobicyclic Compartmental Ligands: Structural, Magnetic, Electrochemical, and Catalytic Studies of Mono- and Binuclear Copper(II) Complexes **Inorganic Chemistry**, v. 42, p. 3308-3317, 2003.

137 - BANGER, K. K. et al. Synthesis, and Structural Characterization of  $[\{\text{CH}_3(\text{C}_5\text{H}_4\text{N})\}\text{Ga}(\text{SCH}_2(\text{CO})\text{O})_2[\text{MepyH}]^+]$  A Novel Ga(III) Five Coordinate Complex . **Journal of Coordination Chemistry**, v. 56, n. 4, p. 307–312, 2002.

138 - SHIRO, M.; FERNANDO, Q. Structures of Two Five-Coordinated Metal Chelates of 2-Methyl-8-quinolinol. **Analytical Chemistry**, v. 43, p. 1222 - 1230, 1971.

139 - CHO, C. H. et al. Intermediate ( $S = 1$ ) spin state in five-coordinate cobalt(III): Magnetic properties of N-o-hydroxy-benzamido-meso-tetraphenylporphyrin cobalt(III),  $\text{Co}(\text{N-NCO}(\text{o-O})\text{C}_6\text{H}_4\text{-tp})$ . **Dalton Transactions**, v. 39, p. 2609–2614, 2010.

140 - ZHENG, Y. Y. et al. Gallium and Indium Complexes of Bis(amino thiol) ( $\text{N}_2\text{S}_2$ ) Ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 35, p. 6656–6666, 1996.

141 – ADDISON, A. W.; RAO, T. N. Synthesis, Structure, and Spectroscopic Properties of Copper<sup>II</sup> Compounds containing Nitrogen-Sulphur Donor Ligands; the Crystal and Molecular Structure of Aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper<sup>II</sup> Perchlorate **Dalton Transactions**, p. 1349, 1984.

142 - BOROS, E. et al. Acyclic Chelate with Ideal Properties for  $^{68}\text{Ga}$  PET Imaging Agent Elaboration. **Journal American Chemistry Society**, v. 132, p. 15726–15733, 2010.

143 - NEVES, A. et al. Copper(II) complexes with  $\{\text{N},\text{N}',\text{N},\text{N}'\text{-bis}[(2\text{-hydroxybenzyl})(2\text{-pyridylmethyl})\text{-}1,3\text{ propanediamine}]\text{H}_2\text{bbppn}$ : their suitability as models for the inactive form of galactose oxidase **Inorganica Chimica Acta**, v. 356, p. 41, 2003.

144 - BELLE, C. et al. Directed syntheses and structural studies of mononuclear copper(II) and heterodinuclear copper(II)–iron(III) complexes from the same unsymmetrical dinucleating ligand. **Dalton Transactions**, p. 3543–3546, 1997.

145 - PERALTA, R. A. et al. New unsymmetric dinuclear  $\text{CuIICuII}$  complexes and their relevance to copper(II) containing metalloenzymes and DNA cleavage **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, p. 992 - 1004, 2006.

146 - HATHAWAY, B. J.; BILLING, D. E. The electronic properties and stereochemistry of mono-nuclear complexes of the copper (II) ion. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 5, p. 143–207, 1970.

147 - TURNER, B.; SWAVEY, S. A mononuclear copper(II) complex with a tridentate ligand containing pyridyl, thioether and phenolate donors. **Inorganic Chemistry Communication**, v. 10, p. 209, 2007.

148 - RORABACHER, D. B. Electron transfer by copper centers. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 2, p. 651-697, 2004.

149 - ZANELLO, P. **Inorganic Electrochemistry - Theory, Practice and Application**. 1. Ed. Cambridge: RSC.: 2003.

150 - ALMEIDA, V. R. et al. In vitro and in vivo activity of a new unsymmetrical dinuclear copper complex containing a derivative ligand of 1,4,7-triazacyclononane: catalytic promiscuity of  $[\text{Cu}_2(\text{L})\text{Cl}_3]$  **Dalton Transactions**, v. 42, p. 7059, 2013.

151 - RAJENDIRAN, T. M. et al. Preparation and properties of a triply bridged antiferromagnetically coupled binuclear copper(II) complex  $[\text{Cu}_2 \text{L}(\text{OAc})_2 ]\text{CO}_4$  {L = 2,6-bis[(N-methyl-piperazin-1-yl) methyl]-4-bromo phenol}. **Polyhedron**, v. 18, p. 3085-3091, 1999.

152 - VAIDYANATHAN, M.; PALANIANDAVAR, M.; GOPALAN, R. S. Copper(II) complexes of sterically hindered phenolate ligands as structural models for the active site in galactose oxidase and glyoxal oxidase: X-ray crystal structure and spectral and redox properties **Inorganica Chimica Acta**, v. 324, p. 241–251, 2001.

153 - MANZUR, J. et al. Copper(II) Complexes with New Polypodal Ligands Presenting Axial-Equatorial Phenoxo Bridges {2-[(Bis(2-pyridylmethyl)-amino)methyl]-4-methylphenol, 2-[(Bis(2pyridylmethyl)-amino) methyl] – 4 – methyl – 6 - (methylthio) phenol}: Examples of Ferromagnetically Coupled Bi and Trinuclear Copper(II) Complexes **Inorganic Chemistry**, v. 17, p. 6924-6932, 2007.

154 – NEVES, A. et al. Catecholase Activity of a Series of Dicopper(II) Complexes with Variable Cu-OH(phenol) Moieties. **Inorganic Chemistry**, v. 41, p. 1788 – 1794, 2002.

155 - JREIM, J.; KREBS, B. Synthesis, Structure and catecholase activity study of dinuclear copper(II) complexes. **Dalton Transactions**, p. 3793 - 3804, 1997.