



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS



RAYSSA RAFAELLA DE SOUZA DA CRUZ OLIVEIRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO CRISTAL TERNÁRIO
DE 1,10-FENANTROLINA E L-VALINA COMPLEXADO COM
COBRE (II) PARA O USO COMO ANTITUMORAIS**

IMPERATRIZ – MA

2021

RAYSSA RAFAELLA DE SOUZA DA CRUZ OLIVEIRA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO CRISTAL TERNÁRIO
DE 1,10-FENANTROLINA E L-VALINA COMPLEXADO COM
COBRE (II) PARA O USO COMO ANTITUMORAIS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Ciências Exatas e da Terra

Orientador: Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos

IMPERATRIZ – MA

2021

RAYSSA RAFAELLA DE SOUZA DA CRUZ OLIVEIRA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO CRISTAL TERNÁRIO DE 1,10-FENANTROLINA
E L-VALINA COMPLEXADO COM COBRE (II) PARA O USO COMO ANTITUMORAIS

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Ciência Exatas e da Terra

Aprovado em: 27 / Agosto / 2021

Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa
Universidade Federal do Pará– UFPA

Prof. Dr. Waldeci Paraguassu Feio
Universidade Federal do Pará– UFPA

Aos meus pais, Rogério Sousa Oliveira e Maria de Fátima Souza C. Oliveira por todo o amor e apoio que sempre demonstraram por mim, e aos meus irmãos Maria Eduarda e Rafael pelo companheirismo e alegria que me proporcionam. A todos vocês minha eterna gratidão

“A persistência é o menor caminho do êxito”. (Charles Chaplin)

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, ao meu Deus Jeová todas as coisas, por ter me dado forças e proteção durante todo este período. Sem ele nada é possível e alcançável.

À minha família, a minha maior dádiva. Palavras não são o suficiente para dizer o quanto amo e aprecio o que vocês têm feito por mim.

Ao Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos pela oportunidade de me orientar durante toda essa fase, por compartilhar os seus conhecimentos e experiência acadêmica que serão de grande ajuda na minha carreira profissional.

Aos amigos do laboratório LDRX, Kamila, Jailton, Walajhone, Ian, Marina, Carliana, Jéssica, Jacivan, Jayson e Jad, pela interação e conversas técnico-científicas e não tão científicas que ajudaram a tornarem este período mais leve e produtivo. Especialmente ao João Neto, pela imensa ajuda e contribuição de seu conhecimento que foram essenciais para mim, além da amizade que guardarei para sempre, meu muito obrigada.

A todos os alunos da UFMA, que ajudaram direta ou indiretamente para a realização desde deste trabalho que fazem/fizeram parte dos laboratórios: LCM, LEOF LPM, LMM, LABFARMA, LER, LAT. Sou grata a cada um de vocês.

Aos meus amigos das disciplinas acadêmicas, obrigada por estarmos juntos nos momentos de estudos e descontração. Especialmente a minha turma 2019.2.

A todos os professores do PPGCM pelo ensinamento dentro e fora de sala, incentivo e disposição em ajudar.

Ao Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa pelos ensinamentos e disponibilidade, e por realizar as medidas de Espectroscopia Raman na Universidade Federal do Pará (UFPA).

Ao Instituto de Tecnologia (ITEC) na UFPA junto com prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira, pela medida de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A todos os funcionários e servidores da UFMA, por estarem dispostos a auxiliar quando solicitados.

À todas as amigas que estiveram comigo de forma presencial ou não, mas que foram essenciais, Laiza, Daniella, Francinete, Maria Eduarda, Marisa e a cada uma das meninas do Salão do Reino.

Aos companheiros (as) que fiz amizade em Imperatriz-MA.

À UFMA e ao CNPQ pelo apoio à pesquisa, e à FAPEMA pela bolsa concedida.

RESUMO

Complexos metálicos têm ganhado notoriedade no meio científico. Complexos com metais de transição como o cobre tem apresentado resultados impressionantes devido suas significativas propriedades farmacológicas para serem aplicados especialmente no tratamento do câncer. Esta neoplasia é um problema de escala mundial, visto que é a patologia que mais tem causado óbitos. Além disso, muitos agentes antitumorais estão perdendo a eficácia devido à complexidade dos tumores e a alta resistência do organismo humano a fármacos. Neste contexto, esta pesquisa tem como objetivo a síntese e o crescimento do cristal ternário de 1,10-fenantrolina e L-valina complexado com cobre (II), assim como o estudo das propriedades físico-químicas e biológicas tendo em vista a aplicação em atividade antitumoral. Para o processo de cristalização utilizou-se o método da evaporação lenta do solvente para a obtenção do sólido cristalino que cresceu em 15 dias. O cristal foi caracterizado pelas técnicas de difração de raios X (DRX) com o refinamento Rietveld, Espectroscopia na Região do Ultravioleta Visível (UV-Vis), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Espectroscopia Raman, Análise Termogravimétrica (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Teste de Solubilidade e Avaliação da atividade antitumoral *in vitro*. Conforme a análise óptica UV-Vis, verificou-se que o pH ideal para a cristalização da amostra é 8.98. Através da DRX em temperatura ambiente (25 °C/ 298 K), verificou-se que o monocristal apresenta estrutura triclinica com grupo espacial P1, contendo 2 moléculas por célula unitária (Z=2) e os seguintes parâmetros de rede: a= 7,173 (4) Å, b= 11,967 (9) Å e c= 12,279 (1) Å e os ângulos α = 68,290 (8)°, β = 77,810 (8)° e γ = 83,661 (7)°. Os espectros de FT-IR e Raman evidenciaram a complexação do íon Cu²⁺ com as moléculas orgânicas. Observou-se através das técnicas termoanalíticas que a transformação de fase ocorre entre 50°C a 70°C por intermédio da desidratação do material. A DRX em função da temperatura (27°C a 232°C) comprovou que é irreversível a transformação de fase do material da sua forma hidratada para a forma anidra. Utilizou-se o método Le Bail para refinamento de estrutura possibilitando-se a determinação estrutural desta nova fase, com os seguintes parâmetros de rede: a= 12,379(9) Å, b= 11,513(8) Å, c= 7,039(5) Å, α =93,678(1)°, β = 108,598(2)°, γ = 111,767(1)°, e estrutura triclinica P $\bar{1}$. O perfil de solubilidade aquosa do cristal ternário mostrou-se ser adequado para materiais com propriedade antitumoral, atingindo 14,960 mg/ml em 240 min. Confirmou-se por meio de testes citotóxicos a atividade antitumoral do complexo de 1,10-Fenantrolina e L-valina complexado ao cobre (II) utilizando a linhagem celular tumoral PC-3, apresentando uma IC₅₀= 2,7 µM superior ao do agente antineoplásicos Docetaxel (IC₅₀= 4,38 µM).

Palavras-chave: Cobre. Câncer. Cristal. Atividade Antitumoral.

ABSTRACT

Metal complexes have been notorious in the scientific community; complexes with transition metals such as copper have shown impressive results due to their significant pharmacological properties, especially in cancer treatment. This neoplasm has been a global problem since it has been the pathology in most frequent causes of deaths; in addition, many antitumor agents are losing their effectiveness due to the complexity of the tumors and the high resistance of the human organism to drugs. In this context, this research aims to synthesize and study the physicochemical and biological properties of the ternary crystal of 1.10-phenanthroline and L-valine complexed copper (II) aiming its application in antitumor activity. The crystalline solid was synthesized by a slow evaporation solvent method for 15 days. The crystal was characterized by X-ray diffraction (XRD) with Rietveld refinement, Visible Ultraviolet Region (UV-Vis), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), Raman Spectroscopy, Thermogravimetric Analysis (TG), Differential Thermal Analysis (DTA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), solubility test and in vitro antitumor activity evaluation. According to the UV-Vis optical analysis, the ideal pH for crystallization of the sample is 8.98. Through XRD at room temperature (25° C / 298 K), the monocrystal has a triclinic structure with a space group P1, containing 2 molecules per unit cell ($Z = 2$) and lattice parameters: $a = 7.173 (4) \text{ \AA}$, $b = 11.967 (9) \text{ \AA}$ and $c = 12.279 (1) \text{ \AA}$ and the angles $\alpha = 68.290 (8)^\circ$, $\beta = 77.810 (8)^\circ$ and $\gamma = 83.661 (7)^\circ$. FT-IR and Raman spectra reveal Cu^{2+} ion complexation with the organic molecules. The thermoanalytical techniques showed that the phase transformation occurs between 50°C to 70°C through the dehydration of the material. The XRD as a function of temperature (27°C to 232°C) proved that the phase transformation of the material from the hydrated form to the anhydrous form is irreversible. The Le Bail method was used to refine the structure, which enabled the structural determination of this new phase, the lattice parameters: $a = 12,379 (9) \text{ \AA}$, $b = 11,513 (8) \text{ \AA}$, $c = 7,039 (5) \text{ \AA}$, $\alpha = 93,678 (1)^\circ$, $\beta = 108,598 (2)^\circ$, $\gamma = 111,767 (1)^\circ$, and $P\bar{1}$ triclinic structure. The solubility profile of the ternary crystal proved to be suitable for materials with anti-tumor properties, reaching 14,960 mg/ml in 240 min. The antitumor activity of the complex of 1.10-Phenanthroline and L-valine complexed Copper (II) was confirmed by means of cytotoxic tests using the tumor cell line PC-3. It showed $\text{IC}_{50} = 2.7 \text{ \mu M}$, better result compared to the Docetaxel antineoplastic agent ($\text{IC}_{50} = 4.38 \text{ \mu M}$).

Keywords: Copper. Cancer. Crystal. Antitumor activity.

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

❖ Resumos publicados em anais de congresso:

OLIVEIRA NETO, J. G.; ABREU, K. R.; RODRIGUES, J. A. O.; REIS, I. F. S.; SILVA, C. R.; RAMOS, M. C.; **OLIVEIRA, R. R. S. C.**; SOUSA, F. F.; SANTOS, A. O. Estudo vibracional por Espectroscopia Raman do cristal de 1,10-fenantrolina e glicina complexado com cobre (II) para uso em antitumorais. VI Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman. Belém – PA, 2019.

❖ Patentes depositadas:

OLIVEIRA NETO, J. G.; SANTOS, A. O.; REIS, I. F. S.; SILVA NETO, O. C. ; RODRIGUES, J. A. O.; MARQUES, J. V.; ABREU, K. R.; **OLIVEIRA, R. R. S. C.**; DIAS, A. L. . *SAL DE TUTTON $K_2[Cu_2+(SO_4)_2(H_2O)_6]$ DOPADO COM Sm_2O_3 E SEU USO*. Instituição de registro: Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito:04/05/2020

❖ Patentes submetidas:

OLIVEIRA, R. R. S. C.; OLIVEIRA NETO, J. G.; ABREU, K. R.; SANTOS, A. Filmes semiorgânicos de alginato de sódio e quitosana contendo cristais de 1,10- fenantrolina e l-valina complexado com cobre (II) para uso em aplicações farmacológicas. Universidade Federal do Maranhão, 2021.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Taxa de mortalidade de 2018 dos principais tipos de câncer no Brasil (Homens)..	18
Figura 2- Taxa de mortalidade de 2018 dos principais tipos de câncer no Brasil (Mulheres)	18
Figura 3- Localização anatômica da próstata na pelve.....	20
Figura 4- Grupo funcional dos aminoácidos	22
Figura 5- Fórmula estrutural da L-valina	23
Figura 6- Segmentos do processo de nucleação para cristais.....	24
Figura 7- Curva de solubilidade de uma substância hipotética	25
Figura 8- Representação da Difração de Raios X por meio de um cristal.	28
Figura 9- Representação da Curva TG.	34
Figura 10- Representação da Curva DTA.	35
Figura 11- Representação da Curva DSC.	36
Figura 12- Movimentos vibracionais dos átomos	38
Figura 13- Espalhamento Rayleigh e Raman (Stokes e Anti-Stokes).....	39
Figura 14- Fluxograma com as etapas de caracterização do cristal.	42
Figura 15- Difratorômetro da PANalytical modelo Empyrean	43
Figura 16- Espectrofotômetro SHIMADZU UV/VIS/NIR/UV-3600.....	44
Figura 17- Analisador térmico (DSC) marca Shimadzu modelo DSC-60	44
Figura 18- Analisador térmico (TG/DTA) marca Shimadzu modelo DTG-60.....	45
Figura 19- Espectrômetro Raman marca Jobin-Yvon modelo T64000.....	46
Figura 20- Espectros de absorção óptica da solução do composto ternário em diferentes pH.	47
Figura 21- Cristal ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina.....	49
Figura 22- Morfologia para o cristal ternário de Cobre (II) com 1,10- Fenantrolina e L-valina	49
Figura 23- Difractograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal ternário de 1,10-Fenantrolina e L-valina complexado com Cobre (II).....	50
Figura 24- Célula unitária do cristal de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina.	52
Figura 25- Espectros de FTIR das amostras: (a) complexo ternário de Cobre (II) com 1,10- Fenantrolina e L-valina; (b) 1,10-Fenantrolina pura e (c) L-valina pura.	53

Figura 26 – Espectro Raman para o cristal ternário FVCu a temperatura ambiente na região espectral de 20 a 1740 cm^{-1}	57
Figura 27 - Espectro Raman para o cristal ternário FVCu a temperatura ambiente na região espectral de 2800 a 3500 cm^{-1}	58
Figura 28 - Curva TG/DTA do cristal ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina.	61
Figura 29 - Curva DSC do cristal ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina..	62
Figura 30 - Padrão de Difração de Raios X do cristal de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina e em função da temperatura de 27 a 232°C, no intervalo de 5°- 40° 2 Θ . Curva 27°C* corresponde à.....	63
Figura 31 - Parâmetros de rede a, b e c do cristal ternário FVCu obtidos pelo refinamento de Rietveld em função da temperatura	64
Figura 32 -Padrão de Difração de Raios X do cristal de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina e em função da temperatura de 27 a 232°C, no intervalo de 5°- 40° 2 Θ	65
Figura 33 - Padrão de difração de raios X em 137°C da fase anidra do cristal ternário de cobre (II) com L-Valina e 1,10-Fenantrolina	66
Figura 34 - Curva analítica obtida para a determinação do cristal FVCu em água, acompanhada da concentração do material medido em absorvância em função do comprimento de onda (nm).	67
Figura 35 – Perfil de solubilidade do cristal FVCu.....	68
Figura 36 -Comparação de atividade citotóxica (IC_{50}) de variados antitumorais.	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Região do Ultravioleta-Visível.....	32
Tabela 2- Dados cristalográficos para o composto ternário de Cobre (II) com 1,10- Fenantrolina e L-valina.....	51
Tabela 3- Possíveis atribuições das vibrações de FTIR para o cristal FVCu comparado com os dados reportados na literatura para 1,10-Fenantrolina e L-valina.	55
Tabela 4- Modos Raman para o cristal ternário de Cobre (II) com L-valina e 1,10-Fenantrolina.	59
Tabela 5- Concentração média das soluções do FVCu utilizadas para a construção da curva analítica.....	68
Tabela 6- Concentração do cristal FVCu em função do tempo (min).....	69

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Câncer.....	17
2.2 Limitações da quimioterapia	19
2.3 Câncer de próstata	20
2.4 Aminoácidos.....	21
2.5 Crescimento de Cristais em Soluções Aquosas	23
2.6 Uso de complexos cristalinos como antitumoral.....	25
2.7 Técnicas de Caracterização	27
2.7.1 Difração de Raios X (DRX).....	27
2.7.1.1 <i>Método de Rietveld</i>	29
2.7.1.2 <i>Método Le Bail</i>	31
2.7.2 Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis).....	31
2.7.3 Análises Térmicas	33
2.7.3.1 <i>Análise Termogravimétrica (TG)</i>	33
2.7.3.2 <i>Análise Térmica Diferencial (DTA)</i>	34
2.7.3.3 <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	35
2.7.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	37
2.7.5 Espectroscopia Raman	38
3. METODOLOGIA.....	41
3.1 Síntese do Cristal Ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-Valina.....	41
3.2 Caracterizações do Cristal.....	42
3.2.1 <i>Difração de raios X</i>	42
3.2.2 <i>Análise Óptica</i>	43
3.2.3 <i>Análise Térmica</i>	44
3.2.4 <i>Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	45
3.2.5 <i>Espectroscopia Raman</i>	45

3.3.5 Teste de solubilidade e Avaliação Antitumoral in vitro	46
3.3.5.1 <i>Ensaio de Solubilidade</i>	46
3.3.5.2 <i>Avaliação da atividade antitumoral, in vitro</i>	46
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 Síntese do Cristal FVCu	47
4.2 Difração de Raios X e Refinamento pelo método de Rietveld	50
4.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier	52
4.4 Espectroscopia Raman em Temperatura Ambiente	56
4.4.1 <i>Região de 20 a 1740 cm⁻¹</i>	56
4.4.2 <i>Região de 2800 a 3500 cm⁻¹</i>	57
4.4 Análises Térmicas (TG-DTA, DSC)	59
4.5 Difração de Raio X em função da temperatura	62
4.6 Teste de solubilidade e Avaliação Antitumoral in vitro	66
4.6.1 <i>Ensaio de solubilidade</i>	67
4.6.2 <i>Avaliação da atividade antitumoral (in vitro)</i>	70
5. CONCLUSÕES	72
6. PERSPECTIVAS	73
REFERÊNCIAS	74

1. INTRODUÇÃO

Os metais e complexos metálicos têm sido muito estudados nas últimas cinco décadas, embora a química medicinal seja majoritariamente baseada em produtos naturais e compostos orgânicos. Muitas pesquisas têm identificado que eles possuem um notável comportamento na área farmacológica e da química moderna como agentes de diagnósticos e quimioterápicos [1–7].

Um dos primeiros complexos metálicos a serem utilizados na área oncológica foi a cisplatina na década de 60. Este material teve excelentes resultados, tornando-se responsável pela cura de mais de 90% dos casos de câncer, como colo do útero, mama, cabeça, pescoço, linfomas e melanoma [8,9]. Este potencial propiciou o interesse e novos estudos no tratamento de câncer com o uso de compostos ternários organometálicos [10–12].

O câncer é uma doença em que as células defeituosas se fragmentam e crescem descontroladamente, destruindo os tecidos do corpo humano. Além disso, podem-se espalhar pelo organismo por meio de metástase, em que os corpúsculos crescem e invadem os sistemas celulares. Este alastramento anormal é chamado de neoplasia, uma vez que as células cancerígenas tendem a desenvolver tumores malignos, causando grandes danos à saúde [9]. Apesar do crescente aumento de pesquisas e estudos, poucos tratamentos são eficazes, visto que os medicamentos usados como agentes neoplásicos utilizados para a apoptose celular cancerígena afetam, também, as células sadias [10–14].

Por esta razão, há muitos estudos sobre a molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) com o objetivo de produzir novos materiais eficazes contra os tumores malignos. Entre essas pesquisas, os íons metálicos têm apresentado forte interação com a estrutura do DNA pela sua característica de receber elétrons. Devido a isso, essa interação pode contribuir para a formação de complexos da estrutura do DNA com o metal, possibilitando a neutralização de possíveis tumores decorrentes da descontrolada replicação celular. Com isso, muitos cientistas têm buscado desenvolver materiais atóxicos para o organismo à base de metais visando o uso em atividade antitumoral [14–16].

Os complexos de cobre (II) possuem muitas propriedades importantes, pois além de fazer ligações com a molécula de DNA, o material também apresenta propriedades antitumorais, visto que inúmeras enzimas, proteínas e aminoácidos presentes no organismo são dependentes deste metal. Além disto, o cobre é de extrema importância por se tratar do terceiro

metal em maior quantidade nos seres humanos, influenciando no funcionamento biológico, estrutural e funcional nos seres vivo [7,17,18].

Além disso, este íon metálico quando complexado com diferentes ligantes pode propriedades apoptóticas. Pois além de melhorar a atividade biológica dos ligantes, complexos de cobre proporcionam melhoria nas propriedades antiácidas, inflamatórias, antiviral, antitumoral, entre outras [19–21].

O complexo de coordenação de íons metálicos com ligantes nitrogenados, como a 1,10-fenantrolina, exibem propriedades farmacológicas. Este composto funciona como quelante para o cobre e, com isso, pode promover processos antioxidantes e oxidativos [22]. Os complexos metálicos podem, também, interagir com proteínas e ácidos nucleicos (DNA) quando complexados com aminoácidos, já que os resíduos de arginina, cisteína, glicina, histidina, lisina e prolina são os principais alvos dos metais de transição em biomoléculas [23].

Cristais de 1,10-fenantrolina e l-valina complexados com Cobre (II) foi sintetizado pela primeira vez por Le et al em 2005 [24]. Entretanto, o estudo teve como objetivo apenas a determinação estrutural desses cristais. Devido ao interesse neste material para atividade antitumoral e a escassez de estudos de suas propriedades reportados na literatura, este trabalho visa sintetizar e caracterizar os cristais de 1,10-fenantrolina e l-valina complexados com Cobre (II) com o objetivo de estudar suas propriedades estruturais, ópticas, térmicas, elétricas, vibracionais e magnéticas, bem como avaliar possíveis aplicações antitumorais no PC-3.

Assim, os resultados a serem encontrados por meio desta pesquisa visam colaborar para uma melhor compreensão das possíveis interações dos compostos organometálicos com a molécula de DNA, além de verificar por meio de suas propriedades sua possível aplicação para o uso como antitumorais. Em decorrência da inovação do tema, o trabalho se torna ainda mais relevante, podendo ser de grande impacto na área oncológica e da ciência de materiais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Câncer

O câncer é um termo comumente utilizado para classificar as mais de 200 doenças na qual há proliferações celulares anormais e descontroladas. Este comportamento de crescimento anormal denomina-se neoplasia e pode resultar na formação de tumores malignos [25,26]

Os tumores podem ser benignos ou malignos, apesar de terem uma massa celular similar aos tecidos corporais, eles divergem uns dos outros. Embora o tumor benigno possua irregularidade no crescimento de células diferenciadas, essa patologia não causa altos riscos para a vida humana, uma vez que as células são incapazes de realizar metástase e a multiplicação celular é vagarosa. Outra diferença é que o núcleo celular permanece igual às das células normais, ao contrário dos tumores malignos que possuem forma e tamanho irregular [11,27,28].

De acordo com Organização mundial da Saúde (OMS) cerca de 19,3 milhões de novos casos de câncer foram registrados no mundo em 2020, sendo que desses, mais de 9,96 milhões de pessoas vieram a óbito, estimam-se que em 2040 o número de mortos em razão dessa neoplasia pode chegar a mais de 16,3 milhões. No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) afirmou que os casos de óbitos no Brasil em 2018 foram mais de 220 mil mortes, como pode-se observar nas Figuras 1 e 2 a mortalidade de acordo com o sexo, sendo que os cânceres de mama, próstata, traqueia, brônquio, pulmão, cólon e reto como localização primária com os maiores índices. Ainda estimou-se que em 2020 o número de novos casos de neoplasias ultrapasse os 600 mil no Brasil [25,29].

Em decorrência aos alarmantes números em escala mundial, cientistas e oncologistas têm procurado encontrar tratamentos mais eficazes para combater essa neoplastia, visto que os existentes não são muito eficientes. Há algumas técnicas e tratamentos que podem ajudar a prolongar a vida do paciente caso seja detectada no estágio inicial da doença, como cirurgias, quimioterapias, radioterapias e transplantes. Sendo que desses o mais utilizado é a quimioterapia, que consiste no uso de fármacos que podem inibir, retardar ou reter o crescimento das células cancerígenas que causam os tumores. Embora a quimioterapia tenha esse efeito, ela não atinge apenas as células anormais, mas também lesionam as células saudáveis, resultando em inúmeros efeitos colaterais como: queda de cabelo, vômitos, náuseas, dentre outros [15,16,30,31].

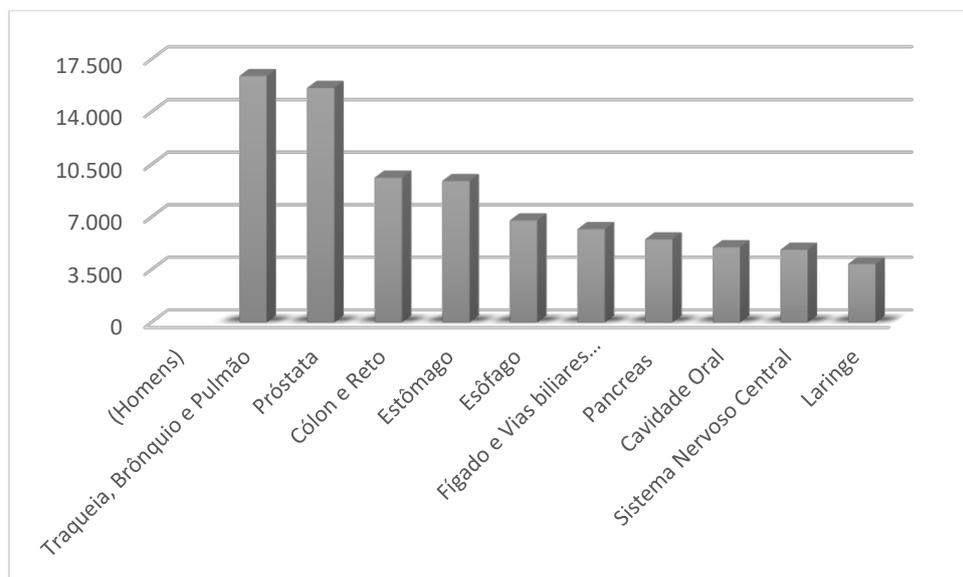


Figura 1- Taxa de mortalidade de 2018 dos principais tipos de câncer no Brasil (Homens)

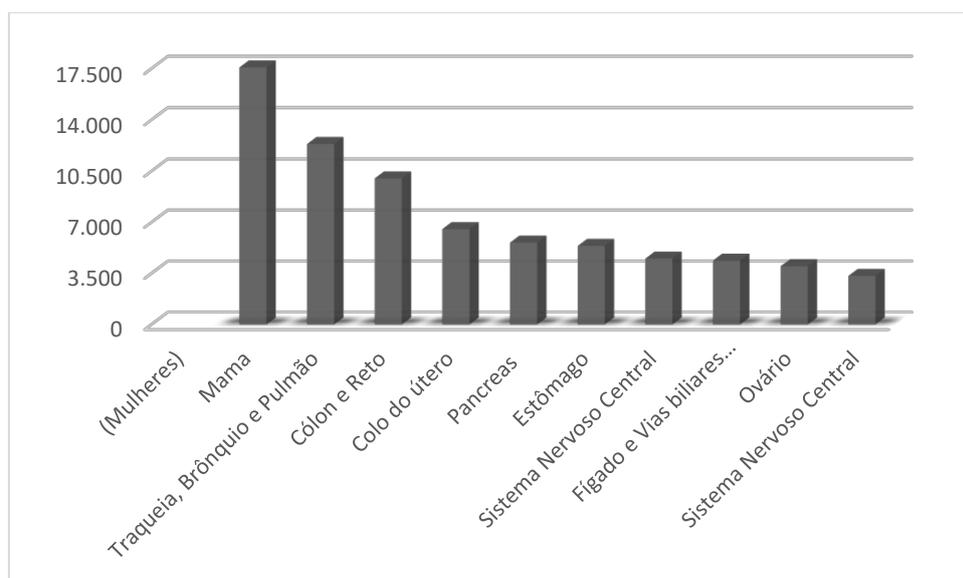


Figura 2- Taxa de mortalidade de 2018 dos principais tipos de câncer no Brasil (Mulheres)

O outro agravante no tratamento, é que o uso diário dos fármacos faz com que as células cancerígenas criem resistência a esses medicamentos. Devido a isso, cresce ainda mais a necessidade de se encontrar novas drogas mais eficazes e menos agressivas e tóxicas ao organismo, melhorando a qualidade de vida dos pacientes [3]

2.2 Limitações da quimioterapia

A quimioterapia com o uso de agentes antineoplásicos citotóxicos ainda é uma estratégia importante no tratamento de pacientes com tumores malignos. Grande parte das interações farmacocinéticas de drogas envolvem o metabolismo e/ou transporte de drogas como base mecânica e para que ocorra uma boa interação entre essas enzimas e os agentes antineoplásicos. Além disso, há diversas especificações que devem ser consideradas para a aplicação dos compostos citotóxicos [32].

Os quimioterápicos podem ser administrados por via oral (na forma de comprimidos, cápsulas ou líquidos), intravenosa (injetados na corrente sanguínea), intramuscular (injetado no músculo), subcutânea (sob a pele), intracranial (injetado na espinha dorsal) ou uso tópico [25]. É importante ressaltar que os agentes quimioterápicos devem ser atóxicos, mas essa especificação não deve interferir ou reduzir na sua atividade apoptótica. Com isso, é necessário que haja um equilíbrio entre a tenacidade das células cancerígenas e os fármacos com menor efeito colateral possível nos pacientes [31].

Os medicamentos quimioterápicos têm apresentado resultados eficazes ao combater as células anormais, embora cause toxicidade nas células saudáveis resultando em efeitos secundários, como alopecia (queda de cabelo), toxicidade gastrointestinal, redução na atividade da medula óssea, entre outros [32]. Um outro agravante da quimioterapia é a redução dos seus resultados, visto que com a frequência do uso dos medicamentos as células cancerígenas ficam mais resistentes. A resistência pode ser inerente, onde ocorre o uso de fármacos específicos no tratamento, ou obtida, na qual nenhum efeito é apresentado na ingestão do fármaco [33].

O mecanismo de resistência adquirida com o uso de fármacos na quimioterapia pode ser classificado conforme da relação dose-resposta (DR) que tem quatro divisões nos processos: 1- Resistência Sensível (RS), 2- Resistência Ativa (RA), 3- Resistência Passiva Saturável (RPS) e 4- Resistência Passiva Não Saturável (RPNS) [2,34].

Além disso, alguns materiais causam a resistência das células cancerígenas durante o tratamento, como os sistemas de reparação de DNA, fatores pró-apoptóticos, anti-apoptóticos, bombas de efluxo de fármacos, entre outros. Ademais, o próprio organismo pode contribuir para o ganho dessa resistência devido a alguns mecanismos que podem ocorrer individualmente ou de forma simultânea na qual ocorrerá uma multirresistência, sendo esses o meio extracelular, inibidores de apoptose, fluxo e direcionamento do sangue, etc [2,35,36]. Devido a isso, torna-

se ainda mais evidente a necessidade de tratamentos mais eficazes e menos agressivos aos pacientes [33].

2.3 Câncer de próstata

O aumento de neoplasias tem ocorrido anualmente. O câncer de próstata é o segundo mais frequente (atrás apenas do câncer de pele não-melanoma), assim como o segundo que mais causa mortes entre os homens no Brasil. Sendo que no ano de 2018, quase 16 mil pessoas vieram a óbito e estima-se que mais de 65 mil novos casos surgiram no ano de 2020 [25].

A próstata é uma glândula exócrina que compõe o sistema reprodutor masculino, localiza-se antes do reto e inferiormente à bexiga, circundando parte da uretra (Figura 3). Tendo como função a produção de um fluido de pH alcalino que constitui parte do sêmen, o líquido prostático que protege, nutre e ajuda na locomoção dos espermatozoides (SAMPAIO, 1999).

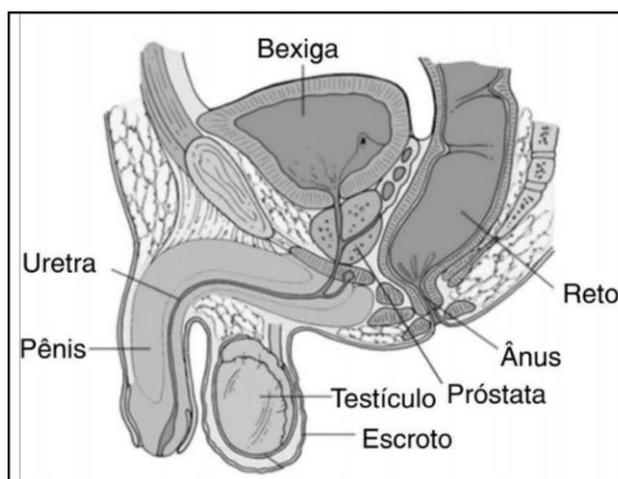


Figura 3- Localização anatômica da próstata na pelve

Fonte: [37]

As altas taxas de mortalidade são preocupantes, visto que essa neoplasia é considerada uma doença da terceira idade, uma vez que cerca de 75% dos casos no mundo ocorrem após os 65 anos. Segundo a Sociedade Brasileira de Urologia, um em cada seis homens com idade acima de 45 anos pode ter a doença sem o conhecimento do diagnóstico [25,38].

A maior incidência dos casos de câncer de próstata se concentra nas regiões menos desenvolvidas do país. Entretanto, isso pode estar associado a menor densidade populacional e a precariedade e/ou distanciamento dos serviços de saúde disponível para a população. Mesmo

assim, estima-se que as taxas brutas de incidência estimadas para 2020 no estado do Maranhão tenha sido 52,57 casos a cada 100 mil habitantes, o que é preocupante, uma vez que a neoplasia afeta especificamente o sexo masculino [25,39].

A identificação do câncer de próstata no estágio inicial é uma grande dificuldade, visto que a maioria dos casos desenvolvem de forma assintomática e com evolução silenciosa, visto que se desenvolve na zona periférica da próstata. Entretanto, os homens com esta neoplasia podem apresentar disfunção sexual antes do diagnóstico e após cada modalidade de tratamento, além de apresentarem outros sintomas, como perda de peso, como obstrução uretral com disúria, volume de secreção urinária noturno maior do que o diurno, uremia, entre outros [40,41].

O diagnóstico precoce é realizado por meio de exames periódicos de dosagem do antígeno prostático específico (PSA) e do exame físico ou toque retal da próstata. Através destes exames é possível indicar a existência da doença, necessitando de uma ultrassonografia transretal (USTR), podendo também ser sugerida a realização da biópsia prostática transretal. A periodicidade do exame PSA e do toque retal ainda é motivo de discussão, mas sugere-se que os testes sejam feitos anualmente entre os 50 e 80 anos [42].

O tratamento indicado para o câncer de próstata é conforme o estágio da doença. Para pacientes na fase inicial com baixo risco, o mais recomendado é a prostatectomia (cirurgia que remove a próstata) ou de radioterapia. A terapia hormonal é a mais indicada para os casos de risco intermediário, entretanto, cirurgia e radioterapia podem ser utilizadas. Já para os pacientes de alto risco com neoplasia disseminada, os três tratamentos podem ser aplicados, hormonal, prostatectomia e radioterapia. Entretanto, em alguns casos pode-se associar a quimioterapia com a hormonioterapia para melhores resultados do tratamento [43,44].

2.4 Aminoácidos

Os aminoácidos são compostos químicos de natureza orgânica presentes nas atividades biológicas fundamentais. São as unidades básicas da composição de uma proteína, tendo papel estrutural, catabolizante, agente imunológico, regulador de metabolismo, entre outras funções. As proteínas são polímeros de compostos orgânicos simples e macromoléculas de alto peso molecular, essenciais para os processos vitais das células [45].

Ademais, os aminoácidos ligam-se covalentemente para a formação de proteínas, formando longas cadeias não ramificadas, apresentam em sua estrutura um grupo básico amino

(--NH₂) e um grupo ácido carboxílico (--COOH) de outro, liberando uma molécula de água durante a reação [21]. Estes grupos, ligados a um carbono central formam o aminoácido (Figura 4).

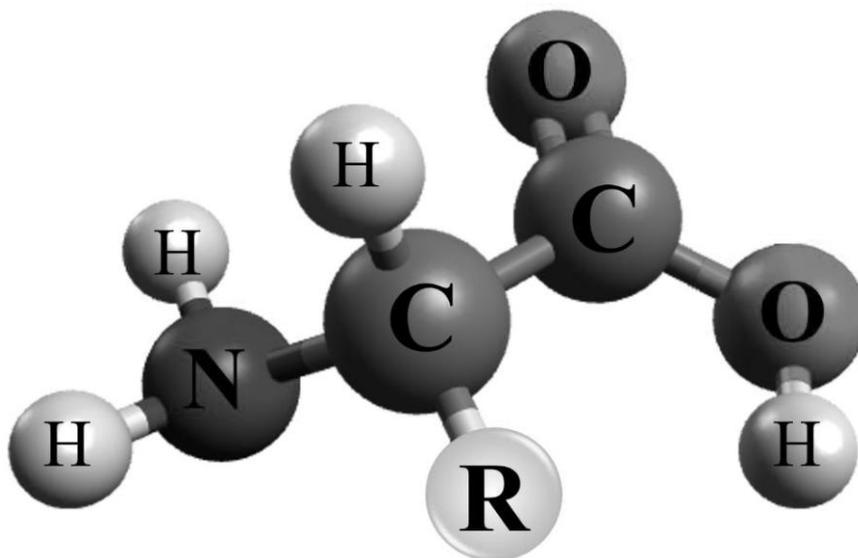


Figura 4- Grupo funcional dos aminoácidos

O grupo R da cadeia varia de acordo com a acidez, forma, reatividade química, carga, tamanho. É o que determina a característica de determinado aminoácido, por meio dele que diferencia um aminoácido dos restantes. A fórmula geral de um aminoácido é: R – CH – NH₂ – COOH. Sendo que a fórmula mais simples é a da glicina: seu radical é um átomo de hidrogênio. Seguida pela alanina na qual o grupo CH₃ substitui o átomo H. A terceira é a valina que possui um grupamento R ramificado (CH-CH₂-CH₃), possuindo o total de cinco átomos de carbono na fórmula [46].

Os aminoácidos formam uma estrutura cristalina quando se agregam devido à perda do átomo de hidrogênio no grupo carboxílico em que o hidrogênio é transferido para o grupo amina, isto ocasiona em um composto com caráter de íon bipolar ou estado zwitteriônico. Além disso, podem encontrar-se em solução na forma aniônica ou catiônica devido ao pH, ou seja, o pH em equilíbrio pode ocasionar na existência de três formas diferentes de aminoácidos [45–47].

Existem em torno de 200 aminoácidos na natureza, entretanto, o organismo humano só consegue metabolizar 21, destes, 8 são essenciais (leucina, isoleucina, valina, triptofano,

metionina, fenilalanina, treonina, lisina e histidina) e 11 não essenciais (alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteína, glicina, glutamina, glutamato, prolina, serina, tirosina) [47].

A L-valina foi descoberta em 1856 por Von Gorup-Besanez e sintetizada em 1878 por Shimidt e Sachiaben. A sua estrutura química da valina foi descrita por Emil Fischer, que também foi responsável pela descoberta da forma racêmica do aminoácido [48], a Figura 5 ilustra sua fórmula estrutural. Além disso, a L-valina é um aminoácido apolar, hidrofóbico e essencial (ou seja, não pode ser produzido pelo organismo humano). As principais fontes para sua obtenção encontram-se nas carnes, ovos, leite e derivados. Dentre suas funções biológicas muito importantes, pode-se destacar a contribuição na regeneração de tecidos a produção de tônus musculares.

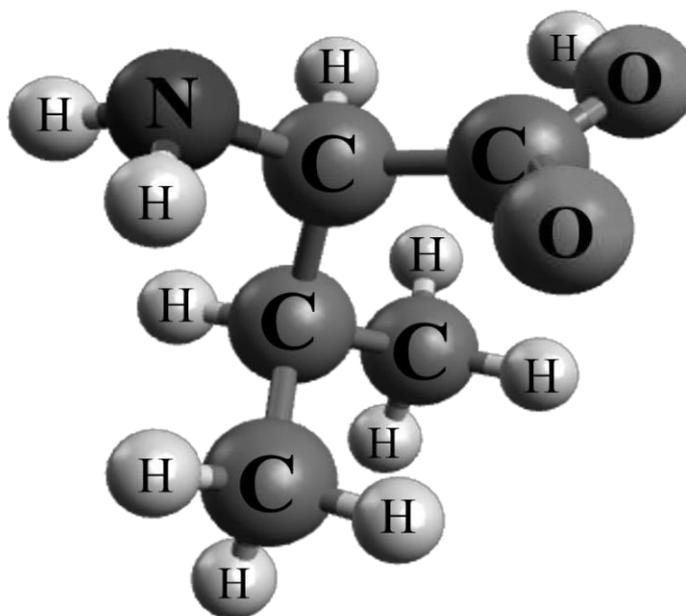


Figura 5- Fórmula estrutural da L-valina

2.5 Crescimento de Cristais em Soluções Aquosas

Os complexos de coordenação formados por moléculas orgânicas apresentam uma vasta aplicação devido a sua potencialidade na farmacologia. As propriedades em um sistema cristalino de determinado material apresentam-se mais eficazes quando encontram-se em arranjos periódicos, repetidos, mostrando uma ordem de longo alcance, assim, forma um sólido

com padrão tridimensional ordenado e que ligam com átomos vizinhos em uma estrutura cristalina. Sendo que estes são denominados de sólidos cristalinos e os padrões de repetição são as células unitárias, quando essa extensão se localiza em toda a amostra, esse material é definido como monocristal [49–52].

Embora possam ser sintetizados em laboratório, os monocristais também podem ser encontrados na natureza, como o diamante, forma alotrópica do carbono. Para sintetizar os monocristais é necessário de um amplo conhecimento na escolha do solvente, o pH ideal, ambiente de crescimento controlado, e outras características específicas que devem ser seguidas [53,54].

O crescimento de cristais a partir de uma solução acontece em duas etapas: inicialmente ocorre a após a formação de um núcleo cristalino formando uma fase estável, dentro da solução supersaturada instável, denominada “fase mãe”; na segunda fase ocorre o crescimento do núcleo, na qual os aglomerados crescerão ordenadamente em três dimensões formando uma rede cristalina sólida estável [20,55]. A Figura 6 apresenta este segmento. O tempo de crescimento na síntese de cristais dependerá da técnica utilizada, podendo variar de minutos a meses [51].

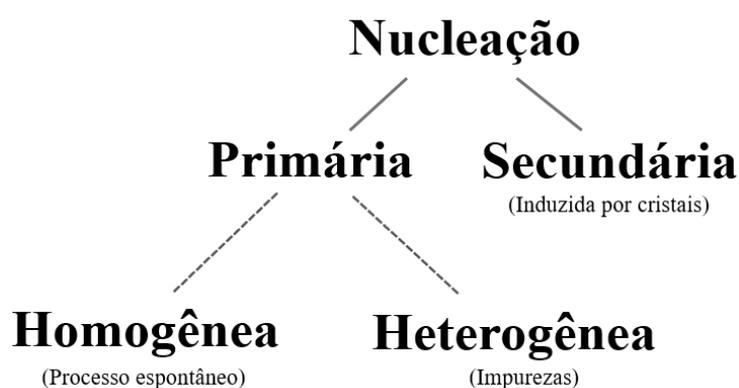


Figura 6- Segmentos do processo de nucleação para cristais

Adaptado da Referência [55].

Durante o crescimento de cristais por evaporação lenta do solvente, as moléculas e/ou os íons alcançam o estado de supersaturação em razão do solvente ser de fácil volatilização. Isso ocorre devido à pressão de vapor do solvente ser mais elevada que a do soluto. Além disso, o sistema será inteiramente afetado pelos fatores termodinâmicos ocasionando o aparecimento de uma nova fase sólida (cristalina) que terá uma energia mais estável que a fase inicial [20,55].

Pode-se observar na Figura 7 o comportamento de uma substância em três regiões típicas que são encontradas em solução aquosa para o crescimento de cristais. Sendo que a região α é delimitada pela curva de supersaturação, sendo mais propensa à nucleação do cristal. A área β , a zona metaestável, situada entre a região de supersaturação e instauração. Nesta região só será possível o crescimento do cristal através da adição de semente. Já na região γ não existirá pontos para ocorrer a nucleação, pois a solução está na forma estável [55].

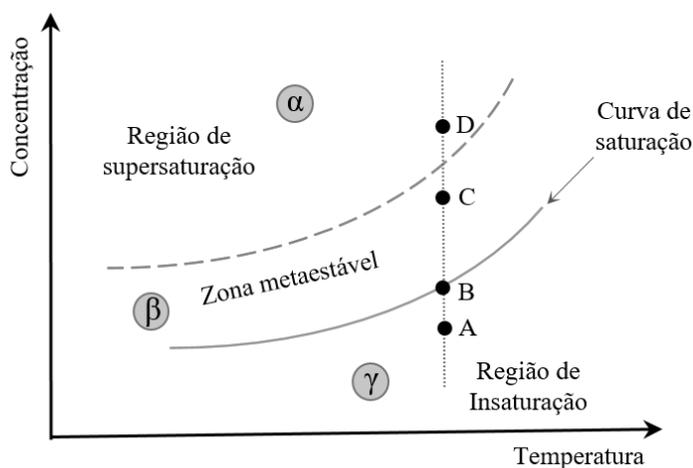


Figura 7- Curva de solubilidade de uma substância hipotética

Fonte: Próprio autor.

Com base no gráfico hipotético da Figura 7, o ponto A está na região de insaturação, ou seja, não contribui para a formação dos primeiros núcleos; o ponto B está na curva de saturação, com isso, não favorece o processo de cristalização por causa da estabilidade da solução; já o ponto C apresenta condições mais favoráveis a formação de núcleos sobre a semente adicionada por estar na zona metaestável; por fim, o ponto D é extremamente instável e isso favorece à nucleação e a formação do cristal.

2.6 Uso de complexos cristalinos como antitumoral

A química inorgânica medicinal é realizada há cerca de 5000 anos. Desde 3000 aC o cobre já era utilizado para esterilizar a água pelos egípcios, além disso, por volta de 1500 aC, eles já faziam uso de vários remédios com ferro. Sendo que nesta mesma época, o zinco foi descoberto como um bom cicatrizante de feridas. Ademais, cerca de 3500 anos atrás, China e Arábia usavam o ouro em uma variedade de medicamentos mesmo sem ter suas atividades

medicinais conhecidas. Já na Europa na época renascentista, o cloreto de mercúrio era utilizado como diurético. Entretanto, apenas nos últimos 100 anos que os compostos inorgânicos passaram a se desenvolver de forma racional na atividade medicinal, iniciando com o uso do dicianoaurato de potássio $K[Au(CN)_2]$ no início dos anos 90 para o tratamento da tuberculose, além do uso de sais de ouro com atividade antibacteriana e compostos de antimônio para a leishmaniose [56,57].

A utilização de complexos metálicos no tratamento de doenças se intensificou durante a primeira guerra mundial, visto que o uso do gás mostarda (1,1 tio-bis-2-cloroetano) foi detectado como citotóxico, resultando um marco para o início da quimioterapia e, posteriormente, para a sintetização do composto ternário cisdiaminodicloroplatina II (cisplatina) e seus derivados [47,56].

Na década de 60, Rosenberg e Van Camp confirmaram as propriedades antitumorais do complexo cis-platina. Após esta descoberta, inúmeros estudos foram realizados com os complexos metálicos para verificar seus benefícios, para verificar sua interação com o DNA, boa variabilidade estrutural, alta solubilidade e propriedades de redox [7,57].

Um dos metais estudados pelos pesquisadores para a aplicação antitumoral é o Cobre. Este é um dos poucos metais que são encontrados puros na natureza e a sua aplicação está relacionada com a capacidade de interconversão do Cu^{1+} (estado reduzido) entre seus estados de oxidação Cu^{2+} e Cu^{3+} , no entanto existem poucos exemplos deste. Além disso, o cobre é o terceiro metal em maior quantidade no organismo humano, atrás apenas do ferro e do zinco, contribuindo na composição e atividade tanto de enzimas e proteínas, sendo assim, essencial para o funcionamento do organismo. Ademais, as formas Cu^{1+} e Cu^{2+} são fortemente ligadas a moléculas biológicas [58] apresentando ações associadas ao transporte de elétrons, ativação do oxigênio, metabolismo energético, respiração e síntese de DNA nas células [26].

Além da importância biológica, o Cu^{2+} tem a capacidade de formar complexos. Estudos mostram que este pode apresentar diferentes conformações estruturais, além de gerar reatividades referente a formação de espécies reativas de oxigênio, impulsionando o estresse oxidativo nas células e danos oxidativos em diferentes biomoléculas (DNA, proteínas e açúcares). [59]. Atualmente, estes compostos representam uma alternativa promissora aos compostos de platina como droga antitumoral, vista que estes podem causar a morte de células cancerígenas e, devido o cobre ser um elemento essencial, existem mecanismos naturais para a

sua absorção, distribuição e eliminação já conhecidos, o que não ocorre com a platina [60]. Como, por exemplo, os complexos de cobre com o ligante 1,10-fenantrolina.

A 1,10-fenantrolina é um composto heterocíclico policondensado da classe dos agentes quelantes pertencente à família dos ligantes α,α' -diiminas. Sua força como ligante pela perspectiva eletrônica ocorre devido sua habilidade como acceptor pi de elétrons que é responsável pela força da ligação com o metal, contribuindo entropicamente para a formação dos complexos. Muitos complexos de cobre são relatados na literatura capazes de clivar o DNA, como por exemplo os compostos $[\text{Cu}(o\text{-phen})_2]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{dmphen})(\text{gly})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})]$ e $[\text{Cu}(\text{nphen})(\text{gly})(\text{H}_2\text{O})]$, que apresentam-se ser alternativas promissoras para aplicações em antitumorais [61,62].

Nesta trabalho, o cristal ternário $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(L\text{-val})(phen)]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ será avaliado quanto as suas propriedades antitumorais.

2.7 Técnicas de Caracterização

2.7.1 Difração de Raios X (DRX)

Até o início do século XX a periodicidade da rede cristalina era desconhecida. O primeiro a demonstra-la foi Max Von Laue em 1912 por meio dos raios X, utilizando em seu experimento um cristal de sulfato de cobre hidratado, observou-se uma elevada resolução e precisão através da técnica de Difração de Raios X (DRX). A difração é um fenômeno ondulatório que acontece quando uma ou mais ondas passam por orifícios, fendas, assim como pequenos obstáculos, em que as dimensões são de mesma ordem de grandeza do comprimento de onda da radiação eletromagnética incidente [49,54,63].

Os comprimentos de onda dos raios-X estão entre a radiação γ e ultravioleta, variando entre $\sim 0,1$ a ~ 100 Å, entretanto, alguns comprimentos de onda são alterados entre $\sim 0,5$ a $\sim 2,5$ Å em alguns estudos cristalográficos, devido a menores distancias interatômicas observadas em cristais orgânicos e inorgânicos. Os laboratórios de raios-X têm a capacidade de produzir facilmente esses comprimentos de onda nos tubos pela facilidade de serem acomodados em todos os ambientes, além de possuírem menor custo em comparação a fonte de luz síncrotron [63]. As cavidades do tubo de raios-X possuem dois eletrodos lacrados nas extremidades de uma ampola de vidro a vácuo. Onde o cátodo é geralmente formado uma liga de tungstênio que quando é aquecido libera elétrons, em decorrência do efeito termiônico. Já o ânodo é composto por uma placa metálica que é atingida pelos elétrons da liga de tungstênio [54,63,64].

A diferença de potencial ocasionará a aceleração dos elétrons, gerando uma colisão dos elétrons com o ânodo entre os dois eletrodos. A colisão dos elétrons com o alvo faz com que gere vacâncias nos elétrons das camadas mais internas do ânodo. Ocasionalmente, o decaimento dos 16 elétrons das camadas mais externas para ocupar as lacunas, formando raios-X. Entretanto, pouca radiação será convertida em raios X, visto que cerca de 99% da energia cinética é convertida em calor [64].

A estrutura ordenada de um cristal evidencia a natureza ondulatória dos raios X. Neste contexto, William Henry Bragg e seu filho William Laurence Bragg estudaram o fenômeno que anteriormente observado por Laue, rendendo-lhes um Nobel em física em 1915 por deduzirem a equação conhecida por Lei de Bragg [65,66].

De acordo com Henry Bragg e Laurence Bragg, quando raio X incide sobre um material sólido cristalino, são gerados feixes difratados com reflexão especular com planos paralelos do cristal que estão associados com a interação entre a radiação incidente aos elétrons e/ou íons presentes na amostra. Todos os planos presentes na amostra podem se difratar, no entanto, só ocorrerá difração nos planos que contribuirão para que as ondas incidentes tenham interferência construtiva. [67,68] (Figura 8).

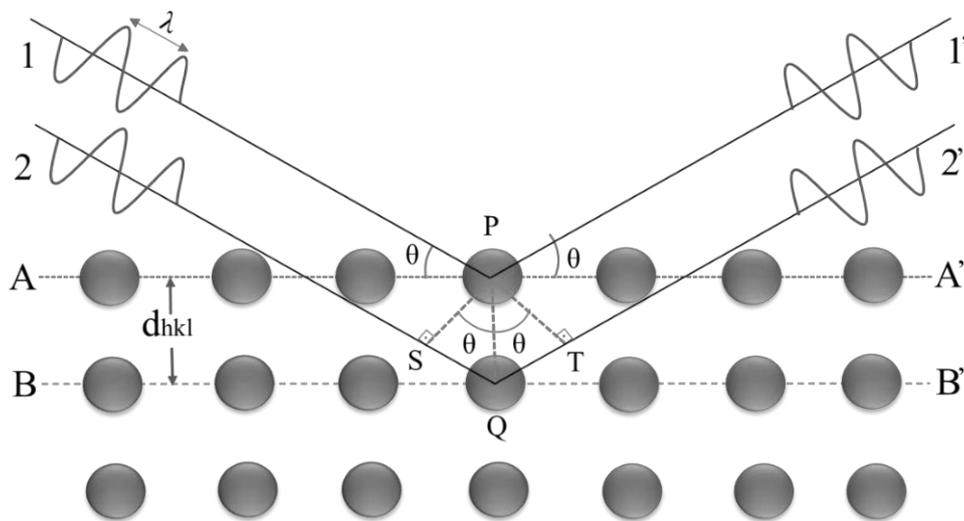


Figura 8- Representação da Difração de Raios X por meio de um cristal.

Fonte: Adaptado [55]

A Figura 8 mostra três planos formados por átomos em paralelo representados pelas linhas horizontais AA' e B-B' se encontram separadas por um espaçamento interplanar (d_{hkl}),

onde apresentam índices de Miller (hkl). O feixe de raios X incidente (1 e 2) é monocromático e possui comprimento de onda λ , que ao incidir sobre os planos (A-A' e B-B') difrata-se em fase (1' e 2'), formando um ângulo θ . Os raios 1 e 2 são dispersados pelos átomos P e Q, e a diferença da trajetória das ondas 1-P-1' e 2-Q-2' [33] é igual a:

$$\overline{SQ} + \overline{QT} = d_{hkl} \text{sen}\theta + d_{hkl} \text{sen}\theta = 2d_{hkl} \text{sen}\theta \quad (1)$$

As duas ondas difratadas (1' e 2') estão em fase, proporcionando uma interferência construtiva ao somar suas amplitudes para ocorrer a difração. Se a diferença entre os caminhos $\overline{SQ} + \overline{QT}$ resultar em número inteiro n de comprimentos de onda da radiação incidente, a Lei de Bragg será satisfeita [69].

$$n\lambda = 2d_{hkl} \text{sen}\theta \quad (2)$$

A técnica de difração de raios X pelo método do pó é geralmente utilizada para caracterizar materiais policristalinos, onde são pulverizados em pequenos cristaltos distribuídos aleatoriamente, com isso, garante que todos os planos do cristal sejam favorecidos na medida do difratômetro. A amostra estará orientada a um ângulo θ em relação ao feixe de raios X e com ângulo 2θ em relação ao detector, satisfazendo a lei de Bragg [23,67,70].

Os difratogramas obtidos através das medidas de difração podem obter maior validade quando sucedidos por tratamentos matemáticos, como o método Rietveld e o método Le Bail [71,72].

2.7.1.1 Método de Rietveld

O método matemático para refinamento de estruturas cristalinas foi desenvolvido por Hugo Rietveld, denominado- Método de Rietvelt. A técnica proporciona uma vasta variedade de informações estruturais da amostra analisada, tais como: parâmetros de rede, estequiometria do sistema, números de átomos por célula unitária, coordenadas atômicas, entre outras. A técnica consiste em minimizar a diferença entre o difratograma experimental com o difratograma calculado (teórico) utilizando parâmetros já estabelecidos e dispostos na literatura [73,74].

O método é fundamentado pelos conceitos do método dos mínimos quadrados para se obter o melhor ajuste possível entre os difratogramas, realizando os ajustes mais adequado possível para aproximar as intensidades dos picos observados experimentalmente e no padrão calculado [73,75], conforme a Equação 3:

$$S_y = \sum_i w_i (y_{io} - y_{ic})^2 \quad (3)$$

Sendo que $w_i = 1/y_{io}$, y_{io} = intensidade observada no i-ésimo passo e y_{ic} = intensidade calculada no i-ésimo passo.

Para o refinamento ser considerado bom, os gráficos das intensidades do difratograma calculado precisam se sobrepor às intensidades do difratograma experimental, de tal maneira que a linha da diferença existente entre eles seja quase a uma reta [73]. As seguintes equações definem a qualidade do refinamento:

$$R - \text{perfil} = R_p = \frac{\sum |y_{io} - y_{ic}|}{y_{io}} \quad (4)$$

$$R - \text{ponderado} = R_{wp} = \sqrt{\frac{\sum w_i (y_{io} - y_{ic})^2}{\sum w_i y_{io}^2}} \quad (5)$$

$$R - \text{esperado} = R_{\text{exp}} = \sqrt{\frac{N - P}{\sum w_i y_{io}^2}} \quad (6)$$

Neste caso, N significa o número de pontos experimentais, e P correlaciona o número de parâmetros ajustados.

Dos vários parâmetros utilizados para verificar a qualidade do perfil do refinamento, o R_{wp} é estatisticamente considerado como o mais significativo, visto que conforme realiza-se o refinamento o progresso do tratamento de dados que deve ser minimizado. Além disso, a porcentagem do R_{wp} deve ser inferior a 10% para o refinamento ser considerado satisfatório [76]. Entretanto, o parâmetro *Goodness-of-fit* (GOF) também é bastante utilizado para definir a qualidade do perfil de refinamento, representa matematicamente a razão entre o R_{wp} e o R_{ewp} (Equação 7)

$$\text{Goodness - of - fit} = \text{GOF} = S = \frac{R_{wp}}{R_{ewp}} \quad (7)$$

O valor do GOF deverá estar entre 1 a 1,5 para refinamentos com boa qualidade, entretanto, também são consideráveis aceitáveis valor até 4 para ajustes nos difratogramas [76–78].

2.7.1.2 Método Le Bail

O método Le Bail foi desenvolvido em 1988 por Armel Le Bail, com o objetivo de ajustar o padrão de difração calculado ao observado sem a utilização de um modelo estrutural [79,80].

O fator estrutural é alcançado através das intensidades observadas no padrão de difração com diversos ciclos de mínimos quadrados aplicados aos dados, depois de eliminar a radiação de fundo. A estrutura é extraída por meio de uma técnica de decomposição usada no método Rietveld, onde em todos os pontos as intensidades observadas no padrão de difração em pó são divididas em distintas reflexões harmônicas às intensidades calculadas [77,80].

Utiliza-se o método Le Bail para regular os padrões de difração quando se tem conhecimento dos parâmetros de rede e o grupo espacial de simetria, entretanto sem que haja posições atômicas e o modelo estrutural de um determinado material [80]. O seu principal objetivo é a capacidade de formar um conjunto de intensidades integradas que são utilizadas para resolver estruturas de materiais desconhecidos. Ressalta-se ainda que só apresenta variação com a minimização dos quadrados os parâmetros da célula unitária, comprimento e as formas dos picos, entretanto é uma técnica que necessita de mais ciclos de interação que o método Rietveld [78].

O que diferencia o método Le Bail e o método de Rietveld, é que no método de Rietveld as intensidades são calculadas a partir de um modelo da estrutura cristalina, enquanto no método Le Bail utiliza-se as intensidades observadas no padrão de difração medido [76,77].

Inicialmente, no método Le Bail, todos os valores das intensidades calculadas são fixados arbitrariamente, e não depende do número de reflexões ao fazer a análise do número de variáveis livres pelos mínimos quadrados na decomposição dos dados, além disso, refina-se a cada ciclo as funções de perfil e os parâmetros de rede [80].

Atualmente há disponíveis diversos software que fazem a deconvolução do padrão de difração, também definem as intensidades individuais e fatores estruturais analisados em todas as reflexões possíveis, como: FullProf, GSAS, dentre outros [63].

2.7.2 Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis)

O estudo é fundamentado na determinação da absorção de luz em uma amostra no intervalo de comprimentos de onda de 200 a 800 nm. A Tabela 1 apresenta a classificação das regiões com respeito aos espectros, assim como as energias correspondentes a esta faixa [81].

Tabela 1- Região do Ultravioleta-Visível

Região	Comprimentos de Onda (nm)	Energia (k.cal.mol⁻¹)
Ultravioleta	200 a 400	150 a 72
Visível	400 a 800	72 a 36

A energia absorvida pela amostra é quantizada na espectroscopia UV-Vis, ocasionando sobreposição da absorção eletrônica a subníveis rotacionais e vibracionais, com isso, o espectro UV-Vis possui aspecto de uma larga banda. As principais particularidades das bandas de absorção são: posição e intensidade, o comprimento de onda da radiação localiza-se no baricentro de absorção, uma vez que a energia é equivalente à necessária para ocorrer a transição. Além disso, a intensidade é dependente da interação entre a energia incidente e o sistema eletrônico [82].

Na região do ultravioleta são utilizadas células de quartzo para determinar a luz absorvida/transmitida, já que nesta faixa do espectro estas não absorvem radiação. Fótons com energias são incluídos nas radiações nesta zona, pois podem ocasionar transições de elétrons de valência. Este processo está relacionado à estrutura das moléculas absorventes. A quantidade de fótons absorvidos será equivalente ao número de centros absorventes localizados pela radiação durante o percurso mediante a solução [82].

A lei de *Lambert-Berr* fundamenta a absorção da luz em função da espessura do meio, relacionando a absorbância/transmitância dos eletrólitos presentes na solução reacional [83,84]. Ela associa a intensidade da luz incidindo na solução (I_0), e a intensidade da luz saindo da solução (I) (Equação 8):

$$\log \frac{I_0}{I} = A = \epsilon cl \quad (8)$$

Onde:

A = Absorbância

ϵ = Absortividade Molar

c = Concentração do Solutivo

l = Espessura do compartimento da amostra por onde a luz atravessa

A determinação da luz que a amostra absorveu é o cálculo mais importante, já que em compostos orgânicos que apresentam ligações simples, a absorção é muito forte na região do ultravioleta distante, assim como os compostos que possuem ligações conjugadas que realizam

absorção em maiores comprimentos de onda. Ressalta-se que quanto maior for o sistema conjugado, mais longo será os comprimentos de onda absorvidos, com isso pode-se chegar à região do visível [83].

O espectrofotômetro é o instrumento utilizado nas medidas de radiações eletromagnéticas emitidas ou absorvidas por um material, responsável por registrar dados de absorbância/transmitância em função do comprimento de onda. Conforme o dado registrado pelo equipamento, gera-se um espectro de absorção/transmissão característico para cada espécie química [84].

A escolha da radiação monocromática é uma importante característica dos espectrofotômetros, visto que permite determinar variadas quantitativas rígidas pelo princípio de *Lambert-Beer*. Na região UV-Vis utiliza-se alguns instrumentos específicos, como componentes óticos de quartzo e detectores altamente sensíveis que tenham a capacidade de detectar radiações neste meio espectral em que o instrumento opera. Os espectrofotômetros geralmente são formados por cinco constituintes principais: detectores de sinal, indicadores de sinal, fontes de radiação, monocromador e recipientes para conter soluções [82].

2.7.3 Análises Térmicas

As técnicas análises térmicas são fundamentais para compreender o comportamento físico-químico quando um material é submetido a uma variação de temperatura [85]. Nesta seção apresenta os fundamentos das técnicas relacionadas ao estudo das análises térmicas utilizadas nesta pesquisa.

2.7.3.1 Análise Termogravimétrica (TG)

A termogravimetria ou análise termogravimétrica é uma técnica termoanalítica que se fundamenta no estudo da variação mássica apresentada pela amostra em função da temperatura ou do tempo, pode estar associado a eventos físicos e/ou químicos conforme as características do material. Além disso, os dados do material podem ser influenciados por alguns fatores, como um programa de controle de temperatura, fatores instrumentais ou fatores ligados diretamente às características da amostra [85,86].

Dentre os fatores relacionados as características da amostra: (1) Quantidade de amostra; (2) Natureza da amostra; (3) Calor de reação; (4) Solubilidade dos gases liberados na amostra; (5) Condutividade térmica; (6) Compactação da amostra. Estes efeitos não devem ser ignorados para que ocorra dados precisos a partir das curvas TG. Necessita-se de muita atenção e cautela

do analista no pré tratamento e preparo do material com intuito de extinguir estes erros [86–88].

A temperatura inicial do fenômeno é referente à temperatura que principia a perda de massa da amostra, ou seja, ponto que o material apresenta instabilidade e liberação de substâncias voláteis. O início deste evento térmico denomina-se de temperatura *onset* (T_{onset}), e o evento final de temperatura *endset* (T_{endset}). O centro no pico da curva TG, inflexão na curva, é quando a massa da amostra varia de forma mais rápida [85,87].

Como representado na Figura 9, as mudanças na curva TG em relação ao eixo das ordenadas, é referente às variações de massa relacionados à amostra. Isto permite a obtenção dos dados que posteriormente são utilizados em tratamentos matemáticos. Através da TG é possível reproduzir e a adquirir resultados que podem ser utilizados com finalidade quantitativa e qualitativa, sendo estes dados reprodutíveis. Além disso, o uso desta técnica pode ajudar no controle da qualidade de medicamentos, melhorar produtos e analisar a decomposição térmica de substâncias [85–88].

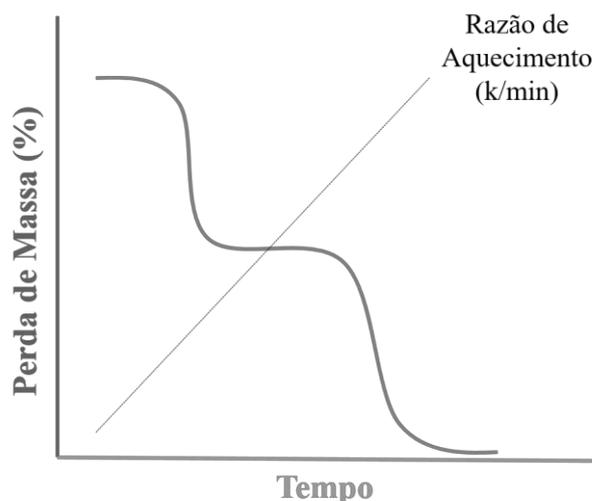


Figura 9- Representação da Curva TG.

2.7.3.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A análise térmica diferencial (DTA) é uma técnica termoanalítica que mede a diferença de temperatura entre o material analisado e uma substância termicamente inerte tomado como referência. Utiliza-se um analisador térmico diferencial em ambos serão aquecidos e/ou resfriados em um programa de temperatura controlada [85]. As curvas de DTA são diferenciais,

visto que apresentam a diferença entre a temperatura de referência (T_r) e da amostra analisada (T_a), configurado pela equação simples $T_r - T_a = \Delta T$, sendo que o aquecimento e arrefecimento ocorrem de forma linear ($dT/dt = Cte$) [89].

As curvas de DTA podem apresentar eventos endotérmicos e exotérmicos. Conforme a configuração do equipamento esses eventos podem surgir picos para cima indicando um evento exotérmico e picos para baixo referentes a eventos endotérmicos. As curvas DTA apresentam dados tanto referentes a alterações físicas como reações químicas, a Figura 10 apresenta alguns eventos que podem surgir relacionados à DTA [22,85].

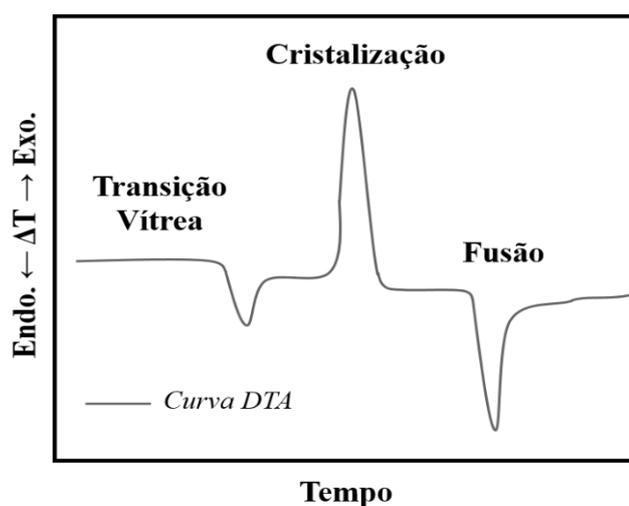


Figura 10- Representação da Curva DTA.

Fonte: Adaptado de [90].

As transições ocasionam as mudanças de temperatura em decorrência do surgimento de alguma alteração no material, seja esta fusão, transição de fase, oxidação, decomposição, reações de desidratação, sublimação, redução dentre outras reações físico-químicas. Certos eventos são conhecidos por gerarem respostas endotérmicas ou exotérmicas, geralmente eventos como cristalização produz efeito exotérmico enquanto na desidratação causa o efeito endotérmico [82].

2.7.3.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) pode ser definida como uma técnica para medir a temperatura e o fluxo de calor associados com as transições do material analisado em

função da temperatura e do tempo. Assim como as outras técnicas termoanalíticas, o DSC possui uma substância de referência. Entretanto, este método mede a variação da entalpia do sistema e suas informações são a respeito das mudanças físico-químicas do material durante os processos de liberação e absorção de calor, assim como as mudanças na capacidade calorífica [85,87].

A análise de DSC exhibe características específicas das amostras, como: temperatura de transição vítrea, temperatura de cristalização, ponto de fusão, calor específico, pureza, cinética, oxidação, entre outras. Pode-se observar na Figura 11 um gráfico hipotético de DSC apresentando eventos térmicos característicos dessa técnica.

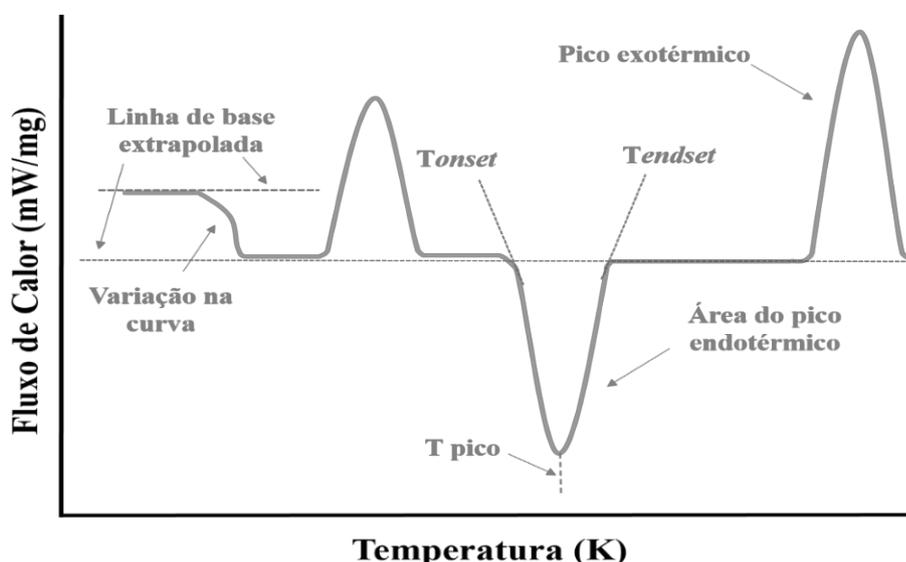


Figura 11– Representação da Curva DSC.

Fonte: Adaptado de [90].

Como observado na Figura 11, a alteração da linha de base na direção endotérmica no início da curva DSC, refere-se à transição vítrea de um material. Enquanto os eventos exotérmicos anteriores da temperatura de fusão indicam um processo de cristalização. A uma temperatura específica para uma amostra que apresenta um evento endotérmico na curva DSC, pode devido a um evento de fusão. Bem como um pico agudo com caráter exotérmico de elevada intensidade remete-se a um processo de oxidação [90].

2.7.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As técnicas de espectroscopia utilizam uma ou mais radiações eletromagnéticas envolvendo a radiação ultravioleta, visível, raios X, micro-ondas e infravermelho que são muito utilizadas para estudos da matéria e suas transformações. A interação entre a radiação com a matéria pode ocasionar transições entre os níveis eletrônicos nos átomos, além de possibilitar vibrações moleculares e atômicas conforme as características da amostra [91,92].

A radiação infravermelha (IV) possui comprimento de onda maior que da luz visível, sendo invisível ao olho nu. Além disso, referente aos aspectos atômicos, essa não possui energia necessária para ocorrer as transições eletrônicas. Entretanto, pode haver absorções que provocam alterações nos estados vibracionais e rotacionais com respeito ao estado fundamental [93,94]. Os principais tipos de vibrações podem ser vistos na Figura 12.

A técnica de espectroscopia no infravermelho baseia-se na aplicação de um pacote de energia que ao refletir na amostra causa interações que impulsionam a agitação entre os átomos, ou seja, altera os estados energéticos vibracionais. A energia que comumente utilizada nos estudos espectroscópicos possui uma faixa de frequência entre 4.000 a 400 cm^{-1} . Para ocorrer a absorção, necessita-se que a frequência incidida seja igual a frequência vibracional das ligações químicas do material, portanto, variação no momento dipolo da molécula [92,95].

Através da análise da radiação transmitida é possível determinar a quantidade de energia absorvida em cada frequência. Além disso, essa técnica é amplamente utilizada para identificar compostos orgânicos e inorgânicos, visto que é possível observar bandas característica de cada vibração que compõe a amostra, por exemplo, banda de água que apresenta forte absorção em frequências entre 3900-3200 cm^{-1} [96].

Para determinar/atribuir a vibração de certo grupo funcional não necessita do restante da composição da molécula, uma vez que esta vibração sempre possui a mesma frequência característica, ou próxima. Com isso, as vibrações podem ser classificadas em estiramentos ou dobramentos [92,97].

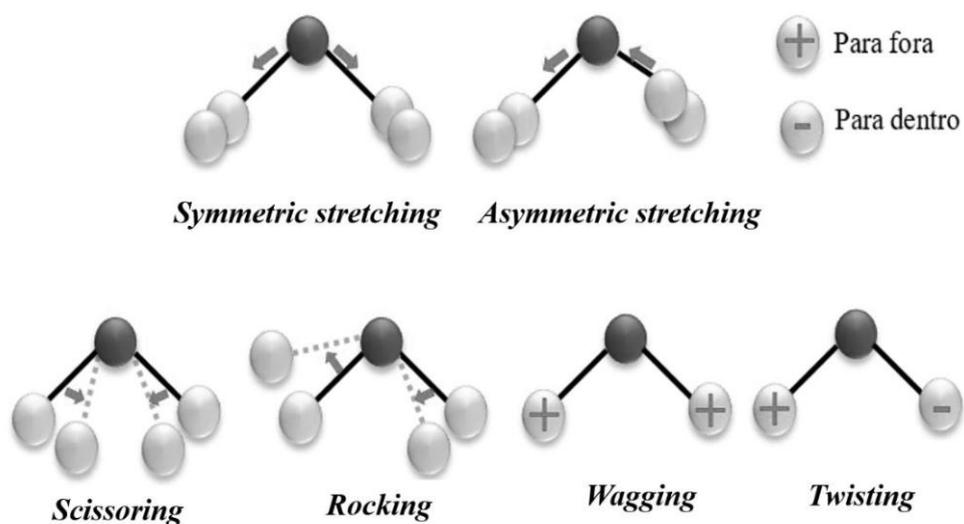


Figura 12- Movimentos vibracionais dos átomos
 Fonte: Adaptado de [82].

Os estiramentos são movimentos de flexões que os átomos fazem quando estão ligados a um átomo central, podendo ocorrer o encurtamento ou alongamento da ligação. Este tipo de vibração pode ocorrer em fase (simétrico) ou fora de fase (assimétrico), dependendo do comportamento do grupo que está vibrando. Entretanto, as posições dos átomos não se alteram nos desdobramentos, todavia, as vibrações acontecem formando um eixo perpendicular no sentido das ligações que podem provocar deformações dentro e fora do plano, assim como alterações nos ângulos que existem entre os átomos (Figura 12) [96].

A técnica de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier é uma adequação da técnica convencional de espectroscopia no infravermelho, no qual é utilizado o uso de feixes eletromagnéticos que geram interferogramas e posteriormente incidem na amostra medindo a quantidade de feixe que foi absorvida. No interferômetro os comprimentos de ondas são detectados e medidos simultaneamente, resultando em uma técnica com maior rapidez na coleta os dados [82,96].

2.7.5 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica vibracional fundamentada nas vibrações dos átomos existentes na amostra analisada, é amplamente utilizada para identificar materiais orgânicos e inorgânicos. Quando uma radiação monocromática (proveniente de um laser) incide sobre o material, grande parte da radiação é espalhada com frequência idêntica à radiação

incidente, esse fenômeno elástico do espalhamento da luz é conhecido como espalhamento *Rayleigh* [98,99].

Quando os fótons colidem na amostra pode ocasionar também espalhamento inelástico, entretanto, na ordem de 1 em cada 10⁷ partículas. Este fenômeno é conhecido como espalhamento Raman e pode ser classificado em Espalhamento *Stokes* e Espalhamento *anti-Stokes* com frequência abaixo e acima da frequência incidente, respectivamente. A Figura 13 mostra os tipos de espalhamentos quando ocorre a incidência de uma luz monocromática, assim como suas definições [93,100].

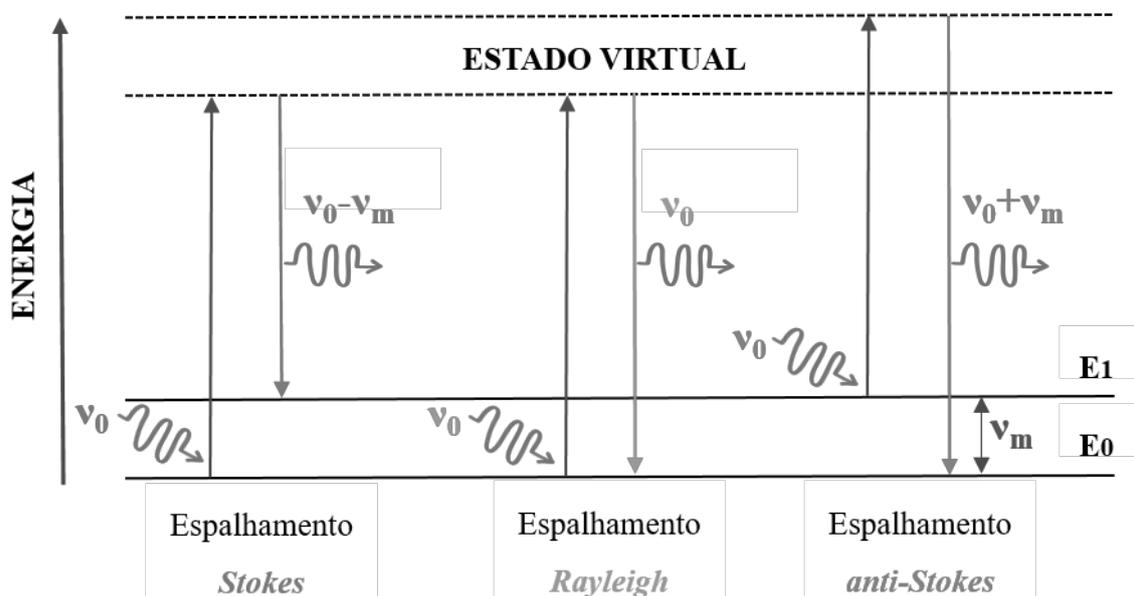


Figura 13- Espalhamento Rayleigh e Raman (Stokes e Anti-Stokes)

Conforme a Figura 13 e de acordo com Skoog, o efeito Raman e seus espalhamentos pode ser compreendido pelo princípio da conservação de energia (Equação 9), na qual a frequência da radiação espalhada ν_e , é proporcional a frequência de um fóton incidente (ν_0) aproximadamente a frequência da molécula (ν_m) [92].

$$h\nu_e = h\nu_0 \pm h\nu_m \quad \text{ou} \quad \nu_e = \nu_0 \pm \nu_m \quad (9)$$

Para melhor compreensão do efeito Raman, considera-se que quando um fóton erradia em uma molécula que encontra-se no estado vibracional fundamental E_0 , esta pode ser excitada

em virtude da absorção de fótons resultando em uma transição momentânea para um estado mais energético (estado virtual), depois decai para um estado vibracional E_1 , acima do fundamental, visto que esta molécula absorve parte da energia do fóton incidente. O fóton que será espalhado terá menor energia em comparação com o fóton incidido, dado por $\nu_e = \nu_0 - \nu_m$, este é representado pelo espalhamento Stokes mostrado na Figura 13 [82].

Quando a molécula retorna ao estado fundamental, o fóton espalhado tem a mesma energia do fóton incidente, onde $\nu_e = \nu_0$, correspondente ao espalhamento Rayleigh. Entretanto, se a molécula já estiver no estado vibracional (E_1) quando receber irradiação pelos fótons incidente e depois à excitação seguida do decaimento para o estado fundamental (E_0), originará fótons espalhados com energia maior que a do fóton incidente, em que $\nu_e = \nu_0 + \nu_m$, este espalhamento configura a linha Anti-Stokes como mostrado na Figura 13 [82].

Apesar de estarem no estado fundamental, às posições dos átomos não são fixas em moléculas, e estão constantemente oscilando devido a ocorrência dos movimentos vibracionais e rotacionais relacionado às ligações químicas. Adiante, além da radiação incidente, a energia do fóton espalhado também depende de acréscimos/decrécimos correspondentes às diferenças que há destes estados de energia rotacional e vibracional de uma molécula [22,48].

Em vista disso, a técnica de Raman tem vastas aplicações, visto que oferecerem informações significativas a respeito da constituição química das amostras analisadas, possibilitando que as análises sejam realizadas em diversos estados físicos, como cristais, gases, soluções, pós, etc. Além disto, trata-se de uma técnica não destrutiva e não exige alto grau de complexidade na forma de preparação da amostra [101,102].

3. METODOLOGIA

Nesta seção será apresentada a metodologia utilizada para a síntese do cristal ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-Valina. Além disso, serão mostrados os equipamentos utilizados para a caracterização do material e os parâmetros definidos para cada método de análise. Ressalta-se ainda que todo o processo de preparo, síntese e caracterização do material foram realizados na Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais (UPCM) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) - Campus Imperatriz em parceria com a Universidade Federal do Pará (UFPA). Os testes biológicos foram realizados em parceria com o curso de Medicina da UFMA – Campus Imperatriz.

3.1 Síntese do Cristal Ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-Valina

Para síntese e crescimento do cristal, utilizou-se materiais e equipamentos do Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) e o Laboratório de Crescimento de Cristais (LCC) da UPCM.

Os cristais foram sintetizados pela técnica de evaporação lenta de solvente. Inicialmente, foi preparado uma solução aquosa de etanol (Impex 99,8%) de 10 mL contendo CuCl_2 (0,175mmol, Sigma-Aldrich 99,6%) e 1,10- Fenantrolina (0,198mmol, Sigma-Aldrich 98,0%). Eles ficaram sob agitação constante de 240 RPM por 30 minutos. Simultaneamente, uma outra solução foi preparada, com L-valina (0,117mmol, Sigma-Aldrich 98%) e NaOH (0,04mmol Aldrich 99,6%) em 5 ml de água deionizada, a solução ficou em agitação por 30 min. Após esse período, as duas soluções foram misturadas.

Essa nova solução formada ficou em agitação magnética para a homogeneização total do material por um período de 180 minutos. Após isso, a solução foi filtrada e coberta por um papel filme de policloreto de vinila (PVC). Depois, fez-se furos aleatórios no plástico, e, por fim, a solução ficou em repouso em uma sala adaptada para crescimento de cristais a uma temperatura constante (30°C) até a formação da fase sólida.

Vale ressaltar que este cristal já foi obtido conforme reportado na literatura, cujo o nome denomina-se $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(\text{L-val})(\text{phen})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ [24]. Entretanto, neste estudo este material será nomeado de cristal ternário FVCu.

3.2 Caracterizações do Cristal

As caracterizações aplicadas para o cristal de Cobre II com 1,10-Fenantrolina e L-valina encontram-se esquematizadas no fluxograma da Figura 14, e são detalhadas a seguir.

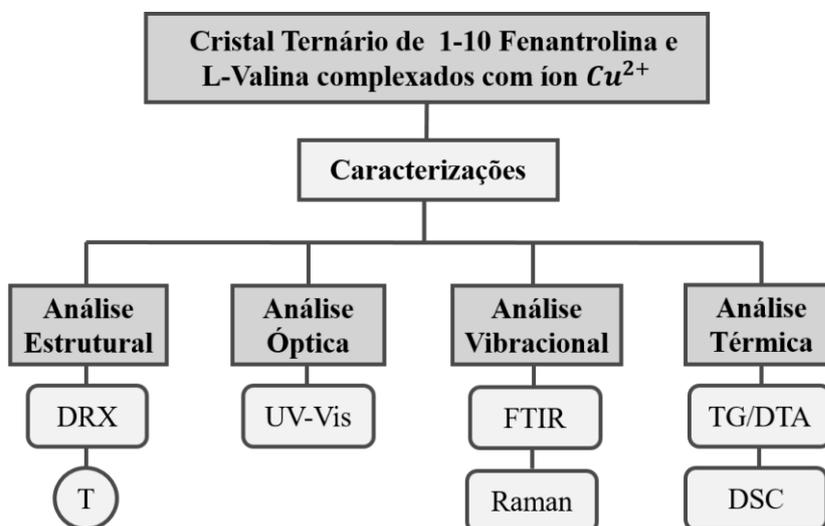


Figura 14- Fluxograma com as etapas de caracterização do cristal.

*T – Temperatura; DRX – Difração de Raios X; FTIR – Infravermelho por Transformada de Fourier; TG-DTA – Termogravimetria - Análise Térmica Diferencial; DSC – Análise Térmica Diferencial.

3.2.1 Difração de raios X

Para confirmar a estrutura do cristal ternário de 1,10-Fenantrolina e L-Valina com cobre (II), as amostras foram submetidas à técnica de difração de raios X, onde se pulverizou o cristal em almofariz de ágata com pistilo e colocou-se em um porta-amostra de vidro.

Para o estudo de difração de raios X (DRX) utilizou-se um difratômetro da PANalytical modelo Empyrean (Figura 15), operando com radiação $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), geometria Bragg-Brentano, monocromador pirolítico de grafite, com câmara de temperatura Anton-Paar modelo TTK 450. Nesta medida, foi utilizado passo angular de $0,02^\circ$, com intervalo angular de $5-45^\circ$, e tempo de aquisição de 2 s. A medida foi realizada no laboratório LDRX da UPCM.

A partir dos difratogramas obtidos com as medidas pela técnica de DRX do cristal, empregou-se o método de Rietveld, (método utilizado na caracterização de materiais cristalinos na forma de pó), utilizou-se o software GSAS-EXPGUI para realização do refinamento da estrutura cristalina do material [73].

Para as medidas de DRX em função da temperatura foi utilizado o mesmo difratômetro com os mesmos parâmetros, em uma faixa de temperatura entre 27 e 232°C. A medida foi realizada no LDRX da UPCM.



Figura 15- Difratômetro da *PANalytical* modelo *Empyrean*

3.2.2 Análise Óptica

O cristal ternário FVCu foi submetido ao estudo de propriedades ópticas, sendo caracterizado por Espectrofotometria no UV-Vis.

As medidas de absorbância foram realizadas em um espectrofotômetro UV/VIS/NIR/UV da marca Thermo Scientific modelo Evolution 220 (Figura 16) no intervalo de comprimento de onda de 500 a 1100 nm, para soluções preparadas em pH aniônico (8,98) e catiônico (6,54), utilizando-se cubetas de quartzo com intervalo de 10 nm/s. A medida foi realizada no Laboratório de Síntese e Caracterização de Materiais Farmacêuticos (LABFARMA) na UPCM.



Figura 16- Espectrofotômetro SHIMADZU UV/VIS/NIR/UV-3600

3.2.3 Análise Térmica

Foi realizado o estudo de propriedades térmicas do cristal ternário FVCu, através das medidas de TG-DTA simultâneos e DSC. As análises de DSC e TG-DTA foram realizadas no Laboratório de Análises Térmicas (LAT) na UPCM. Para as medidas de DSC utilizou-se o equipamento DSC-60 da *Shimadzu* (Figura 17). Foram utilizados em torno de 1,2 mg de amostra, em atmosfera de nitrogênio com vazão de 100 mL/min, com uma razão de aquecimento de 10°C/min, utilizando cadinho de alumínio aberto, em uma faixa de temperatura entre 20 a 40°C.



Figura 17- Analisador térmico (DSC) marca Shimadzu modelo DSC-60

Na medida de TG-DTA a amostra foi analisada de forma simultânea por meio de um analisador termogravimétrico da *Shimadzu* modelo DTG-60 (Figura 18) utilizando cadinho de alumínio fechado, numa atmosfera de nitrogênio com fluxo de 100 mL/min, com uma faixa de temperatura de 20 a 900 °C em razão de aquecimento de 10°C/min.



Figura 18- Analisador térmico (TG/DTA) marca Shimadzu modelo DTG-60.

3.2.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A medida de FT-IR foi realizada no Instituto de Tecnologia (ITEC) da Universidade Federal do Pará (UFPA), em parceria com Prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira. O espectro do cristal foi obtido em temperatura ambiente, com uma média de 64 varreduras e resolução espectral de 4 cm⁻¹ na região de 4000 a 650 cm⁻¹.

3.2.5 Espectroscopia Raman

Com a finalidade de verificar possíveis alterações nas propriedades vibracionais do cristal semiorgânico sintetizado, realizou-se medidas Raman em um espectrômetro triplo, marca Jobin-Yvon modelo T64000 (Figura 19) com detector CCD resfriado a ar, utilizando laser de estado sólido com $\lambda = 532$ nm, potência de 0,5 mW e resolução espectral de 2 cm⁻¹. As medidas de espectroscopia Raman foram realizadas na Universidade Federal do Pará em Belém-PA, em parceria com o Grupo de Espectroscopia Raman e Transição de Fase (GERTRAF).



Figura 19- Espectrômetro Raman marca Jobin-Yvon modelo T64000

3.3.5 Teste de solubilidade e Avaliação Antitumoral *in vitro*

3.3.5.1 Ensaio de Solubilidade

Para o estudo de solubilidade do cristal FVCu, preparou-se uma solução supersaturada em 100 mL de água deionizada, com pH=7. Em seguida esta solução foi colocada em agitação magnética a 360 RPM, a temperatura de 35 °C durante 240 minutos, onde retirou-se alíquotas em intervalos de tempo pré-determinados. A determinação da absorbância do material foi em um comprimento de onda de 606 nm, utilizando o mesmo espectrômetro UV-Vis descrito na seção 3.2.2. Além disso, baseando-se na associação entre concentrações conhecidas do cristal FVCu e suas respectivas absorbâncias em 606 nm, preparou-se uma curva analítica padrão. A metodologia utilizada foi feita paralelo a métodos já dispostos na farmacopeia britânica [103].

3.3.5.2 Avaliação da atividade antitumoral, in vitro

Foram plaqueadas 3×10^5 células da linhagem PC-3, por poço, em placas de 96 poços (5×10^4 células/mL em 200 μ L de meio). Após um período de 24 horas, o cristal FVCu foi adicionado em concentrações (1:1) de 12,5 μ M a 0,09 μ M. Cada concentração em duplicata e incubada por 72 horas. Depois de 72 horas de incubação, o sobrenadante foi substituído por meio de cultura contendo MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina), 0,5 mg/mL. Após 3 horas o sobrenadante foi removido, e depois da secagem da placa, o precipitado contendo azul de formazam de MTT foi dissolvido em 150 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO), e a absorbância foi medida a 540 nm. Em seguida foram calculadas as IC_{50} que é a concentração do composto necessária para impedir o crescimento em 50% de todas as células [113].

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese do Cristal FVCu

O cristal ternário de 1,10-Fenantrolina e L-Valina com Cu (II) foi sintetizado pela técnica de evaporação lenta do solvente após um período de 15 dias. Este composto tem coloração azul, sugerindo a possível complexação dos compostos orgânicos ao íon metálico Cu^{2+} [61,104].

Para a obtenção do cristal FVCu, identificou-se o pH ideal para o crescimento deste composto. Através da relação de absorbância em função do comprimento de onda pode-se determinar a natureza do ligante e o desdobramento do campo cristalino. A Figura 20 apresenta os espectros para as soluções do composto ternário em pH catiônico (6,54) e aniônico (8,98).

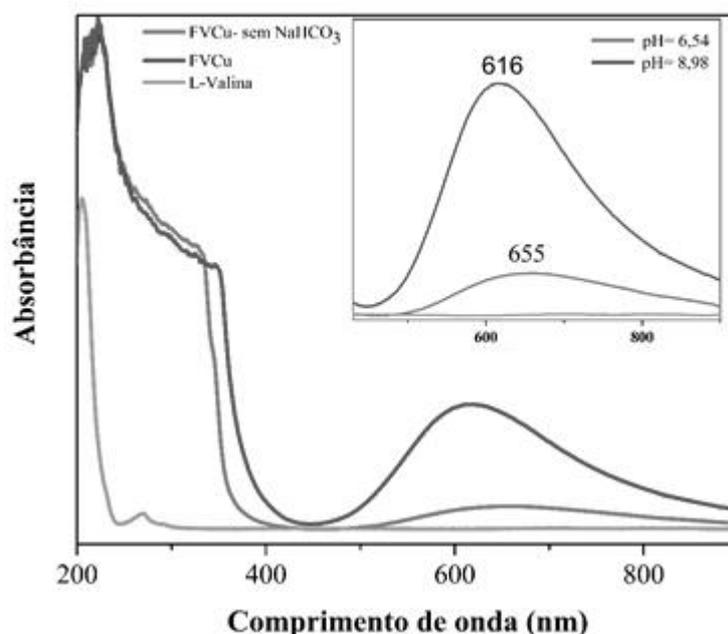


Figura 20- Espectros de absorção óptica da solução do composto ternário em diferentes pH.

Com base na Figura 20 e conforme Yodoshi *et al* [35], para a formação do cristal ternário, o pH que apresenta maior cristalização deste composto é o aniônico (pH=8,98) onde encontram-se desprotonadas as estruturas moleculares da L-Valina devido a dissociação do hidrogênio no grupo carboxílico. Com isso, a estrutura do aminoácido liga-se ao cobre que está ligado a fenantrolina.

Nota-se também que o íon metálico possui muita influência no pH do complexo, já que o Cobre é um metal de transição que ocorre em 3 estados de oxidação diferentes: +1, +2 e +3. O estado +1 apresenta configuração eletrônica $[\text{Ar}]3d^{10}$, possuindo os orbitais e_g e t_{2g} completos. Em vista disso, a maioria destes complexos de cobre (I) é diamagnética e a ausência de transições d-d implica em complexos incolores [105,106].

No estado +2, a configuração $[\text{Ar}]3d^9$ exibe orbitais t_{2g} completos, enquanto os orbitais e_g estão semipreenchidos, devido a isto que seus compostos são coloridos e paramagnéticos. Este estado é o mais estável para o metal, geralmente exibem complexos distorcidos, como é o caso do cristal ternário de Cobre (II) deste estudo que apresenta uma estrutura de pirâmide quadrática com distorções [35,105–109].

Conforme Lee [108], e com base na Figura 20 os espectros eletrônicos de íons e os complexos para metais de transição são exibidos na região do visível e ultravioleta, este espectro de absorvância indica o desdobramento do campo cristalino, na qual confirma a coloração deste complexo em função dos ligantes ao metal.

O complexo formado de fenantrolina e Cu^{2+} (solução azul clara) apresenta pH ácido (pH=6,54) e após a mistura do complexo à solução de NaHCO_3 com a l-valina o pH encontra-se no estado aniônico (pH=8,98), alterando a sua cor para azul intenso.

Verifica-se pelo espectro de absorção que a solução é alcalina, a complexação do íon Cu^{2+} com os compostos orgânicos é favorecida como pode ser verificado na Figura 17, em que o cobre em meio ácido estava ligado a um ligante de campo fraco (H_2O) e um ligante de campo forte (1,10-Fenantrolina), agora liga-se a dois ligantes de campo forte (NH e 1,10-Fenantrolina) favorecendo a complexação em uma região de comprimento de onda menor.

Uma condição que modifica a magnitude do desdobramento do campo cristalino é a natureza do ligante, isto resulta também na mudança de cor do complexo. O Cobre coordenado a ligantes de campo fraco absorve em um comprimento de onda maior (655 nm), por isso é observado uma coloração azul fraca. Diferentemente de quando o cobre coordena-se somente a ligante de campo forte, em que o comprimento de onda absorvido é menor (616 nm), resultando na cor azul intensa.

Por meio do espectro de absorção óptica, determinou-se pH= 8,98 para o crescimento do cristal em solução aquosa, onde este apresentou dimensões médias de $4,90 \times 2,95 \times 2,15 \text{ mm}^3$, como pode ser observado na Figura 21.

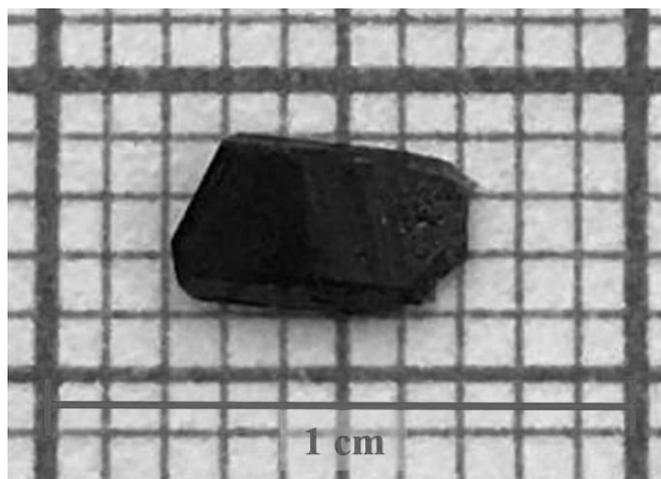


Figura 21- Cristal ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina

A Figura 22 mostra o cálculo da morfologia do cristal de FVCu que dispõe de quatorze planos morfológicos predominantes, são eles (0-10), (0-1-1), (00-1), (-1-10), (-100), (-1-1-1), (-10-1), (010), (011), (110), (001), (100), (101) e (111). O crescimento depende de diversos fatores podendo favorecer planos específicos durante a formação dos primeiros núcleos até o desenvolvimento completo do cristal [24].

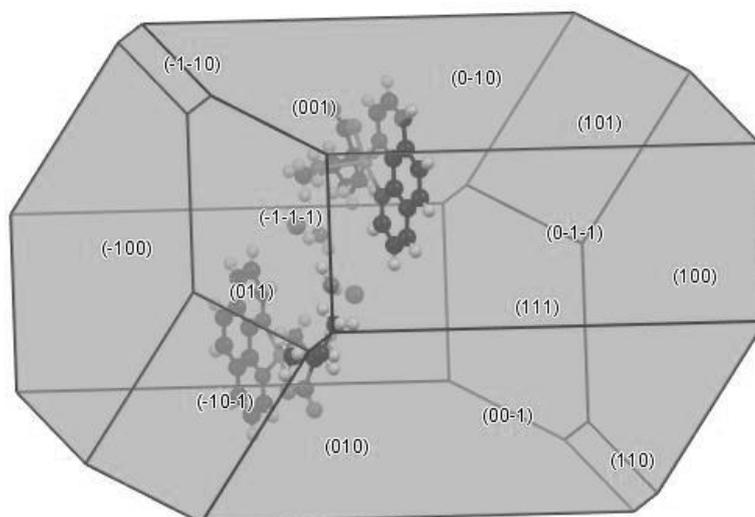


Figura 22- Morfologia para o cristal ternário de Cobre (II) com 1,10- Fenantrolina e L-valina

4.2 Difração de Raios X e Refinamento pelo método de Rietveld

A estrutura do cristal foi confirmada por meio de medidas de difração de raios X, e os dados obtidos foram refinados pelo método de Rietveld e o resultado é mostrado na Figura 23, onde se comparou o difratograma experimental, com o teórico obtido a partir de dados cristalográficos disponíveis na literatura. É mostrado que a diferença entre ambos os difratogramas é pequena como pode ser vista pela curva $I_{Exp} - I_{Calc}$.

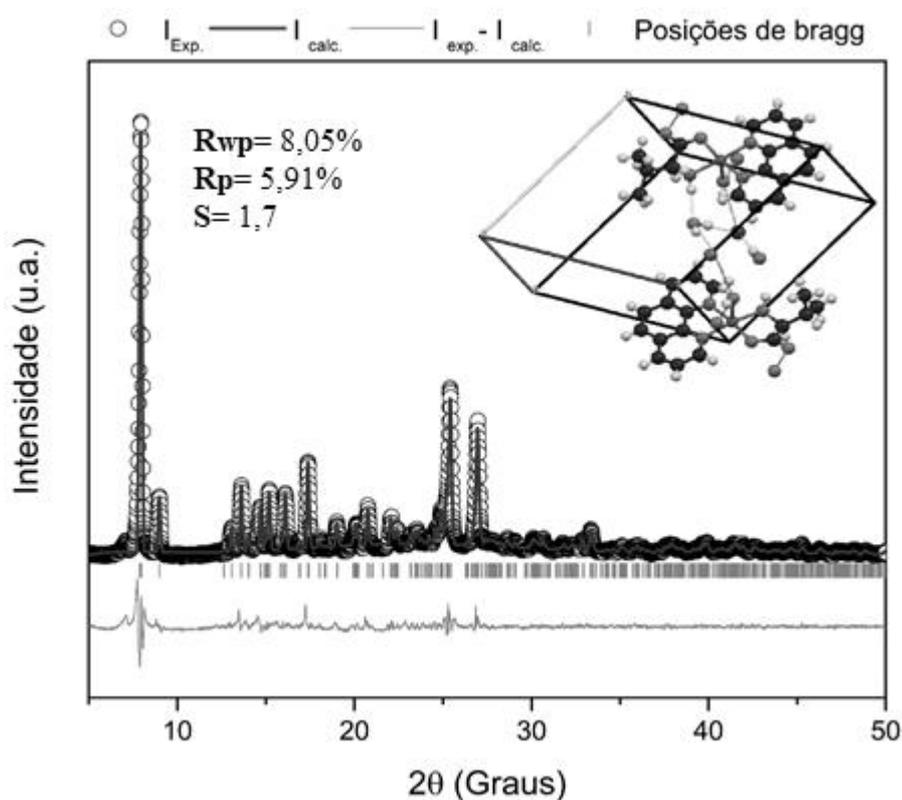


Figura 23- Difratograma de raios X refinado pelo método de *Rietveld* para o cristal ternário de 1,10-Fenantrolina e L-valina complexado com Cobre (II)

A partir do refinamento pelo método de Rietveld do difratograma de difração de raios X, pode-se afirmar que em temperatura ambiente ($25\text{ }^\circ\text{C}$) a amostra se cristalizou em um sistema triclinico com grupo espacial P1 contendo duas moléculas por célula unitária ($Z=2$), obtendo os seguintes parâmetros de rede, $a = 7,173(4)\text{ \AA}$, $b = 11,967(9)\text{ \AA}$ e $c = 12,279(1)\text{ \AA}$ e os ângulos $\alpha = 68,290(8)^\circ$, $\beta = 77,810(8)^\circ$ e $\gamma = 83,661(7)^\circ$. Estes dados concordam com o estudo feito por *Le et al* 2006 [24].

Os dados analisados mostram boa confiabilidade. Tal fato pode ser explicado devido os valores baixos de $R_{wp}= 8,05$, $R_p= 5,91\%$ e $S= 1,7$. Estes mostram boa concordância entre as intensidades observadas do material de estudo com as calculadas.

Os parâmetros de rede obtidos pelo refinamento do FVCu estão em concordância com os valores reportados na literatura, cuja a diferença percentual é inferior a 0,3%, A Tabela 2 mostra essa diferença, assim como, outros dados cristalográficos. Verificou-se ainda pelo difratograma que o material sintetizado não apresenta mistura de fase, indicando alto nível de cristalinidade em sua estrutura.

Tabela 2- Dados cristalográficos para o composto ternário de Cobre (II) com 1,10- Fenantrolina e L-valina

Dados Cristalográficos	Literatura	Experimental	Diferença (%)
Sistema Cristalino	Triclínico ($\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$)	Triclínico ($\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$)	-
Grupo Espacial	P1	P1	-
Parâmetros de Rede	$a= 7,157 (2) \text{ \AA}$ $b= 11,967 (4) \text{ \AA}$ $c= 12,249 (4) \text{ \AA}$	$a= 7,173 (4) \text{ \AA}$ $b= 11,967 (9) \text{ \AA}$ $c= 12,279 (1) \text{ \AA}$	(0,22%) (0%) (0,25%)
Ângulo	$\alpha= 68,290 (4)^\circ$ $\beta= 77,813 (5)^\circ$ $\gamma= 83,490 (5)^\circ$	$\alpha= 68,290 (8)^\circ$ $\beta= 77,810 (8)^\circ$ $\gamma= 83,661 (7)^\circ$	(0%) (0,01%) (0,20%)
Volume	952,0 (5)	953,9 (1)	(0,20%)
Número de átomos por célula unitária	Z=2	Z=2	-

A Figura 24 mostra a célula unitária do cristal de cobre com 1,10-Fenantrolina e L-valina na fase triclínica, em temperatura ambiente. A célula unitária é formada por dois átomos de cobre, dois átomos de cloro, duas moléculas de 1,10-Fenantrolina, duas moléculas de L-valina e duas moléculas de água de coordenação e duas moléculas de água livre.

O íon de Cu^{2+} é pentacoordenado, segundo o plano basal. Além disso, possui geometria do tipo pirâmide quadrada distorcida, isto acontece em razão do impedimento esférico que surge

quando o aminoácido se liga ao metal de transição está complexado com a molécula de 1,10-Fenantrolina [17].

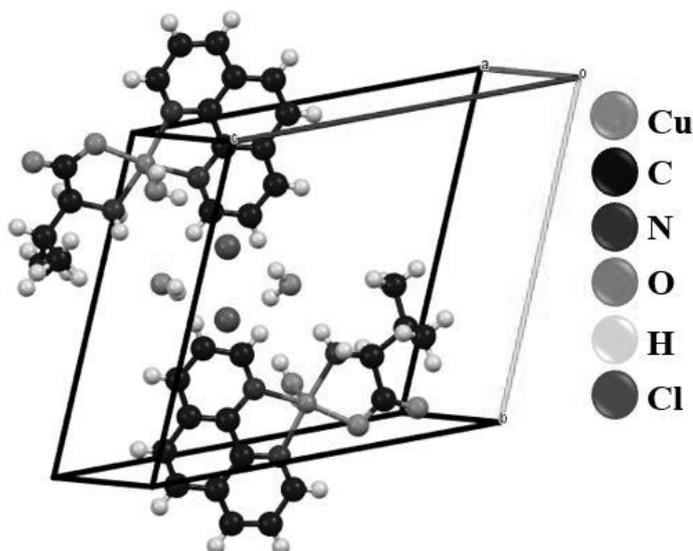


Figura 24- Célula unitária do cristal de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina.

Conforme a Figura 24, é possível notar pela célula unitária que o íon metálico Cu^{2+} é penta coordenado e está ligado a dois átomos de nitrogênio ($\text{N}_1;\text{N}_2$) da molécula de 1,10-Fenantrolina, e a um átomo de nitrogênio (N_3) e um átomo de oxigênio (O_1) oriundos da L-valina. A estrutura do cristal é formada por ligações de hidrogênio fracas e também por interações π - π entre unidades de fenantrolina.

4.3 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

Com o objetivo de identificar e comparar a presença de grupos funcionais no composto sintetizado foi realizado uma análise de FTIR. Os espectros de FTIR com as principais bandas do cristal FVCu encontram-se apresentados na Figura 25. A análise comparativa foi feita com os espectros dos compostos de partida: 1,10-Fenantrolina e L-valina para uma melhor atribuição e concordância das bandas.

Como reportado na literatura, os números de onda $\leq 430 \text{ cm}^{-1}$ estão relacionadas às interações metal-ligante, atribuída como um movimento da ligação do complexo C-Cu-O [110]. Os estudos de FTIR da 1,10-Fenantrolina exibe seus modos ativos compreendidos no intervalo de 600 a 1750 cm^{-1} , como apresentado na Tabela 3.

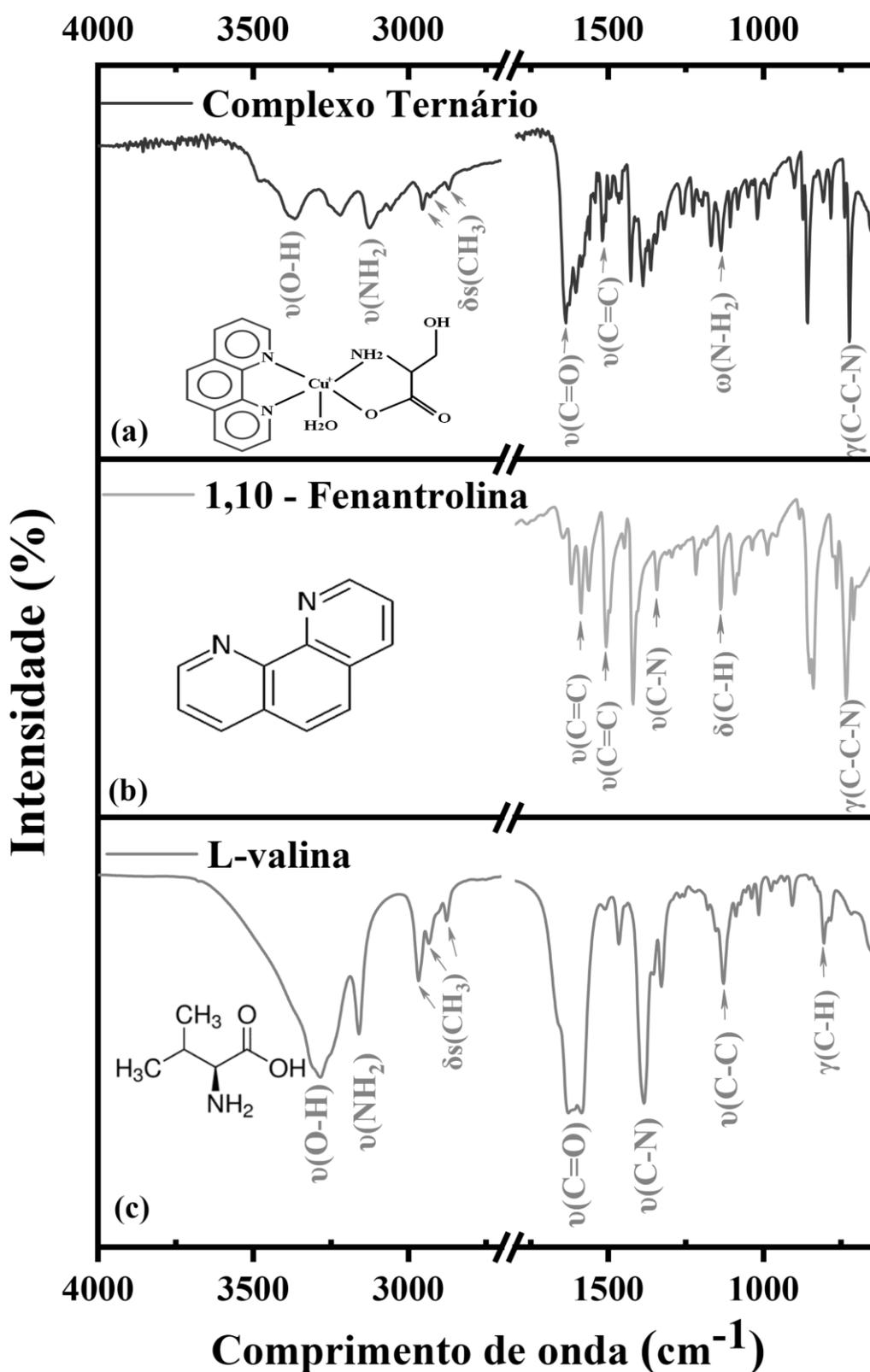


Figura 25-Espectros de FTIR das amostras: (a) complexo ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina; (b) 1,10-Fenantrolina pura e (c) L-valina pura.

Para os números de onda: 746 cm^{-1} , 782 cm^{-1} e 856 cm^{-1} que são característicos do modo “scissoring” que são típicos da deformação angular fora do plano referentes à vibração CCN, γ (C-C-N) da molécula de 1,10- Fenantrolina. A mudança de grupos em complexos metálicos para maiores números de onda explica-se por meio do encurtamento das ligações, este confere maior grau de covalência para interação entre o metal e os ligantes, ocasionando, assim, deslocamentos para frequências com maiores números de onda [96].

As vibrações em 1137 cm^{-1} são referentes ao modo *twisting* ωNH_2 proveniente da interação da 1,10-Fenantrolina com o aminoácido, às deformações angulares no plano encontradas em 1168 cm^{-1} para o complexo ternário referente à ligação C-H, δ (C-H), são provenientes da molécula de 1,10-Fenantrolina [110]. Essas classificações foram relatada por Schilt e Taylor [103] em seus estudos com complexos metais de transição com 1,10-Fenantrolina.

As bandas apresentadas nos números de onda 1427 cm^{-1} , 1519 cm^{-1} e 1585 cm^{-1} são referentes ao estiramento C=C aromático, ν (C=C) oriundo da 1,10-Fenantrolina [114, 115]. Já o estiramento percebido em 1636 cm^{-1} caracteriza o modo para CO, ν (C=O) proveniente da molécula de L-valina, como analisado por Marković, Judaš e Sabolović [111] em seu estudo com complexo de cobre (II) e L-valina.

A literatura relata que as vibrações observadas em 2870 cm^{-1} , 2930 cm^{-1} e 2954 cm^{-1} pertencem às deformações simétricas do CH_3 proveniente do grupo radicalar do aminoácido [111].

Além disso, ocorre a existência de duas vibrações (νNH_2) entre $3400\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ após a coordenação do aminoácido ao íon metálico, devido ao grupo amina em sua forma desprotonada. Entretanto, no cristal ternário nessa região ocorre o aparecimento de apenas uma banda do grupo amina (νNH) em 3125 cm^{-1} , isso pode ser justificado pela sobreposição de bandas, visto que a banda de água possui elevada absorção [111].

O aparecimento de bandas características da água acontece aproximadamente no intervalo espectral $2900\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ [96]. Observa-se uma banda larga centrada em 3366 cm^{-1} fazendo referência ao estiramento do grupo OH pertencente a molécula de água.

Tabela 3- Possíveis atribuições das vibrações de FTIR para o cristal FVCu comparado com os dados reportados na literatura para 1,10-Fenantrolina e L-valina.

DADOS EXPERIMENTAIS								
Complexo Ternário FVCU			1,10 - Fenantrolina			L-valina		
Número de onda (cm-1)	Atribuição (cm-1)	Ref.	Número de onda (cm-1)	Atribuição (cm-1)	Ref.	Número de onda (cm-1)	Atribuição (cm-1)	Ref.
746	γ (C-C-N)	[110]	710	γ (C-C-N)	[112]	640	ρ (NH ₂)	[113]
782	γ (C-C-N)	[110]	730	γ (C-C-N)	[103]	716	γ (C-H)	[114]
858	γ (C-C-N)	[110]	839	γ (C-C-N)	[103]	775	ν (C-C)	[115]
1019	ν (C-C)	[115]	848	δ (C-H)	[116]	824	γ (C-H)	[115]
1137	ω (N-H ₂)	[110]	856	γ (C-H)	[112]	901	ν (C-C)	[115]
1168	δ (C-H)	[103]	1037	ω (N-H ₂)		949	ρ (CH ₃)	[115]
1362	ν (C-N)	[117]	1136	δ (C-H)	[103]	1028	ν (C-C)	[115]
1388	ν (C-N)	[117]	1184	δ (C-H)	[103]	1060	ν (C-N)	[118]
1427	ν (C=C)	[116]	1203	δ (C-H)	[103]	1085	ρ (CO ₂) ρ (NH ₂)	[119]
1519	ν (C=C)	[117]	1217	ν (C-N)	[117]	1122	ν (C-C)	[120]
1560	ν (C=C)	[111]	1294	ν (C-N)	[117]	1140	ν (C-C)	[113]
1585	ν (C=C)	[116]	1342	ν (C-N)	[117]	1179	ν (C-C)	[114]
1636	ν (C=O)	[111]	1419	ν (C=C)	[116]	1212	γ (C-H)	[113]
2870	δ_s (CH ₃)	[111]	1508	ν (C=C)	[116]	1251	ω (CH ₂)	[120]
2930	δ_s (CH ₃)	[111]	1566	ν (C=C)	[121]	1271	δ (CH ₃)	[115]
2954	δ_s (CH ₃)	[111]	1589	ν (C=C)	[121]	1326	γ (C-H)	[113]
3125	ν (CH)	[111]	1620	ν (C=C)	[116]	1381	ν_s (C-O)	[113]
3300-3700	ν (OH...O)	[122]				1466	δ (CH ₃)	[113]
						1585	ν (C=O)	
						1627	ν (C=O)	[111]
						2877	δ_s (CH ₃)	[111]
						2933	δ_s (CH ₃)	[111]
						2967	δ_s (CH ₃)	[111]
						3159	ν_{AS} (NH ₃ ⁺)	[111]
						3297	ν (NH ₂) ν (OH)	[111] [123]

Notação para os modos: ν – Estiramento/stretching; δ – deformação angular (bending) no plano; γ – Tesoura (scissoring); ρ – Balanço (rocking); ω – Torção (twisting); (*) Tentativa de designação de bandas

4.4 Espectroscopia Raman em Temperatura Ambiente

Os experimentos de Espectroscopia Raman para o cristal FVCu foi realizado com a intenção de elucidar as possíveis bandas. Para isso, foram realizados no intervalo de duas regiões, são elas: 20 a 1740 cm^{-1} e 2800 a 3500 cm^{-1} . Uma vez que para este sistema cristalino ainda não foi reportado na literatura nenhuma caracterização vibracional até o momento.

Esta seção apresenta a atribuição aos modos vibracionais do complexo ternário a temperatura ambiente. A análise dos dados obtidos ocorreu por meio de comparações com os espectros dos materiais precursores e semelhantes encontrado na literatura. Os dados de espectroscopia Raman são apresentados a seguir por região para melhor visualização dos resultados obtidos.

4.4.1 Região de 20 a 1740 cm^{-1}

No espectro Raman as vibrações em baixo número de onda são geralmente denominadas modos de rede e se encontram na região abaixo de 250 cm^{-1} (baixa frequência). É fundamental analisar esta região, pois é nela que apresenta informações estruturais do cristal que podem ser eventualmente alteradas por fatores extrínsecos, evidenciando transições e/ou transformações de fase do material [92].

Na Figura 26 é apresentado o espectro Raman do cristal FVCu no intervalo espectral de 20-1740 cm^{-1} à temperatura ambiente, assim como as possíveis atribuições dos modos vibracionais desse material quando comparado com dados reportados na literatura.

A Tabela 4 mostra os modos de vibração Raman da primeira região (20-1740 cm^{-1}) e as atribuições das bandas em correlação aos dados dispostos na literatura.

Para o cristal FVCu, todas as bandas presentes na região inferior a 250 cm^{-1} foram apontadas como modos externos ou modos de rede. O espectro Raman apresentou uma banda média observada em cerca de 400 cm^{-1} atribuída como $\tau(\text{CCCC})$ da 1,10-Fenantrolina. Além disso, as duas bandas centradas em 252 e 258 cm^{-1} são atribuídas a vibrações de flexão e alongamento da ligação metal-ligante, respectivamente. Sócrates [96] diz que a região onde aparece vibrações referentes aos modos de estiramento para o íon metálico Cu^{2+} pode estar entre 290 a 550 cm^{-1} e descreve que as regiões entre 380 e 550 cm^{-1} são passíveis de se encontrar vibrações relacionadas aos modos do metal-nitrogênio, concordando com os resultados expostos por este estudo.

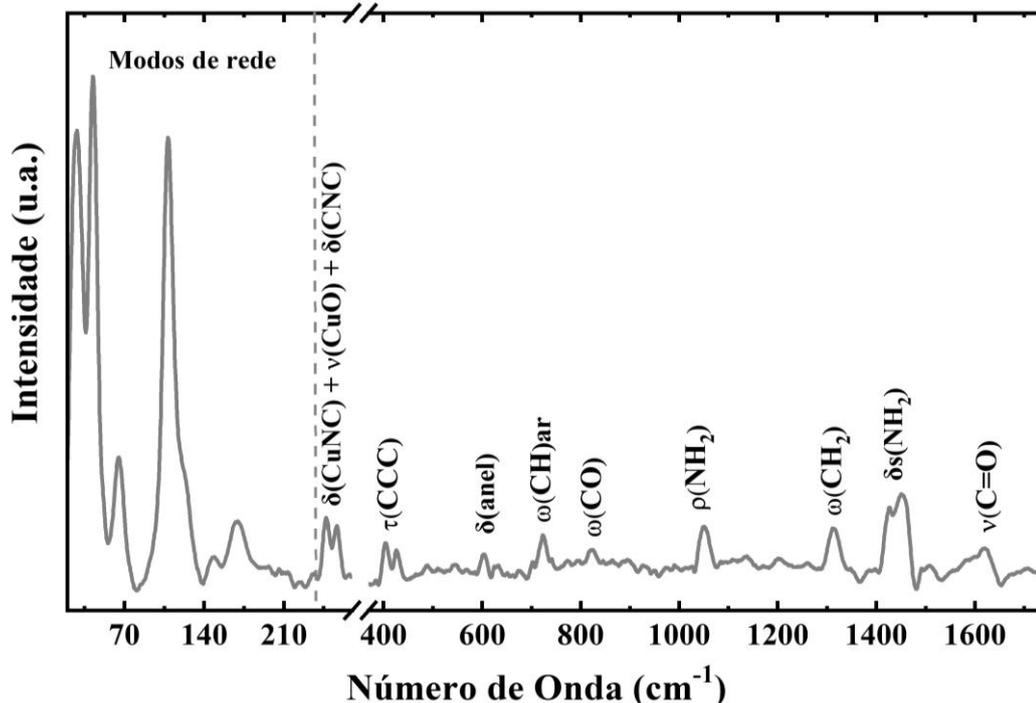


Figura 26 – Espectro Raman para o cristal ternário FVCu a temperatura ambiente na região espectral de 20 a 1740 cm^{-1} .

A banda de baixa intensidade localizadas em 604 cm^{-1} faz alusão aos modos de deformação angular no plano para os anéis da molécula de 1,10-Fenantrolina. Já o modo vibracional exibido no número de onda 723 cm^{-1} caracteriza vibrações referentes aos modos twisting para as ligações C-H, $\omega(\text{CH})$ que são presentes em moléculas orgânicas, como é o caso do aminoácido L-Valina e da molécula de 1,10-Fenantrolina. As vibrações em 824 cm^{-1} e 1050 cm^{-1} estão associadas aos modos twisting $\omega(\text{CO})$ do aminoácido e ao acoplamento de uma deformação angular $\delta(\text{HNH})$ + modo rocking $\rho(\text{CH}_2)$, respectivamente.

Como apresentado por Sócrates [96], os modos vibracionais característicos da molécula de 1,10-Fenantrolina são localizados na região entre o intervalo de 1100 a 1500 cm^{-1} pertencentes ao estiramento C-C, $\nu(\text{CC})$. Os outros modos para esta faixa espectral (20 a 1740 cm^{-1}) encontram-se identificados e atribuídos na Tabela 4.

4.4.2 Região de 2800 a 3500 cm^{-1}

A Figura 27 mostra o espectro Raman para o complexo FVCu no intervalo espectral de 2800 a 3500 cm^{-1} . Nesta faixa espectral, apenas cinco modos vibracionais são ativos.

A vibração em número de onda de 2918 cm^{-1} é atribuído ao estiramento $\nu(\text{CH}_3)$ relacionada ao do grupo metil do aminoácido e outra de baixa intensidade na região de 2962 cm^{-1} pertinente ao estiramento para a ligação C-H, $\nu(\text{CH})$. O modo vibracional de 3074 cm^{-1} está associado ao estiramento, $\nu(\text{CH})$, assim como apontado por Herlinger [119] em um estudo com complexos de cobre (II) ligados a moléculas orgânicas.

Os dois últimos modos vibracionais para o espectro Raman do cristal FVCu, são associados às interações intermoleculares que acontece entre as moléculas de água e o complexo metálico através de ligações de hidrogênio [124]. Assim como a outra região, a posição das bandas, bem como a atribuição destas, encontram-se registradas na Tabela 4.

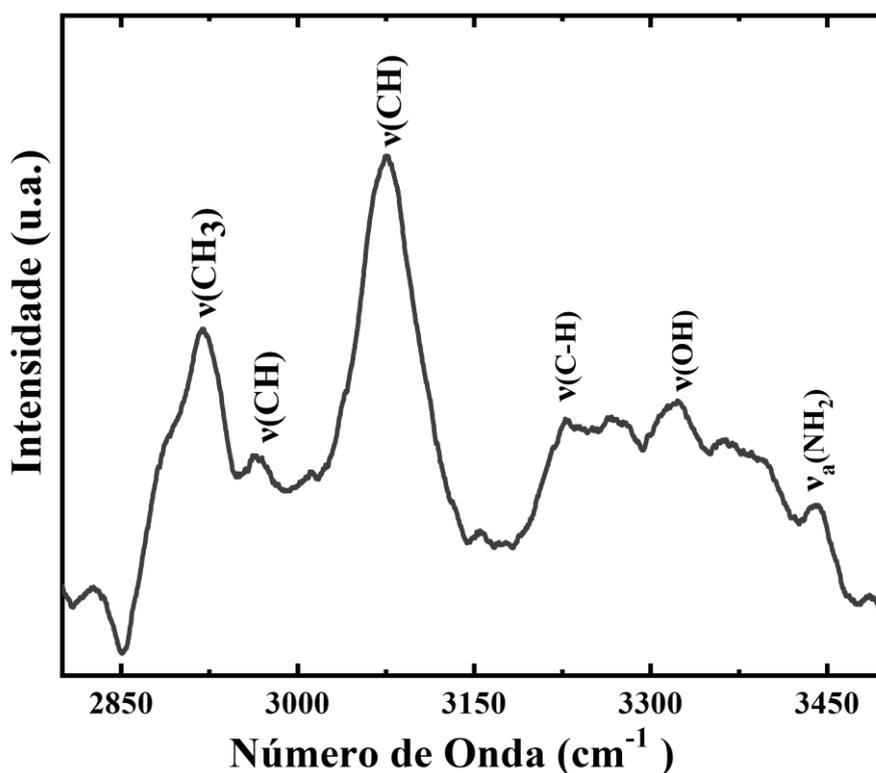


Figura 27- Espectro Raman para o cristal ternário FVCu a temperatura ambiente na região espectral de 2800 a 3500 cm^{-1} .

Tabela 4- Modos Raman para o cristal ternário de Cobre (II) com L-valina e 1,10-Fenantrolina.

Regiões	Número de Onda (cm ⁻¹)		Atribuições	Referências
	Experimental	Literatura		
Primeira Região (20 a 1740 cm ⁻¹)	67 108 148 170 247	x<250	Modos de Rede	[96]
	252	265	δ(CuNC) + ν(CuO) + δ(CNC)	[110]
	424	427	τ(CCC)	[125]
	604	607	δ(anel)	[126]
	723	728	ω(CH)	[96]
	824	822	ω(CO)	[126]
	1050	1050	ν(NO ³⁻)	[127]
	1136	1137	ρ(NH ₂)	[128]
	1204	1200	δ(CH)	[125]
	1308	1312	ν(CC)	[129]
	1451	1100-1500	ν(CC)	[96]
	1501	1509	δ(NH ₃)	[129]
	1620	1630	ν(C=O)	[130]
Segunda Região (2800 a 3500 cm ⁻¹)	2918	2913	ν(CH ₃)	[48]
	2962	2971	ν(CH ₂)	[48]
	3074	3081	ν(CH)	[81]
	3227	3207	ν(N-HO)*	[131]
	3322	3408	ν(OH)*	[124]
	3440	3440	νa(NH ₂)	[110]

Notação para os modos: ν – Estiramento/stretching; δ – deformação angular (bending) no plano; γ – Tesoura (scissoring); ρ – Balanço (rocking); ω – Torção (twisting); as – Assimétrico; (*) Tentativa de designação de bandas.

É importante ressaltar que algumas regiões não foram mensuradas no espalhamento Raman para o cristal FVCu, devido não apresentar vibrações para quaisquer grupos, exibindo somente ruídos no espectro.

4.4 Análises Térmicas (TG-DTA, DSC)

O cristal ternário de FVCu foi submetido à caracterização térmica, sendo caracterizado por TG-DTA simultâneos (20 a 900° C), e DSC (20 a 140° C), conforme mostra as Figuras 28

e 29. A análise térmica diferencial e a curva de decomposição da matéria foram divididas em quatro regiões na Figura 28 para melhor compreensão e discussão dos dados. Para esta análise utilizou-se 1,201 mg do monocristal sob a forma de pó.

De acordo com os dados apresentados na curva TG, nota-se um primeiro evento bastante definido compreendido entre 20 a 110° C, este pode ser atribuído à perda da água de cristalização do material, correspondendo a uma perda de 4,25% da massa inicial, ou equivalente a -0,051 mg. Esta decomposição corresponde à saída de duas moléculas de água presentes na célula unitária.

Ainda referente à água de cristalização presente no complexo, o pico endotérmico centrado em 74° C na curva DTA na região (I) correspondendo à perda de massa apresentada nesta temperatura na curva TG, ambos elucidam a saída de moléculas de água do cristal.

Confirmando os dados mostrados na Figura 28, a curva DSC apresenta estabilidade térmica compreendida até 50° C, comprovando a evaporação de moléculas de água presentes no complexo, como pode-se observar na Figura 29. Apoiado nisto, presume-se que as moléculas de água estão fracamente ligadas ao complexo, resultando em baixa energia para sua evaporação do material, tal comportamento também foi notado por Steren *et al* em um estudo de complexos [132]. Em vista disto, pode-se dizer que em temperaturas acima de 70° C, o complexo encontra-se na sua forma anidra.

Na região (II), intervalo que compreende as temperaturas de 110 a 220° C, o comportamento térmico apresentado pela curva TG indica uma decomposição de 29,39% da massa inicial ou equivalente a -0,353 mg, a este atribui-se uma perda parcial de massa de 126,788 g/mol referente aos compostos orgânicos presentes no complexo metálico. Sendo que nessa região houve a saída da água coordenada que estava ligada com o cobre, visto que precisou de uma energia maior para sair. Além disso, iniciou-se a decomposição da matéria orgânica.

A região (III) que está localizado em as temperaturas 220° C a 470° C, na qual teve uma redução de 14,9% da massa inicial ou equivalente a - 0,179 mg. Os picos endotérmicos localizados na curva DTA evidenciam a decomposição da L-valina e da 1,10-Fenantrolina no composto, assim como os picos exotérmicos elucidam a decomposição do aminoácido em uma série de compostos intermediários que são gerados.

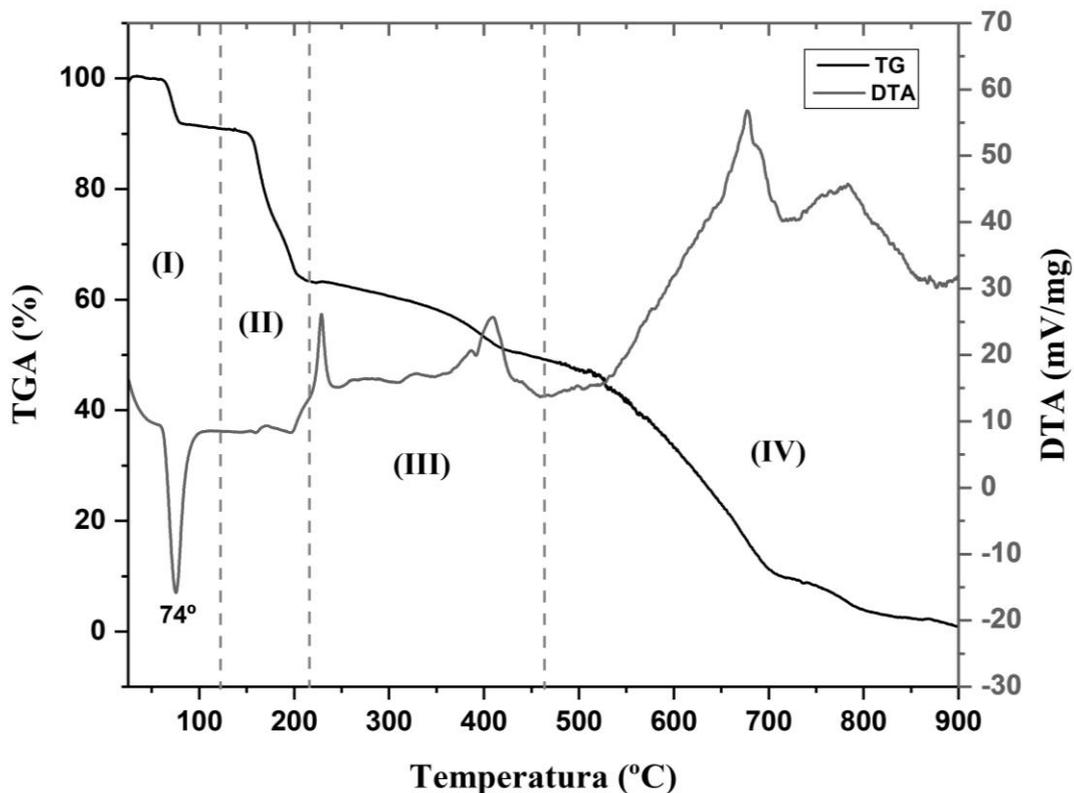


Figura 28- Curva TG/DTA do cristal ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina.

Zhong e Zhong [4], citam que com relação aos compostos orgânicos que se complexam a íons metálicos, estes sob análises térmicas se decompõem em uma ou mais parcelas com a perspectiva de formarem moléculas intermediais. Tal fato corrobora com os dados apresentados na região (III) para as curvas TG-DTA.

A região (IV) apresentada na Figura 28 na curva TG, exhibe o último evento de decomposição da matéria para o cristal ternário, a esta é calculada uma perda de massa de 50,62 % do peso inicial, ou ainda -0,608 mg, que equivale a uma massa molar de 218,377 g/mol. Com base nisto, nota-se que a decomposição nas regiões (II), (III) e (IV) totalizaram uma massa de 409,456 g/mol.

Após 720 °C a porcentagem de resíduo que restou da amostra foi de 9,27%, correspondente a 0,112 mg da matéria inicial. Sugere-se à esta massa, a oxidação do íon metálico, baseado no evento exotérmico localizado na curva DTA em 675 °C.

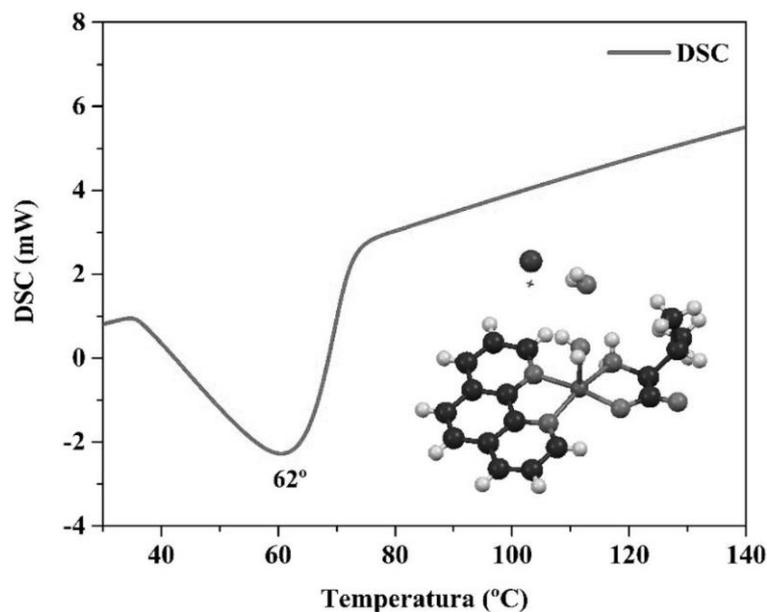


Figura 29- Curva DSC do cristal ternário de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina.

Baseado nos dados obtidos pelas análises térmicas nota-se que o cristal ternário de cobre (II) com L-Valina e 1,10-Fenantrolina possui estabilidade térmica até 50°C, visto que depois disso o material sofre desidratação. Em temperaturas acima de 390°C o composto inicia uma decomposição se completando próximo de 900°C.

4.5 Difração de Raio X em função da temperatura

Através da curva de DSC da Figura 29, pode-se observar o comportamento térmico do cristal ternário e notar que o mesmo apresentou perda de água de hidratação, caracterizando-se como uma transformação de fase do material, isto pode ser verificado por meio da análise de difração de raios X em função da temperatura.

A Figura 30 apresenta os padrões de difração de raios X em temperaturas distintas compreendendo entre 27°C – 232°C com intervalo angular $2\theta = 5 - 40^\circ$. Observa-se que com o aumento da temperatura é notável o desaparecimento e surgimento de picos no intervalo analisado.

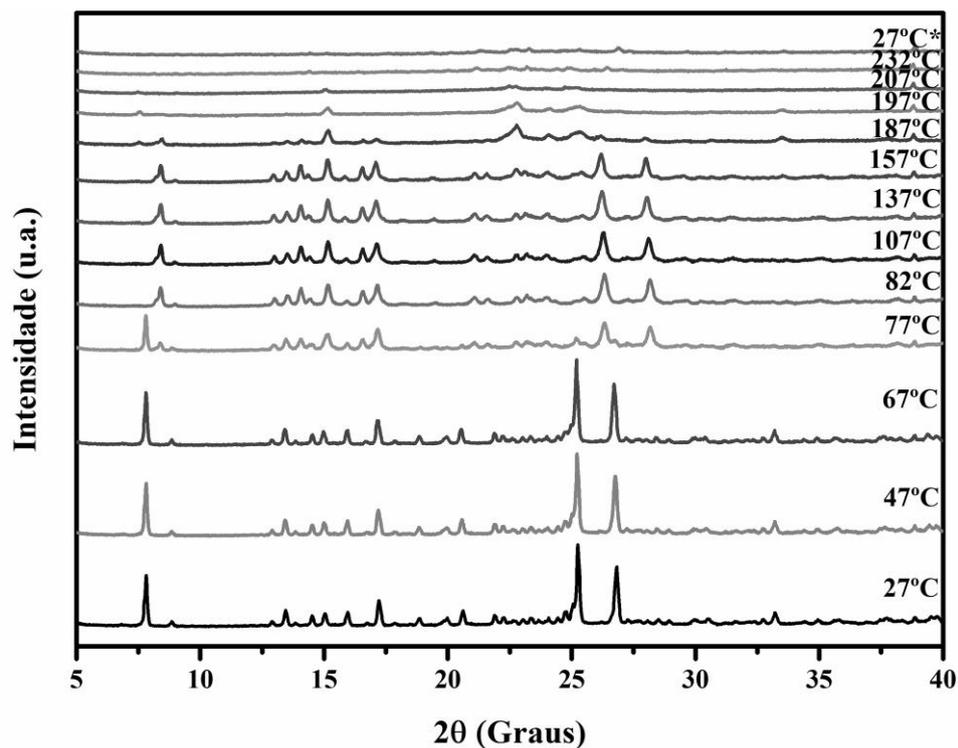


Figura 30- Padrão de Difração de Raios X do cristal de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina e em função da temperatura de 27 a 232°C, no intervalo de 5° - 40° 2 θ . Curva 27°C* corresponde à medida de retorno da temperatura ambiente.

Nota-se no diagrama que até a temperatura de 67 °C não houve nenhuma alteração, após esta temperatura é possível visualizar uma brusca redução dos picos localizados em 7°, 25° e 27°, indicando que a decomposição do material ocorre somente após 70°C, similar aos resultados apresentados na análise térmica.

As medidas de DRX com variação da temperatura (Figura 30) foram analisadas pelo refinamento de estrutura através do método de Rietveld. Observa-se que o material sintetizado apresenta somente a fase triclinica com grupo espacial P1 até 67°C, não havendo nenhuma mudança notória nos difratogramas em torno desta temperatura. Com isso, é possível analisar a variação dos parâmetros de rede da célula unitária conforme o aumento da temperatura.

A Figura 31 exibe o valor dos parâmetros de rede a, b e c de 27°C a 67°C, na qual observa-se uma variação no parâmetro de rede c a partir de 50 °C, podendo indicar que o material possui uma boa estabilidade até esta temperatura.

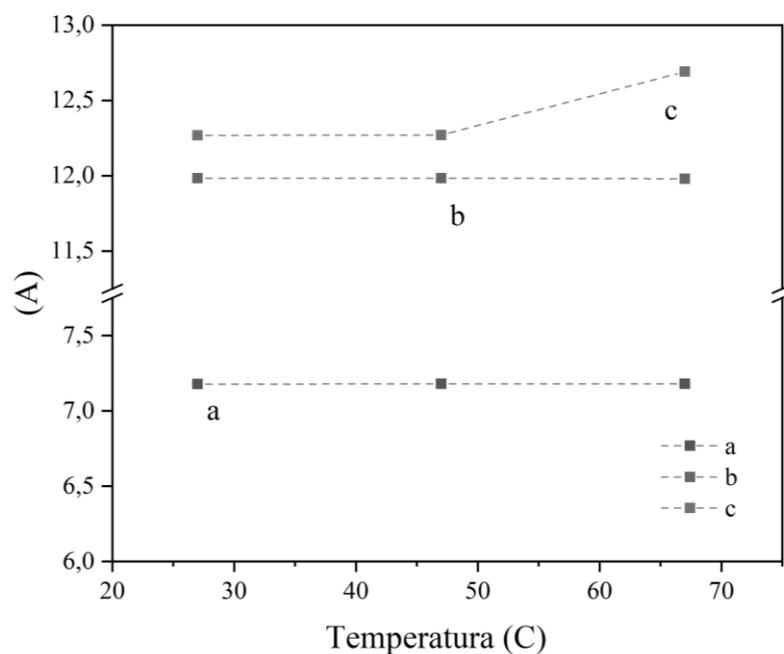


Figura 31- Parâmetros de rede a, b e c do cristal ternário FVCu obtidos pelo refinamento de Rietveld em função da temperatura

Através da Figura 31, nota-se que essa mudança ocorre em torno de 50°C o que pode estar relacionado à saída da molécula de água livre do sistema cristalino, justificando com o que foi analisado nas curvas de TG-DTA.

A partir de 77°C (Figura 32) o padrão de difração analisado apresenta modificações na posição e intensidades dos picos ($2\theta = 7.9, 8.40, 15.2, 16.8, 18.2, 25.5, 27.0, 28.6, 33.4^\circ$). O surgimento de novos picos e o desaparecimento de outros nos difratogramas, são fatores indicativos de que ocorreu uma transformação de fase.

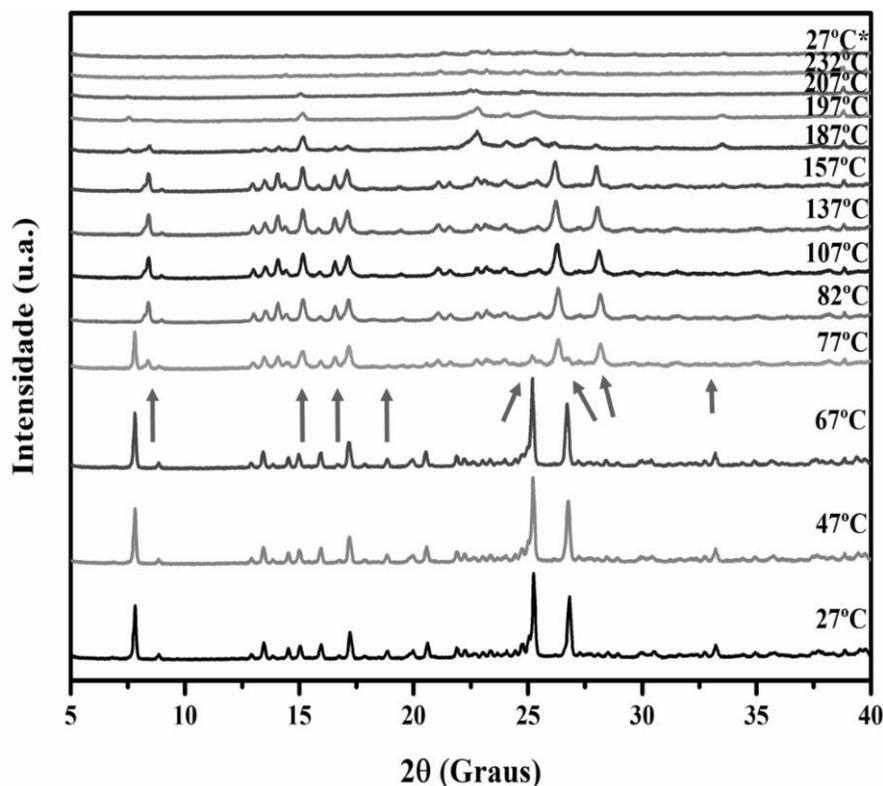


Figura 32-Padrão de Difração de Raios X do cristal de Cobre (II) com 1,10-Fenantrolina e L-valina e em função da temperatura de 27 a 232°C, no intervalo de 5°- 40° 2 θ .

Após o processo de transformação de fase do material da fase hidratada para a forma anidra, foi possível realizar o refinamento pelo método Le Bail, representado na Figura 33. O refinamento foi associado ao software GSAS, para validar os dados indexados no programa DASH 3.3.6.

Conforme a Figura 33 o refinamento dos dados pelo método Le Bail resultou nos seguintes parâmetros de rede para a nova fase do cristal FVCu: $a= 12,379(9) \text{ \AA}$, $b= 11,513(8) \text{ \AA}$, $c= 7,039(5) \text{ \AA}$, $\alpha=93,678(1)^\circ$, $\beta= 108,598(2)^\circ$, $\gamma= 111,767(1)^\circ$ e $V= 1204,606 \text{ \AA}^3$. A curva ajustada apresentou $R_{wp}= 8,27\%$ e $R_p= 5,51\%$, estes valores são aceitáveis e confiáveis. Ressalta-se ainda que além do processo de desidratação após a transformação de fase, houve a permanência no sistema cristalino triclinico, como duas moléculas por célula unitária, mas com mudança no grupo espacial para $P\bar{1}$.

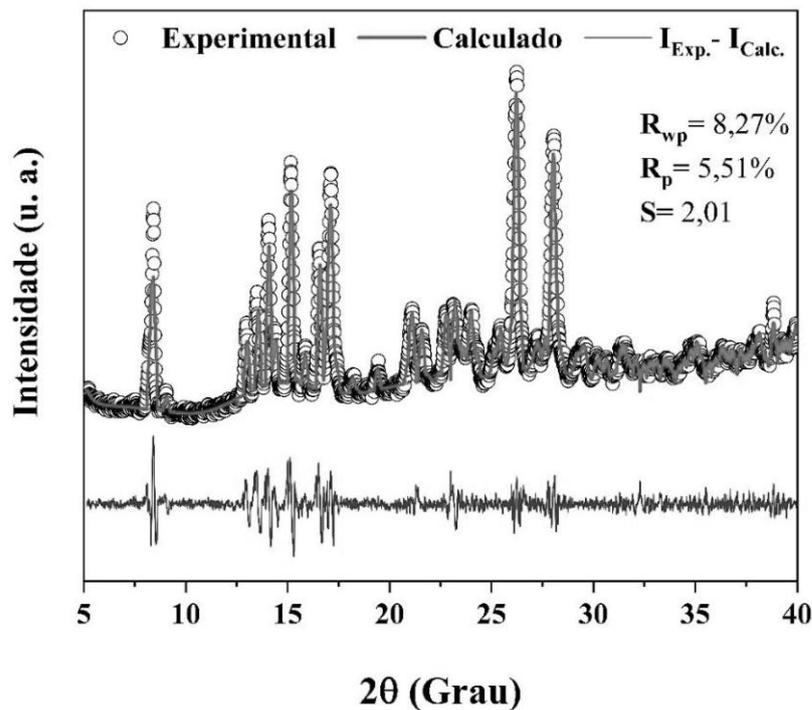


Figura 33- Padrão de difração de raios X em 137°C da fase anidra do cristal ternário de cobre (II) com L-Valina e 1,10-Fenantrolina

Com isso, conclui-se que o cristal ternário FVCu sofre transformação de fase quando submetido a altas temperaturas, da sua fase hidratada para a forma anidra, com tendência a amorfização. Isto resulta nas mudanças das propriedades, estabilidade térmica e no arranjo molecular.

Conforme esses resultados, percebe-se que o cristal ternário FVCu, pode ser utilizado como agente antitumoral devido à sua estabilidade térmica ser superior à temperatura corporal (36° C), e também como carreadores de fármacos nos sistemas posteriores, uma vez que os cristais assim como os amorfos possuem atividade farmacológica e podem servir como matrizes sólidas para drogas serem dispersas [4,132].

4.6 Teste de solubilidade e Avaliação Antitumoral in vitro

Serão apresentados os testes de solubilidade e avaliação da atividade antitumoral do cristal FVCu. Referente às propriedades medicinais específicas ao complexo em estudo.

4.6.1 Ensaio de solubilidade

O ensaio de solubilidade foi realizado com o objetivo de analisar o perfil de solubilidade do cristal FVCu em água. Para quantificação do complexo cristalino utilizou-se uma curva analítica através do método dos mínimos quadrados, conforme representado na Figura 34. A figura mostra a curva padrão obtida através das concentrações das soluções do cristal FVCu e suas absorvâncias em 606 nm, como estão descritas na Tabela 5.

Por meio da curva analítica obteve-se a equação da reta que possibilitou a quantificação das concentrações (mg/ml) do cristal ternário em água deionizada (pH=7). Estas concentrações encontram-se em função do tempo (min) sintetizadas na Figura 35 e apresentadas na Tabela 5.

Os ensaios de solubilidade possibilitam um maior entendimento e o controle de possíveis transformações físico-químicas a fim de alcançar exigências requeridas de um fármaco ou um agente farmacêutico. Além disso, a boa solubilidade dos fármacos está relacionada com a sua eficácia, por esta razão que há várias pesquisas de medicamentos mais solúveis para que possam ter um melhor desempenho desses compostos, como no caso dos antitumorais.

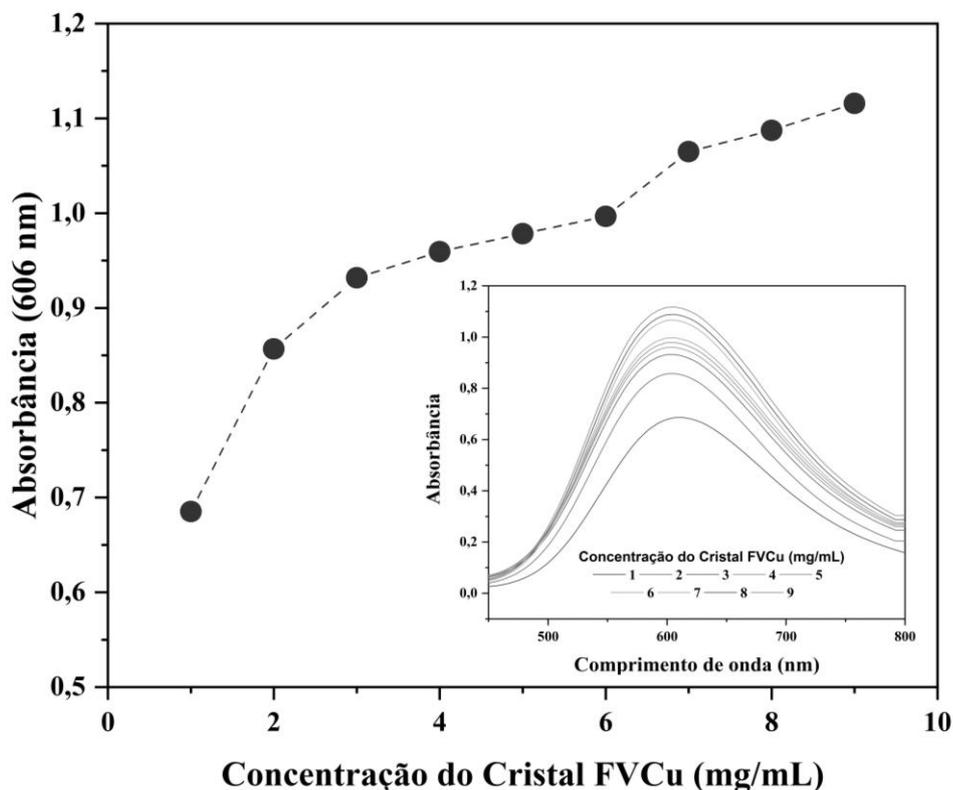


Figura 34- Curva analítica obtida para a determinação do cristal FVCu em água, acompanhada da concentração do material medido em absorvância em função do comprimento de onda (nm).

Tabela 5- Concentração média das soluções do FVCu utilizadas para a construção da curva analítica

Ponto	Absorbância (606 nm)
1	0,685286
2	0,856646
3	0,931738
4	0,959407
5	0,978265
6	0,996498
7	1,064887
8	1,087274
9 (Padrão/Solução mãe)	1,115885

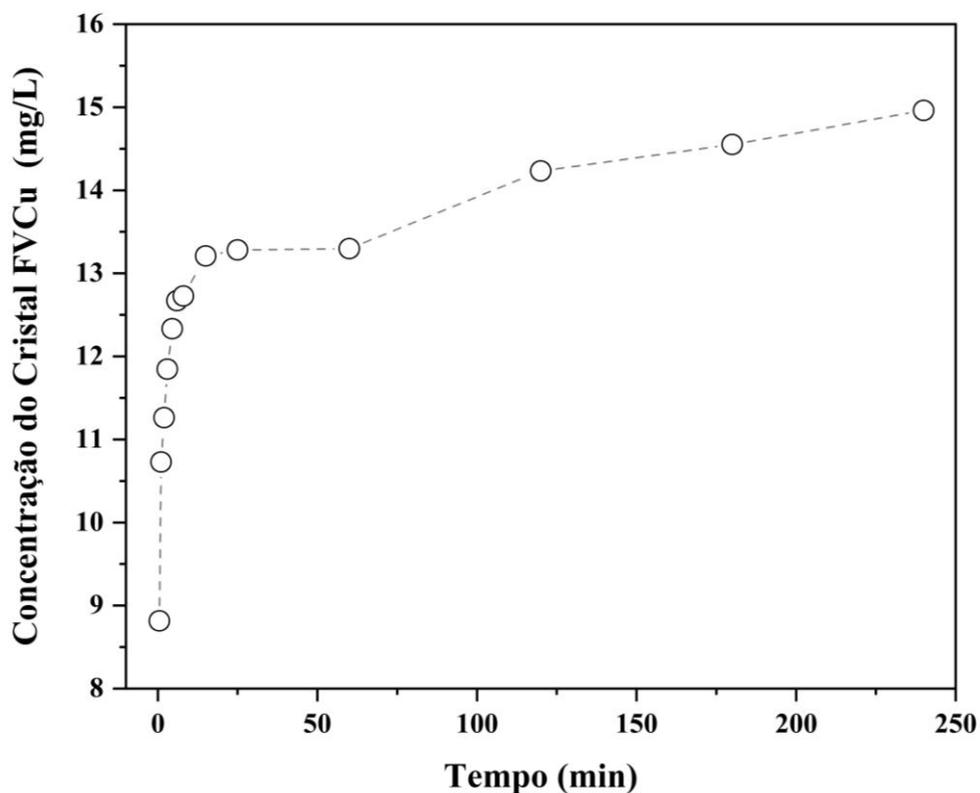


Figura 35- Perfil de solubilidade do cristal FVCu.

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o cristal ternário FVCu apresenta uma solubilidade inicial de 8,16 mg/L e aumenta gradativamente ao longo do tempo de 240 minutos, tendo como solubilidade máxima do cristal de 14,96 mg/L como pode ser verificado na Tabela

6. Esta rápida solubilidade do material com o decorrer do tempo deve-se a fatores como: arranjo espacial das moléculas e presença de compostos orgânicos no sistema cristalino.

O cristal FVCu apresentou valores muito superiores no perfil de solubilidade mesmo nos minutos iniciais quando comparado com outros tipos de agentes farmacológicos, como o Docetaxel (agente antineoplásico muito utilizado no tratamento do estágio avançado do câncer de mama e de próstata) que possui baixa solubilidade de 0,274 mg/ml em meio aquoso, assim como a Cisplatina que apresenta solubilidade em água de 2,5 mg/ml e necessita ser diluído em uma solução de cloreto de sódio para ser administrada em pacientes com câncer. Estes baixos valores de solubilidade de quimioterápicos pode estar associado a resistência das células tumorais. Entretanto, o cristal ternário possui solubilidade superior como pode ser observado na Tabela 6.

Tabela 6- Concentração do cristal FVCu em função do tempo (min).

Tempo (min)	Concentração do cristal FVCu (mg/L)
0,5	8,81601
1	10,7282
2	11,2612
3	11,8464
4,5	12,3327
6	12,6713
8	12,7275
10	12,5696
15	13,2096
20	12,9966
25	13,2818
30	12,8115
60	13,2568
120	14,2326
180	14,5521
240	14,9604

Conforme o perfil de solubilidade para o cristal FVCu comprova-se que o cristal ternário apresenta uma solubilidade considerada apropriada para a ação de antitumorais. Uma vez que o corpo humano é composto por cerca de 70% de água, é necessário que haja uma boa solubilidade, para que as dispersões sólidas possam ativar os princípios farmacológicos, como os sistemas cristalinos.

4.6.2 Avaliação da atividade antitumoral (*in vitro*)

Com o objetivo de analisar a atividade antitumoral do cristal FVCu, realizou-se testes de citotoxicidade (*in vitro*). Estes testes são de extrema relevância para o estudo biológico de um composto como possível fármaco anticancerígeno, para isso utilizou-se a linhagem celular PC-3, célula de câncer de próstata.

Conforme os dados obtidos por meio do ensaio da atividade antitumoral, verificou-se que a IC_{50} para células PC-3 foi de 2,7 μ M. Em comparação com outras substâncias antineoplásicas descritas na literatura [133–136], o cristal FVCu apresentou um resultado bastante promissor com respeito à atividade citotóxica, como observado na Figura 36.

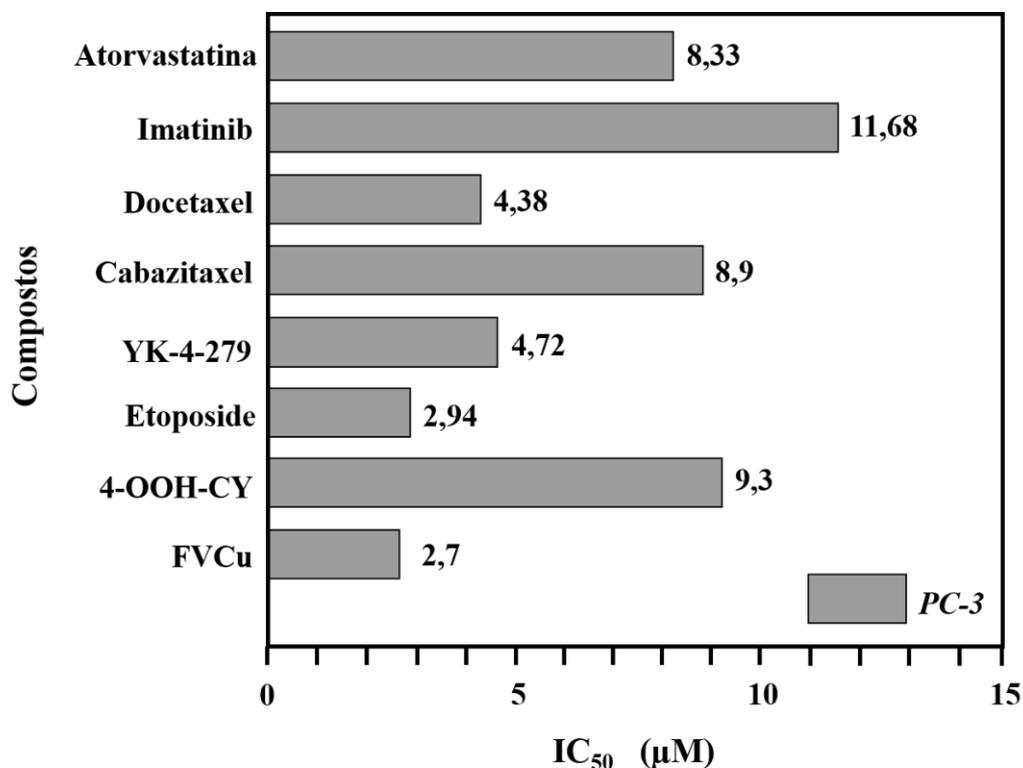


Figura 36-Comparação de atividade citotóxica (IC_{50}) de variados antitumorais.

Ao comparar a atividade citotóxica do FVCu com alguns compostos que são utilizados no tratamento do câncer (Figura 36) como por exemplo Docetaxel e Cabazitaxel, observa-se que o complexo ternário possui uma atividade superior, este acontecimento pode ser justificado devido alguns desses compostos não possuem ligantes orgânicos que ampliam sua ação antitumoral.

Além disso, o resultado favorável pode ter ocorrido pela presença do Cu^{2+} no sistema do cristal sintetizado, diferentemente dos demais compostos que não possuem esse metal na sua estrutura. Além de que a coordenação de compostos polipiridínicos e agentes quelantes potencializou a atividade citotóxica do íon Cu^{2+} , podendo-se concluir assim que os ligantes têm ampla influencia na atividade antitumoral. Além disso, a 1,10-Fenantrolina é um ligante que tem a capacidade de se introduzir entre das bases nitrogenadas da fita dupla de DNA, agindo como um intercalador [125,137]. Ademais, a L-Valina promove ao sistema cristalino uma facilidade em se ligar ao DNA devido a formação de ligações de hidrogênio devido os grupos funcionais [66].

5. CONCLUSÕES

O cristal ternário de 1,10-Fenantrolina e L-Valina complexado com Cobre (II) na forma hidratada foi obtido após um período de 15 dias pela técnica de evaporação lenta do solvente, em pH alcalino (8,98) alcalino, como apresentado no ensaio espectroscópico UV-Vis.

A análise de DRX em conjunto com o refinamento de Rietveld a temperatura ambiente comprovou que o cristal apresenta 2 moléculas por célula unitária com cristalização no sistema triclinico com grupo espacial P1.

As análises de FTIR e Raman comprovaram a complexação do metal Cu^{2+} com as moléculas de L-valina e 1,10-Fenantrolina. Além disso, confirmaram que as moléculas de água presentes na estrutura são de cristalização, visto que vibrações foram observadas associadas a estes efeitos.

Através das curvas de TG-DTA e DSC observou-se que o cristal ternário FVCu apresenta estabilidade térmica em temperaturas até 50°C , havendo transformação de fase devido o processo de desidratação.

As medidas de DRX em função de altas temperaturas comprovou a transformação de fase do cristal ternário para a forma anidra. Com refinamento pelo método Le Bail verificou-se que a nova fase do material apresentou sistema triclinico com grupo espacial $\bar{P}1$.

O ensaio de solubilidade do cristal FVCu apresentou rápida solubilidade ao longo de 240 minutos, com solubilidade máxima final de 14,96 mg/ml. Comparando com outros materiais utilizados no tratamento de câncer, o cristal FVCu mostrou uma boa solubilidade, além de não necessitar de outro agente para dissolução do material em meio aquoso.

A atividade antitumoral do cristal FVCu foi confirmada por meio de testes citotóxicos em linhagem celular tumoral PC-3. Os dados mostraram uma $\text{IC}_{50} = 2,7 \mu\text{M}$, sendo este valor bastante promissor para produção de medicamentos à base deste sistema cristalino.

Verifica-se que o cristal de 1,10-Fenantrolina e L-Valina complexado com Cobre (II) atende a vários requisitos exigidos em fármacos para ser utilizado como agente antitumoral, principalmente boa solubilidade e variabilidade estrutural, além de poder ser usado como carregador de droga apoptótica. Com isso, pode-se afirmar que o sistema ternário sintetizado neste estudo é um bom candidato a ser utilizado na produção de fármacos ou agentes cancerígenos.

6. PERSPECTIVAS

- ❖ Escrita da patente do cristal ternário;
- ❖ Analisar mudanças nos espectros da Espectroscopia Raman em Função da Temperatura para obter mais informações sobre a transformação de fase sugerida por meio da curva TG-DTA e da DRX em função da temperatura.
- ❖ Avaliar a toxicidade do complexo cristalino em células normais, por meio de ensaios de toxicidade;
- ❖ Aplicar o cristal ternário FVCu em outras células tumorais extraídas e cultivadas in vitro;
- ❖ Sintetizar novos cristais ternários de 1,10-Fenantrolina, substituindo o metal e o aminoácido, fazendo o estudo das propriedades físico-químicas destes sistemas cristalinos.

REFERÊNCIAS

- [1] T.W. Hambley, Developing new metal-based therapeutics: Challenges and opportunities, *Dalt. Trans.* (2007) 4929–4937. <https://doi.org/10.1039/b706075k>.
- [2] H. Sigel, *Metal Ions in Biological Systems*, Inc.: New York, 2003.
- [3] P. Heffeter, U. Jungwirth, M. Jakupec, C. Hartinger, M. Galanski, L. Elbling, M. Micksche, B. Keppler, W. Berger, Resistance against novel anticancer metal compounds: Differences and similarities, *Drug Resist. Updat.* 11 (2008) 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2008.02.002>.
- [4] G.Q. Zhong, Q. Zhong, Solid-solid synthesis, characterization, thermal decomposition and antibacterial activities of zinc(II) and nickel(II) complexes of glycine-vanillin Schiff base ligand, *Green Chem. Lett. Rev.* 7 (2014) 236–242. <https://doi.org/10.1080/17518253.2014.927008>.
- [5] M. Gielen, E.R.T. Tiekink, *Metallotherapeutic Drugs and MetalBased Diagnostic Agents, The Use of Metals in Medicine*, Wiley: Chichester, 2008.
- [6] J.L. Sessler, S.R. Doctrow, T.J. McMurry, S.J. Lippard, *Medicinal Inorganic Chemistry*, ACS: Washington, D.C., 2005.
- [7] K.H. Thompson, C. Orvig, Boon and bane of metal ions in medicine, *Science* (80-.). 300 (2003) 936–939. <https://doi.org/10.1126/science.1083004>.
- [8] R.A. Alderden, M.D. Hall, T.W. Hambley, The Discovery and Development of Cisplatin, *J. Chem. Educ.* 83: 728–34 (2006).
- [9] E. Wong, C.M. Giandomenico, Current status of platinum-based antitumor drugs, *Chem. Rev.* 99 (1999) 2451–2466.
- [10] P.P. Silva, F. Paula, W. Guerra, J.N. Silveira, F. V. Botelho, L.Q. Vieira, E.C. Pereiramaia, Platinum (II) compounds of tetracyclines as potential anticancer agents: cytotoxicity, uptake and interactions with DNA, *J. Braz. Chem. Soc.* 21 (2010) 1237–1246.
- [11] B. Rosenberg, L. VanCamp, The Successful Regression of Large Solid Sarcoma 180 Tumors by Platinum Compounds, *Cancer Res.* 30 (1970) 1799–1802.
- [12] J.-M. Halbout, S. Blit, C. Tang, "Evaluation of the phase-matching properties of nonlinear optical materials in the powder form, *IEEE J. Quantum Electron.* 17 (1981) 513–517.
- [13] F. Bray, A. Jemal, N. Grey, J. Ferlay, D. Forman, Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008-2030): A population-based study, *Lancet Oncol.* 13 (2012) 790–801. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70211-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70211-5).
- [14] B.G. Katzung, S.B. Masters, A.J. Trevor, *Farmacología básica y clínica*, El Man. Mod. (1987).
- [15] V. Uma, M. Elango, B.U. Nair, Copper(II) terpyridine complexes: Effect of substituent on DNA binding and nuclease activity, *Eur. J. Inorg. Chem.* (2007) 3484–3490. <https://doi.org/10.1002/ejic.200700053>.
- [16] S. Zhang, J. Zhou, Ternary copper(II) complex of 1,10-phenanthroline and L-glycine: Crystal structure and interaction with DNA, *J. Coord. Chem.* 61 (2008) 2488–2498. <https://doi.org/10.1080/00958970801932605>.
- [17] X. Solans, L. Ruiz-Ramírez, A. Martínez, L. Gasque, J.L. Briansó, Structures of chloro(glycinato)(1,10-phenanthroline)copper(II) monohydrate (I) and aqua(1,10-phenanthroline)(L-phenylalaninato)copper(II) nitrate monohydrate (II)., *Acta Crystallogr. C.* 44 (Pt 4) (1988) 628–631. <https://doi.org/10.1107/s0108270187012344>.

- [18] A. Alvarez-Larena, J.L. Briansó-Penalva, J.F. Piniella, R. Moreno-Esparza, L. Ruizramírez, G. Ferrer-Sueta, Aqua(glycinato)(3,4,7,8-tetramethyl-1,10-phenanthroline)copper(II) Nitrate, *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* 51 (1995) 852–854.
- [19] X.Y. Liu, Heterogeneous nucleation or homogeneous nucleation?, *J. Chem. Phys.* 112 (2000) 9949–9955.
- [20] A.J. Dirksen, T.A. Ring, *Fundamentals of Crystallization: Kinetic Effects on Particle Size Distributions and Morphology*, *Chem. Eng. Sci.* 46 (1991) 2389–2427.
- [21] M. Fleck, A.M. Petrosyan, *Salts of Amino Acids*, (2014).
- [22] J. Gallagher, O. Zelenko, A.D. Walts, D.S. Sigman, Protease activity of 1,10-phenanthroline-copper(I). Targeted scission of the catalytic site of carbonic anhydrase, *Biochemistry*. 37 (1998) 2096–2104. <https://doi.org/10.1021/bi971565j>.
- [23] E.R. Stadtman, Oxidation of Free Amino Acids and Amino Acid Residues in Proteins By Radiolysis and By Metal-Catalyzed, *Annu. Rev. Biochem.* 62 (1993) 797–821.
- [24] X. Le, S. Liao, X. Liu, X. Feng, Synthesis, structure and SOD-like activity of a ternary Cu(II) complex with 1,10-phenanthroline and L-valinate, *J. Coord. Chem.* 59 (2006) 985–995. <https://doi.org/10.1080/00958970500443144>.
- [25] INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), 2020.
- [26] J.D.C. Almeida, D.A. Paixão, I.M. Marzano, J. Ellena, M. Pivatto, N.P. Lopes, A.M.D.C. Ferreira, E.C. Pereira-Maia, S. Guilardi, W. Guerra, Copper(II) complexes with β -diketones and N-donor heterocyclic ligands: Crystal structure, spectral properties, and cytotoxic activity, *Polyhedron*. 89 (2015) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.12.026>.
- [27] V. Sargentelli, A.E. Mauro, A.C. Massabni, Aspectos do Metabolismo do Cobre no Homem, *Quim. Nova*. 19 (1996) 290–293.
- [28] L.H. Hurley, DNA and its associated processes as targets for cancer therapy, *Nat. Rev. Cancer*. 2 (2002) 188–200. <https://doi.org/10.1038/nrc749>.
- [29] O. mundial da S. OMS, Estimated number of deaths from 2020 to 2040, Both sexes, age [0-85+], Disponível Em https://Gco.Iarc.Fr/Tomorrow/En/Dataviz/Isotype?Types=1&single_unit=500000. (2020).
- [30] C.V. Barra, A.V.G. Netto, Antitumour complexes and DNA interactions and their tools of analysis: An approach to metalintercalators, *Rev. Virtual Quim.* 7 (2015) 1998–2016. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150118>.
- [31] A.P.S. Fontes, S.G. De Almeida, L. De Andrade Nader, Compostos de platina em quimioterapia do câncer, *Quim. Nova*. 20 (1997) 398–406. <https://doi.org/10.1590/s0100-40421997000400010>.
- [32] D.S. Riddick, C. Lee, S. Ramji, E.C. Chinje, R.L. Cowen, K.J. Williams, A. V. Patterson, I.J. Stratford, C.S. Morrow, A.J. Townsend, Y. Jounaidi, C.-S. Chen, T. Su, H. Lu, P.S. Schwartz, D.J. Waxman, Cancer chemotherapy and drug metabolism enzyme, *Drug Metab. Dispos.* 36 (2005) 295–298. <https://doi.org/10.1124/dmd.105.004374.normal>.
- [33] A.L. HARRIS, D. HOCHHAUSER, Mechanisms of multidrug resistance in cancer treatment, *Int. J. Mol. Sci.* 31 (1992) 8. <https://doi.org/10.3390/ijms21093233>.
- [34] L.J.K. Boerner, J.M. Zaleski, Metal complex-DNA interactions: From transcription inhibition to photoactivated cleavage, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 9 (2005) 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.02.010>.
- [35] M. Yodoshi, M. Odoko, N. Okabe, Structures and DNA-binding and cleavage properties of ternary copper(II) complexes of glycine with phenanthroline, bipyridine, and

- bipyridylamine, *Chem. Pharm. Bull.* 55 (2007) 853–860. <https://doi.org/10.1248/cpb.55.853>.
- [36] J. Leiter, J.L. Hartwell, J.S. Kahler, I. Kline, M.J. Shear, Damage induced in sarcoma 37 with chemical agents. vi. biphenyl, fluorene, phenanthrene, and tropolone derivatives, *J. Natl. Cancer Inst.* 14 (1953) 365–374. <https://doi.org/10.1093/jnci/14.2.365>.
- [37] P.C. de Oliveira, ANCESTRALIDADE GENÉTICA E GENES DE SUSCEPTIBILIDADE EM PORTADORES DE CÂNCER DE PRÓSTATA DO ESTADO DA BAHIA, Fiocruz. (2014) 83.
- [38] E.P. de Paiva, M.C.S. da Motta, R.H. Griep, Conhecimentos, atitudes e práticas acerca da detecção do câncer de próstata, *Acta Paul. Enferm.* 23 (2010) 88–93. <https://doi.org/10.1590/s0103-21002010000100014>.
- [39] INCA, Estimativa 2014 – Incidência de Câncer no Brasil, *Rev. Bras. Cancerol.* 60 (2014) 3–14.
- [40] E.M.F. STUMM, J.A. SCHERER, R.M.K. EVELISE, E. BERLEZI, L. BEATRIZ, Vivências de idosos submetidos à prostatectomia por câncer: subsídios para o cuidado de enfermagem, *Textos Context. (Porto Alegre)*. 9 (2010) 89–102.
- [41] R. Damião, R.T. Figueiredo, M.C. Dornas, D.S. Lima, M.A.B. Koschorke, Câncer de próstata, *Hosp. Univ. Pedro Ernesto*. 1 (2015) 80–86. <https://doi.org/10.12957/rhupe.2015.17931>.
- [42] SOCIEDADE BRASILEIRA DE UROLOGIA, Câncer de Próstata: Prevenção e Rastreamento. Projeto Diretrizes., (2006) 14.
- [43] A.B. SARRIS, F.J.L.F. CANDIDO, C.R.P. FILHO, R.L. STAICHAK, A.C.K. TORRANI, B.P. SOBREIRO, Câncer De Próstata: Uma Breve Revisão Atualizada, *Visão Acadêmica*. 19 (2018) 137–151. <https://doi.org/10.5380/acd.v19i1.57304>.
- [44] A. Sasse, G. Carvalhal, L. Nogueira, F. Maluf, II Consenso Brasileiro sobre tratamento do câncer de próstata avançado., *Soc. Bras. Oncol. Clínica*. (2017). <https://sboc.org.br/images/consenso/II-Consenso-Brasileiro-sobre-Tratamento-do-Cncer-de-Prstata-Avanado.pdf>.
- [45] D.L. Nelson, M.M. Cox, Lehninger PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY, New York, 2017, 2017.
- [46] M. Fleck, A.M. Petrosyan, Salts of amino acids: Crystallization, structure and properties, 2014. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06299-0>.
- [47] J. BEDFORD, C. HYDE, T. JOHNSON, W. JUN, D. OWEN, M. QUIBELL, R.C. SHEPPARD, Amino acid structure and “difficult sequences” in solid phase peptide synthesis, *Int. J. Pept. Protein Res.* 40 (1992) 300–307. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1992.tb00305.x>.
- [48] F.S.C. Rego, J.A.L. Jr., P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J.M. Filho, A.P. B, Raman spectroscopic study of DL valine under pressure up to 20 GPa, *J. Mol. Struct.* 1109 (2016) 220–225. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.12.026>.
- [49] E. Kaxiras, W.D. Callister, D.G. Rethwisch, *Materials Science and Engineering: an introduction*, 2014.
- [50] P.M. Dryburgh, *Crystal growth technology*, 2003.
- [51] I. v. Markov, *Crystal Growth for Beginners*, 1998.
- [52] N. Kubota, J.W. Mullin, A kinetic model for crystal growth from aqueous solution in the presence of impurity, *Cryst. Growth*. 152 (1995) 203–208.
- [53] H.O. Pierson, *Handbook of Carbon, Graphite, Diamond and Fullerenes*, 1993.
- [54] A. Clearfield, J.H. Reibenspies, N. Bhuvanesh, *Crystal Structure Analysis: Principles and Practice*, 2008.

- [55] J.W. Mullin, *Crystallization*, 2001.
- [56] C. Orvig, M.J. Abrams, *Medicinal Inorganic Chemistry : Introduction*, 99 (1999) 7–10. <https://doi.org/10.1021/cr980419w>.
- [57] P.J. SADLER, *ChemInform Abstract: Inorganic Chemistry and Drug Design*, *ChemInform.* 22 (2010) no-no. <https://doi.org/10.1002/chin.199150257>.
- [58] B.J. HATHAWAY, D.E. BILLING, The electronic properties and stereochemistry of mono-clear complexes of the cooper(II) ion, *Coord. Chem. Rev.* 5 (1970) 143–207.
- [59] L. Ronconi, P.J. Sadler, Using coordination chemistry to design new medicines, *Coord. Chem. Rev.* 251 (2007) 1633–1648. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.11.017>.
- [60] G. Cerchiaro, A. Maria, Oxindoles and Copper Complexes with Oxindole-Derivatives as Potential Pharmacological Agents, *J. Braz. Chem. Soc.* 17 (2006) 1473–1485.
- [61] T. Sathiya Kamatchi, N. Chitrapriya, S.K. Kim, F.R. Fronczek, K. Natarajan, Influence of carboxylic acid functionalities in ruthenium (II) polypyridyl complexes on DNA binding, cytotoxicity and antioxidant activity: Synthesis, structure and in vitro anticancer activity, *Eur. J. Med. Chem.* 59 (2013) 253–264.
- [62] N. Farrell, Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. An o v e r v i e w, 232 (2006) 2–5.
- [63] V.K. Pecharsky, P.Y. Zavalij, *Fundamentals of Powder Diffraction and Structural 88 Characterization of Materials*, 2009.
- [64] B.D. Cullity, S.R. Stock, *Elements of X-ray diffraction*, 2001.
- [65] T. Biver, F. Secco, M. Venturini, Mechanistic aspects of the interaction of intercalating metal complexes with nucleic acids, *Coord. Chem. Rev.* 252 (2008) 1163–1177.
- [66] D. et al İnci, Synthesis and crystal structures of novel copper (II) complexes with glycine and substituted phenanthrolines : reactivity towards DNA / BSA and in vitro cytotoxic and antimicrobial evaluation, *J Biol Inorg Chem.* 22 (2016) 61– 85. <https://doi.org/10.1007/s00775-016-1408-1>.
- [67] J.F.M. Silva, S.J. Garden, A.C. Pinto, The Chemistry of Isatins : a Review from 1975 to 1999 2 . Synthesis of Isatins, *J. Braz. Chem. Soc.* 12 (2001) 273–324.
- [68] L. Yang, X. Li, X. Li, S. Yan, Y. Ren, M. Wang, P. Liu, Y. Dong, C. Zhang, [Cu (phen) 2] 2 þ acts as electrochemical indicator and anchor to immobilize probe DNA in electrochemical DNA biosensor, *Anal. Biochem.* 492 (2016) 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.09.011>.
- [69] D.J. Stewart, Mechanisms of resistance to cisplatin and carboplatin, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 63 (2007) 12–31.
- [70] W. Mannheimer, *Microscopia dos Materiais: Uma Introdução*, 2002.
- [71] P.J. Goodhew, J. Humphreys, R. Beanland, *Electron Microscopy and Analysis*, 2001.
- [72] D. et al Newbury, *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*, 2003.
- [73] R. Young, *The Rietveld Metod*, Cambridge, 1993.
- [74] Y.I. Kim, F. Izumi, Structure Refinements with a New Program Version RIETAN of the, *J. Ceram. Soc. Japan.* 1 (1994) 1–4.
- [75] G. Will, *Powder Diffraction: the Rietveld method and the two-stage method*, 2006.
- [76] B.H. Toby, R factors in Rietveld analysis: How good is good enough?, *Powder Diffr.* 21 (2006) 67–70.
- [77] H.M. Rietveld, A profile refinement method for nuclear and magnetic structures, *J. Appl. Crystallogr.* 2 (1969) 65–71.
- [78] G.S. PAWLEY, Unit-Cell Refinement From Powder Diffraction Scans, *J. Appl. Crystallogr.* 14 (1981) 357–361.
- [79] A.O. dos Santos, L.P. Cardoso, Difração de raios-X de n-feixes na caracterização

- estrutural de monocristais sob a ação de temperatura e campo elétrico externo, (2006).
- [80] J.L.F. A. Le Bail, H. Duroy, Ab-Initio Structure Determination of LiSbWO by X-Ray Powder Diffraction, *Mat. Res. Bull.* 23 (1988) 447–452.
- [81] R. Silverstein, F. Webster, D. Kiemle, D. Bryce, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 2014.
- [82] D.A. Skoog, S.R. Crouch, *Principios de análisis instrumental*, 2007.
- [83] D.L. Pavia, G.M. Lampman, G.S. Kriz, *Introduction to Spectroscopy*, 2001.
- [84] K.S. Booksh, B.R. Kowalski, *Theory of Analytical Chemistry*, *Anal. Chem.* 66 (1994) 782–791.
- [85] G. M. Ionashiro, *Fundamentos da Termogravimetria Análise Térmica Diferencial Calorimetria Exploratória Diferencial*, 2004.
- [86] W. Hemminger, *Thermal analysis: Fundamentals and applications to polymer science*, *Thermochim. Acta.* 256 (1995) 485–487. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(95\)91503-6](https://doi.org/10.1016/0040-6031(95)91503-6).
- [87] A.L.M. Daneluti, J. do R. Matos, Study of thermal behavior of phytic acid, *Brazilian J. Pharm. Sci.* 49 (2013) 275–283. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000200009>.
- [88] E.C. Da Silva, M.V.R.V. De Paola, J.D.R. Matos, Análise térmica aplicada à cosmetologia, *Rev. Bras. Ciências Farm. J. Pharm. Sci.* 43 (2007) 347–356. <https://doi.org/10.1590/s1516-93322007000300004>.
- [89] H. Zuckerman, *Scientific elite: Nobel laureates in the United States*, (1977) 212–213.
- [90] C.G. Mothé, A.D. Azeverdo, *Análise Térmica de Materiais*, 2002.
- [91] J.J. Shea, *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 21 (1998) 3072–3076. <https://doi.org/10.1080/10826079808006889>.
- [92] F.W. Fifield, D. Kealey, *Principles and Practice of Analytical Chemistry*, “Inorganic Thermogravim. Anal. 3rd (1990) 403.
- [93] P. Larkin, *Infrared and Raman Spectroscopy - principles and spectral interpretation*, 2011.
- [94] B.H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2004.
- [95] H.W. Foote, *Elements of Physical Chemistry*, *Science (80-.)*. 26 (1907) 588–588.
- [96] G. Socrates, *Infrared and Raman characteristic group frequencies*, 2004.
- [97] S.E. Colthup, N.B. Daly, L.H. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy.*, 1990.
- [98] J.W. Strutt, ON THE LIGHT FROM THE SKY, ITS POLARIZATION AND COLOUR., *N Sci. Pap. Cambridge* (1871) 87–103.
- [99] K. Altmann, G. Strey, The hyper-Raman effect in molecular gases, *J. Raman Spectrosc.* 12 (1982) 1–15. <https://doi.org/10.1002/jrs.1250120102>.
- [100] J.R. Ferraro, K. Nakamoto, C.W. Brown, *Introductory Raman Spectroscopy*, 2003.
- [101] R.L. McCreery, *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*, John Wiley Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA. 40 (2000). <https://doi.org/10.1088/0954-3899/40/4/049502>.
- [102] D.N. Nguyen, C. Clasen, G. Van den Mooter, *Pharmaceutical Applications of Electrospinning*, *J. Pharm. Sci.* 105 (2016) 2601–2620. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.04.024>.
- [103] A.A. Schilt, R.C. Taylor, Infra-red spectra of 1:10-phenanthroline metal complexes in the rock salt region below 2000 cm⁻¹, *J. Inorg. Nucl. Chem.* 9 (1959) 211–221. [https://doi.org/10.1016/0022-1902\(59\)80224-4](https://doi.org/10.1016/0022-1902(59)80224-4).
- [104] S. Glišić, G. Nikolić, M. Cakić, N. Trutić, Spectroscopic study of copper(II) complexes

- with carboxymethyl dextran and dextran sulfate, *Russ. J. Phys. Chem. A.* 89 (2015) 1254–1262. <https://doi.org/10.1134/S0036024415070122>.
- [105] A.F. Cotton, G. Wilkinson, M. Bochmann, C.A. Murillo, *Advanced inorganic chemistry*, 1999.
- [106] R.F. Jameson, *Coordination chemistry of copper with regard to biological systems*, *Met. Ions Biol. Syst.* 12 (1981) 1–30.
- [107] H.A. Jahn, E. Teller, stability of poliatomic molecules in degenerate electronic states I: Orbital degeneracy., *Proc. R. Soc. A.* 161 (1937) 220.
- [108] J.D. Lee, *Química Inorgânica não tão concisa*, 2000.
- [109] T.L. Brown, H.E. Lemay, B.E. Bursten, J.R. Burdge, *Química: a ciência central*, Pearson Prentice Hall, 2005.
- [110] J.G. de Oliveira Neto, J.G.S. Filho, E.M. Bittar, L.M. Silva, F.F. de Sousa, H. V. Domingos, L. V. Costa-Lotuf, A.S. Reis, A.O. dos Santos, Structural, thermal, electronic, vibrational, magnetic, and cytotoxic properties of chloro(glycinato-N,O)(1,10-phenanthroline-N,N′)-copper(II) trihydrate coordination complex, *J. Inorg. Biochem.* 226 (2022) 111658. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111658>.
- [111] M. Marković, N. Judaš, J. Sabolović, Combined experimental and computational study of cis-trans isomerism in bis(L-valinato)copper(II), *Inorg. Chem.* 50 (2011) 3632–3644. <https://doi.org/10.1021/ic102585f>.
- [112] J. Phiri, P. Gane, T.C. Maloney, General overview of graphene: Production, properties and application in polymer composites, *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.* 215 (2017) 9–28. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2016.10.004>.
- [113] I. Nakagawa, R.J. Hooper, J.L. Walter, T.J. Lane, Infrared absorption spectra of metal-amino acid complexes-III. The infrared spectra and normal vibrations of metal-valine chelates, *Spectrochim. Acta.* 21 (1965) 1–14. [https://doi.org/10.1016/0371-1951\(65\)80100-x](https://doi.org/10.1016/0371-1951(65)80100-x).
- [114] K. Kirubavathi, K. Selvaraju, R. Valluvan, N. Vijayan, S. Kumararaman, Synthesis, growth, structural, spectroscopic and optical studies of a new semiorganic nonlinear optical crystal: L-Valine hydrochloride, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 69 (2008) 1283–1286. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.07.042>.
- [115] E. Ramachandran, S. Natarajan, Synthesis of L-valine crystals, *Cryst. Res. Technol.* 44 (2009) 641–646. <https://doi.org/10.1002/crat.200900012>.
- [116] M.M. Campos-Vallette, R.E. Clavijo, F. Mendizabal, W. Zamudio, R. Baraona, G. Diaz, Infrared spectrum of the bis-(1,10-phenanthroline) Cu(I) and Cu(II) perchlorate complexes, *Vib. Spectrosc.* 12 (1996) 37–44. [https://doi.org/10.1016/0924-2031\(96\)00012-4](https://doi.org/10.1016/0924-2031(96)00012-4).
- [117] K. Ueno, A.E. Martell, Infrared study of metal chelates of bisacetylacetonethylenediimine and related compounds, *J. Phys. Chem.* 59 (1955) 998–1004. <https://doi.org/10.1021/j150532a002>.
- [118] A. Ihs, B. Liedberg, K. Uvdal, C. Törnkvist, P. Bodö, I. Lundström, Infrared and photoelectron spectroscopy of amino acids on copper: Glycine, l-alanine and β -alanine, *J. Colloid Interface Sci.* 140 (1990) 192–206. [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(90\)90335-L](https://doi.org/10.1016/0021-9797(90)90335-L).
- [119] A.W. Herlinger, S.L. Wenholt, T.V. Longd, A.W. Herlinger, Infrared Spectra of Amino Acids and Their Metal Complexes. II. Geometrical Isomerism in Bis (amino acidato)copper(II) Complexes, *J. Am. Chem. Soc.* 92 (1970) 6474–6481. <https://doi.org/10.1021/ja00725a015>.
- [120] J.F. Jackovitz, J.L. Walter, Infrared absorption spectra of metal-amino acid complexes-

- V. The infrared spectra and normal vibrations of metal-leucine chelates, *Spectrochim. Acta*. 22 (1966) 1393–1406. [https://doi.org/10.1016/0371-1951\(66\)80132-7](https://doi.org/10.1016/0371-1951(66)80132-7).
- [121] N.K. Fayad, E. Al, Synthesis, Characterization, and Antibacterial Studies of Mn (II), Fe (II), Co (II), Ni (II), Cu (II) and Cd (II) Mixed-Ligand Complexes Containing Amino Acid (L-Valine) And (1, 10-phenanthroline), *Synthesis (Stuttg)*. 3 (2013) 5.
- [122] T. Noguchi, M. Sugiura, FTIR detection of water reactions during the flash-induced S-state cycle of the photosynthetic water-oxidizing complex, *Biochemistry*. 41 (2002) 15706–15712. <https://doi.org/10.1021/bi020603i>.
- [123] T. V. Berestova, L.G. Kuzina, N.A. Amineva, I.S. Faizrakhmanov, I.A. Massalimov, A.G. Mustafin, ATR-FTIR spectroscopic investigation of the cis- and trans-bis-(α -amino acids) copper(II) complexes, *J. Mol. Struct.* 1137 (2017) 260–266. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.02.023>.
- [124] M.S. Islas, J.J.M. Medina, O.E. Piro, A. Echeverría, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams, Comparisons of the spectroscopic and microbiological activities among coumarin-3-carboxylate, o-phenanthroline and zinc(II) complexes., *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* (2018) #pagerange#. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.03.003>.
- [125] R. Kumar, T. Karthick, P. Tandon, P. Agarwal, A.P. Menezes, A. Jayarama, Structural and vibrational characteristics of a non-linear optical material 3-(4-nitrophenyl)-1-(pyridine-3-yl) prop-2-en-1-one probed by quantum chemical computation and spectroscopic techniques, *J. Mol. Struct.* 1164 (2018) 180–190. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.03.060>.
- [126] S. Datta, A.S. Mahapatra, P. Sett, M. Ghosh, P.K. Mallick, P.K. Chakrabarti, Magnetic measurements , Raman and infrared spectra of metal – ligand complex derived from $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ and 2-benzoyl pyridine, *Bull. Mater. Sci.* (2018). <https://doi.org/10.1007/s12034-018-1560-z>.
- [127] D.R. Lombardi, E. Al., Quantitative and Qualitative Analysis of Some Inorganic Compounds by Raman Spectroscopy, *Appl. Spectrosc.* 48 (1994).
- [128] C.C. Wagner, E.J. Baran, Vibrational Spectra of Bis (L-Methioninato) Copper (II), 21 (2002) 287–290.
- [129] S. Jarmelo, P.R. Carey, R. Fausto, The Raman spectra of serine and 3, 3-dideutero-serine in aqueous solution, 43 (2007) 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2006.06.021>.
- [130] Ö. Tamer, D. Avcı, Y. Atalay, A novel Cu (II) Complex of Picolinate and 1 , 10-Phenanthroline : Preparation , Crystal Structure Determination , Spectroscopic Characterization and Nonlinear Optical Studies, *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.* 0 (2017) 0. <https://doi.org/10.1007/s10904-017-0513-0>.
- [131] I. Nemeč, Z. Mická, FTIR and FT Raman study of L -leucine addition compound with nitric acid, 483 (1999) 23–28.
- [132] C.A. Steren, R. Calvo, E.E. Castellano, M.S. Fabiane, O.E. Piro, Molecular structure and single crystal EPR spectra of bis(L-Valinato)copper(II) monohydrate, $\text{Cu}[\text{H}_2\text{NCH}(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}_2]_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, *Phys. B Phys. Condens. Matter*. 164 (1990) 323–330. [https://doi.org/10.1016/0921-4526\(90\)90819-G](https://doi.org/10.1016/0921-4526(90)90819-G).
- [133] W. Chen, M. Guo, S. Wang, Anti prostate cancer using PEGylated bombesin containing, cabazitaxel loading nano-sized drug delivery system, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 42 (2016) 1968–1976. <https://doi.org/10.1080/03639045.2016.1185438>.
- [134] A. Montero, F. Fossella, G. Hortobagyi, V. Valero, Docetaxel for treatment of solid tumours : a systematic, *Rev. Lit. Arts Am.* (2005) 229–239.
- [135] L. Yu, X. Wu, M. Chen, H. Huang, Y. He, H. Wang, D. Li, Z. Du, K. Zhang, S. Goodin, X. Zheng, The effects and mechanism of YK-4-279 in combination with docetaxel on

- prostate cancer, *Int. J. Med. Sci.* 14 (2017) 356–366. <https://doi.org/10.7150/ijms.18382>.
- [136] H.R. Kübler, H. Van Randenborgh, U. Treiber, S. Wutzler, C. Battistel, A. Lehmer, S. Wagenpfeil, R. Hartung, R. Paul, In vitro cytotoxic effects of imatinib in combination with anticancer drugs in human prostate cancer cell lines, *Prostate*. 63 (2005) 385–394. <https://doi.org/10.1002/pros.20201>.
- [137] M.P. Barr, S.G. Gray, A.C. Hoffmann, R.A. Hilger, J. Thomale, J.D. O’Flaherty, D.A. Fennell, D. Richard, J.J. O’Leary, K.J. O’Byrne, Generation and Characterisation of Cisplatin-Resistant Non-Small Cell Lung Cancer Cell Lines Displaying a Stem-Like Signature, *PLoS One*. 8 (2013). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054193>.