



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



Jessica Andreza Oliveira Rodrigues

Síntese, caracterização e avaliação do potencial anticâncer e antibacteriano dos complexos [Cu(Fen)(L-Metionina)H₂O]Cl·1.5H₂O e [Cu(Fen)(L-Asparagina)H₂O·Cl]H₂O

Imperatriz - MA

2023

Jessica Andreza Oliveira Rodrigues

Síntese, caracterização e avaliação do potencial anticâncer e antibacteriano dos complexos [Cu(Fen)(L-Metionina)H₂O]Cl·1.5H₂O e [Cu(Fen)(L-Asparagina)H₂O·Cl]H₂O

Tese 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 Doutor(a) em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Síntese e Caracterização de Cristais Orgânicos e Inorgânicos.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa

Imperatriz - MA

2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Rodrigues, Jessica Andreza Oliveira.

Síntese, caracterização e avaliação do potencial anticâncer e antibacteriano dos complexos CuFenL-MetioninaH₂OCl·1.5H₂O e CuFenL-AsparaginaH₂O·ClH₂O / Jessica Andreza Oliveira Rodrigues. - 2023.

127 f.

Orientador(a): Francisco Ferreira de Sousa.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais/ccim, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2023.

1. Antitumoral. 2. Cristal de cobre. 3. Espectroscopia FTIR e Raman. 4. Estudo térmico. 5. Potencializador de antibiótico. I. de Sousa, Francisco Ferreira. II. Título.

Membros da comissão julgadora da defesa da Tese de Doutorado da aluna **Jéssica Andreza Oliveira Rodrigues**, apresentados ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM).

Imperatriz, 27 de fevereiro de 2023

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa (Orientador)
PPGCM - UFMA

Prof. Dr. Pedro de Freitas Façanha Filho (Membro interno)
PPGCM - UFMA

Prof^a. Dr^a. Rita de Cassia Silva Luz (Membro interno)
PPGCM - UFMA

Prof^a. Dr^a. Joyce Kelly do Rosário da Silva (Membro externo)
UFPA

Prof^a. Dr^a. Eliana B. Souto (Membro externo)
UNIPORTO - PT

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus que sempre está conosco, e à minha família, em especial, meus amados pais, Rosanne e Célio Rodrigues.

AGRADECIMENTOS

- A Deus, pois sem ele nada seria possível.
- À toda minha família que sempre compartilhou comigo os momentos bons e ruins dessa vida acadêmica, principalmente meus pais, por tanto apoio e incentivo e por nunca hesitarem em fazerem tudo para o meu bem estar.
- Ao professor Dr. Francisco Ferreira de Sousa pela orientação, confiança, aprendizado, apoio e atenção. Agradeço imensamente pela oportunidade de ser sua aluna e poder compartilhar do seu conhecimento. Obrigado por tudo, sem dúvidas, ganhar a sua amizade foi uma das coisas mais importantes durante esse período.
- Ao professor Dr. Alan Silva de Menezes, meu esposo, você é e sempre será meu companheiro de vida, te amo!
- Ao professor Dr. Adenilson Oliveira dos Santos coordenador do Laboratório de Difração de Raios X da UFMA, campus Imperatriz, por quem tenho imenso carinho e admiração, obrigado por toda ajuda e acolhida o tempo que fiquei no seu laboratório.
- Ao professor Dr. Mateus Ribeiro Lage e seu aluno Adriano Torres pela ajuda nos cálculos teóricos.
- Ao Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Impedância, campus São Luís, pela disponibilidade para realização das medidas de FT-IR e Raman, e ao professor Dr. Clenilton Costa dos Santos por toda a ajuda nas medidas.
- A Central de Energia e Ambiente da UFMA, campus São Luís, pela disponibilidade para realização das medidas de análise térmica, e ao Professor Dr. Francisco Sávio Mendes Sinfrônio pela condução e ajuda nas medidas.
- Ao Laboratório de Cristalografia Estrutural da UFC, campus Pici, coordenado pelo professor Dr. Alejandro Pedro Ayala, por toda disponibilidade para realização das medidas de DRX em monocristal.
- Ao Laboratório de Fisiopatologia e Investigação Terapêutica da UFMA, campus Imperatriz, e ao professor Dr. Aramys Silva dos Reis com sua equipe pela ajuda nos ensaios antibacterianos.
- Ao Laboratório de Radiofarmácia e Nanorradiofármacos da UEZO, Rio de Janeiro, coordenado pelo professor Dr. Ralph dos Santos, pela disponibilidade e toda ajuda nos ensaios anticâncer.

- Ao Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões (LEVAP) da Universidade Federal do Pará (UFPA) pela disponibilidade para realização das medidas Raman.
- A Central Analítica de Materiais da UFMA, campus São Luís, pela disponibilidade para realização das medidas de DRX em função da temperatura.
- Aos amigos muito especiais do Grupo de Espectroscopia Raman e Transições de Fase (GERTRAF) da UFPA.
- Aos amigos do Laboratório de Síntese de Materiais Funcionais (LSMF) da UFMA, campus São Luís, com quem dividi a maior parte do meu tempo, em especial, Deusilene, Thaynara, Ellen e Luana.
- Aos meus colegas de turma, a primeira turma de Doutorado em Ciência dos Materiais da UFMA (2019.1), só nós sabemos a força que tivemos para vencer essa batalha.
- Aos amigos do Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) da UFMA, campus Imperatriz, que sempre alegravam o meu dia, é maravilhoso trabalhar em um ambiente com pessoas tão amigas quanto vocês. Vão estar sempre no meu coração, João, Ian, Jailton, Kamila, Marina, Carliana, Rayssa e os demais de outros laboratórios, Raychimam, Otávio, Gleison, Andreza, Emanuella, são todos amigos queridos.
- Em especial ao meu amigo João Gomes de Oliveira Neto, que tem o título de “melhor companheiro de laboratório”, e vai ser para sempre meu “best”. Obrigado por tanto, o teu apoio e parceria desde o mestrado foram essenciais para me manter forte e firme nessa caminhada. Obrigado pelos muitos momentos bons, por me fazer gostar de dançar e tomar açaí! Estaremos sempre juntos.
- Aos demais colegas da Pós-Graduação pela convivência.
- A todos os professores, técnicos e demais servidores do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da UFMA por toda assistência.
- Aos meus filhos de quatro patas, Blue, Cristal e Theodoro que enchem o meu dia de amor e alegria.
- A todos que, de alguma forma, incentivaram e torceram por mim.
- À CAPES pelo apoio financeiro.

“Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e ainda que tivesse o dom de profecia e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, e não tivesse amor, eu nada seria.”

I Coríntios 13, 1-2

PRODUÇÕES E ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O DOUTORADO

ARTIGOS PUBLICADOS E A SUBMETER

1. De Oliveira Neto, João G.; Lang, Rossano; **Rodrigues, Jéssica A. O.**; Gutiérrez, Carlos E. O.; Murillo, Manuel A. R.; De Sousa, Francisco F.; Filho, José G. Silva; Dos Santos, Adenilson O. *Kröhnkite-type $K_2Mn(SO_4)_2(H_2O)_2$ double salt: synthesis, structure, and properties*. Journal of Materials Science, v. 57, p. 1-16, 2022.
2. **Rodrigues, J.A.O.**; Oliveira Neto, J.G.; Santos, C.C.; Nogueira, C.E.S.; De Sousa, F.F.; De Menezes, A.S.; Dos Santos, A.O. *Phase changes of tris(glycinato)chromium(III) monohydrate crystal systematically studied by thermal analyses, XRPD, FT-IR, and Raman combined with ab initio calculations*. Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, v. 271, p. 120883, 2022.
3. **Andreza Oliveira Rodrigues, Jessica**; Gomes De Oliveira Neto, João; Oliveira Da Silva De Barros, Aline; Pedro Ayala, Alejandro; Santos-Oliveira, Ralph; Silva De Menezes, Alan; Ferreira De Sousa, Francisco. *Copper(II):Phenanthroline Complexes with L-asparagine and L-methionine: Synthesis, Crystal Structure and in-Vitro Cytotoxic Effects on Prostate, Breast and Melanoma Cancer Cells*. Polyhedron, v. xx, p. 114807, 2020.
4. **Jessica A. O. Rodrigues**, Adriano U. Torres, Natan A. B. de Sousa, Thallysson J. D. de Sousa, João G. Oliveira Neto, Aramys S. Reis, Mateus R. Lage, Adenilson O. dos Santos, Clenilton C. Santos, Alan S. de Menezes, Francisco F. de Sousa. *Solvation effects on the physicochemical properties of $[Cu(Phen)(L-methionine)H_2O]Cl \cdot 1.5H_2O$ complex via quantum chemical calculations*. A submeter.
5. Deusilene de M. Barros, **Jessica A. O. Rodrigues**, Wanderson B. Rodrigues, Guilherme G. C. de Carvalho, Claudia Pessoa, Natan A. B. de Sousa, Thallysson J. D. de Sousa, Aramys S. Reis, Mateus R. Lage, Clenilton C. Santos, Francisco F. de Sousa, Alan S. de Menezes. *$[Cu(phen)(L-arg)Cl]Cl \cdot 2.5H_2O$ complex:*

Synthesis, DFT calculations, and pharmacological in-vitro study. A submeter.

6. Arilton R. S. Macedo, Pedro Y. C. Santana, Rosane de P. Castro, Ezequiel B. Melo, **Jéssica A. O. Rodrigues**, Raísa M. C. S. Diniz, Tayanne C. M. A. Pereira, Adenilson O. dos Santos, José R. Sabino, Francisco S. M. Sinfrônio, Alan S. de Menezes. *Crystal Structure, Thermal Behavior and Thermodynamic and Kinetic Parameters of the New Ni(II)(L-Threoninato)₂(H₂O)₂ Crystal.* A submeter.

PATENTES DEPOSITADAS

1. Silva Neto, O. C.; Marques, J. V.; **Rodrigues, J. A. O.**; Costa, A. S.; Abreu, K. R.; Santos, A. O. *Cristal de L-treonina dopado com cloreto de neodímio III para uso em dispositivos ópticos.* 2019, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do Registro: BR1020190200952, Título: "Cristal de L-treonina dopado com cloreto de neodímio III para uso em dispositivos ópticos", Instituição de Registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 26/09/2019.
2. Guimaraes Neto, F.; Silva Neto, O. C.; **Rodrigues, J. A. O.**; Reis, I. F. S.; Santos, A. O. *Cristais fotoluminescentes obtidos à base de matrizes cristalinas de aminoácidos.* 2019, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020190234687, título: "Cristais fotoluminescentes obtidos à base de matrizes cristalinas de aminoácidos", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 08/11/2019.
3. Oliveira Neto, J. G.; Reis, I. F. S.; Silva Neto, O. C.; **Rodrigues, J. A. O.**; Viana, J. R.; Abreu, K. R.; Oliveira, R. R. S. C.; Dias, A. L.; Santos, A. O. *Sal de tutton K₂[Cu₂+(SO₄)₂(H₂O)₆] dopado com Sm₂O₃ e seu uso.* 2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202000885, título: "Sal de tutton K₂[Cu₂+(SO₄)₂(H₂O)₆] dopado com Sm₂O₃ e seu uso", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 04/05/2020.
4. **Rodrigues, J. A. O.**; Oliveira Neto, J. G.; Menezes, A. S.; Santos, A. O. *Filme polimérico a partir do complexo Tris(Glicinato)Cromo(III) Monohidratado.*

2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202001206, título: "Filme polimérico a partir do complexo Tris(Glicinato)Cromo(III) Monohidratado", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 16/06/2020.

5. Barros, D. M.; **Rodrigues, J. A. O.**; Gomes De Oliveira Neto, João; Rodrigues, W. B.; Reis, A. S.; Santos, A. O.; Sousa, F. F.; Menezes, A. S. *Cristal de cobre complexado com fenantrolina e arginina e seu efeito anticâncer nas linhagens HL-60 e PC-3*. 2021, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202102488, título: "Cristal de cobre complexado com fenantrolina e arginina e seu efeito anticâncer nas linhagens HL-60 e PC-3", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 09/12/2021.
6. **Andreza Oliveira Rodrigues, Jessica**; Menezes, A. S.; Fonseca, E. A.; Pedro Ayala, Alejandro. *Cristal a partir do aminoácido L-Fenilglicina*. 2022, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202202155, Título: "Cristal a partir do aminoácido L-Fenilglicina", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 24/10/2022.

TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS

1. **Andreza Oliveira Rodrigues, Jessica**; Oliveira Neto, J. G.; Abreu, K. R.; Pedro Ayala, Alejandro; Santos-Oliveira, Ralph; Santos, A. O.; Menezes, A. S.; Sousa, F. F. Potent cytotoxic effect of a new ternary copper(II) complex with L-asparagine In: XX Brazil Mrs Meeting, 2022, Foz do Iguaçu.
2. **Rodrigues, J. A. O.**; Oliveira Neto, J. G.; Reis, I. F. S.; Santos, C. C.; Menezes, A. S.; Santos, A. O. Propriedades vibracionais do cristal de glicina complexado com cromo. In: 59º Congresso Brasileiro de Química, 2019, João Pessoa.
3. Reis, I. F. S.; Oliveira Neto, J. G.; **Rodrigues, J. A. O.**; Santos, A. O. Complexo ternário antitumoral de ferro (III) com fenantrolina e ácido malônico: síntese e caracterização. In: 59º Congresso Brasileiro de Química, 2019, João Pessoa.

4. **Rodrigues, J. A. O.**; Oliveira Neto, J. G.; Santos, C. C.; Menezes, A. S.; Santos, A. O. Xrd and raman study of glycine crystal complexed with Cr³⁺ as a function of temperature. In: XVIII Brazilian MRS Meeting, 2019, Balneário Camboriú.
5. **Rodrigues, J. A. O.**; Oliveira Neto, J. G.; Santos, C. C.; Sousa, F. F.; Menezes, A. S.; Santos, A. O. Estudo do cristal tris(glicinato) de cromo (III) monohidratado por espectroscopia raman. In: VI Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2019, Belém.

ORIENTAÇÕES E SUPERVISÕES CONCLUÍDAS

1. Deusilene de Moraes Barros. Estudo Estrutural, Térmico, Espectroscópico e Farmacológico *in-vitro* do complexo [Cu(Fen)(L-Arg)Cl]Cl.2,5H₂O. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Física) - Universidade Federal do Maranhão. Coorientadora: **Jéssica Andreza Oliveira Rodrigues**.

RESUMO

Complexos de cobre são espécies muito versáteis e largamente promissores em catálise, *design* de medicamentos e aplicações bioinorgânicas. Neste trabalho, os complexos ternários de $[\text{Cu}(\text{Fen})(\text{L-metionina})\text{H}_2\text{O}]\text{Cl}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Cu}(\text{Fen})(\text{L-asparagina})\text{H}_2\text{O}\cdot\text{Cl}]\text{H}_2\text{O}$ foram sintetizados. As propriedades de ambos complexos foram estudadas utilizando técnicas de difração de raios X (DRX), análise termogravimétrica (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopias Raman e no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). Sendo a estrutura cristalina do complexo $[\text{Cu}(\text{Fen})(\text{L-asparagina})\text{H}_2\text{O}\cdot\text{Cl}]\text{H}_2\text{O}$ inédita, a mesma foi resolvida por DRX de monocristal, e apresentou simetria que pertence ao sistema triclinico com grupo espacial $P\bar{1}$. Os resultados de espectroscopia Raman, FT-IR e a utilização da teoria do funcional de densidade (DFT) permitiram o estudo e a classificação dos modos normais de vibração dos complexos. Ambos complexos apresentaram boa estabilidade de acordo com a análise das curvas TGA e DSC, mostrando os primeiros eventos térmicos a partir da temperatura de 330 K. Medidas de DRX em função da temperatura foram obtidas e corroboram os resultados obtidos a partir das técnicas TGA e DSC. Ambos os complexos exibiram efeitos citotóxicos potentes contra as linhagens de células cancerígenas testadas, inibindo 100% da linhagem de células MV3 (câncer de melanoma humano) e 90% da linhagem de células MCF7 (câncer de mama humano) em uma concentração de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Efeitos citotóxicos também foram observados para as linhagens de células MDA-MB-23 (câncer de mama humano) e DU-145 e PC3 (câncer de próstata humano), no qual os complexos mostraram em torno de 70–80% de inibição, na concentração de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Os dois complexos apresentaram baixos valores de IC_{50} , com o melhor resultado de 4,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para a linhagem MDA-MB-23 (câncer de mama humano). Além disso, estudos biológicos mostraram a atividade antibacteriana dos complexos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Ambos os complexos se mostraram possíveis potencializadores de antibióticos comerciais, com concentração inibitória mínima (MIC) apenas 3x maior comparada a droga padrão Gentamicina para a bactéria Gram-positiva *Streptococcus pneumoniae*.

Palavras-chave: Antitumoral, cristal de cobre, espectroscopia FTIR e Raman, estudo térmico, potencializador de antibiótico.

ABSTRACT

Copper complexes are highly versatile species widely applied in fields of catalysis, drug design, and bioinorganic. In this work, the ternary copper(II) complexes [Cu(Phen)(L-methionine)H₂O]Cl·1.5H₂O and [Cu(Phen)(L-asparagine)H₂O·Cl]H₂O were synthesized. The properties of both complexes were evaluated using advanced techniques of X-ray diffraction (XRD), thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC), Raman and Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). As the complex [Cu(Phen)(L-asparagine)H₂O·Cl]H₂O was obtained for the first time herein; so, its crystalline structure was solved by single crystal XRD, indicating that crystal belongs to triclinic symmetry with $P\bar{1}$ space group. The results of Raman spectroscopy, FT-IR and density functional theory (DFT) calculations allowed the assignment of vibration modes of the complexes. According to the analysis of the TGA and DSC curves, both complexes showed good stability for moderated temperatures around 330 K. The XRD measurements as a function of temperature corroborated the results obtained from the TGA and DSC curves. Both complexes exhibited potent cytotoxic effects against cancer cell lines, inhibiting 100% of the MV3 cell line (human melanoma cancer) and 90% of the MCF7 cell line (human breast cancer) at a concentration of 50 µg/mL. Cytotoxic effects were also observed for the cell lines MDA-MB-23 (human breast cancer) and DU-145 and PC3 (human prostate cancer), in which the complexes showed around 70–80% inhibition, at a concentration of 50 µg/mL. The two complexes showed low IC₅₀ values, with the best result of 4.7 µg/mL for the MDA-MB-23 cell line (human breast cancer). In addition, biological studies in both complexes indicated antibacterial activity on Gram-positive and Gram-negative bacteria. Both complexes proved to be possible potentiators of commercial antibiotics, with a minimum inhibitory concentration (MIC) only 3x higher compared to the standard drug Gentamicin for the Gram-positive bacteria *Streptococcus pneumoniae*.

Keywords: Antitumoral, copper crystal, FTIR and Raman spectroscopy, thermal study, potentiator of antibiotic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número estimado de novos casos em 2020, todos os cânceres, ambos os sexos, todas as idades [40].	25
Figura 2. Estágios do processo de carcinogênese (Adaptado da ref. [46]).	26
Figura 3. Algumas diferentes vias de administração da quimioterapia [49].	27
Figura 4. Principais mecanismos de resistência a quimioterápicos [58].	29
Figura 5. Esquema da resistência a antibióticos em bactérias [90].	33
Figura 6. Estrutura do ligante heterocíclico 1,10-Fenantrolina [101].	35
Figura 7. Representação da estrutura geral dos aminoácidos [117].	37
Figura 8. Formas isômeras dos aminoácidos [119].	38
Figura 9. Estrutura química da Asparagina [117].	38
Figura 10. Estrutura química da Metionina [117].	40
Figura 11. Os três medicamentos anticâncer à base de platina: cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, que ganharam aprovação de comercialização mundial para os seres humanos [142].	42
Figura 12. A produção de raios X a nível atômico [160].	44
Figura 13. Espectros de radiação produzidos por diversas diferenças de potencial em um tubo de raios X [161].	45
Figura 14. Os níveis atômicos de energia e as emissões de radiação referentes a cada transição. Adaptado da Ref. [160].	46
Figura 15. Duas ondas de raios X incidem em planos diferentes de um cristal e são refletidas em fase no primeiro caso (a) e defasadas de meio comprimento de onda no segundo caso (b). Adaptado da Ref. [161].	47
Figura 16. Análise da geometria na Lei de Bragg da diferença de caminho percorrido por feixes de raios X no cristal [163].	47
Figura 17. Modos de vibração molecular de estiramento e deformação [163].	51
Figura 18. Torção em torno do eixo central da molécula [174].	51
Figura 19. Esquema representativo do espalhamento (a) <i>Rayleigh</i> e (b) <i>Raman Stokes</i> (c) <i>Raman anti-Stokes</i> [182].	53
Figura 20. Policristal Cu(Fen)(Met) obtido por evaporação lenta do solvente.	57
Figura 21. Monocristal Cu(Fen)(Asn) obtido por evaporação lenta do solvente.	58
Figura 22. Difratorômetro D8 Advance da Bruker.	59
Figura 23. Difratorômetro D8 Venture da Bruker.	60
Figura 24. Espectrômetro Nexus 470 da Nicolet.	60

Figura 25. Espectrômetro T64000 da Jobin-Yvon.	61
Figura 26. Analisador termogravimétrico simultâneo STA 449 F3 Jupiter da Netzsch.	62
Figura 27. Padrões de difração à temperatura ambiente e refinamento pelo método Rietveld do complexo Cu(Fen)(Met).	65
Figura 28. Molécula do complexo Cu(Fen)(Met) com átomos numerados.	66
Figura 29. Célula unitária do complexo Cu(Fen)(Met) vista no plano <i>ab</i>	66
Figura 30. Molécula do complexo Cu(Fen)(Asn) com átomos numerados.	68
Figura 31. Célula unitária do complexo Cu(Fen)(Asn) vista no plano <i>bc</i>	68
Figura 32. Espectros Raman experimental e calculado do complexo Cu(Fen)(Met). O <i>inset</i> é a região de modos de vibração da rede cristalina.	69
Figura 33. Espectros de absorção no IR experimental e calculado do complexo Cu(Fen)(Met).	70
Figura 34. Espectros Raman experimental e calculado do complexo Cu(Fen)(Asn). O <i>inset</i> é a região de modos de vibração da rede cristalina.	76
Figura 35. Espectros de absorção no IR experimental e calculado do complexo Cu(Fen)(Asn).	77
Figura 36. Curvas TGA e DSC do complexo Cu(Fen)(Met).	80
Figura 37. Curvas TGA e DSC do complexo Cu(Fen)(Asn).	81
Figura 38. Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Met) no intervalo de temperatura de 12 - 300 K.	82
Figura 39. Comportamento dos parâmetros de rede (<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i>) e volume da célula unitária do complexo Cu(Fen)(Met) em baixas temperaturas.	83
Figura 40. (a) Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Met) em diferentes condições de ambiente na temperatura de 300 K (b) a comparação da medida sob vácuo com a medida na temperatura de 240 K.	84
Figura 41. Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Met) no intervalo de temperatura de 300 a 460 K.	85
Figura 42. Padrões DRX do complexo Cu(Fen)(Asn) no intervalo de temperatura de 12 a 300 K.	86
Figura 43. Comportamento dos parâmetros de rede (<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i>) e volume da célula unitária do complexo Cu(Fen)(Asn) em baixas temperaturas.	87
Figura 44. Comportamento dos parâmetros (α, β, γ) do complexo Cu(Fen)(Asn) em baixas temperaturas.	88

Figura 45. (a) Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Asn) em diferentes condições de ambiente na temperatura de 300 K (b) comparação da medida sob vácuo com a medida na temperatura de 280 K.....	89
Figura 46. Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Asn) no intervalo de temperatura de 300 - 480 K.	90
Figura 47. Comportamento dos parâmetros (a , b , c) e volume da célula unitária do complexo Cu(Fen)(Asn) em altas temperaturas.	91
Figura 48. Comportamento dos parâmetros (α, β, γ) do complexo Cu(Fen)(Asn) em altas temperaturas.....	92
Figura 49. Citotoxicidade dependente da dose dos complexos ao longo de um período de 24 horas em células DU 145 (esquerda) e PC3 (direita) utilizando o ensaio MTT.....	93
Figura 50. Citotoxicidade dependente da dose dos complexos ao longo de um período de 24 horas em células MCF7 (esquerda) e MDA-MB-231 (direita) utilizando o ensaio MTT.	94
Figura 51. Citotoxicidade dependente da dose dos complexos ao longo de um período de 24 horas em células MV3 utilizando o ensaio MTT.	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Radiações características dos principais materiais utilizados em tubos de raios X [160].	46
Tabela 2. Exemplos de fenômenos térmicos vistos em curvas TGA e DSC [195].	56
Tabela 3. Reagentes utilizados	58
Tabela 4. Dados cristalográficos e experimentais do complexo Cu(Fen)(Asn).	67
Tabela 5. Modos de vibração Raman e IR experimentais e calculados e suas respectivas atribuições para o complexo Cu(Fen)(Met).	72
Tabela 6. Modos de vibração Raman e IR experimentais e calculados e suas respectivas atribuições para o complexo Cu(Fen)(Asn).	77
Tabela 7. Valores de IC ₅₀ em µg/mL usando a metodologia MTT em 24 horas para as linhagens celulares DU-145, PC3, MDA-MB-231, MCF7 e MV3.	95
Tabela 8. Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) e da droga padrão Gentamicina (µg/mL) contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.	96
Tabela 9. Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros equivalentes de deslocamento isotrópico ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para Cu(Fen)(Asn).	125
Tabela 10. Comprimentos de ligação para Cu(Fen)(Asn).	125
Tabela 11. Ângulos de ligação para Cu(Fen)(Asn).	126
Tabela 12. Comprimentos e ângulos das ligações de hidrogênio para Cu(Fen)(Asn).	127

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- OMS – Organização Mundial da Saúde
- ESBLs – Bactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido
- ATP – Adenosina trifosfato
- DNA – Ácido desoxirribonucléico
- RNA – Ácido ribonucléico
- Succinil – CoA succinilcoenzima A
- FDA – Administração de alimentos e medicamentos (inglês: Food and Drug Administration)
- Bremsstrahlung (termo do alemão) – radiação de frenamento
- GOF – Goodness-of-fit
- HF – Hatree-Fock
- DRX – Difração de raios X
- TGA – Análise termogravimétrica (inglês: Thermogravimetric analysis)
- DSC – Calorimetria exploratória diferencial (inglês: Differential scanning calorimetry)
- FTIR – Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (inglês: Fourier transform infrared spectroscopy)
- DFT – Teoria do funcional da densidade (inglês: Density functional theory)
- MIC – concentração inibitória mínima (inglês: Minimum inhibitory concentration)
- IEFPCM – Formalismo de equação integral do modelo contínuo polarizável (inglês: Integral equation formalism polarizable continuum model)
- PED – Distribuição do potencial de energia (inglês: Potential Energy Distribution)
- MTT – [(3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazólio)]
- DMEM – Meio de Eagle modificado por Dulbecco (inglês: Dulbecco's Modified Eagle Medium)
- SBF – Soro bovino fetal
- HEPES – [Ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanossulfônico]
- EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético (inglês: Ethylenediamine tetraacetic acid)
- ATCC – Coleção de cultura de tipos americanos (inglês: American Type Culture Collection)
- BHI – Infusão de cérebro e coração (inglês: Brain Heart Infusion)
- UFC – Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	14
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	18
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	19
1. Introdução.....	22
2. Fundamentação Teórica.....	25
2.1. O câncer e seu tratamento por quimioterapia	25
2.2. As bactérias e suas infecções.....	29
2.3. Antibióticos e a resistência bacteriana.....	31
2.4. Química de coordenação do cobre.....	33
2.5. Características gerais dos ligantes	35
2.5.1. 1,10-Fenantrolina.....	35
2.5.2. Aminoácidos.....	37
2.6. Potencial biológico de complexos metálicos.....	41
2.7. Técnicas de caracterização experimentais e DFT.....	44
2.7.1. Difração de raios X.....	44
2.7.2. Refinamento Rietveld	48
2.7.3. Espectroscopias no infravermelho e Raman.....	49
2.7.5. Análise Térmica (TGA e DSC)	54
3. Materiais e Métodos	57
3.1. Síntese do complexo Cu(Fen)(Met)	57
3.2. Síntese do complexo Cu(Fen)(Asn)	57
3.3. Difração de raios X (DRX) em pó e refinamento Rietveld	59
3.4. Difração de raios X (DRX) de monocristal	59
3.5. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	60
3.6. Espectroscopia Raman.....	61
3.7. Metodologia baseada na teoria do funcional da densidade (DFT)	61
3.8. Análise termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial (TGA e DSC).....	62
3.9. Testes biológicos	62
3.9.1. Ensaio de citotoxicidade.....	62
3.9.2. Ensaio antibacteriano.....	63

4.	Resultados dos complexos Cu(Fen)(Met) e Cu(Fen)(Asn)	65
4.1.	Análise estrutural por DRX	65
4.2.	Análise vibracional por espectroscopias Raman e FT-IR	68
4.3.	Análise térmica por TGA e DSC.....	79
4.4.	Análise estrutural em função da temperatura por DRX	82
5.	Resultados biológicos	92
5.1.	Testes citotóxicos	92
5.2.	Testes antibacterianos.....	95
6.	Conclusões.....	98
7.	Perspectivas	99
	Referências	100
	ANEXOS.....	125

1. Introdução

Os metalofármacos desempenham um papel significativo na medicina terapêutica e diagnóstica, por isso, o estudo desses materiais é uma área crescente de pesquisa. A muito familiar cisplatina, $cis\text{-(NH}_3\text{)}_2\text{PtCl}_2$, juntamente com seus análogos, carboplatina e oxaliplatina, ainda estão entre os agentes quimioterápicos mais amplamente utilizados em todo o mundo atualmente [1–4]. No entanto, a eficácia desses compostos de platina apresenta várias limitações, como alta toxicidade e baixa dose de administração. Por exemplo, a cisplatina é eficaz apenas para um pequeno espectro de células tumorais e, adicionalmente, devido à sua baixa solubilidade aquosa (1 mg/mL), é administrada por via intravenosa [5].

Além disso, os vários problemas de toxicidade, como nefrotoxicidade, neurotoxicidade, emetogênese, etc., associados à cisplatina, complicam ainda mais seu uso. Por último, a resistência das células tumorais à cisplatina, tanto natural quanto adquirida gradualmente durante o tratamento, prejudica seriamente sua utilidade. Assim, com o surgimento de muitas aplicações biomédicas de vários outros metais de transição, abrangendo atividades anticancerígenas, antibacterianas e antifúngicas, o foco está gradualmente mudando para além da platina (Pt) ultimamente. Um dos metais de transição que vêm se destacando é o cobre [6–10].

Os íons de cobre (II) são importantes para muitos organismos. Como outros metais, o cobre é essencial para as proteínas envolvidas em vários processos biológicos, incluindo respiração, metabolismo, síntese de DNA e reações de oxidação-redução [11]. Dentre os fatores positivos para a escolha dos compostos de cobre, destaca-se a biogênese, a presença em todos os organismos vivos, uma menor toxicidade para o organismo e, ao mesmo tempo, uma maior toxicidade para as células tumorais [12]. Os compostos de cobre são ativos contra tumores com resistências congênitas ou adquiridas a medicamentos de platina. Outro fator positivo é a inclusão de compostos de cobre nos processos de biotransformação, o que lhes confere quase total ausência de nefrotoxicidade e neurotoxicidade [13].

A sua capacidade de induzir a clivagem oxidativa do DNA é outra característica positiva, e complexos de cobre (II) estão entre as nucleases químicas mais extensamente estudadas [14]. Geralmente, a atividade de clivagem de DNA por complexos de cobre é observada na presença de oxidação ou redução de co-reagentes [15]. Os íons de Cu(II) podem atrasar a progressão do ciclo celular e induzir a morte de células cancerígenas [16,17] por se ligarem ao DNA com uma elevada afinidade, promoverem a oxidação do

DNA em condições de stress oxidativo [18] e causar a apoptose em cultura de células de mamífero [19]. Alguns estudos na literatura também indicam que o cobre (II) e seus complexos metálicos apresentam atividade antimicrobiana [20,21]. O cobre em sua forma bivalente (Cu^{2+}) desempenha vários papéis na maioria dos organismos aeróbicos, como cofator catalítico e estrutural. Tem sido relatado que o íon cobre (II) é essencial para as bactérias, mas torna-se tóxico em concentrações mais altas [21–23].

Rosu et al. [24] estudou a atividade antibacteriana de vários complexos de cobre(II) contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* que apresentaram MIC (concentração inibitória mínima) entre 8 e 128 $\mu\text{g/mL}$. O composto de cobre (II) sintetizado e caracterizado por Silva et al. [18] apresentou MIC inferior a 125 $\mu\text{g/mL}$ contra as cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Stanila et al. [25] também estudou a atividade antibacteriana de complexos de cobre com aminoácidos, com destaque para o complexo Cu-Met, que teve sua atividade investigada contra cepas gram-positivas isoladas (*Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*) e uma gram-negativa padrão (*Escherichia coli*). O complexo Cu-Met foi ativo principalmente contra cepas gram-positivas, com zona de inibição de $14 \pm 0,4$ mm para *Bacillus cereus* e $10 \pm 0,1$ mm para *Micrococcus luteus*. No entanto, *Escherichia coli*, que já são conhecidas por serem multirresistentes às drogas, também foram resistentes ao complexo Cu-Met.

A literatura aponta que vários ligantes orgânicos podem ser convertidos em mais bacteriostáticos na complexação em comparação com os não quelatos [13,14]. Assim, 1,10-fenantrolina (Fen) é um forte ligante bidentado de campo que forma quelatos muito estáveis com muitos metais de transição de primeira linha e tem propriedades antibacterianas, antifúngicas e antivirais [15][26–28]. Vários complexos de cobre contendo bases heterocíclicas também já foram relatados como agentes anticâncer [21,26–32], desde a descoberta inicial da atividade nuclease de $\text{Cu}(\text{Fen})_2$ por Sigman e colaboradores. Alguns desses complexos também são combinados a aminoácidos como unidades independentes, formando complexos ternários [33,34].

O aminoácido desempenha um papel crucial na coordenação do cobre com peptídeos e proteínas, gerando complexos com alta estabilidade termodinâmica [35–38]. Diferentes aminoácidos foram testados em compostos com cobre (II), entre eles L-glicina, L-alanina, L-valina, L-leucina, L-isoleucina, L-prolina, L-fenilalanina, L-triptofano, L-tirosina, L-treonina, L-metionina, L-ornitina e L-arginina [12,39].

No entanto, ainda existem vários complexos de cobre com aminoácidos e compostos orgânicos heterocíclicos que ainda não tiveram sua atividade anticâncer e

antibacteriana estudada, neste contexto, este trabalho tem como objetivo a síntese, caracterização e avaliação do potencial anticâncer e antibacteriano *in vitro* dos complexos $[\text{Cu}(\text{Fen})(\text{L-metionina})\text{H}_2\text{O}]\text{Cl}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Cu}(\text{Fen})(\text{L-asparagina})\text{H}_2\text{O}\cdot\text{Cl}]\text{H}_2\text{O}$, abreviados por Cu(Fen)(Met) e Cu(Fen)(Asn), respectivamente. Todos os complexos foram caracterizados por técnicas avançadas, tais como: difração de raios X (DRX), espectroscopias Raman e no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

2. Fundamentação Teórica

2.1. O câncer e seu tratamento por quimioterapia

O câncer é a segunda principal causa de morte no mundo [40], ficando atrás somente das doenças cardiovasculares que são atualmente a principal causa de morte no mundo [41]. A mais recente estimativa mundial, ano 2020, visto na Figura 1, aponta que ocorreram no mundo 19 milhões de casos novos de câncer e 9,9 milhões de óbitos. O câncer de mama é o mais incidente no mundo (2,2 milhões) seguido pelo câncer de pulmão (2,2 milhões), cólon e reto (1,9 milhões) e próstata (1,4 milhões). A incidência em homens (10 milhões) representa 52% dos casos novos, sendo nas mulheres (9,2 milhões) cerca de 48% de casos novos. Os tipos de câncer mais frequentes nos homens foram o câncer de pulmão (14,3%), próstata (14,1%), cólon e reto (10,6%), estômago (7,1%) e fígado (6,3%). Nas mulheres, as maiores incidências foram câncer de mama (24,5%), cólon e reto (9,4%), pulmão (8,4%), colo do útero (6,5%) e tireoide (4,9%) [42,43].

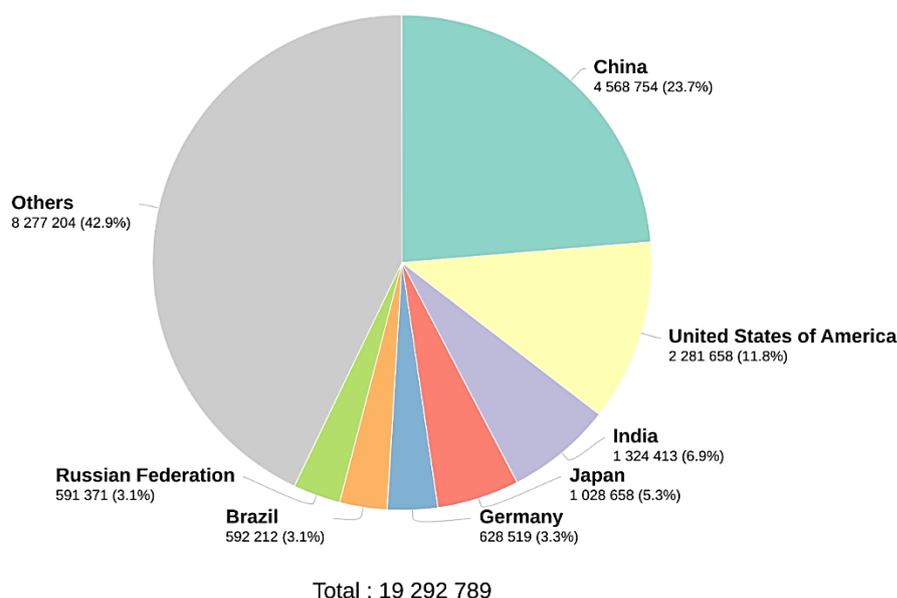


Figura 1. Número estimado de novos casos em 2020, todos os cânceres, ambos os sexos, todas as idades [40].

Para o Brasil, a cada ano do triênio 2020-2022 ocorreu 625 mil casos novos de câncer (450 mil, excluindo os casos de câncer de pele não melanoma). O câncer de pele não melanoma foi o mais incidente (177 mil), seguido pelos cânceres de mama e próstata (66 mil cada), cólon e reto (41 mil), pulmão (30 mil) e estômago (21 mil) [42,44]. Os tipos de câncer mais frequentes em homens, à exceção do câncer de pele não melanoma,

foram próstata (29,2%), cólon e reto (9,1%), pulmão (7,9%), estômago (5,9%) e cavidade oral (5,0%). Nas mulheres, exceto o câncer de pele não melanoma, os cânceres de mama (29,7%), cólon e reto (9,2%), colo do útero (7,4%), pulmão (5,6%) e tireoide (5,4%) figuraram entre os principais. O câncer de pele não melanoma representou 27,1% de todos os casos de câncer em homens e 29,5% em mulheres.

O câncer é originado a partir de uma célula normal, onde ocorre uma mutação genética e não é controlado a tempo. A célula tem mecanismos de reparo, ou seja, a célula pode detectar, a tempo, uma falha na informação genética e repará-la, mas às vezes esses mecanismos falham, permitindo que a mutação seja passada para as células das seguintes gerações, e assim por diante. Com o tempo a célula acumula outros defeitos genéticos que não são nem controlados, nem reparados a tempo, gerando células cancerosas. Essas células se diferenciam das normais por possuírem uma elevada taxa de replicação, tendo a capacidade de invadir tecidos adjacentes e de ser propagada a outros tecidos através da corrente sanguínea, podendo gerar metástase [45].

O processo de formação do câncer é chamado de carcinogênese ou oncogênese e, em geral, acontece lentamente, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa se prolifere e dê origem a um tumor visível. Os efeitos cumulativos de diferentes agentes cancerígenos ou carcinógenos são os responsáveis pelo início, promoção, progressão e inibição do tumor. A carcinogênese é determinada pela exposição a esses agentes, em uma dada frequência e em dado período de tempo, e pela interação entre eles. Devem ser consideradas, no entanto, as características individuais, que facilitam ou dificultam a instalação do dano celular. Esse processo é composto por estágios como exemplificado na Figura 2.

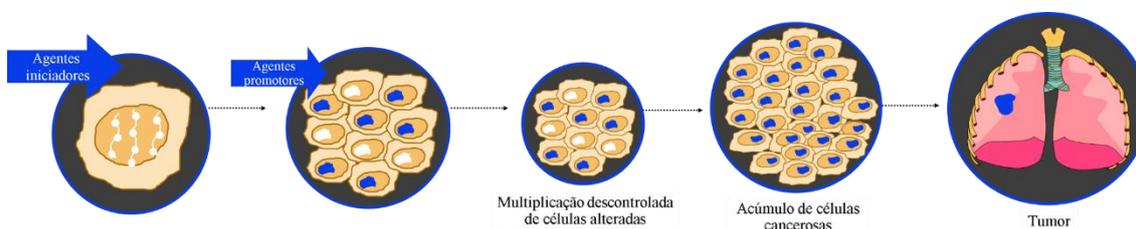


Figura 2. Estágios do processo de carcinogênese (Adaptado da ref. [46]).

Estágio de iniciação: os genes sofrem ação dos agentes cancerígenos, que provocam modificações em alguns de seus genes. Nessa fase, as células se encontram geneticamente alteradas, porém ainda não é possível se detectar um tumor clinicamente.

Elas encontram-se "preparadas", ou seja, "iniciadas" para a ação de um segundo grupo de agentes que atuará no próximo estágio.

Estágio de promoção: as células geneticamente alteradas, ou seja, "iniciadas", sofrem o efeito dos agentes cancerígenos classificados como oncopromotores. A célula iniciada é transformada em célula maligna, de forma lenta e gradual. Para que ocorra essa transformação, é necessário um longo e continuado contato com o agente cancerígeno promotor. A suspensão do contato com agentes promotores muitas vezes interrompe o processo nesse estágio. Alguns componentes da alimentação e a exposição excessiva e prolongada a hormônios são exemplos de fatores que promovem a transformação de células iniciadas em malignas.

Estágio de progressão: se caracteriza pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas. Nesse estágio, o câncer já está instalado, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença. Os fatores que promovem a iniciação ou progressão da carcinogênese são chamados agentes oncoaceleradores ou carcinógenos. Por exemplo, o fumo é um agente carcinógeno completo, pois possui componentes que atuam nos três estágios da carcinogênese [45,47].

A quimioterapia é o tratamento que utiliza medicamentos para combater o câncer, os quais são administrados, dependendo do tipo e estágio do câncer, por via oral, intravenosa, intramuscular, subcutânea, tópica, entre outras [48] (Figura 3). Os medicamentos se misturam com o sangue e são levados a todas as partes do corpo, destruindo as células doentes que estão formando o tumor e impedindo, também, que elas se espalhem pelo corpo. A desvantagem é que são atacadas tanto células cancerosas quanto normais e geram diversos efeitos colaterais graves e um aumento da resistência.

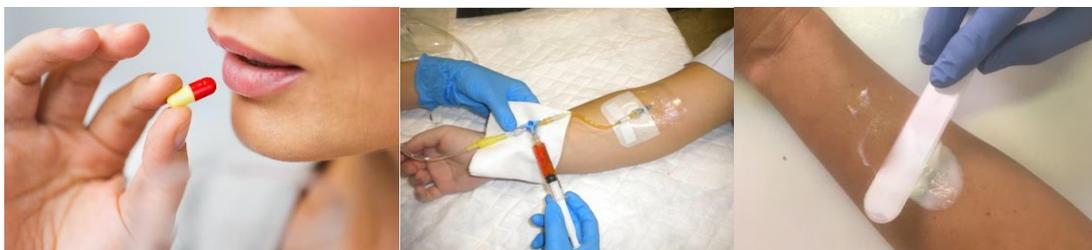


Figura 3. Algumas diferentes vias de administração da quimioterapia [49].

Atualmente, a quimioterapia pode ser classificada em curativa, adjuvante, neoadjuvante ou prévia e paliativa [50]. A quimioterapia curativa é utilizada quando se pretende acabar com o câncer através apenas dessa técnica. Na adjuvante, espera-se

acabar com possíveis células que ficaram após o tratamento cirúrgico, buscando tratar a lesão residual microscópica ao nível sistêmico, de forma que seja iniciada o mais breve possível. A neoadjuvante possui como finalidade principal diminuir o tumor antes da realização da radioterapia ou de uma cirurgia, porém sendo combinado com outra terapêutica para obtenção de sucesso no tratamento. Já a paliativa possui a função apenas de melhorar a qualidade de vida do paciente, diminuindo os sintomas, uma vez que é realizada quando a doença não apresenta mais chances de cura [51,52].

A seletividade tem sido uma das grandes desvantagens da quimioterapia, principalmente devido aos efeitos colaterais indesejáveis. Além do mais, na prática, a seletividade é uma questão muito mais complexa, especialmente devido à falta de alvos moleculares únicos em células cancerígenas [53]. Um dos principais desafios no uso de quimioterapia para o tratamento do câncer é a resistência adquirida aos fármacos [54,55]. A resistência leva à falta de resposta na inibição do crescimento do tumor quando do uso do fármaco. A resistência aos medicamentos é dividida em duas principais categorias, resistência intrínseca e adquirida. A resistência intrínseca pode surgir de mutações espontâneas que inevitavelmente ocorrem na proliferação celular como parte da instabilidade genética. A resistência adquirida é desenvolvida após a exposição aos quimioterápicos [56].

De fato, desde os primórdios da quimioterapia contra o câncer, muita atenção tem sido dada para tentar identificar quais mecanismos de resistência são responsáveis pelo fracasso terapêutico. Dessa forma, verificou-se que vários são os fatores que afetam a sensibilidade celular a uma determinada droga. Esses fatores incluem dificuldade do fármaco de penetrar na célula, aumento da produção da proteína alvo do fármaco, mutações que previnem o fármaco de se ligar no seu alvo de ação, desenvolvimento de vias metabólicas alternativas, ou sistemas de efluxo do fármaco para fora da célula (Figura 4). É também observada resistência nos casos que o tratamento é descontinuado, em que a quimioterapia é aplicada em intervalos irregulares ou doses inadequadas [57].

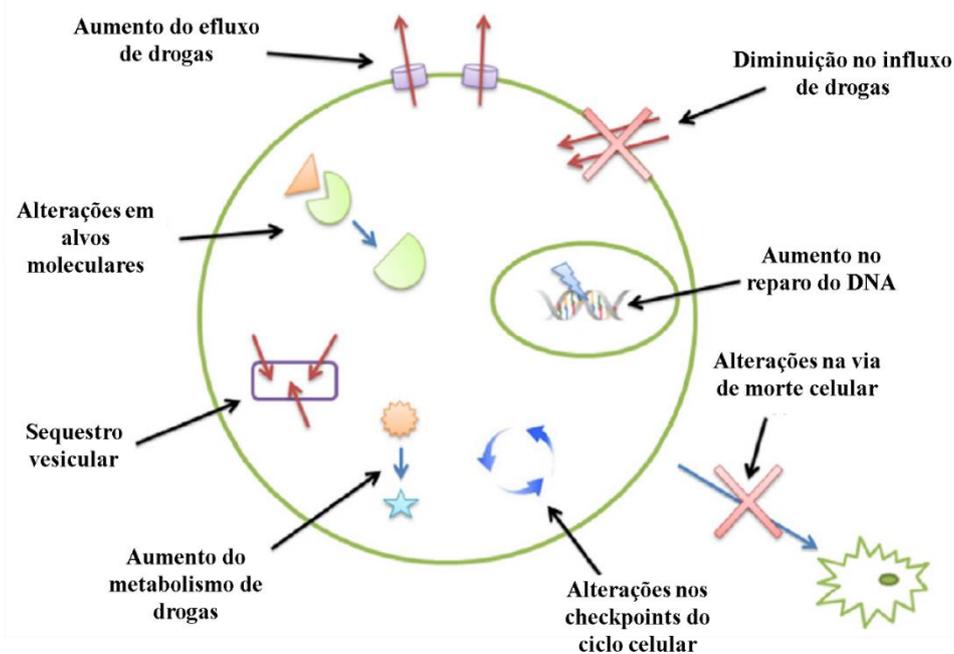


Figura 4. Principais mecanismos de resistência a quimioterápicos [58].

Estima-se que a resistência a quimioterapia é a causa do fracasso terapêutico em 90% dos pacientes com câncer metastático [59]. Assim, se for possível superar a resistência a drogas o impacto na sobrevivência de pacientes será imenso. Essas questões levam os pesquisadores a se concentrarem em uma extensa pesquisa para o desenvolvimento de novos quimioterápicos que não sejam reconhecidos pelos mecanismos de resistência e que apresentem especificidade para células tumorais [60].

2.2. As bactérias e suas infecções

O gênero *Staphylococcus ssp.* inclui mais de 50 espécies e subespécies de bactérias [61]. Dentre todas as espécies desse gênero, o *Staphylococcus aureus* se destaca por ser clinicamente mais proeminente e provocar infecções oportunistas agudas e crônicas mais frequentes em humanos e animais [62]. O *S. aureus* é o mais relevante clinicamente por ser encontrado na microbiota comensal humana da mucosa nasal em 20 a 40% da população geral. O *S. aureus* se diferencia das outras espécies por ser coagulase positiva, sendo o membro mais virulento e mais bem conhecido do gênero [63]. Este patógeno consiste em uma das principais causas de bacteremia, endocardite infecciosa, infecções osteoarticulares, infecções de pele e infecções pleuropulmonares [64–66].

A *Enterococcus faecalis* é uma bactéria Gram-positiva amplamente distribuída no ambiente natural e no trato gastrointestinal de humanos, animais e insetos [67].

A *E. faecalis* pode causar infecções do trato urinário, bacteremia, infecção da articulação protética, infecções abdominal-pélvicas e endocardite [68]. A *E. faecalis* possui alta adaptabilidade em condições ambientais adversas e alto potencial de desenvolvimento de resistência a antibióticos [67,69,70].

O gênero *Streptococcus ssp.* inclui atualmente cerca de 20 espécies diferentes encontradas em humanos e animais. O *Streptococcus pneumoniae* é a espécie mais conhecida e estudada do gênero, comumente coloniza a nasofaringe humana, mas também é um importante agente etiológico do trato respiratório e de infecções invasivas [71]. De acordo com a OMS, a bactéria *S. pneumoniae* é a quarta causa microbiana mais frequente de infecção fatal e a causa mais comum de pneumonia bacteriana e meningite [72]. O pneumococo é um colonizador regular do trato respiratório superior e, além da pneumonia, causa infecções frequentes associadas às vias aéreas, como otite média, sinusite e bronquite [73]. Além do número significativo de infecções mortais, as infecções pneumocócicas não letais estão associadas a alta morbidade e custos socioeconômicos [74].

O *Streptococcus mutans* é uma bactéria Gram-positiva comensal encontrada na cavidade oral humana. Porém, devido às mudanças ambientais, às pressões seletivas e à presença de um genoma variável, ela se adapta e pode adquirir novas propriedades fisiológicas e metabólicas que alteram a homeostase do biofilme dental, promovendo o desenvolvimento da cárie dentária [75].

A *Klebsiella pneumoniae* é uma espécie de bactéria Gram-negativa encontrada na superfície da mucosa de animais ou no meio ambiente. Em humanos, a *K. pneumoniae* é encontrada no trato gastrointestinal e na nasofaringe, e pode entrar na circulação sanguínea ou em outros tecidos e causar infecção [76]. A *K. pneumoniae* é um dos patógenos oportunistas mais relevantes na clínica médica, e causa várias infecções humanas, como infecção da corrente sanguínea, infecção do trato urinário, infecção do local cirúrgico e pneumonia [77].

A *Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa, em forma de bastonete, classificada como membro da família *Enterobacteriaceae*. A *E. coli* coloniza o trato intestinal de humanos imediatamente após o nascimento e ajuda a manter a homeostase intestinal normal. De modo geral, essa bactéria é considerada um comensal inofensivo, no entanto, algumas cepas dessa espécie apresentam potencial patogênico, podendo serem causadoras de doenças infecciosas graves, como infecções intestinais, do trato urinário e meningites [78,79].

As bactérias produtoras de beta-lactamases de espectro estendido (ESBLs) estão mostrando resistência à maioria dos antibióticos, aumentando constantemente na população e se tornando um grande problema de saúde pública global. *Enterobacteriaceae* que produzem ESBLs são um problema desafiador na medicina humana e veterinária devido às limitações das opções de tratamento contra infecções causadas por essas bactérias resistentes. No início, as *Enterobacteriaceae* produtoras de ESBL estavam associadas apenas a infecções humanas em hospitais. Hoje em dia, elas são amplamente encontradas como colonizadoras intestinais em humanos saudáveis, bem como em animais, e também foram isolados em amostras ambientais de águas residuais ou águas superficiais frescas [80–82].

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa presente em animais e na natureza que pode ser um fator patogênico significativo de infecções graves em humanos, especialmente em pacientes com fibrose cística. Devido à sua resistência natural aos antibióticos e à capacidade de formar biofilmes, a infecção por esse patógeno pode causar graves problemas terapêuticos [83].

2.3. Antibióticos e a resistência bacteriana

O advento dos antibióticos no final da década de 1920 revolucionou a ciência e trouxe a medicina para a era moderna. Pela primeira vez foi possível combater e vencer bactérias causadoras de diversas infecções, a principal causa de mortalidade na época. O primeiro antibiótico descoberto foi a penicilina, em 1928, pelo bacteriologista inglês, Alexander Fleming. A sua descoberta ocorreu por acaso quando suas placas de estudo com a bactéria *Staphylococcus* foram acidentalmente contaminadas por um fungo do gênero *penicillium*. Fleming notou que ao redor destes fungos não existiam bactérias, o que o levou a descobrir a penicilina, uma substância bactericida produzida por estes seres. Atualmente os antibióticos são substâncias sintéticas, produzidos em laboratórios, muitos deles derivados de substâncias naturais como é o caso da penicilina [84].

Os antibióticos podem ser bactericidas, quando destroem diretamente as bactérias, ou bacteriostáticos, quando impedem a multiplicação delas, facilitando o trabalho do nosso sistema imune no controle da infecção. Para ser efetivo e tolerável, o antibiótico precisa ser uma substância nociva às bactérias, mas relativamente segura para as nossas células. Isso não significa que não possa haver efeitos secundários, mas por definição, um antibiótico deve ser muito mais tóxico para germes invasores do que para o organismo invadido [85].

Se imaginarmos uma infecção urinária causada pela bactéria *E.coli.*, quando há uma cistite, estamos falando de milhões de bactérias atacando a bexiga. Essas bactérias são da mesma espécie, mas não são exatamente iguais. Quando escolhemos um antibiótico, optamos por aquele que é eficaz contra a maioria das bactérias presentes. Nem sempre o antibiótico mata 100% das bactérias. O que acontece é que se reduzirmos o número de bactérias para 5% ou 10%, a infecção desaparece porque nosso sistema imune é capaz de controlar o que sobrou [86].

Porém, muitas vezes o nosso organismo não consegue se livrar completamente dessas bactérias, permitindo que elas se reproduzam e causem uma nova infecção, agora composta apenas por bactérias resistentes ao antibiótico escolhido inicialmente. Este é um exemplo simplificado do que ocorre na realidade. Geralmente são necessários alguns cursos repetidos do mesmo antibiótico, ao longo de meses ou anos, para que surjam bactérias resistentes. Este processo é nada mais do que a seleção natural, na qual os mais fortes sobrevivem e passam seus genes para seus descendentes [87].

Algumas espécies de bactérias são propensas a criar resistência, assim como alguns antibióticos causam resistência com mais facilidade. Alguns fatos, entretanto, favorecem o surgimento mais rápido de cepas resistentes. O principal é a interrupção precoce do tratamento. Se um antibiótico está prescrito por 10 dias, é porque sabe-se de antemão que este é o tempo necessário para matar praticamente todas as bactérias. Algumas bactérias mais fracas morrem com 24 horas, outras precisam de 7 dias. Se o tratamento é interrompido com 5 dias, por exemplo, as bactérias mais resistentes, que precisavam de mais tempo de antibiótico, continuarão vivas e poderão se multiplicar, levando, agora, a uma infecção bem mais resistente [88].

Outro fator importante é o uso indiscriminado de antibióticos. Muitas das infecções que temos são causadas por bactérias que vivem naturalmente no nosso corpo, controladas pelo nosso sistema imune, apenas à espera de uma queda nas defesas para atacarem. Se o paciente usa muito antibiótico sem necessidade, como, por exemplo, para tratar infecções por vírus, ele estará previamente selecionando as bactérias mais resistentes, e, futuramente, quando houver uma real infecção bacteriana, esta será causada já por bactérias resistentes [89]. A Figura 5 mostra um esquema representativo da resistência aos antibióticos adquirida pelas bactérias.

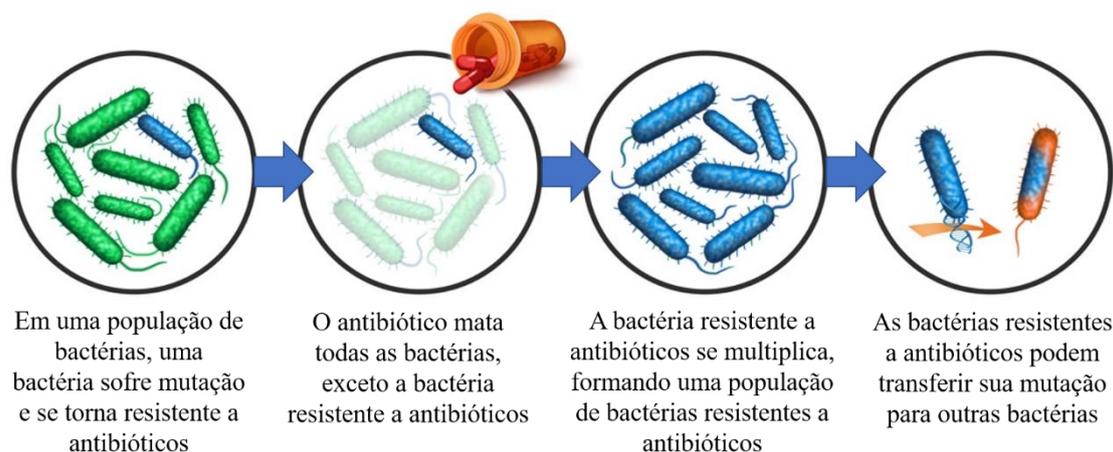


Figura 5. Esquema da resistência a antibióticos em bactérias [90].

Atualmente, pelo menos 700.000 pessoas em todo o mundo morrem a cada ano devido à resistência antimicrobiana. Sem novos e melhores tratamentos, a Organização Mundial da Saúde (OMS) prevê que esse número pode aumentar para 10 milhões em 2050. Em fevereiro de 2017, a OMS publicou uma lista de patógenos que inclui os patógenos designados pela sigla ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Enterobacter species*) aos quais foram dados o mais alto “status de prioridade”, uma vez que representam uma grande ameaça para os seres humanos. Compreender os mecanismos de resistência dessas bactérias é um passo fundamental no desenvolvimento de novos antimicrobianos [91].

Quanto aos efeitos colaterais dos antibióticos, os mais comuns são as náuseas e a diarreia. Alguns pacientes são alérgicos a determinadas classes de antibióticos, sendo as mais comuns, penicilinas e sulfas. Estudos relatam que grávidas devem ter muito cuidado com antibióticos, pois algumas classes estão associadas a más formações. Muitos antibióticos são eliminados pelos rins, por isso, podem se tornar tóxicos em pacientes com insuficiência renal, já que a sua eliminação se torna afetada. Nestes casos, muitas vezes, faz-se necessário um ajuste da dose para evitar excesso de antibióticos na corrente sanguínea [92,93].

2.4. Química de coordenação do cobre

As investigações fundamentais da química de coordenação foram efetuadas entre 1875 e 1915 pelo químico dinamarquês S. M. Jorgensen (1837-1914) e pelo suíço Alfred Werner (1866-1919). Ao iniciarem os estudos eles observaram que a compreensão dos

compostos de coordenação constituía um gigantesco quebra-cabeça, pois não se conseguia explicar as ligações nos compostos de coordenação segundo as ideias de valência e de estrutura. Ou seja, as primeiras reflexões sobre os compostos de coordenação levaram a uma série de questionamentos.

Alguns destes questionamentos foram: como seria possível compostos estáveis, como por exemplo, o CoCl_3 , se combinar com moléculas também estáveis como o NH_3 , os quais tinham as valências de todos os átomos satisfeitas, para formar compostos como o $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$, também estável. Isto fez com que compostos dessa natureza recebessem a denominação de “complexos” [94]. É quase impossível dizer qual o primeiro composto de coordenação preparado intencionalmente. Porém, o primeiro que foi descrito foi o Azul da Prússia, que foi preparado por Diesbách em 1704, e que atualmente é formulado como $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Os compostos de coordenação são formados por um átomo ou íon metálico central rodeado por um grupo de íons ou moléculas. A carga elétrica desses compostos depende da carga do átomo central e dos íons e moléculas que o cercam. Os compostos de coordenação são comumente formados por metais de transição, o que não significa que outros metais não possam formar tais compostos. As moléculas ou íons que envolvem o íon metálico recebem o nome de ligantes que geralmente são ânions ou moléculas polares [95].

A formação de um complexo pode ser vista como uma reação ácido/base de Lewis, em que os ligantes são doadores de pares de elétrons e a espécie central é a receptora. Assim, os ligantes são bases de Lewis e a espécie central é um ácido de Lewis. A união entre um íon metálico e um ligante pode ser entendida como fruto do compartilhamento do par de elétrons isolado do ligante. Quando o complexo é formado, os ligantes ficam coordenados pelo metal [96].

Os ligantes podem se ligar ao átomo central através de um ou mais átomos. Para que isso aconteça é necessário que esses átomos possuam pares de elétrons que possam fazer ligações coordenativas. Se a coordenação se faz apenas através de um átomo, o ligante é do tipo monodentado, se for por dois átomos, o ligante é bidentado, e assim por diante. Por outro lado, a relação espacial entre a espécie central e seus ligantes trata-se da estereoquímica do complexo. Estereoquímicas diferentes podem ser agrupadas de acordo com o número de coordenação da espécie central [96].

Por exemplo, o cobre é um metal de transição pertencente à família 11 do bloco d da tabela periódica. Sua massa atômica é 63,55 g/mol e configuração eletrônica com

subcamada 3d completa e uma 4s com apenas um elétron ($[\text{Ar}]3d^{10}4s^1$). Existem três estados de oxidação possíveis para o cobre, que são o estado +1, +2 e +3 (respectivamente $[\text{Ar}]3d^{10}$, $[\text{Ar}]3d^9$ e $[\text{Ar}]3d^8$). Dentre estes, o estado de oxidação mais estável e mais comum é o +2. O Cu^{2+} é um ácido de Pearson de dureza intermediária o qual apresenta excelente coordenação com ligantes que tenha em sua estrutura átomos de nitrogênio e/ou oxigênio [97–99].

No Cu(II) , seis dos nove elétrons d estão distribuídos em orbitais de simetria t_{2g} (d_{xy} , d_{xz} e d_{yz}) enquanto que os três restantes pertencem aos orbitais de simetria e_g ($d_{x^2-y^2}$ e d_{z^2}). A camada d não está, portanto, totalmente completa e isso possibilita transições do tipo $d-d$. É por esse motivo que complexos de cobre (II) apresentam cor [97–99].

Complexos de Cu(II) podem ser tetracoordenados, pentacoordenados e hexacoordenados, apresentando geometrias do tipo tetraédricas, quadrado planar, bipirâmide trigonal, pirâmide de base quadrada e octaédrica. Verifica-se, portanto, sua versatilidade em química de coordenação. Desvios nas geometrias apresentadas acima são comumente observadas. Isso pode ser explicado por dois motivos principais: a distorção de Jahn-Teller, causada pela distribuição eletrônica assimétrica nos orbitais e_g e em segundo, pela própria geometria de certos ligantes [97–99].

2.5. Características gerais dos ligantes

2.5.1. 1,10-Fenantrolina

O ligante 1,10-Fenantrolina têm sido amplamente estudado e utilizado para a complexação de íons metálicos desde sua descoberta [100], no final do século XIX. O ligante pertence a um grande grupo de agentes quelantes, nos quais dois ou mais ligantes heterocíclicos estão ligados. No caso da 1,10-Fenantrolina essa ligação ocorre por meio de um sistema de anéis conjugados [101]. A estrutura desse ligante é mostrada na Figura 6.

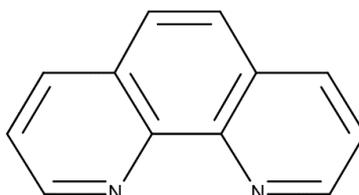


Figura 6. Estrutura do ligante heterocíclico 1,10-Fenantrolina [101].

Ao contrário de outros ligantes, 1,10-fenantrolina é um composto neutro, formando assim complexos carregados com cátions metálicos, propriedade que tem sido explorada para a síntese de complexos metal-fenantrolina. É um forte acceptor π , e se comporta como um típico ligante quelante bidentado, coordenando o metal através dos átomos de nitrogênio. Caracteriza-se pela tendência de formar anéis quelatos de cinco membros, geralmente planos e muito estáveis, bem como pela possibilidade de formar complexos metálicos em um amplo intervalo de estados de oxidação. Porém, como consequência da natureza pouco flexível deste tipo de ligante, os efeitos estéricos são geralmente fortes, o que pode ocasionar geometrias incomuns quando se coordena aos íons metálicos [101].

Por outro lado, a presença de anéis aromáticos possibilita a formação de estruturas supramoleculares através de interações de empilhamento π - π não covalentes. Esses tipos de interações são ligeiramente direcionais e mais fracas que as ligações de hidrogênio, e podem aumentar a estabilidade de complexos metálicos tanto em solução quanto no estado sólido. Constituem uma classe de forças intermoleculares de grande importância no campo da química, biologia e ciência dos materiais [101].

No campo da biologia, o ligante 1,10-Fenantrolina tem demonstrado propriedades anti-helmínticas, além de uma forte ação bactericida observada há mais de cinco décadas e outras atividades de interesse, como fungicida, antiviral e antimicoplasma. Além disso, no caso de complexos de cobre com esse ligante, muitos sistemas mostraram forte atividade antimicrobiana. Da mesma forma, o ligante 1,10-fenantrolina possui propriedades anticancerígenas interessantes que podem ser aprimoradas por meio da sua coordenação com íons metálicos, o que reforça a necessidade de estudos adicionais visando verificar o potencial farmacológico destes compostos devidamente coordenados, principalmente ao cobre que está sendo extensamente pesquisado na clínica médica para tratamento do câncer [102–105].

É importante ressaltar que diversas funções biológicas tais como, fornecimento de energia, transmissão de impulsos nervosos, visão, metabolismo, transferência de informações hereditárias entre outras, essenciais para a manutenção da vida, são executadas pela presença de alguns compostos que possuem na sua estrutura um anel heterocíclico como, ATP, DNA, RNA, hormônios, neurotransmissores, etc [106,107]. Assim, o interesse em compostos heterocíclicos na construção de novos complexos com potencial farmacológico para o tratamento do câncer, está no fato de que 59% dos medicamentos aprovados pela FDA conter um heterocíclico de nitrogênio [108,109].

Como já demonstrado na literatura, complexos que contêm a 1,10-fenantrolina como ligante, inclusive alguns deles com propriedades lipofílicas, revelaram-se agentes citotóxicos mais efetivos do que a cisplatina contra diferentes tipos de cânceres. A efetividade destes complexos tem sido frequentemente atribuída aos diferentes modos de interação destes complexos com alvos biológicos, principalmente o DNA, o que pode levar a reversão da resistência e aumentar a potência destes em relação à cisplatina. De fato, a presença dos anéis aromáticos da 1,10-fenantrolina podem tornar os complexos com este ligante hábeis a realizar interações do tipo empilhamento π - π com as bases nitrogenadas do DNA [110–114].

2.5.2. Aminoácidos

Os aminoácidos são compostos naturais envolvidos em vários processos biológicos importantes, como metabolismo, crescimento e imunidade, sendo indispensáveis para sustentar a saúde do corpo humano. Se houver deficiência desses compostos, a síntese de proteínas pode parar, e sem eles, o ser humano pode sentir fadiga, irritabilidade, desequilíbrios hormonais e até depressão [115].

Os aminoácidos são os constituintes básicos das proteínas, e como sugerido pelo nome, eles apresentam uma função amina primária e uma função ácida, por isso possuem um caráter anfótero. Eles são compostos orgânicos formados por um carbono alfa ($C\alpha$), ligado a um hidrogênio (H), um grupo carboxílico (COOH), um grupo amina (NH_2), e a um grupo químico chamado radical R, ou cadeia lateral que pode variar em tamanho, forma, carga, capacidade de formação de pontes de hidrogênio e reatividade química, diferenciando assim os diversos tipos de aminoácidos, como mostra a Figura 7 [116].

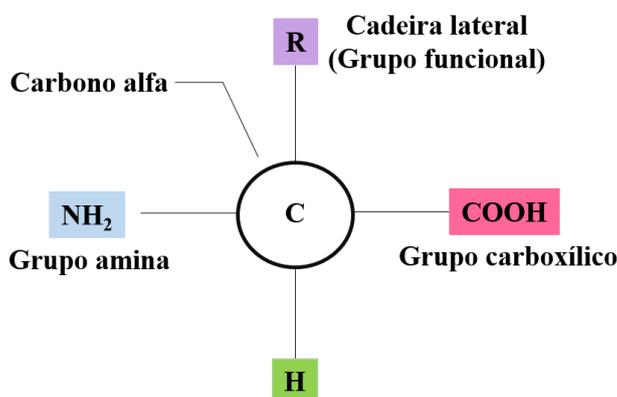


Figura 7. Representação da estrutura geral dos aminoácidos [117].

Além disso, quase todos os aminoácidos, exceto a glicina, podem ser encontrados em duas formas isômeras, a forma L e D, conforme a Figura 8. Com tudo, apenas a forma L participa das reações metabólicas presentes em sistemas biológicos, pois somente os L-aminoácidos são encontrados nas proteínas [118].

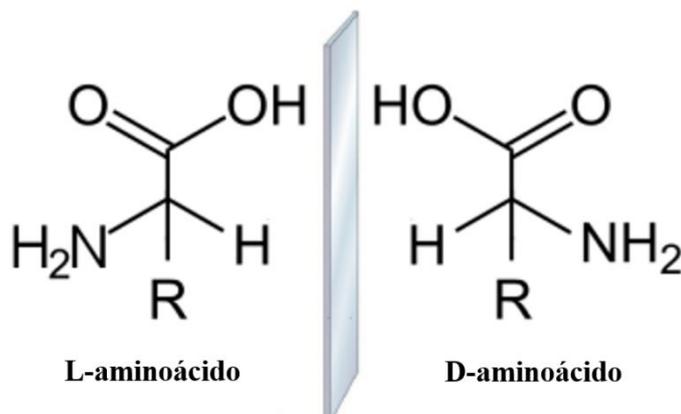


Figura 8. Formas isômeras dos aminoácidos [119].

Quanto à capacidade de síntese por parte do organismo, os aminoácidos podem ser classificados como essenciais e não essenciais. Os essenciais são os aminoácidos não produzidos pelo organismo, logo devem ser ingeridos, enquanto os não essenciais são produzidos pelo organismo. Dentre os essenciais estão: Histidina, Fenilalanina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Treonina, Triptofano, Valina. Já os não essenciais são: Alanina, Arginina, Asparagina, Aspartato, Cisteína, Glicina, Glutamina, Glutamato, Prolina, Serina e Tirosina [120]. Neste trabalho será abordado sobre dois aminoácidos, a Asparagina e Metionina.

A asparagina foi isolada pela primeira vez em 1806, sob a forma cristalina, pelos químicos franceses Louis Nicolas Vauquelin e Pierre Jean Robiquet, a partir do suco de aspargos, nos quais este aminoácido é abundante (daí o nome asparagina), tendo sido o primeiro aminoácido a ser isolado [121]. A sua estrutura química é mostrada na Figura 9.

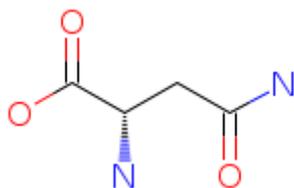


Figura 9. Estrutura química da Asparagina [117].

Atualmente, a asparagina é um dos vinte aminoácidos mais comuns em nosso planeta, é um dos principais e mais abundantes elementos que ajudam no transporte de nitrogênio. Além disso, este aminoácido é requerido pelas células do corpo humano para a produção de proteínas. Este aminoácido é na verdade um componente essencial das proteínas envolvidas na sinalização, desenvolvimento neuronal e transmissão através das terminações nervosas. Tem papel fundamental na biossíntese de glicoproteínas [122].

As fontes alimentares típicas mais comuns desse aminoácido incluem carne bovina, frango, laticínios, frutos do mar, ovos, e muitas fontes de alimentos vegetais, como aspargos, batatas, legumes, nozes, soja e sementes. As pessoas que sofrem de deficiência de asparagina podem mostrar incapacidade de fabricar e excretar ureia, que é um produto residual do excesso de proteína na dieta. Essas pessoas, portanto, podem revelar sintomas como depressão, confusão e dores de cabeça. Por outro lado, entre os principais benefícios da asparagina está o fato de que ela pode ajudar na metabolização da amônia no corpo humano e possibilitar o bom funcionamento do fígado, além de possibilitar um sistema robusto e resistente à fadiga [123].

Um estudo inicial sugeriu que a disponibilidade de asparagina poderia modular a blastogênese de linfócitos como um possível meio para tratar a leucemia linfoblástica aguda na infância [124]. A depleção de asparagina pela asparaginase exógena foi considerada imunossupressora até Kafkewitz & Bendich [125] relatarem que esse efeito também pode ser atribuído à depleção de glutamina por uma atividade de glutaminase presente na asparaginase. No entanto, pesquisas subsequentes forneceram as seguintes linhas de evidência de que a asparagina desempenha um papel significativo na função imunológica [126].

Já a metionina é um aminoácido essencial alifático, que contém enxofre (Figura 10), e é precursor da succinil-CoA, homocisteína, cisteína, creatina e carnitina. Pesquisas recentes demonstraram que a metionina pode regular os processos metabólicos, o sistema imunológico inato e o funcionamento digestivo em mamíferos. Também intervém no metabolismo lipídico, na ativação de enzimas antioxidantes endógenas, e na biossíntese de glutatona para neutralizar o estresse oxidativo [127].

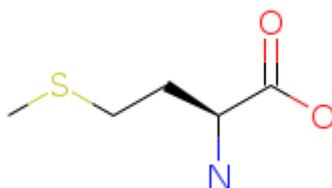


Figura 10. Estrutura química da Metionina [117].

Normalmente, a maioria das pessoas não precisa tomar a suplementação de metionina, é possível se obter parte desse aminoácido de alimentos como carne, peixe, laticínios e grãos integrais [127].

A metionina é na verdade um fornecedor de enxofre e alguns outros compostos que nosso corpo precisa para um metabolismo e crescimento normal. Como se sabe, o enxofre é um elemento chave e muito importante para a nossa vida. Se não for feita uma ingestão adequada de enxofre, o corpo será incapaz de produzir e utilizar alguns nutrientes antioxidantes. Por exemplo, médicos europeus estão usando para tratar condições como inflamações, doenças do fígado e algumas dores musculares. Pessoas que sofrem de dominância de estrogênio, ou seja, que possuem altas quantidades de estrogênio no corpo em comparação com a de progesterona também veem se beneficiando desse aminoácido. Considerando que o estrogênio é eliminado pelo fígado, mulheres que tomam contraceptivos orais podem melhorar a função hepática com o uso da metionina para reduzir a carga de estrogênio do corpo [128].

Recentemente, também tem se relatado grande interesse no uso de antioxidantes como aminoácidos, especificamente a metionina, para diminuir o estresse oxidativo e retardar o aparecimento de doenças como o câncer [129]. Devido ao papel regulador da metionina em enzimas antioxidantes endógenas e outros processos metabólicos, este aminoácido pode desempenhar um papel importante na redução de câncer. O papel da metionina no metabolismo influencia diretamente o risco de ocorrência de câncer e está sendo discutido atualmente em ser usado como tratamento paliativo [130,131].

Essa relação direta entre o estresse oxidativo e o câncer foi encontrada porque o estresse oxidativo está presente em várias células cancerígenas. O desequilíbrio das vias redox pode estar relacionado à estimulação de oncogenes. Além disso, um nível aumentado de 8-OH-G, um indicador de lesões oxidativas no DNA, induz a mutação do DNA, um elemento crítico na carcinogênese e vários tumores. Portanto, a oxidação está fortemente implicada na etiologia do câncer [132].

Também já há estudos que relatam os aminoácidos como potentes compostos antibacterianos. Verificou-se que principalmente aminoácidos hidrofóbicos são capazes de produzir ação antibacteriana. A propriedade pode ser atribuída à sua ação surfactante e sua capacidade de romper a membrana. Assim, esses aminoácidos podem exercer sua ação na membrana celular bacteriana levando à morte celular [133].

2.6. Potencial biológico de complexos metálicos

Na história os metais sempre estiveram presentes para o tratamento e cura de doenças. O cobre era utilizado para esterilizar água há mais de 3000 anos a.C. Há aproximadamente 3500 anos a.C. o ouro era empregado na fabricação de medicamentos na Arábia e China, por ser considerado um metal nobre, acreditava-se que esse metal traria benefícios às pessoas. Vários medicamentos à base de ferro foram utilizados pelos egípcios há 1500 anos a. C., ao mesmo tempo em que o zinco era utilizado para o tratamento de feridas [134].

Muitos metais têm um importante papel no sistema biológico dos seres vivos. O corpo humano, por exemplo, contém pelo menos 60 elementos químicos detectáveis, no entanto, considera-se que somente 25 desses elementos participam do funcionamento saudável do corpo. A evolução natural incorporou muitos íons metálicos para as funções biológicas essenciais. Entre todos os elementos, íons metálicos de transição, tais como o cobre, zinco e ferro são incorporados às proteínas catalíticas, as chamadas metaloenzimas, que participam de várias reações químicas necessárias à vida [134].

A cisplatina, mostrada na Figura 10, foi o primeiro fármaco à base de platina aprovado pela FDA com atividade anticâncer (1978). A cisplatina foi publicada pela primeira vez em 1845 por Perone e sua estrutura foi elucidada mais tarde, em 1893, por Werner [135]. No entanto, somente na década de 60 uma nova perspectiva para a química da platina e suas aplicações medicinais foram iniciadas por Rosemberg. Atualmente, seu uso é aceito em combinação com outros fármacos para tratar câncer de bexiga e colo do útero, os quais não podem ser tratados com cirurgia ou radioterapia, além de câncer de pulmão e ovário que estão avançados ou com grande chance de metástase. A cisplatina é responsável pela cura de mais de 90% dos casos de câncer testicular e possui um papel vital no tratamento de câncer de ovário, cabeça, pescoço, câncer do colo do útero, melanoma, linfomas, dentre outros [136].

A descoberta da atividade antiproliferativa da cisplatina e seu sucesso clínico geraram um grande interesse no uso de complexos metálicos no tratamento do câncer

[137–139]. Desde então, centenas de compostos de platina têm sido preparados e avaliados como potenciais agentes quimioterápicos, embora poucos deles tenham sido efetivamente aprovados na terapia do câncer. Entre estes, dois derivados importantes foram aprovados pela FDA, a carboplatina em 1989 [140] e oxaliplatina em 2002 [141] (Figura 11). Apesar de existir um extenso estudo na busca de complexos metálicos para o tratamento à base de quimioterapia do câncer, até o momento, somente complexos de platina foram aprovados para uso clínico.

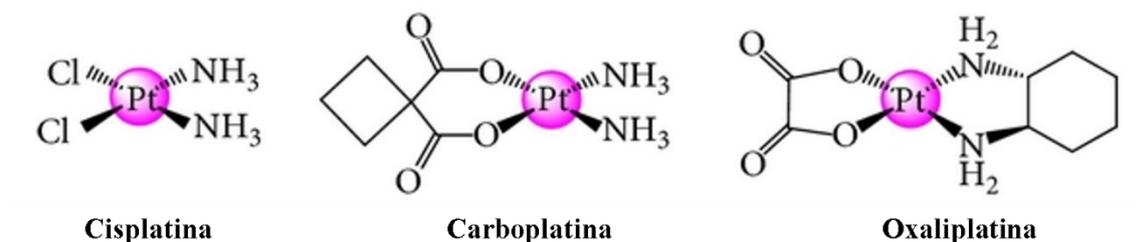


Figura 11. Os três medicamentos anticâncer à base de platina: cisplatina, carboplatina e oxaliplatina, que ganharam aprovação de comercialização mundial para os seres humanos [142].

Porém, um fator a considerar para esses medicamentos, é que a sua aplicabilidade é ainda limitada, e alguns tumores apresentam resistência natural a eles, enquanto outros se desenvolvem após o tratamento inicial. Esses compostos são poucos solúveis em água (e isso obriga sua administração por outra via, como a injetável, gerando incômodos ao paciente) e geram efeitos colaterais como náuseas, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, supressão da medula óssea e ototoxicidade [143]. Também, somando as desvantagens, a carboplatina é ativa nos mesmos tipos de tumores que a cisplatina, e é administrado intravenosamente [144]. Ao mesmo tempo, são inativos frente a algumas linhagens de células cancerosas e em metástase [145].

É por isso que as pesquisas estão direcionadas para a procura de novos metalofármacos contendo platina ou outros metais que possam ser utilizados no combate ao câncer. A escolha destes compostos tem sido determinada levando em consideração os seguintes aspectos: diminuição tanto da toxicidade quanto dos efeitos colaterais; aumento do número de sítios de coordenação, diferente da Pt(II) que só apresenta quatro sítios de coordenação, existem outros metais em diversos estados de oxidação que possuem quatro, cinco ou seis sítios de coordenação; que sejam seletivos, atacando preferencialmente às células cancerosas e não as sadias; e que alcancem o órgão ou o tecido específico onde está sendo desenvolvida a doença.

A potencial atividade anticâncer de complexos de Cu(II) tem sido avaliada recentemente mostrando resultados promissores. A vantagem do cobre com respeito a outros complexos contendo metais de transição é que naturalmente se encontra presente em organismos vivos e desenvolve funções tais como transferência de elétrons, reações de oxigenação, transporte de oxigênio, entre outras, e não seria um agente estranho no organismo [146].

Além disso, nas últimas décadas, vários estudos demonstraram como alguns complexos de Cu(II), em particular aqueles incluindo 1,10-fenantrolina, como ligante primário e outras biomoléculas, como os aminoácidos, no caso de ligantes secundários, são capazes de se ligar ao DNA de maneira intercalar, mostrando atividade de clivagem do DNA [147–149]. Por esses motivos, alguns desses complexos já foram estudados como agentes anticâncer e suas propriedades citotóxicas foram investigadas em linhas de células tumorais, como câncer de colorretal, mama, próstata, leucemia, estômago, pulmão, entre outros [37,150,151].

Além de agirem na clivagem do DNA tornando-se ferramentas farmacológicas contra o câncer, complexos metálicos podem também agir como fármacos antimicrobianos. Em particular, estes compostos são extremamente valiosos no tratamento de infecções tóxicas e como anti-helmínticos em humanos, mastite em bovinos e contra certos tipos de fungos em plantas. Estes complexos possuem ação contra uma ampla variedade de micro-organismos gram-positivos e gram-negativos, fungos patogênicos e vírus (influenza). Micro-organismos como *Staphylococcus pyogenes* não desenvolveram qualquer resistência significativa a alguns tipos de complexos com derivados de fenantrolina, o que já não ocorre com agentes bactericidas clássicos. De forma geral, os complexos são estáveis (soluções não são destruídas por metabolismo bacteriano ou por processos de esterilização) e não são irritantes à pele, mucosas (olho, ouvido, vagina) em várias concentrações (soluções de 1 a 2%) [152].

A prata é um dos metais mais estudados por sua ação antibacteriana. Os micro-organismos são altamente suscetíveis ao seu efeito tóxico, capaz de inibir a replicação do DNA e a cadeia respiratória em micro-organismos [153]. A prata numa concentração de 75 µg/mL possui uma atividade antimicrobiana de largo espectro contra bactérias, fungos e vírus. No entanto, sua utilização tem sido limitada devido ao seu alto custo [154].

Entre os complexos já estudados, muitos esforços estão sendo dedicados para sintetizar e caracterizar complexos ternários de Cu(II). Ao contrário da prata, o cobre é um elemento essencial ao corpo humano, e sua deficiência ou excesso está relacionado a

diversos distúrbios metabólicos e doenças [155]. Recentemente, muitos compostos de cobre têm sido investigados quanto às suas atividades antimicrobianas. Alguns exemplos são os complexos de cobre com ciprofloxacina e ácido pipemídico, que apresentaram atividade moderada contra as bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumonia* [156]. Yamamoto et al. também mostrou a atividade antibacteriana do complexo [Cu(SMZ)₂(Fen)] contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas com valores de MIC na faixa de 1,60 - 3,20 mmol/L, sendo que o complexo se apresentou mais ativo contra a cepa Gram-negativa *P. Aeruginosa* [157]. Assim, o cobre também tem um grande potencial para ser usado sobre infecções bacterianas [158].

2.7. Técnicas de caracterização experimentais e DFT

2.7.1. Difração de raios X

Os raios X são gerados quando uma partícula de alta energia cinética é rapidamente desacelerada. O método mais utilizado para produzir raios X é fazendo com que um elétron de alta energia (gerado no cátodo do tubo catódico) colida com um alvo metálico (ânodo). Na Figura 12 é mostrado o fenômeno a nível atômico. Quando esse elétron atinge o alvo (11a), um elétron da camada K de um átomo do material é liberado na forma de fotoelétron (11b), fazendo com que haja uma vacância nessa camada. Para ocupar o espaço deixado por esse elétron, um outro elétron de uma camada mais externa passa à camada K (11c), liberando energia na forma de um fóton de raio X (11d). A energia desse fóton corresponde à diferença de energia entre as duas camadas [159].

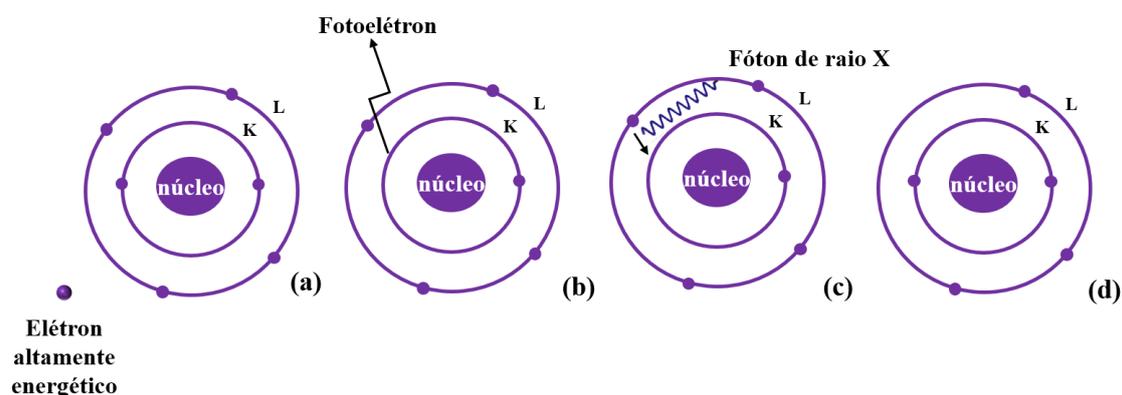


Figura 12. A produção de raios X a nível atômico [160].

Durante os primeiros estudos sobre a geração de raios X, foi percebido que ao aumentar a diferença de potencial entre os terminais, aumenta-se a intensidade e a faixa de comprimentos de onda produzidos pelo tubo, como mostra a Figura 13.

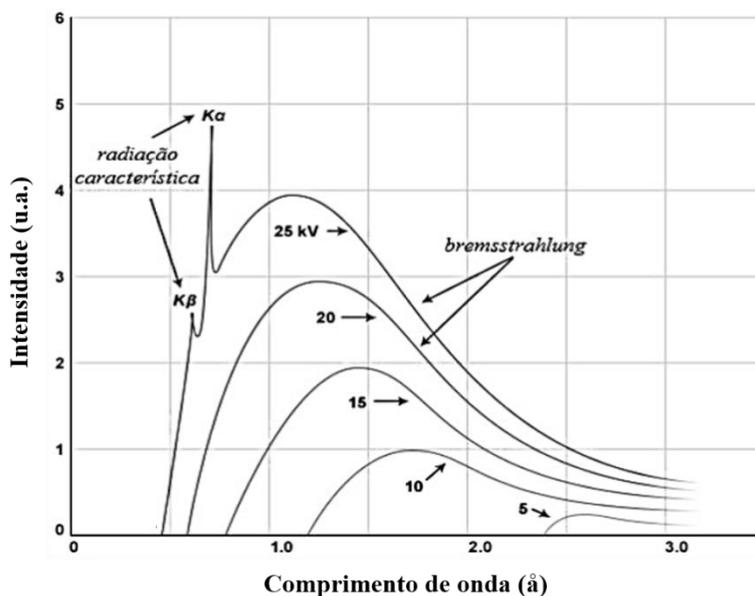


Figura 13. Espectros de radiação produzidos por diversas diferenças de potencial em um tubo de raios X [161].

Analisando o espectro acima, nota-se que para voltagens mais altas, produzem-se certos comprimentos de onda em intensidades bem mais altas que as demais. É a chamada radiação característica do alvo. Os demais comprimentos de onda são chamados de radiação branca, pois assim como a luz branca e o ruído branco, é formada por vários comprimentos de onda. Usa-se também o termo “*bremsstrahlung*”. Quanto mais se aumenta a diferença de potencial, mais a radiação característica se destaca em relação à radiação contínua, possibilitando a utilização de um comprimento de onda pré-determinado [161].

A maneira como se comporta o espectro de raios X é explicada através das transições de níveis atômicos de energia (Figura 14). Para cada diferente transição de níveis de energia, um comprimento de onda diferente é emitido. A radiação $K_{\alpha 1}$ é produzida quando um elétron transita da camada L_3 para a camada K, enquanto a radiação $K_{\beta 1}$ é gerada quando o elétron transita da camada M_3 para K [162].

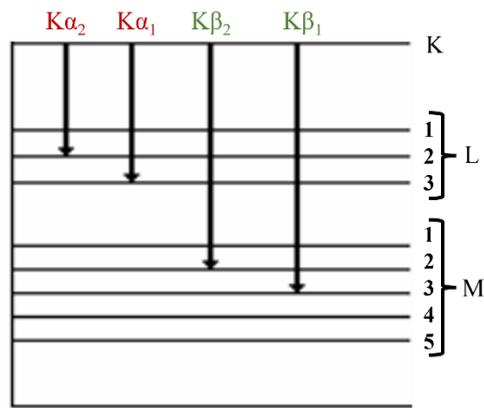


Figura 14. Os níveis atômicos de energia e as emissões de radiação referentes a cada transição. Adaptado da Ref. [160].

Como a energia para cada nível varia com o elemento atômico (alvo), cada tipo de alvo produz radiações características em diferentes comprimentos de onda. A Tabela 1 mostra os comprimentos de onda para os materiais mais utilizados em tubos de raios X [160].

Tabela 1. Radiações características dos principais materiais utilizados em tubos de raios X [160].

Elemento	$K\alpha_1$ (Å)	$K\beta_1$ (Å)
Cu	1.54056	1.39221
Mo	0.70930	0.63228
Cr	2.28970	2.08487
Co	1.78896	1.62079
W	0.20901	0.18437
Ni	1.65791	1.50013
Fe	1.93604	1.75661

O espalhamento de um feixe de raios X por um cristal pode acontecer de duas formas como demonstrado na Figura 15. Quando as frentes de onda incidentes nos planos cristalinos espalham em fase, os feixes sofrem uma interferência construtiva. Quando há uma defasagem de meio comprimento de onda entre os feixes, ocorre uma interferência destrutiva [161].

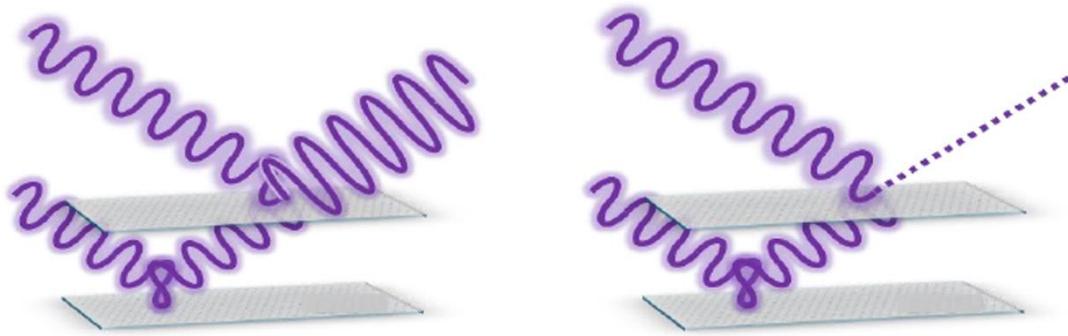


Figura 15. Duas ondas de raios X incidem em planos diferentes de um cristal e são refletidas em fase no primeiro caso (a) e defasadas de meio comprimento de onda no segundo caso (b). Adaptado da Ref. [161].

Para descrever as interferências das ondas espalhadas pelos planos de um cristal, os físicos ingleses W.H. Bragg e seu filho W.L. Bragg deduziram uma relação com uma compreensão trigonométrica simples conhecida como Lei de Bragg (Equação 1). A interferência construtiva ocorrerá sempre que a diferença do caminho percorrido pelos feixes espalhados por planos paralelos for igual a uma multiplicidade do comprimento de onda. A Figura 16 exhibe que essa diferença de caminho é igual a duas vezes o caminho $d \cdot \sin\theta$, ou seja:

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (1)$$

n é um número inteiro, λ é o comprimento de onda do feixe de raios X, d é a distância interplanar e θ é o ângulo de incidência do feixe. Logo sempre que essa relação é obedecida, são gerados picos de intensidade [159,161].

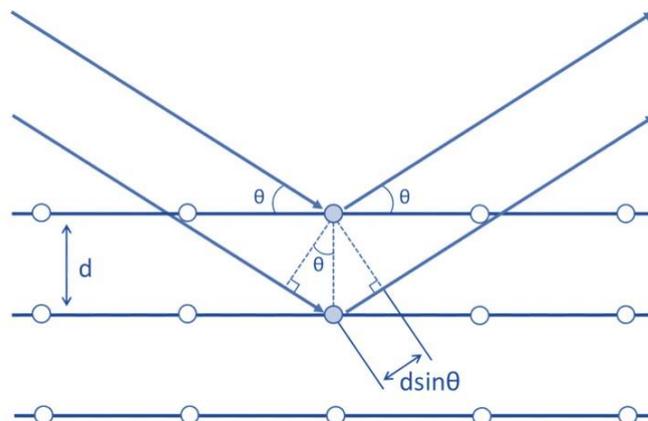


Figura 16. Análise da geometria na Lei de Bragg da diferença de caminho percorrido por feixes de raios X no cristal [163].

A partir da análise dos resultados podemos ter uma noção da estrutura cristalina dos materiais descrevendo a localização dos planos cristalinos, podendo identificar materiais, simetrias e outras propriedades [162].

2.7.2. Refinamento Rietveld

A difração de raios X é uma técnica poderosa para análise de materiais cristalinos, mas se tinha a necessidade do desenvolvimento de uma metodologia que permitisse extrair informações mais detalhadas a respeito de materiais policristalinos por meio de seus difratogramas. Uma das primeiras técnicas analíticas do padrão de DRX de compostos cristalinos, foi proposta pelo físico holandês Hugo Rietveld. O método Rietveld, como é conhecido o método proposto por ele, foi primeiramente usado para refinamento de amostras cristalinas a partir de difratogramas obtidos por difração de nêutrons. A comunidade científica passou a conhecer o método após Rietveld publicar dois artigos, um no ano de 1967 e outro em 1969, abordando tal método e sua aplicação [164,165]. Esse método de refinamento fornece dados estruturais do material e os parâmetros do perfil de difração, a partir de uma simulação matemática, onde um padrão de difração calculado é adequado a um difratograma experimental (também chamado observado), sendo ajustado pelo método dos mínimos quadrados, ou seja, o refinamento é feito pela minimização da soma das diferenças entre as intensidades calculadas e observadas, a cada passo angular do padrão de difração, minimizando as diferenças entre ambos ponto a ponto [166].

Por apresentar grande confiabilidade na análise de estruturas cristalinas, o método Rietveld é muito aplicado em análises quantitativas de fases, ajustes dos parâmetros de rede da célula unitária, bem como, na determinação da estrutura quanto ao tamanho dos cristalitos, posições e ocupações atômicas [167]. Nos últimos anos, tem sido utilizado de forma extensa nas áreas de Física, Química, Medicina, Ciência dos Materiais, Geologia e Engenharias [168].

Quanto aos aspectos matemáticos, o ajuste é simulado por meio do método dos mínimos quadrados, dado pela expressão abaixo:

$$S_y = \sum w_i (y_{obs.} - y_{calc.})^2 \quad (2)$$

$w_i = \frac{1}{y_{obs.}}$ é a função peso; $y_{obs.}$ é a intensidade observada no i -ésimo passo; e $y_{calc.}$ é a intensidade calculada no i -ésimo passo.

O método Rietveld ajustará os parâmetros refináveis de forma a minimizar a quantidade S_y , e para isso, necessitamos estabelecer que quantidades serão utilizadas para estimar a concordância entre os resultados experimentais e o modelo assumido. Essas quantidades são monitoradas durante o refinamento e definidas por:

$$R - \text{perfil} = R_p = \frac{\sum w_i |y_{obs.} - y_{calc.}|}{y_{obs.}} \quad (3)$$

$$R - \text{ponderado} = R_{wp} = \sqrt{\frac{\sum w_i |y_{obs.} - y_{calc.}|^2}{\sum w_i (y_{obs.})^2}} \quad (4)$$

$$R - \text{esperado} = R_{exp} = \sqrt{\frac{N-P}{\sum w_i (y_{obs.})^2}} \quad (5)$$

$$\text{Goodness of fit} = GOF = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} = \chi \quad (6)$$

N é o número de pontos experimentais e P é o número de parâmetros ajustados. O índice “*obs*” indica observado e o “*calc*” indica calculado [169].

Durante o refinamento, é fundamental o monitoramento da diferença entre os difratogramas, buscando detectar problemas relacionados ao ajuste do background, tal como irregularidades do perfil de pico. Além desse parâmetro, utiliza-se, também, o R_{wp} como termo que indica se o refinamento está satisfatório. Esses são os indicadores estatísticos numéricos usados para verificar a qualidade do refinamento, cujos são utilizados durante os cálculos e logo após seu término. Matematicamente, o R_{wp} é um dos índices que melhor caracteriza o refinamento do difratograma por ter no numerador o resíduo que é minimizado. Valores obtidos entre 2 e 10% indicam bons resultados para o refinamento. O GOF (*goodness-of-fit*) é frequentemente usado como outro parâmetro e está relacionado a qualidade de ajuste entre os difratogramas. Valores muito próximos a 1,0 indicam um refinamento perfeito, na prática, refinamentos com valores de GOF menores que 5,0 são aceitáveis [168].

2.7.3. Espectroscopias no infravermelho e Raman

A espectroscopia vibracional permite obter informações acerca das ligações químicas, estrutura molecular do material, possíveis transições de fases estruturais e até mesmo transições energéticas. As principais espectroscopias utilizadas para observar as vibrações de moléculas são a espectroscopia no infravermelho e Raman que envolvem o estudo da interação da radiação com as vibrações moleculares e permitem caracterizar os mais variados tipos de materiais, estejam eles no estado sólido cristalino ou não. Essas

técnicas diferem entre si na forma de transferência de energia do fóton para molécula alterando seu estado vibracional [170].

Outro aspecto importante, é que os espectros obtidos com ambas as técnicas apresentam diferenças significativas: quando da ocorrência de um mesmo pico nos espectros infravermelho e Raman, observa-se que a intensidade relativa das bandas vibracionais nos espectros é muito diferente. Existe, também, o caso em que um certo pico aparece em um espectro e é totalmente ausente em outro. Devido a esta diferença, a espectroscopia no infravermelho é superior em alguns casos e em outros a espectroscopia Raman oferece espectros mais úteis e com maior resolução espectral. De modo geral, pode-se dizer que as espectroscopias Raman e no infravermelho são técnicas complementares [171].

A condição para que ocorra absorção da radiação infravermelha é que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula como consequência de seu movimento vibracional ou rotacional (o momento de dipolo é determinado pela magnitude da diferença de carga e a distância entre dois centros de carga). Somente nessas circunstâncias, o campo elétrico alternante da radiação incidente interage com a molécula de forma ressonante, originando os espectros. De outra forma, pode-se dizer que o espectro de absorção no infravermelho tem origem quando a radiação eletromagnética incidente tem uma componente com frequência correspondente a uma transição entre dois níveis vibracionais associados com os elementos de matrizes do momento de dipolo. A vibração dos átomos no interior de uma molécula apresenta energia coerente com a região do espectro eletromagnético correspondente ao infravermelho (100 a 10000 cm^{-1}). A região de maior uso para a análise de grupos funcionais de estruturas orgânicas, está situada entre 4000 e 400 cm^{-1} , conhecido como região fundamental ou infravermelho médio [172].

Espectroscopia no infravermelho é uma técnica precisa no controle da qualidade de processos industriais, seja na área alimentícia ou farmacêutica, cuja análise é não destrutiva. Outro aspecto sobre a técnica, é a rapidez na obtenção dos resultados, a qual justifica sua crescente utilização na caracterização tanto de materiais orgânicos quanto inorgânicos [172].

Os tipos de vibrações moleculares que existem são basicamente as vibrações de estiramento, deformação (Figura 17) e torção (Figura 18). A vibração de estiramento é um movimento em que a distância entre os átomos aumenta ou diminui, mas os átomos

permanecem no mesmo eixo de simetria da ligação. Vibrações de estiramento podem ser simétricas (v_s) ou antissimétricas (v_{as}) [173].

Na vibração de deformação, a posição do átomo muda em relação ao eixo de simetria original da ligação. Estas deformações podem ocorrer no plano (*scissoring* e *rocking*) ou fora do plano (*wagging* e *twisting*). Estas vibrações geralmente requerem menor quantidade de energia e ocorrem em maiores comprimentos de onda do que as vibrações de estiramento [173].

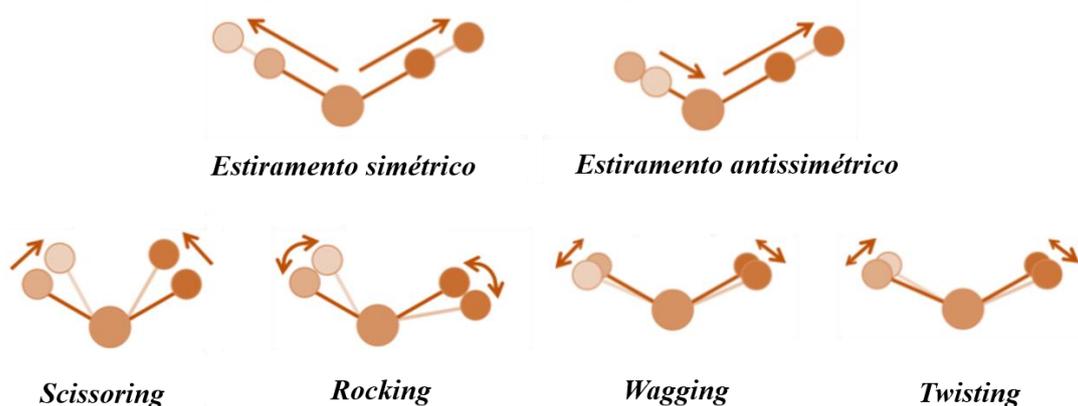


Figura 17. Modos de vibração molecular de estiramento e deformação [163].

Nas torções, as distâncias atômicas e os ângulos praticamente não sofrem alteração e os átomos giram em torno de um eixo que passa pelo centro da molécula, como representado na Figura 18.

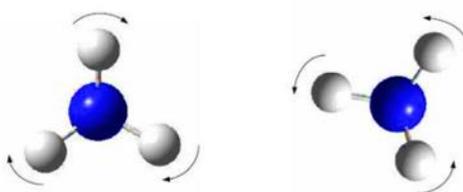


Figura 18. Torção em torno do eixo central da molécula [174].

Espectroscopia Raman também fornece informações valiosas sobre a constituição química das amostras analisadas e, é baseada na determinação de vibrações específicas de grupos funcionais. Possibilita ainda, que as análises sejam realizadas em variados estados físicos, como cristais (e policristais), soluções e líquidos. É importante ressaltar que a espectroscopia Raman também não requer um alto grau de dificuldade para o preparo das amostras e também se trata de uma técnica não destrutiva [175,176].

Quando uma radiação eletromagnética com frequência ν_0 entra em contato com um determinado material, esta radiação pode ser absorvida, transmitida, ou ainda espalhada, de forma elástica ou inelástica. Para o espalhamento elástico, nomeado também de espalhamento *Rayleigh*, a radiação espalhada possui a mesma frequência da radiação incidente. Esta interação foi descoberta por Lord Rayleigh no ano de 1871. Em 1928, C. V. Raman e K. S. Krishnan evidenciaram um efeito no qual a radiação espalhada possuía uma frequência ligeiramente maior ou menor que a radiação incidente. A este efeito foi chamado de espalhamento inelástico, ou efeito Raman. Esta evidência levou C. V. Raman a ser contemplado com o Nobel de física em 1930 [176–181].

Em 1923, a teoria Raman já havia sido apresentada por A. Smekal, onde foi constatada que 99% da radiação transmitida não sofria nenhuma alteração nas suas propriedades, e somente 1% correspondia a radiação espalhada que dava origem ao efeito Raman. Este efeito pode ser classificado de acordo com a frequência da radiação espalhada, podendo ser dividido em espalhamento *Stokes* ou espalhamento anti-*Stokes*. A Figura 19 mostra os tipos de espalhamentos quando ocorre a incidência de uma luz monocromática, bem como suas definições [175,178–181]. De acordo com a literatura e com a Figura 19, o efeito Raman e seus espalhamentos podem ser explicados pelo princípio da conservação de energia (Equação 7), em que a frequência da radiação espalhada ν_e , é equivalente à frequência de um fóton incidente (ν_0) mais ou menos a frequência da molécula (ν_m) [180].

$$h\nu_e = h\nu_0 \pm h\nu_m \text{ ou } \nu_e = \nu_0 \pm \nu_m \quad (7)$$

Para se entender melhor, considere que um fóton interage com uma molécula no estado vibracional fundamental, podendo esta ser excitada devido à absorção do fóton e transitar momentaneamente para um estado mais energético (estado virtual), posteriormente a molécula volta ao estado fundamental, o fóton espalhado possui energia igual à do fóton incidente, onde $\nu_e = \nu_0$. Esta interação corresponde ao espalhamento *Rayleigh*, mostrado na Figura 19(a).

Quando a molécula decai para um estado vibracional, acima do fundamental, esta molécula absorve parte da energia do fóton incidente, o fóton que será espalhado terá energia inferior àquela do fóton incidente, dado por $\nu_e = \nu_0 - \nu_m$. Este processo representa o espalhamento *Stokes*, mostrado na Figura 19(b) [181].

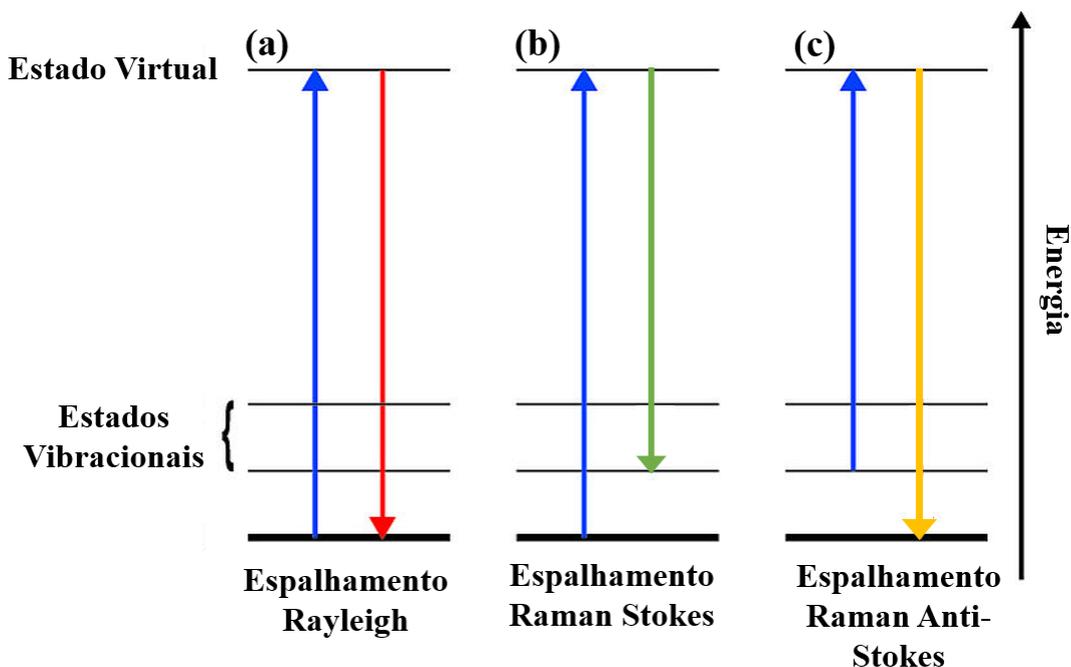


Figura 19. Esquema representativo do espalhamento (a) *Rayleigh* e (b) *Raman Stokes* (c) *Raman anti-Stokes* [182].

No entanto, caso a molécula já se encontre no estado vibracional, quando receber irradiação pelos fótons incidentes e posteriormente a excitação seguida do decaimento para o estado fundamental, 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 19(c) [183].

Devido à maior parte das moléculas vibrarem no seu estado fundamental, a probabilidade de estas resultarem em espalhamento Stokes é expressivamente superior à do espalhamento *Anti-Stokes* [183]. Os principais tipos de vibrações moleculares já foram demonstrados nas Figuras 17 e 18.

2.7.4. Teoria do funcional da densidade

A teoria do funcional da densidade é utilizada amplamente desde 1992 como ferramenta para física da matéria condensada como para a química para explicar as mais diversas propriedades. Surgiu como uma alternativa aos tradicionais métodos *ab initio* e semi-empíricos no estudo das propriedades moleculares e do sistema fundamental. Em termos comparativos ao método *Hartree-Fock*, a maior vantagem da DFT está no ganho de velocidade computacional e espaço em memória. O fato de a velocidade computacional ser maior na DFT vem do tratamento teórico que baseia-se na densidade

de probabilidade eletrônica do sistema quântico estudado. Por esse motivo, é que a DFT pode ser utilizada em cálculos de moléculas de 40 ou mais átomos num tempo significativamente menor do que os correspondentes obtidos com métodos HF. Assim, a DFT tem se tornado a mais utilizada técnica em vários programas de modelagem molecular quântica bem como o programa *Gaussian*, o qual é utilizado neste trabalho [184].

2.7.5. Análise Térmica (TGA e DSC)

Um passo importante na história da análise térmica foi a possibilidade de se acompanhar a variação de massa em função da temperatura. Deve-se recordar que Lavosier já havia estudado a variação de massa de produtos de combustão no século XVIII. Porém para se fazer estudos mais aprofundados, Kotaro-Honda, em 1915, acoplou uma balança analítica simples a um forno e construiu a primeira versão de uma termobalança, nome dado pelo próprio cientista ao instrumento, que é a base da análise termogravimétrica. Dessa forma, Kotaro-Honda pode ser considerado o precursor dessa técnica termoanalítica [185,186].

Desde então, desenvolveram-se várias técnicas termoanalíticas [187]. Por exemplo, Eyraud, 1954, é o autor mais citado na literatura como o precursor da Calorimetria Exploratória Diferencial, outra técnica muito popular. A partir de todas essas técnicas outros métodos se aprimoraram e se tornaram disponíveis comercialmente, e não deixam de surgir novas propostas [188].

Assim, a análise térmica refere-se a um conjunto de técnicas onde uma propriedade física do material é medida em função da temperatura enquanto o mesmo é submetido a um ciclo térmico (um programa controlador de temperatura). Isso implica dizer que, para ser considerada como termoanalítica, é necessário que a técnica térmica satisfaça os seguintes critérios: uma propriedade física tem que ser medida; que essa medida seja direta ou indiretamente expressa em função da temperatura; e que seja realizada sob um programa controlador de temperatura. As propriedades físicas das amostras a serem analisadas incluem massa, temperatura, fluxo de calor (entalpia), características dinâmicas, dentre outras [168].

A análise termogravimetria é a técnica termoanalítica que acompanha a variação de massa da amostra em função da temperatura. Se observarmos uma curva termogravimétrica, os degraus em relação ao eixo das ordenadas mostram as variações de massa sofridas pela amostra e assim permitem a obtenção de dados que podem ser

utilizados com finalidades quantitativas [189]. A TGA é uma técnica capaz de produzir resultados rápidos e reprodutíveis. Ela pode ser usada no controle de qualidade de medicamentos e no melhoramento do produto final [190–192].

Pode-se dizer que o equipamento da análise termogravimétrica é composto basicamente pela termobalança. O equipamento pode mudar de configuração de um fabricante para outro, mas os fundamentos de todos eles são os mesmos. A termobalança é um instrumento que permite a pesagem contínua de uma amostra em função da temperatura, ou seja, à medida que ela é aquecida ou resfriada [193].

Já a calorimetria exploratória diferencial é uma técnica termoanalítica na qual as variações de entalpia da amostra são monitoradas em relação a um material de referência termicamente inerte enquanto ambas são submetidas a uma programação controlada de temperatura [194]. Atualmente, existem no mercado equipamentos que realizam as medidas TGA simultaneamente com as medidas DSC, oferecendo todos os recursos em um único instrumento [195].

Através da técnica DSC, pode-se acompanhar os efeitos de calor associados com alterações físicas ou químicas da amostra, tais como transições de fase (fusão, ebulição, sublimação, congelamento, inversões da estrutura cristalina) ou reações de desidratação, dissociação, decomposição, óxido-redução, etc. Em geral, transições de fase, fusão, dessorção, desidratação, reduções e certas reações de decomposição produzem efeitos endotérmicos ($\Delta H > 0$), enquanto que cristalizações, adsorção, oxidações, algumas reações de decomposição (degradação oxidativa, óxido-redução, estado sólido) produzem efeitos exotérmicos ($\Delta H < 0$) [163,196].

Na verdade, podemos usar as curvas TGA e DSC em conjunto para explicar qual fenômeno térmico está ocorrendo em uma amostra. Portanto, uma decomposição térmica aparecerá como uma perda de massa e um pico endotérmico. A oxidação é vista como um ganho de massa e um aumento de energia. Mais exemplos são ilustrados na Tabela 2 [195].

Tabela 2. Exemplos de fenômenos térmicos vistos em curvas TGA e DSC [195].

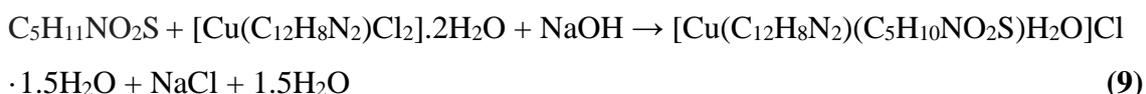
Fenômeno	TGA	DSC
Decomposição térmica		
Decomposição oxidativa		
Oxidação		
Desidratação		
Sublimação/Evaporação		
Fusão		
Cristalização		
Transição vítrea		

É importante notar que, na prática, por exemplo, podemos dizer se a desidratação ou evaporação está ocorrendo pela forma característica da curva DSC. Isso, juntamente com os resultados quantitativos obtidos no TGA, significa que é possível ter uma caracterização muito precisa do que está acontecendo [195].

3. Materiais e Métodos

3.1. Síntese do complexo Cu(Fen)(Met)

O cristal Cu(Fen)(Met) foi obtido pelo método de evaporação lenta do solvente descrito por Esarev *et al.* [13]. Foi preparada uma solução de 1,10-fenantrolina (200 mg) e cloreto de cobre (II) dihidratado (170 mg) em etanol (25 mL). Outra solução foi preparada usando 150 mg de L-metionina e 40 mg de NaOH em água (10 mL). Ambas as soluções foram misturadas e o pH final foi 7. A reação é mostrada abaixo.



A solução então foi filtrada e mantida na estufa a 30 °C. O cristal foi obtido após 30 dias, em formato de filete como mostrado na Figura 20. A síntese foi realizada no Laboratório de Síntese de Materiais Funcionais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís.

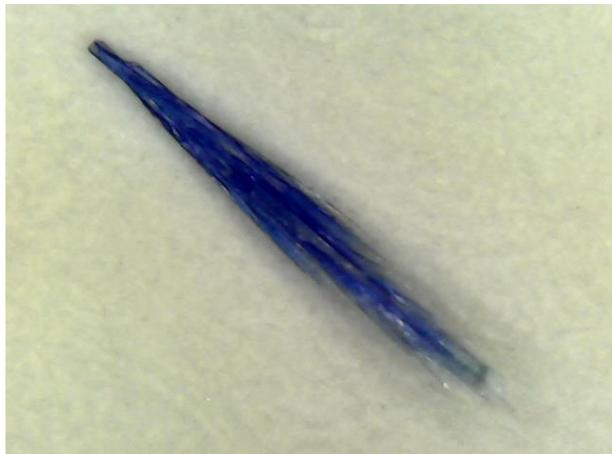
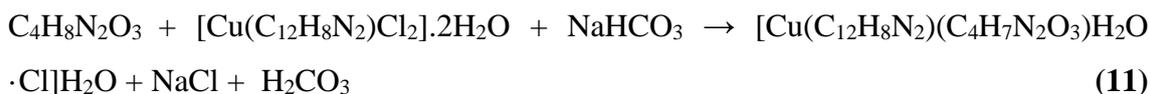


Figura 20. Policristal Cu(Fen)(Met) obtido por evaporação lenta do solvente.

3.2. Síntese do complexo Cu(Fen)(Asn)

O precipitado verde Cu(Fen)Cl₂·2H₂O formado à partir da solução de 1,10-fenantrolina (140 mg) e cloreto de cobre (II) dihidratado (130 mg) em uma mistura de metanol (4 mL) e água (1 mL) foi sintetizado. Uma outra solução foi preparada usando 28 mg de L-asparagina, 70 mg de Cu(Fen)Cl₂·2H₂O e 30 mg de NaHCO₃ em 50 mL de água. O pH final foi 7. A reação é mostrada abaixo.



A solução foi mantida na estufa a 30 °C. Após 30 dias foi obtido o cristal azul em formato de losango como mostrado na Figura 21. A síntese foi realizada no Laboratório de Síntese de Materiais Funcionais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís. Todos os reagentes utilizados estão descritos na Tabela 3.



Figura 21. Monocristal Cu(Fen)(Asn) obtido por evaporação lenta do solvente.

Tabela 3. Reagentes utilizados

Reagentes	Fórmula Química	MM (g/mol)	Pureza (%)	Marca
L-metionina	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	149,21	≥ 98	Sigma-Aldrich
L-asparagina	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	132,12	≥ 98	Sigma-Aldrich
Cloreto de cobre dihidratado	CuCl ₂ ·2H ₂ O	170,48	≥ 99	Sigma-Aldrich
1,10-Fenantrolina	C ₁₂ H ₈ N ₂	180,21	PA	Synth
Hidróxido de sódio	NaOH	40,0	≥ 99	Sigma-Aldrich
Bicarbonato de sódio	NaHCO ₃	84,01	≥ 99	Sigma-Aldrich
Álcool Metílico	CH ₃ OH	32,04	PA	Isofar
Álcool Etílico	C ₂ H ₅ OH	46,07	PA	Isofar

3.3. Difração de raios X (DRX) em pó e refinamento Rietveld

As medidas de DRX pelo método de pó em temperatura ambiente foram realizadas em um difratômetro D8 Advance da marca Bruker, utilizando radiação $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando com uma energia de 40 kV/40 mA e equipado com o detector linear LynxEye. O equipamento utilizado está mostrado na Figura 22. Os padrões de difração foram obtidos a partir de 5 à 60° (2θ) com um passo de $0,02^\circ$ e tempo de contagem de $0,4$ seg/passos. As análises de DRX em função da temperatura foram realizadas utilizando os parâmetros já mencionados no intervalo de 83 à 303 K sob vácuo e de 303 à 473 K sob vácuo e atmosfera de ar. Foi utilizada câmara de temperatura Anton-Paar TTK-450 acoplado ao difratômetro. O refinamento das estruturas cristalinas foi realizado pelo método Rietveld por meio do software TOPAS. As medidas foram realizadas na Central Analítica de Materiais da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís.



Figura 22. Difratômetro D8 Advance da Bruker.

3.4. Difração de raios X (DRX) de monocristal

O conjunto de dados do monocristal $\text{Cu}(\text{Fen})(\text{Asn})$ foi coletado no difratômetro D8 Venture da marca Bruker, que foi equipado com um detector Photon II e usou radiação $\text{Mo K}\alpha$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$). O equipamento utilizado está mostrado na Figura 23. Um cristal adequado para o composto foi escolhido e montado em uma fibra kapton usando um MiTeGen MicroMount. Os dados foram analisados, indexados e integrados usando o SAINT V8.37A incluído no software APEX3. Por fim, a estrutura foi resolvida por

métodos diretos usando o SHELXT 2015 e refinamento pelo SHELXL 2008 incluído no OLEX2. As medidas foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios X da Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza.



Figura 23. Difratômetro D8 Venture da Bruker.

3.5. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

As medidas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) foram realizadas usando um espectrômetro da marca Nicolet, modelo Nexus 470. O equipamento utilizado está mostrado na Figura 24. Todas as medidas foram realizadas com uma média de 32 varreduras e resolução de 5 cm^{-1} na região espectral de 400 a 4000 cm^{-1} . As medidas foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Impedância da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís.



Figura 24. Espectrômetro Nexus 470 da Nicolet.

3.6. Espectroscopia Raman

Os espectros Raman à temperatura ambiente foram obtidos no intervalo de 20 a 3500 cm^{-1} por um espectrômetro triplo da marca Jobin-Yvon, modelo T64000, equipado com detector CCD resfriado em nitrogênio líquido. O equipamento utilizado está mostrado na Figura 25. As amostras foram excitadas com a linha 514,5 nm de um laser de estado sólido, utilizando uma resolução de 2 cm^{-1} , 8 acumulações e potência de saída do laser de 10 mW. A amostra foi visualizada usando um microscópio Olympus modelo BX41 com uma câmera de vídeo acoplada. As medidas foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões da Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém.

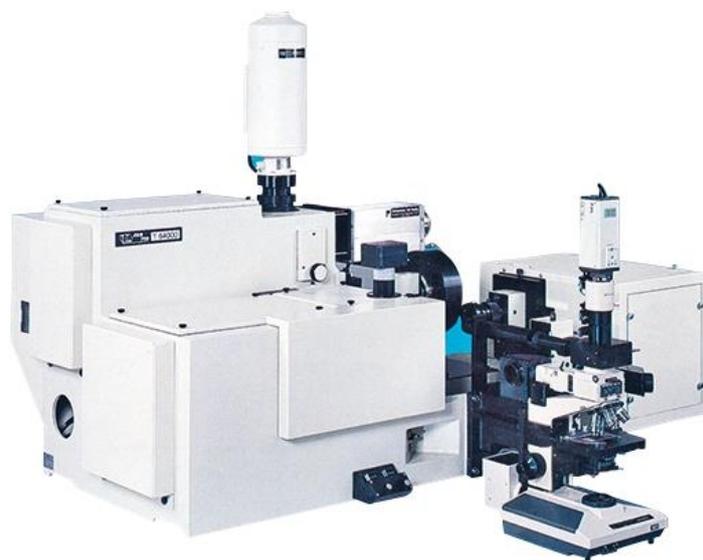


Figura 25. Espectrômetro T64000 da Jobin-Yvon.

3.7. Metodologia baseada na teoria do funcional da densidade (DFT)

A otimização da geometria molecular e os cálculos vibracionais foram realizados usando o software Gaussian 16 Computational Chemistry. As otimizações foram realizadas usando DFT com o funcional de correlação de troca PBE1PBE e base 6-311G (d, p) definida para átomos C, N, O e H. Para o cobre, foi usado o conjunto de base SDD (*Stuttgart/Dresden*), incluindo potencial de núcleo efetivo (*Effective Core Potentials - ECP*). O método de solvatação implícita IEFPCM foi utilizado para simular o efeito de solvatação, usando água como solvente. As frequências teóricas Raman e IR foram escaladas por um fator de escala de 0,94. Os modos vibracionais foram analisados em termos do PED usando o programa VibAnalysis [197].

3.8. Análise termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial (TGA e DSC)

As medidas TGA e DSC foram realizadas em um analisador termogravimétrico simultâneo STA 449 F3 Jupiter da marca Netzsch, utilizando cadinho de alumina, taxa de aquecimento de 10 °C/min, atmosfera de nitrogênio, fluxo de gás de 250 mL/min e uma faixa de temperatura de 305 a 1170 K. Para a amostra Cu(Fen)(Asn) foi usado uma massa correspondente a 32,420 mg e para a amostra Cu(Fen)(Met) foi usado uma massa correspondente a 35,124 mg. O equipamento utilizado está mostrado na Figura 26. As medidas foram realizadas na Central de Energia e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís.



Figura 26. Analisador termogravimétrico simultâneo STA 449 F3 Jupiter da Netzsch.

3.9. Testes biológicos

3.9.1. Ensaio de citotoxicidade

Para o estudo da atividade anticâncer dos complexos Cu(Fen)(Met) e Cu(Fen)(Asn) foi utilizado o ensaio MTT. As células de câncer de mama humano (MDA-MB-231 e MCF-7), câncer de próstata humano (DU-145 e PC3) e câncer de melanoma humano (MV3) foram obtidas no Banco de Células do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro, Brasil). Todas as células foram mantidas rotineiramente (separadamente) em DMEM suplementado com 10% de SBF, NaHCO₃ (3,7 g/L), HEPES (5,2 g/L), penicilina (0,5 U/mL) e estreptomicina (0,5 mg/mL). As células foram incubadas a 37 °C numa atmosfera umidificada de 5% de CO₂, cultivadas até a confluência e posteriormente, separadas por breve tratamento com tripsina (0,1%)/EDTA (0,01%).

Para o ensaio de proliferação, as células tumorais (5×10^3 células/poço) foram semeadas durante 24 horas. Em seguida, foram tratadas na presença dos complexos em diferentes concentrações (1, 10, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$), ou na ausência dos complexos por mais 24 h. Após a lavagem, o número de células foi determinado utilizando o teste MTT. Os testes foram realizados no Laboratório de Radiofarmácia e Nanorradiofármacos da Universidade Estadual da Zona Oeste (UEZO), Rio de Janeiro.

3.9.2. Ensaio antibacteriano

Para os ensaios foram utilizadas as cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positiva), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Gram positiva), *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 (Gram positiva), *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (Gram positiva), *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (Gram negativa), *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram negativa), *Escherichia coli - ESBL* ATCC 35218 (Gram negativa), e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Gram negativa). As bactérias foram armazenadas em Ágar BHI sobre refrigeração a 4°C e cultivadas em Ágar BHI a 37 °C antes de cada ensaio.

A concentração dos inóculos frescos das cepas bacterianas foi determinada pelos métodos descritos por Mohammadi-Sichani et al. (2016) [198] e Njateng et al. (2017) [199]. Os inóculos foram padronizados ajustando a densidade óptica (DO) da suspensão bacteriana em solução salina estéril a 0,9% até obter turbidez correspondente à absorvância espectrofotométrica $DO = 0,08-0,1$ a 630 nm. A suspensão bacteriana nesse intervalo de comprimento de onda corresponde a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Posteriormente foram realizadas diluições seriadas em solução salina estéril até obter a concentração do inóculo bacteriano a $1,5 \times 10^6$ UFC/mL.

Para avaliar o efeito antibacteriano dos complexos Cu(Fen)(Met) e Cu(Fen)(Asn) foi utilizado o método descrito no padrão M07-A9 do manual do *Clinical and Laboratory Standards Institute* [200]. Foram feitas diluições seriadas, 1:1, a partir de 200 $\mu\text{g/mL}$ dos complexos de cobre, em microplacas estéreis de 96 poços, usando caldo BHI. Posteriormente, foi adicionado 10 μL da suspensão bacteriana a $1,5 \times 10^6$ UFC/mL em cada poço um volume total de 200 $\mu\text{L/poço}$. Como controle positivo foi utilizado o antibiótico comercial padrão gentamicina para todas as cepas, e como controle negativo foi utilizado o meio BHI. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 h. A concentração inibitória mínima foi definida como a concentração mais baixa que inibiu o crescimento bacteriano após leitura em espectrofotômetro ($DO = 630$ nm). Os ensaios

foram realizados em triplicada. Os testes foram realizados no Laboratório de Fisiopatologia e Investigação Terapêutica da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Imperatriz.

4. Resultados dos complexos Cu(Fen)(Met) e Cu(Fen)(Asn)

4.1. Análise estrutural por DRX

A estrutura cristalina do complexo Cu(Fen)(Met) foi confirmada por DRX realizada em pó e refinamento Rietveld como mostrado na Figura 27. A amostra à temperatura ambiente cristaliza-se na estrutura ortorrômbica com grupo espacial $P2_12_12$, $Z = 12$ e parâmetros de rede, $a = 22,845(4) \text{ \AA}$, $b = 21,501(3) \text{ \AA}$ e $c = 12,599(1) \text{ \AA}$, com $V = 6188,2(1) \text{ \AA}^3$. Os resultados estão de acordo com os dados trabalhos publicados na literatura por Esarev *et al* [13].

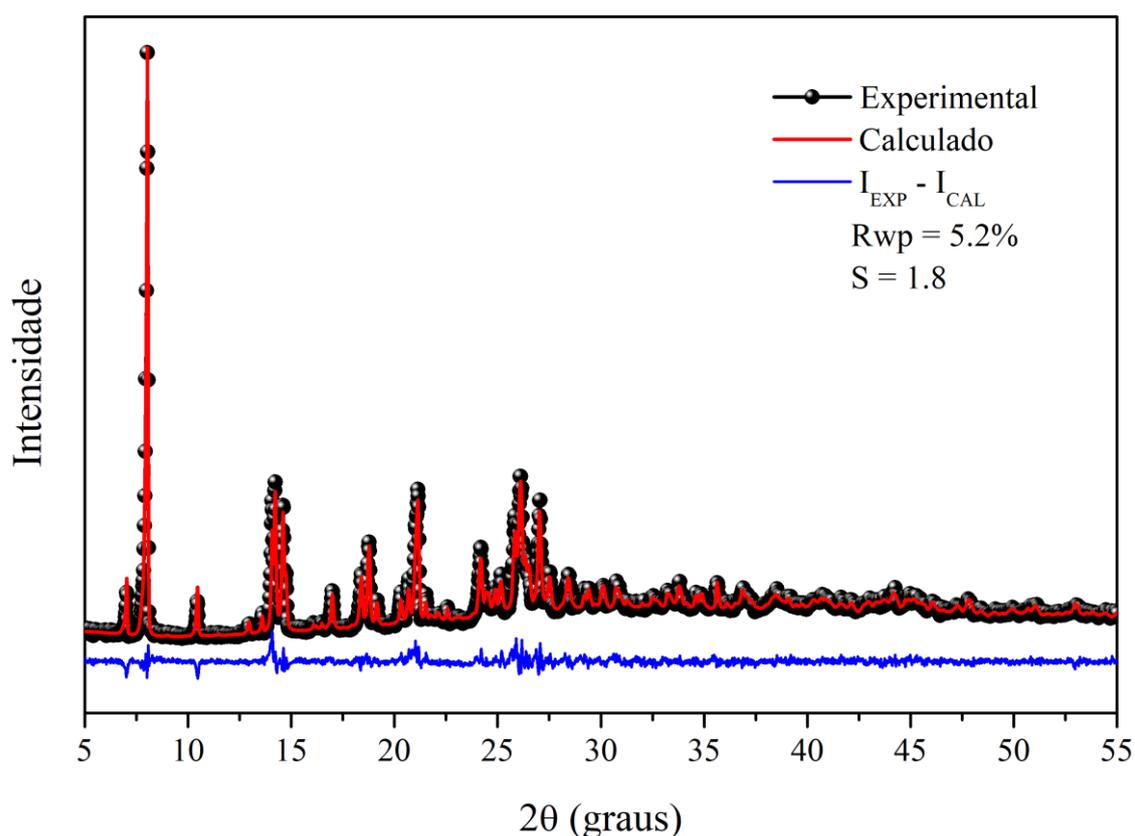


Figura 27. Padrões de difração à temperatura ambiente e refinamento pelo método Rietveld do complexo Cu(Fen)(Met).

As Figuras 28 e 29 mostram respectivamente, a molécula e a célula unitária do complexo Cu(Fen)(Met). O complexo possui uma molécula de metionina que se liga ao íon Cu^{2+} através de seus grupos carboxila e amina. Uma molécula de fenantrolina e uma de água também estão ligadas ao íon Cu^{2+} , completando a pentacoordenação do íon metálico. A estrutura cristalina também possui um íon Cl^- e 1,5 moléculas de água de hidratação por cada molécula do complexo Cu(Fen)(Met).

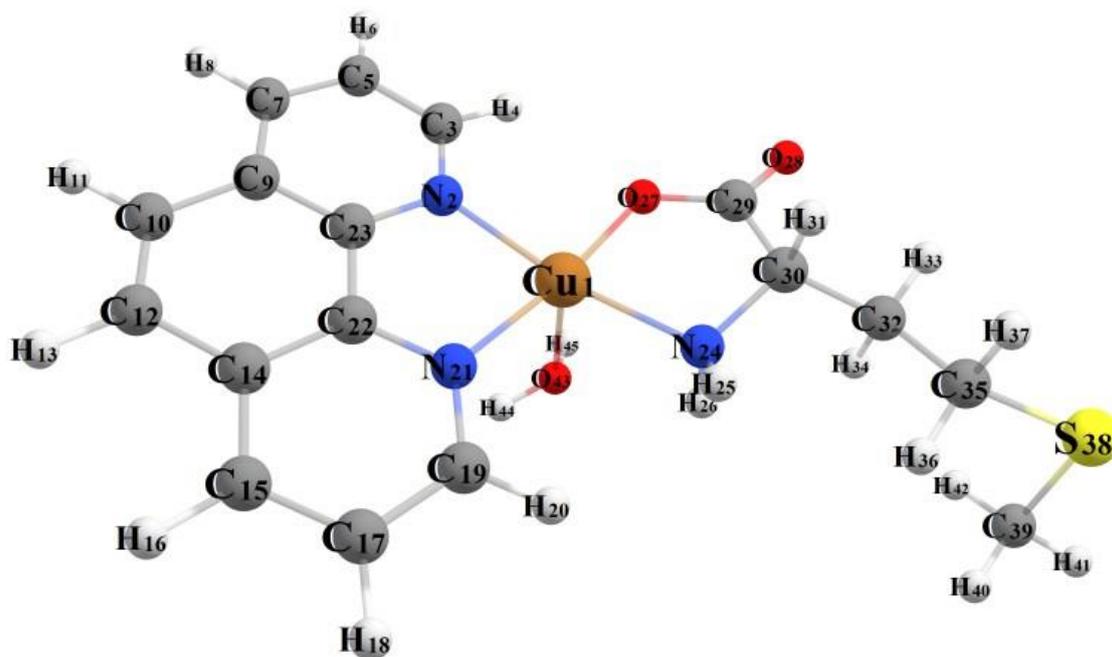


Figura 28. Molécula do complexo Cu(Fen)(Met) com átomos numerados.

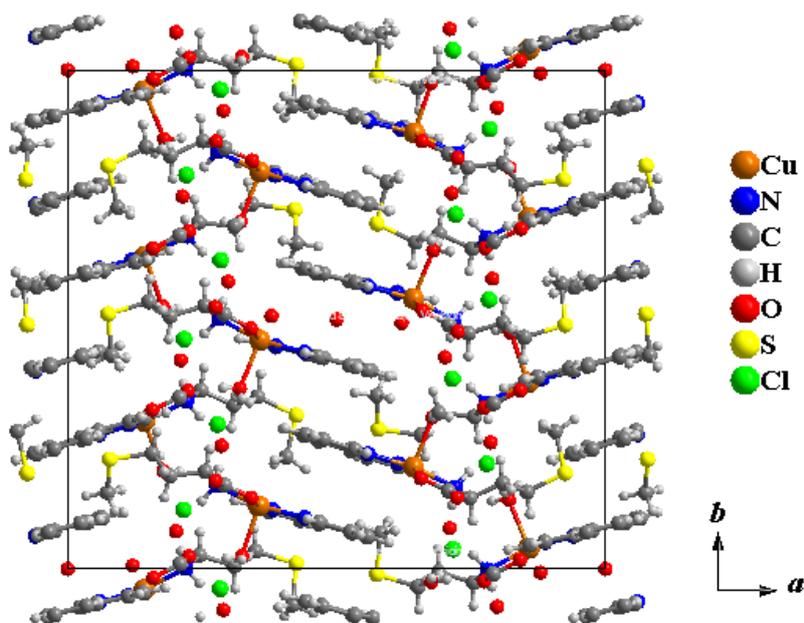


Figura 29. Célula unitária do complexo Cu(Fen)(Met) vista no plano ab .

Com relação ao complexo Cu(Fen)(Asn), sua estrutura foi resolvida pela primeira vez aqui. A estrutura cristalina deste complexo cristaliza-se na simetria triclinica, com grupo espacial $P\bar{1}$; centro simétrico (C_i), com duas moléculas por célula unitária ($Z = 2$) e seus parâmetros de rede determinados foram: $a = 7,198(2) \text{ \AA}$, $b = 10,387(3) \text{ \AA}$, $c =$

13,305(3) Å, $\alpha = 86,074 (8)^\circ$, $\beta = 74,394 (9)^\circ$ e $\gamma = 70,550 (9)^\circ$. Os dados cristalográficos estão resumidos na Tabela 4.

Tabela 4. Dados cristalográficos e experimentais do complexo Cu(Fen)(Asn).

Formula empírica	C ₁₆ H ₁₈ ClCuN ₄ O ₅
Peso molecular/g/mol	445,33
Temperatura/K	273,15
Sistema cristalino	triclínico
Grupo espacial	$P\bar{1}$
$a/\text{Å}$	7,198(2)
$b/\text{Å}$	10,387(3)
$c/\text{Å}$	13,305(3)
$\alpha/^\circ$	86,074(8)
$\beta/^\circ$	74,394(9)
$\gamma/^\circ$	70,550(9)
Volume/Å ³	903,1(4)
Número de moléculas por célula unitária (Z)	2
Densidade/g/cm ³	1,638
Tamanho do cristal/mm ³	0,381 × 0,335 × 0,234
Coefficiente de absorção /mm ⁻¹	1,394
Goodness-of-fit on F ²	1,057
Índices finais de R [$I \geq 2\sigma(I)$]	R ₁ = 0,0725, wR ₂ = 0,2105
Índices finais de R [Todos os dados]	R ₁ = 0,0867, wR ₂ = 0,2225

As Figuras 30 e 31 mostram respectivamente, a molécula e a célula unitária no plano bc do complexo Cu(Fen)(Asn). O material possui uma molécula de asparagina, fenantrolina, água e cloro ligado ao íon Cu²⁺, completando a hexacoordenação do metal. A estrutura cristalina também possui uma molécula de água de hidratação por cada molécula do complexo Cu(Fen)(Asn). Nota-se que o complexo apresenta uma desordem na posição atômica do carbono alfa, nos átomos do radical do aminoácido e na água de hidratação. Os dados cristalográficos completos da amostra, como posições atômicas, comprimentos de ligação, ângulos de ligação e ligações de hidrogênio, estão todos apresentados, respectivamente nas Tabelas 9, 10, 11 e 12 do material anexo.

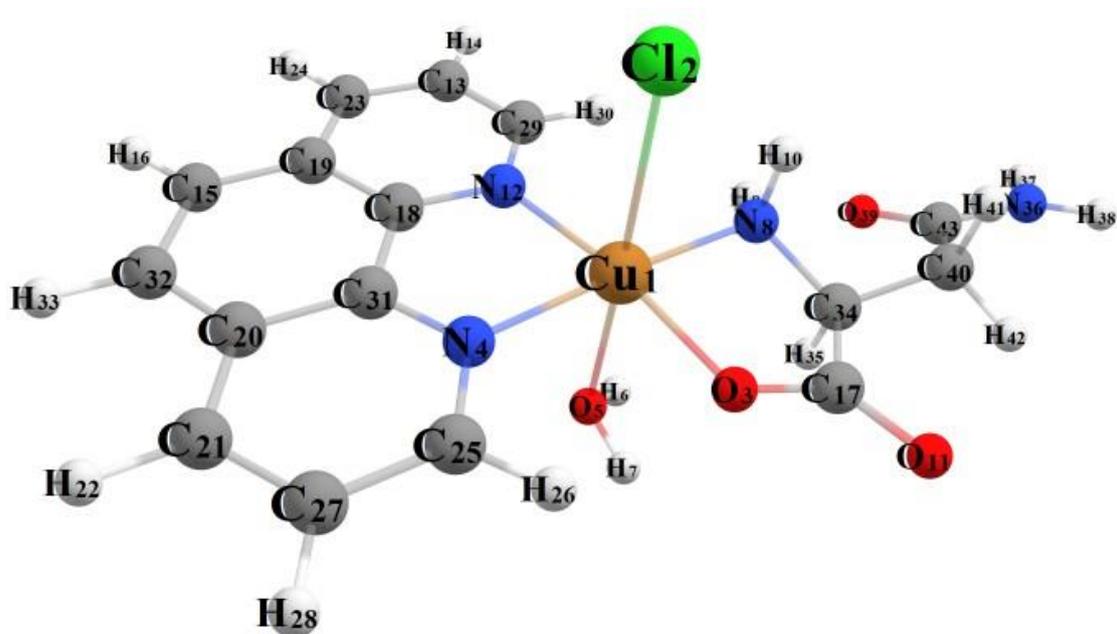


Figura 30. Molécula do complexo Cu(Fen)(Asn) com átomos numerados.

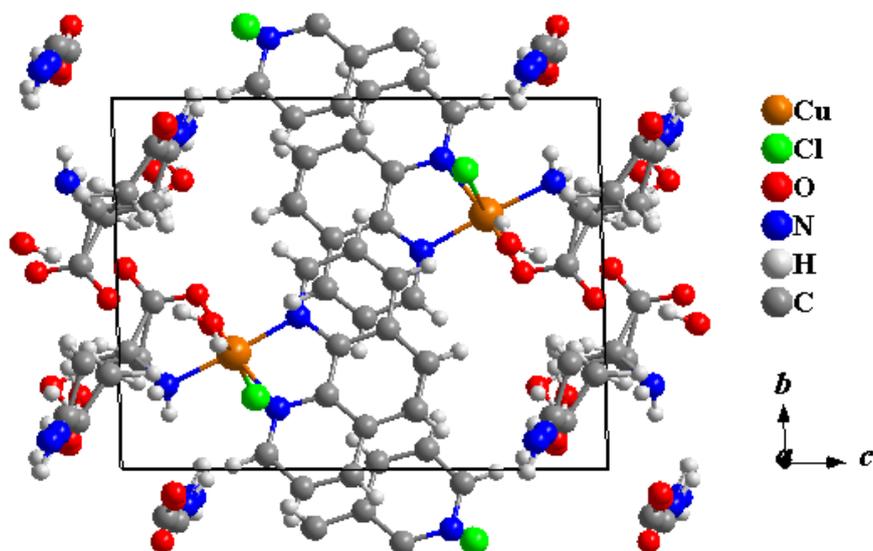


Figura 31. Célula unitária do complexo Cu(Fen)(Asn) vista no plano bc .

4.2. Análise vibracional por espectroscopias Raman e FT-IR

Nesta parte do estudo, as propriedades vibracionais dos complexos Cu(Fen)(Met) e Cu(Fen)(Asn) foram estudadas por espectroscopias Raman e FT-IR, juntamente com os cálculos DFT para determinação de todos os modos de vibração intramoleculares.

Em condição ambiente, o cristal do complexo Cu(Fen)(Met) tem estrutura pertencente ao grupo espacial $P2_12_12$ (D_2^3) da simetria ortorrômbica, com 12 moléculas por célula unitária ($Z = 12$). De acordo com a teoria de grupos, a representação total dos

modos normais de vibração em termos das representações irredutíveis são $\Gamma_{\text{Total}} = 427A + 427B_1 + 428B_2 + 428B_3$. Entre eles, $\Gamma_{\text{acústico}} = B_1 + B_2 + B_3$ são modos acústicos, $\Gamma_{\text{Raman}} = 427A + 426B_1 + 427B_2 + 427B_3$ são modos ativos do Raman e $\Gamma_{\text{IR}} = 426B_1 + 427B_2 + 427B_3$ são modos ativos do IR [201,202].

As Figuras 32 e 33 mostram os espectros Raman e IR experimentais (cor preta) à temperatura ambiente, respectivamente, para o complexo Cu(Fen)(Met) na região de 20–3500 cm^{-1} e 400–4000 cm^{-1} , assim como os espectros Raman e IR calculados (cor laranja) para fim de comparação. Todos os modos de vibração Raman e absorção no IR experimentais e calculados estão mostrado na Tabela 5.

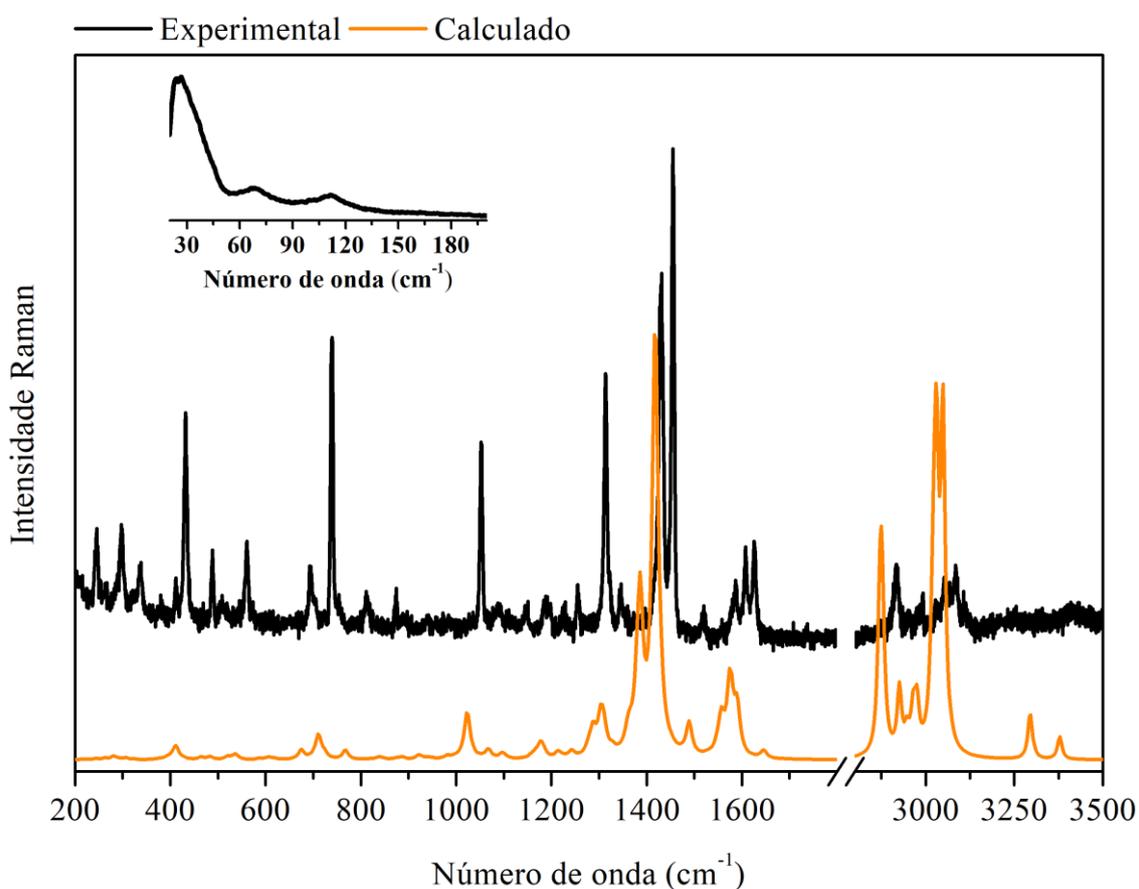


Figura 32. Espectros Raman experimental e calculado do complexo Cu(Fen)(Met). O *inset* é a região de modos de vibração da rede cristalina.

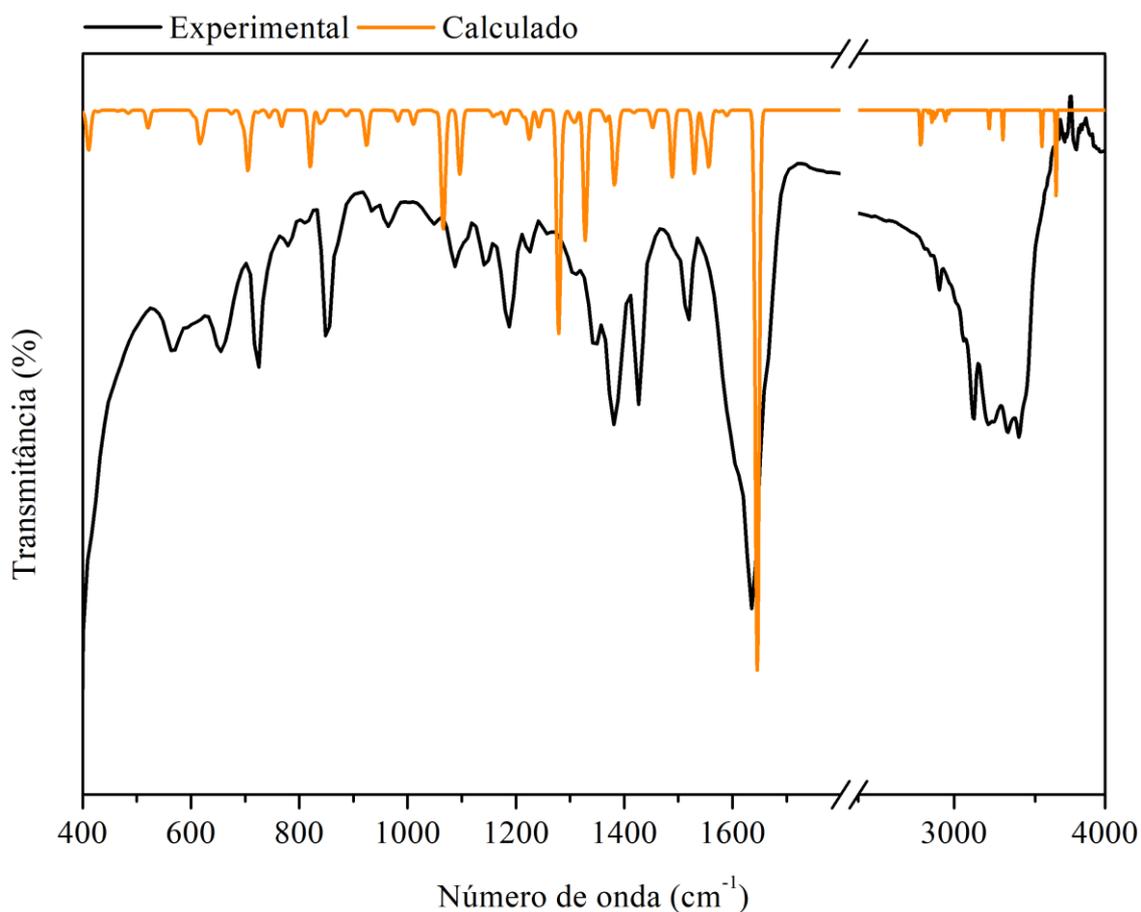


Figura 33. Espectros de absorção no IR experimental e calculado do complexo Cu(Fen)(Met).

De acordo com a literatura [203–205] e nossos cálculos desenvolvidos com DFT, os modos da região de menor energia pertencem às vibrações da rede ($< 200 \text{ cm}^{-1}$), que também têm contribuições das ligações de hidrogênio, as quais são essenciais na formação da estrutura cristalina [206,207]. Os modos de vibração Raman observados próximos de $244, 321, 488$ e 511 cm^{-1} estão associados, principalmente, com movimentos da coordenação metal-ligante, mais precisamente devido a torções, estiramentos e deformações a partir dos grupos químicos contendo cobre ligados aos átomos de oxigênio e nitrogênio. As bandas de absorção IR que aparecem centradas em 657 e 724 cm^{-1} e as bandas Raman observadas em torno de 694 e 723 cm^{-1} foram atribuídas como vibração CS do aminoácido. Por outro lado, no espectro Raman também apareceu o modo próximo à 704 cm^{-1} correspondente a uma combinação de torções a partir do metal-ligante e NC.

A banda Raman intensa observada próximo de 740 cm^{-1} foi atribuída ao movimento do tipo *scissoring* da ligação OCO devido a movimento da estrutura molecular da metionina. Além disso, os modos de absorção IR observados em cerca de 752 e 815 cm^{-1}

e os modos Raman centrados em 754 e 812 cm^{-1} foram atribuídos como movimentos, $\tau(\text{CCCC})$, devido aos anéis pertencentes à fenantrolina. Com base nos cálculos DFT, os dois modos IR e Raman, respectivamente, observados em torno de 855 e 874 cm^{-1} são devidos ao estiramento da ligação NC do aminoácido. Outros dois modos IR e Raman, respectivamente, centrados em 870 e 890 cm^{-1} foram associados com deformação da ligação SCH da metionina. Além disso, os cálculos DFT permitiram identificar os modos Raman e IR, respectivamente, observados em torno de 940 e 958 cm^{-1} que foram associados com movimentos de torções dos anéis da molécula de fenantrolina. Quase todos os modos experimentais de vibração intramolecular abaixo de 1000 cm^{-1} demonstraram boa concordância com os dados calculados, conforme verificado na Tabela 5.

É possível notar no espectro Raman uma intensa banda localizada aproximadamente em 1052 cm^{-1} referente aos movimentos combinados de estiramento das ligações NC e CC da estrutura molecular da metionina. Os modos Raman e IR, respectivamente, observados em torno de 1087 e 1090 cm^{-1} foram designados como *twisting* da ligação NH_2 da estrutura da metionina. Além disso, os modos de absorção IR observados em cerca de 1142 e 1257 cm^{-1} e os modos Raman próximos de 1146 e 1255 cm^{-1} foram associados com deformações da ligação CCH, também pertencentes à metionina. Outro aspecto importante, é em relação ao modo Raman que aparece próximo de 1277 cm^{-1} devido a uma combinação de movimentos do grupo S- CH_3 a partir da metionina, que por sua vez, demonstra uma boa concordância com o modo teórico (1276 cm^{-1}). As bandas IR e Raman, respectivamente, localizadas em torno de 1310 e 1313 cm^{-1} foram atribuídas aos movimentos combinados de estiramentos NC e CC pertencentes a um dos anéis da fenantrolina, apresentando uma boa concordância com os modos calculados. Além disso, foi observado um modo Raman próximo de 1323 cm^{-1} pertencente a movimentos combinados do tipo estiramento, *scissoring* e *twisting* das ligações OC, NCH e NH_2 que possuem conexão com íon metálico responsável pela coordenação.

Dentro da região do número de onda de 1330–1600 cm^{-1} , conforme exibido na Tabela 4, pode-se notar importantes modos de vibração Raman e IR relacionados a uma combinação de movimentos do tipo *scissoring* do grupo CH_2 da metionina e de H_2O referente à água de coordenação do complexo $\text{Cu}(\text{Fen})(\text{Met})$. Outros modos importantes também foram observados nesta região em aproximadamente 1577 e 1585 cm^{-1} no espectro Raman e, em 1580 e 1603 cm^{-1} no espectro IR, que são devidos às vibrações de

estiramento CC que contribuem para os movimentos dos anéis da fenantrolina. Além disso, os modos Raman e IR que aparecem na faixa de 1600–1700 cm^{-1} são devido às vibrações combinadas de estiramentos das unidades OC que pertencem à parte polar da metionina; assim, esses modos de vibração são relativamente mais intensos do que no espectro Raman, como observado no espectro IR através da banda larga centrada em 1634 cm^{-1} .

A região correspondente ao alto número de onda, região espectral de 2800–3200 cm^{-1} , possui bandas Raman e IR predominantemente associadas com vibrações de estiramentos das unidades CH, CH₂ e CH₃ das estruturas de fenantrolina e metionina do complexo. Com base nos cálculos DFT, no qual os espectros vibracionais são analisados acima de 3200 cm^{-1} , dois modos IR próximos de 3245 e 3391 cm^{-1} e dois modos ativos Raman identificados em torno de 3251 e 3423 cm^{-1} foram atribuídos às vibrações de estiramento de NH₂ da estrutura da metionina. Além disso, dois modos de absorção IR aparecem em cerca de 3637 e 3699 cm^{-1} que são atribuídos às vibrações de estiramento OH da molécula de água do complexo Cu(Fen)(Met).

Tabela 5. Modos de vibração Raman e IR experimentais e calculados e suas respectivas atribuições para o complexo Cu(Fen)(Met).

ω_{Raman}	ω_{IR}	ω_{Calc}	ω_{Scal}	Atribuição com PED*
22	-	-	-	
30	-	-	-	
35	-	-	-	
42	-	-	-	
68	-	-	-	
91	-	-	-	Modos de rede
101	-	-	-	
112	-	-	-	
126	-	-	-	
154	-	-	-	
185	-	-	-	
-	-	211	198	$\nu(\text{Cu1O43})(41)$
-	-	236	222	$\tau(\text{C14C22 N21C19})(19) + \tau(\text{C14C15C17C19})(15) + \tau(\text{C12C14C22N21})(11)$
244	-	259	244	$\tau(\text{Cu1N21C19C17})(14) + \tau(\text{C9C10C12C14})(14) + \tau(\text{Cu1N2C3C5})(11) + \tau(\text{N2C23C22N21})(10)$
265	-	280	263	$\delta(\text{C35S38C39})(10)$
297	-	311	292	$\delta(\text{O28C29C30})(10)$
321	-	343	323	$\delta(\text{Cu1O43H45})(16) + \delta(\text{Cu1O43H44})(15) + \text{wag}(\text{H44O43H45})(10)$
336	-	379	356	$\delta(\text{C32C35S38})(15)$
379	-	420	395	$\tau(\text{N2C23C22N21})(12)$

411	-	438	412	$\tau(\text{C10C9C23})(10)$
431	-	456	429	$\tau(\text{C5C7C9C10})(10) + \tau(\text{C10C12C14C15})(10)$
-	450	495	465	$\tau(\text{C9C23C22})(11)$
488	-	514	483	$\delta(\text{N24Cu1O27C29})(16)$
511	-	554	521	$\delta(\text{Cu1N24C30})(11) + \delta(\text{O28C29C30})(11) + \nu(\text{Cu1O27})(10)$
560	565	625	587	$\tau(\text{C9C23C22C14})(13) + \tau(\text{C12C14 C15C17})(11) + \tau(\text{N2C23C9C10})(10)$
-	602	662	622	$\tau(\text{C15C17C19N21})(12) + \tau(\text{C3N2C23C5})(11) + \tau(\text{C5C7C9})(11)$
-	657	718	675	$\nu(\text{S38C39})(34) + \nu(\text{C35S38})(15)$
694	-	745	700	$\nu(\text{C35S38})(10)$
704	-	750	705	$\tau(\text{N2Cu1N21C19})(16) + \tau(\text{C14C22N21C19})(13) + \tau(\text{C19N21C22C23})(12)$
723	724	771	724	$\nu(\text{C35S38})(19) + \nu(\text{S38C39})(17)$
740	-	817	767	<i>sci</i> (O27C29O28)(29)
754	752	824	774	$\tau(\text{C7C9C23C22})(10)$
812	815	862	811	$\tau(\text{C9C10C12C14})(27) + \tau(\text{C9C23C22C14})(21) + \gamma(\text{C12C14C15C22})(11) + \gamma(\text{N2C23C9C22})(10)$
-	-	873	820	$\tau(\text{C14C15C17C19})(28) + \tau(\text{C14C22N21C19})(24)$
874	855	900	846	$\nu(\text{N24C30})(12)$
890	870	979	920	$\delta(\text{S38C39H40})(15) + \delta(\text{S38C39H42})(14)$
-	-	986	927	$\tau(\text{C15C17C19H20})(15) + \tau(\text{Cu1N21C22C14})(12) + \tau(\text{C14C15C17C19})(10)$
940	958	1000	940	$\tau(\text{C12C14C22N21})(11) + \tau(\text{C3N2C23C22})(10)$
-	-	1008	947	$\tau(\text{C19N21C22C23})(12) + \tau(\text{H4C3C5C7})(12) + \tau(\text{C7C9C10C12})(11)$
-	-	1030	968	$\tau(\text{C12C14C22N21})(17) + \tau(\text{C12C14C15C17})(16) + \tau(\text{C15C17C19N21})(15)$
-	-	1034	972	$\tau(\text{Cu1N2C3C5})(17) + \tau(\text{N21Cu1N2C3})(10)$
-	-	1075	1010	$\nu(\text{C32C35})(23)$
-	-	1089	1023	$\nu(\text{C17C19})(13) + \nu(\text{C3C5})(12)$
1052	-	1137	1069	$\nu(\text{N24C30})(17) + \nu(\text{C30C32})(16)$
1087	1090	1166	1096	<i>twi</i> (H25N24H26)(15)
1109	-	1172	1102	$\nu(\text{C10C12})(12)$
1146	1142	1232	1158	<i>sci</i> (C29C30H31)(15)
1185	1185	1253	1178	$\nu(\text{C12C14})(15) + \nu(\text{C9C10})(14) + \nu(\text{C14C15})(12)$
1197	-	1291	1214	$\nu(\text{N2C3})(16) + \nu(\text{C19N21})(16) + \nu(\text{C22C23})(10) + \nu(\text{C14C15})(10)$
1226	1223	1303	1224	$\nu(\text{C30H31})(12) + \nu(\text{O27C29})(11)$
1255	1257	1322	1243	$\delta(\text{C32C35H36})(11) + \delta(\text{H33C32C35})(10) + \textit{twi}(\text{H33C32H34})(14)$
1277	-	1357	1276	$\delta(\text{S38C39H41})(11) + \delta(\text{S38C39H42})(11) + \delta(\text{S38C39H40})(11)$
-	-	1361	1279	$\delta(\text{O27C29O28})(28)$
-	-	1386	1302	$\nu(\text{C19N21})(14)$
1313	1310	1394	1310	$\nu(\text{N2C3})(15) + \nu(\text{C5C7})(11) + \nu(\text{N2C23})(10) + \nu(\text{C14C15})(11) + \nu(\text{C22C23})(11)$
1323	-	1413	1328	$\nu(\text{O27C29})(19) + \textit{sci}(\text{N24C30H31})(13) + \textit{twi}(\text{H25N24H26})(13)$
1346	1348	1451	1364	<i>sci</i> (H36C35H37)(23) + <i>sci</i> (H40C39H41)(13) + <i>sci</i> (H41C39H42)(13)
-	-	1454	1367	<i>sci</i> (H40C39H41)(18) + <i>sci</i> (H36C35H37)(10)
-	-	1467	1379	<i>sci</i> (H40C39H42)(27) + <i>sci</i> (H41C39H42)(17)
1385	1383	1469	1381	$\nu(\text{C14C22})(12) + \nu(\text{C12C14})(10) + \nu(\text{N2C23})(10) + \nu(\text{C19N21})(10)$
-	-	1477	1389	<i>sci</i> (H33C32H34)(23)
1430	1424	1509	1418	$\nu(\text{C10C12})(15) + \nu(\text{C22C23})(11) + \nu(\text{C14C22})(11) + \nu(\text{C9C23})(10)$
1455	1485	1545	1452	$\nu(\text{C9C10})(14) + \nu(\text{C5C7})(13) + \nu(\text{C15C17})(12)$

1519	1516	1627	1529		<i>sci</i> (H44O43H45)(49)
-	-	1646	1547		<i>sci</i> (H25N24H26)(19)
-	-	1654	1555	$\nu(\text{C5C7})(14) + \nu(\text{C7C9})(13) + \nu(\text{N2C3})(13) + \nu(\text{C17C19})(12) + \nu(\text{C14C22})(10)$	
-	-	1657	1558	$\nu(\text{C19N21})(17) + \nu(\text{C15C17})(13) + \nu(\text{C14C15})(13) + \nu(\text{C5C7})(10)$	
1577	1580	1675	1575	$\nu(\text{C5C7})(19) + \nu(\text{C15C17})(13) + \nu(\text{N2C23})(13) + \nu(\text{C14C22})(11) + \nu(\text{C7C9})(10)$	
1585	1603	1691	1589	$\nu(\text{C10C12})(15) + \nu(\text{C22C23})(14) + \nu(\text{C14C15})(11)$	
1626	1634	1751	1646	$\nu(\text{O28C29})(74) + \nu(\text{O27C29})(13)$	
2832	-	3053	2870	$\nu_s(\text{C32H}_2)(47) + \nu(\text{C30H31})(21)$	
2874	2871	3059	2876	$\nu_s(\text{C39H}_3)(38) + \nu_s(\text{C35H}_2)(36)$	
-	-	3062	2879	$\nu_s(\text{C39H}_3)(49) + \nu(\text{C30H31})(13) + \nu_s(\text{C35H}_2)(27)$	
-	-	3068	2884	$\nu(\text{C30H31})(31) + \nu_s(\text{C32H}_2)(30) + \nu_s(\text{C35H}_2)(16)$	
2917	2915	3113	2926	$\nu_{as}(\text{C35H}_2)(64) + \nu_{as}(\text{C32H33})(23)$	
2952	-	3135	2947	$\nu_{as}(\text{C32H}_2)(56) + \nu_{as}(\text{C35H}_2)(28)$	
-	-	3153	2964	$\nu_{as}(\text{C39H}_2)(84)$	
2980	2967	3164	2974	$\nu_{as}(\text{C39H}_3)(97)$	
3007	3004	3209	3016	$\nu(\text{C12H13})(26) + \nu(\text{C10H11})(24)$	
-	-	3215	3022	$\nu(\text{C7H8})(48) + \nu(\text{C5H6})(14)$	
-	-	3216	3023	$\nu(\text{C15H16})(45) + \nu(\text{C17H18})(15) + \nu(\text{C19H20})(12)$	
3029	-	3222	3029	$\nu(\text{C19H20})(50) + \nu(\text{C15H16})(17) + \nu(\text{C17H18})(11)$	
-	-	3224	3030	$\nu(\text{C12H13})(26) + \nu(\text{C10H11})(25)$	
-	-	3226	3032	$\nu(\text{C3H4})(51) + \nu(\text{C5H6})(15) + \nu(\text{C7H8})(13)$	
-	-	3243	3048	$\nu(\text{C5H6})(49) + \nu(\text{C3H4})(18) + \nu(\text{C7H8})(12)$	
3052	3057	3244	3049	$\nu(\text{C17H18})(53) + \nu(\text{C19H20})(17) + \nu(\text{C15H16})(13)$	
3251	3245	3505	3294	$\nu_s(\text{N24H}_2)(97)$	
3423	3391	3594	3378	$\nu_{as}(\text{N24H}_2)(89)$	
-	3637	3846	3615	$\nu_s(\text{O43H}_2)(81)$	
-	3699	3938	3702	$\nu_{as}(\text{O43H}_2)(97)$	

*Valores iguais ou superiores a 10%

Nomenclatura: τ = torção; δ = deformação; γ = deformação fora do plano, *sci* = *scissoring*, *roc* = *rocking*, *wag* = *wagging*, *twi* = *twisting*, ν = estiramento; ν_{as} = estiramento antissimétrico; ν_s = estiramento simétrico.

Com relação ao complexo Cu(Fen)(Asn) em condição ambiente, o mesmo apresenta estrutura associada com grupo espacial $P\bar{1}$ (C_i^1) da simetria triclinica, com $Z = 2$. De acordo com a teoria de grupos, a representação total dos modos normais de vibração em termos das representações irredutíveis é $\Gamma_{\text{Total}} = 177A_g + 177A_u$. Entre eles, $\Gamma_{\text{acústico}} = 3A_u$ são modos acústicos, $\Gamma_{\text{Raman}} = 177A_g$ são modos ativos do Raman e $\Gamma_{\text{IR}} = 174A_u$ são modos ativos no IR [201,202].

Na região de baixo número de onda, uma atribuição totalmente direta é relativamente difícil de executar, pois a maioria das bandas observadas provavelmente são originadas em movimentos que possui acoplamentos a partir de modos externos e internos de baixa energia. Os modos abaixo de 200 cm^{-1} foram atribuídos como modos

de rede, ou seja, estão associados com movimentos coletivos de todos os átomos no cristal Cu(Fen)(Asn), mas possuem contribuição de ligações de hidrogênio correspondentes [208,209]. As posições dos modos de vibração Raman e IR experimentais são dadas na Tabela 6, bem como os modos calculados via DFT.

As vibrações devido ao metal-ligante também são difíceis de atribuir. Com base em estudos anteriores, provavelmente, as vibrações CuN devem aparecer em número de onda de mais alta energia vibracional do que aqueles relacionados aos movimentos CuO [210–212]. De acordo com a literatura [212], estiramentos da ligação CuO podem ser observados em torno de 339 e 397 cm^{-1} . Estiramentos do tipo $\nu(\text{CuN})$ foram atribuídos, segundo a literatura [212–214], aos modos localizadas em torno de 479 e 497 cm^{-1} . De acordo com nossos cálculos, no complexo Cu(Fen)(Asn), a banda associada com a ligação $\nu(\text{CuO})$ foi observada em torno de 391 cm^{-1} , enquanto a ligação $\nu(\text{CuN})$ é notada próximo de 504 cm^{-1} .

Os números de onda próximos de 244, 740, 746, 827 e 847 cm^{-1} foram relacionados às torções e deformações de vibrações do aminoácido L-asparagina [208,215–217], confirmados pelos cálculos DFT. Outras importantes deformações do tipo *scissoring*, *rocking*, *wagging* e *twisting* das unidades CH_2 e NH_2 relacionadas ao aminoácido, foram observadas em torno de 558, 543, 977, 1100, 1366, 1587 e 1597 cm^{-1} . Os demais modos observados dentro da região de 200–1000 cm^{-1} , que foram atribuídos a um acoplamento de torções, estão relacionados ao ligante fenantrolina.

A região de 1000–1800 cm^{-1} é chamada de “impressão digital”, considerada de grande interesse por incluir a maioria das bandas referentes aos modos Raman e IR. Esta região apresenta bandas vibracionais associadas com deformações envolvendo as unidades CH_2 e CH_3 , características de moléculas orgânicas [218].

As bandas mais características da fenantrolina surgem das vibrações do anel $\nu_{\text{fen}}(\text{CC})$ e $\nu_{\text{fen}}(\text{CN})$. No espectro da fenantrolina pura [20], essas bandas foram observadas em 1500 cm^{-1} e 852 cm^{-1} . Aqui, essas vibrações foram notadas em torno de 948, 1428, 1435, 1450 e 1456 cm^{-1} no Raman e em 950, 1191, 1430, 1452 e 1493 cm^{-1} no IR.

As bandas Raman em 1609 e 1626 cm^{-1} e as bandas IR em 1636 e 1676 cm^{-1} são designadas como vibração de estiramento da ligação C=O. Tanto no espectro IR, quanto no espectro Raman, há uma banda notada em torno de 1520 cm^{-1} que é associada com movimento do tipo tesoura a partir da molécula H_2O que se encontra diretamente ligada ao metal [208,219,220].

As bandas observadas no intervalo 2800–3100 cm^{-1} foram atribuídas às vibrações de estiramento das ligações CH e CH_2 referentes a ambos os ligantes. Além disso, em região de alta frequência, os estiramentos simétricos e assimétricos do grupo amino NH_2 geram bandas bem nítidas vistas no espectro dos complexos [221,222]. O grupo amino NH_2 está envolvido em múltiplas ligações de hidrogênio, assim a estrutura é enrijecida, o que causa melhor resolução do espectro. As bandas Raman experimentais observadas em cerca de 3255 e 3351 cm^{-1} (modos IR centrados em 3233 e 3352 cm^{-1}) são atribuídas como estiramentos simétricos e assimétricos do grupo NH_2 , respectivamente. Além disso, uma pequena banda localizada e observada nos espectros Raman e IR em torno de 3502 e 3552 cm^{-1} foi atribuída a um estiramento assimétrico de NH_2 .

Em geral, as vibrações devido aos estiramentos de H_2O também estão localizadas em mais alto número de onda [211,223]. As bandas de absorção em 3600 e 3637 cm^{-1} encontrada nos espectros Raman e IR do complexo hidratado $\text{Cu}(\text{Fen})(\text{Asn})$ são características de vibrações do tipo estiramento do grupo OH a partir da molécula de água. Os espectros Raman e IR experimentais e calculados são mostrados, respectivamente, nas Figuras 34 e 35.

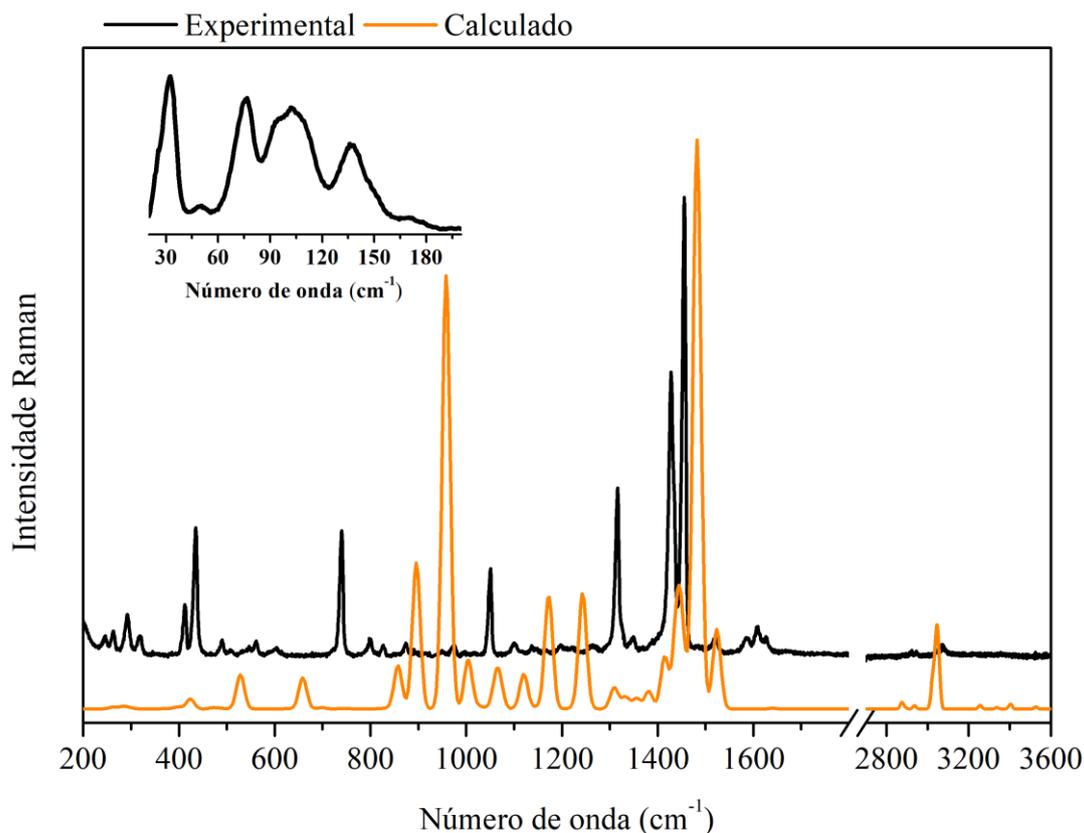


Figura 34. Espectros Raman experimental e calculado do complexo $\text{Cu}(\text{Fen})(\text{Asn})$. O *inset* é a região de modos de vibração da rede cristalina.

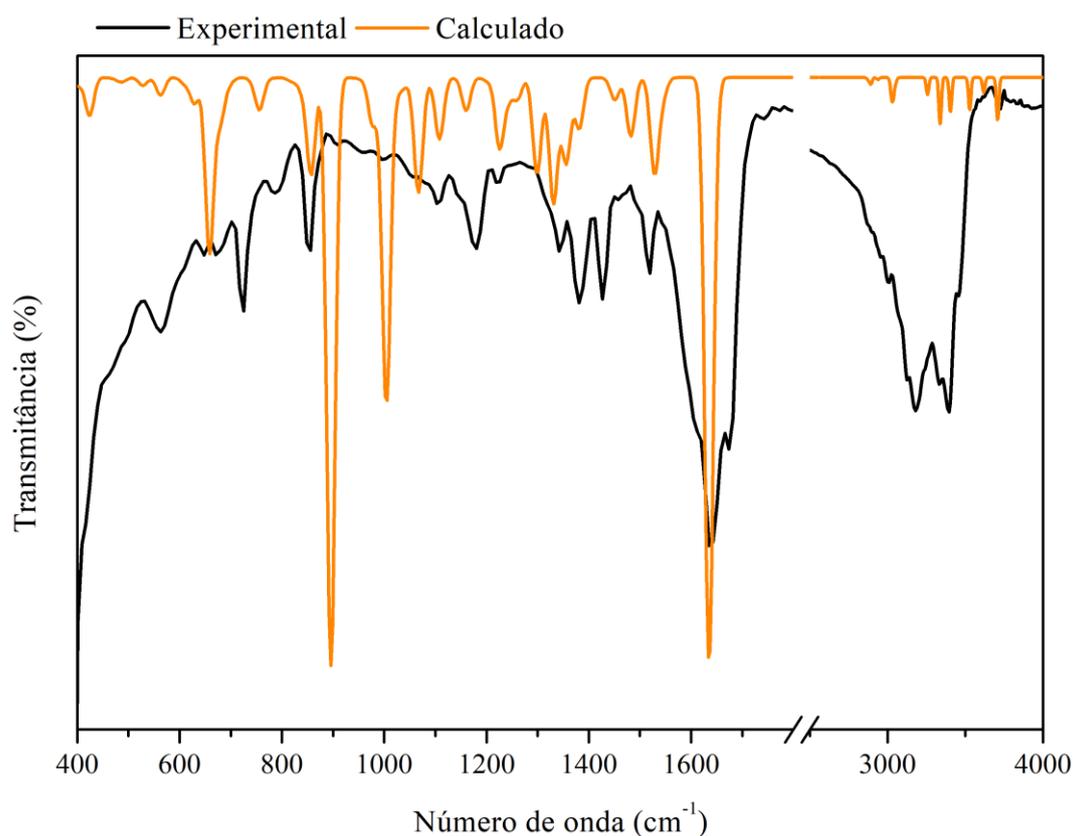


Figura 35. Espectros de absorção no IR experimental e calculado do complexo Cu(Fen)(Asn).

Tabela 6. Modos de vibração Raman e IR experimentais e calculados e suas respectivas atribuições para o complexo Cu(Fen)(Asn).

ω_{Raman}	ω_{IR}	ω_{Calc}	ω_{Scal}	Atribuição com PED*
27	-	-	-	
31	-	-	-	
34	-	-	-	
50	-	-	-	
76	-	-	-	
92	-	-	-	
102	-	-	-	
111	-	-	-	
137	-	-	-	
148	-	-	-	
173	-	-	-	
-	-	204	192	$\delta(\text{C34C40C43})(10)$
199	-	210	197	$\tau(\text{C31C18C19C23})(11)$
244	-	256	240	$\delta(\text{C17C34C40C43})(17)$
262	-	262	246	$\tau(\text{N4C31C20C32})(17) + \tau(\text{N12C18C19C15})(17) + \tau(\text{C19C18C31C20})(16)$
292	-	310	291	$\tau(\text{C32C15C19C23})(10)$
318	-	391	367	$\nu(\text{Cu1O3})(10) + \tau(\text{Cu1N8C34C17})(10)$
411	-	443	416	$\tau(\text{C13C23C19C18})(11) + \tau(\text{C32C20C21C27})(11) + \tau(\text{C32C15C19C23})(10)$
433	-	457	429	$\tau(\text{C19C18C31C20})(13) + \gamma(\text{Cu1N12C18C29})(11)$
-	-	500	470	$\gamma(\text{Cu1N4C25C31})(17) + \gamma(\text{N4C31C18C20})(12)$
-	-	504	474	$\nu(\text{Cu1N8})(12) + \delta(\text{Cu1O3C17})(10)$

490	-	515	484	$\delta(\text{C21C20C32})(15) + \delta(\text{C15C19C23})(13)$
-	-	557	523	$\tau(\text{Cu1N4C25C27})(11) + \tau(\text{Cu1N12C29C13})(10)$
558	543	598	562	<i>sci</i> (N36C43O39)(25)
603	615	650	611	$\delta(\text{C27C25N4C31})(17) + \delta(\text{C29C13C23C19})(10)$
-	-	669	629	$\tau(\text{N8Cu1O3C17})(14) + \text{roc}(\text{H9N8H10})(13)$
-	654	698	656	$\tau(\text{C15C19C18C31})(12) + \tau(\text{N4C31C20C32})(10)$
-	-	700	658	$\delta(\text{C23C19C15C32})(15) + \nu(\text{C20C21})(10)$
-	688	723	679	$\tau(\text{N12C18C31C20})(14) + \tau(\text{N4C31C18C19})(10) + \tau(\text{C18N12C29C13})(10)$
-	-	746	701	$\tau(\text{C20C21C27C25})(25) + \tau(\text{C25N4C31C20})(14) + \tau(\text{N12Cu1N4C25})(11) + \tau(\text{N12C18C31C20})(10)$
738	721	787	739	$\tau(\text{C15C19C18C31})(11) + \gamma(\text{N12C18C19C31})(10)$
740	746	800	752	$\delta(\text{O3C17O11})(22) + \tau(\text{N8Cu1O3C17})(14) + \tau(\text{O3C17C34N8})(11)$
-	-	806	757	$\tau(\text{C25N4C31C20})(20) + \tau(\text{N12Cu1N4C25})(13)$
799	785			$\tau(\text{C29C13C23C19})(16) + \tau(\text{C18C31C20C32})(15) + \tau(\text{C32C15C19C18})(13)$
		829	779	$+ \tau(\text{C29N12C18C19})(12)$
827	-	884	831	$\nu(\text{C40C43})(20) + \delta(\text{O39C43N36})(19)$
	847	897	843	$\nu(\text{N8C34})(11) + \delta(\text{C34C40H41})(11) + \delta(\text{O3C17O11})(10)$
874	873	918	863	$\tau(\text{H22C21C27C25})(31) + \gamma(\text{C20C21H22C27})(15) + \tau(\text{N4C31C20C21})(15) + \gamma(\text{C21C20C31C32})(11) + \gamma(\text{N4C25H26C27})(10)$
-	-	994	935	$\tau(\text{C29N12C18C19})(17) + \tau(\text{N12C29C13C23})(14) + \tau(\text{N12C18C19C15})(12) + \tau(\text{C13C23C19C15})(12)$
-	-	1000	940	$\tau(\text{N12Cu1N4C25})(15) + \tau(\text{C15C32C20C21})(11) + \tau(\text{Cu1N4C25C27})(10) + \tau(\text{Cu1N12C18C31})(10) + \tau(\text{C31C20C21C27})(10)$
948	950	1019	958	$\nu(\text{C15C32})(13)$
977	-	1039	977	<i>roc</i> (H41C40H42)(15) + <i>wag</i> (H9N8H10)(14)
-	1015	1068	1004	$\nu(\text{C25C27})(15) + \nu(\text{C13C29})(11)$
-	-	1091	1025	$\nu(\text{C13C29})(12)$
-	-	1104	1038	$\nu(\text{O39C43})(16) + \nu(\text{N36C43})(15) + \text{roc}(\text{H37N36H38})(12)$
1050	1050	1114	1047	$\delta(\text{C23C13C29})(13) + \delta(\text{C21C27C25})(10)$
1100	1100	1178	1108	$\nu(\text{C34C40})(11) + \text{twi}(\text{H9N8H10})(11)$
-	1148	1218	1145	$\delta(\text{C21C20C31})(17) + \delta(\text{C21C20C32})(15) + \delta(\text{C31C20C32})(10) + \delta(\text{C20C32H33})(10)$
-	-	1234	1160	$\delta(\text{C17C34H35})(10) + \text{wag}(\text{H41C40H42})(10)$
-	1191	1247	1172	$\nu(\text{N4C25})(10) + \nu(\text{N12C29})(10)$
-	1222	1303	1225	$\delta(\text{C18N12C29})(15) + \delta(\text{N12C29H30})(14) + \delta(\text{N4C25H26})(13)$
-	1257	1341	1260	$\nu(\text{O3C17})(16) + \nu(\text{N36C43})(11)$
1316	-	1381	1298	$\nu(\text{O3C17})(17) + \delta(\text{H35C34C40})(10)$
1326	1322	1415	1330	$\nu(\text{O3C17})(14) + \delta(\text{H35C34C40})(12) + \nu(\text{C17C34})(11)$
1348	-	1440	1353	$\nu(\text{N36C43})(20) + \text{wag}(\text{H41C40H42})(13) + \nu(\text{C40C43})(10)$
-	1366	1449	1362	<i>sci</i> (H41C40H42)(14)
1406	1401	1469	1381	$\delta(\text{C18C19C23})(13) + \delta(\text{N4C31C20C32})(13) + \delta(\text{C15C19C23})(12)$
1428	-	1505	1414	$\nu(\text{C15C19})(10) + \nu(\text{C20C32})(10) + \nu(\text{C18C31})(10)$
1435	1430	1532	1440	$\nu(\text{C13C23})(11) + \nu(\text{C21C27})(11) + \nu(\text{C19C15C32})(11)$
1450	1452	1543	1451	$\nu(\text{C21C27})(12) + \nu(\text{C13C23})(11)$
1456	1493	1576	1482	$\nu(\text{N12C18})(15) + \nu(\text{N4C31})(11)$
-	-	1611	1514	$\nu(\text{N4C31})(14) + \nu(\text{N12C18})(12)$
1520	1520	1625	1527	<i>sci</i> (H6O5H7)(30)
-	-	1626	1528	<i>sci</i> (H37N36H38)(30) + $\nu(\text{O39C43})(20) + \nu(\text{N36C43})(18)$
1587	1597	1644	1545	<i>sci</i> (H9N8H10)(29)
1609	1636	1739	1634	$\nu(\text{O11C17})(38) + \nu(\text{O39C43})(19)$
1626	1676	1747	1642	$\nu(\text{O39C43})(41) + \nu(\text{O11C17})(22) + \delta(\text{H37N36C43})(14)$
2896	2855	3059	2875	$\nu_s(\text{C40H}_2)(71) + \nu(\text{C34H35})(19)$
2920	-	3076	2892	$\nu(\text{C34H35})(56) + \nu_s(\text{C40H}_2)(29)$
2946	2929	3125	2937	$\nu_{\text{as}}(\text{C40H}_2)(88)$
2986	-	3216	3023	$\nu(\text{C23H24})(25) + \nu(\text{C21H22})(16) + \nu(\text{C13H14})(13)$
3009	3000	3217	3024	$\nu(\text{C21H22})(26) + \nu(\text{C23H24})(17) + \nu(\text{C27H28})(14)$
-	-	3226	3033	$\nu(\text{C15H16})(34) + \nu(\text{C32H33})(26)$
-	-	3231	3037	$\nu(\text{C13H14})(33) + \nu(\text{C23H24})(20) + \nu(\text{C29H30})(20)$

3039	-	3232	3038	$v(\text{C27H28})(33) + v(\text{C21H22})(20) + v(\text{C25H26})(17)$
3054	-	3236	3041	$v(\text{C32H33})(30) + v(\text{C15H16})(22)$
3073	-	3246	3051	$v(\text{C29H30})(26) + v(\text{C25H26})(16) + v(\text{C13H14})(13)$
3087	3067	3247	3052	$v(\text{C25H26})(28) + v(\text{C29H30})(17) + v(\text{C27H28})(12)$
3255	3233	3464	3256	$v_s(\text{N8H}_2)(94)$
3351	3352	3550	3337	$v_{as}(\text{N8H}_2)(89)$
-	3449	3620	3403	$v_s(\text{N36H}_2)(98)$
3502	3552	3752	3527	$v_{as}(\text{N36H}_2)(98)$
3600	3637	3848	3617	$v_s(\text{O5H}_2)(97)$
-	3700	3944	3707	$v_{as}(\text{O5H}_2)(95)$

*Valores iguais ou superiores a 10%

Nomenclatura: τ = torção; δ = deformação; γ = deformação fora do plano, *sci* = *scissoring*, *roc* = *rocking*, *wag* = *wagging*, *twi* = *twisting*, v = estiramento; v_{as} = estiramento antisimétrico; v_s = estiramento simétrico.

4.3. Análise térmica por TGA e DSC

As curvas TGA e DSC do complexo Cu(Fen)(Met) no intervalo de 305–1170 K são mostradas na Figura 36. Cinco etapas distintas de perda de massa foram detectadas, sendo o composto termicamente estável até 340 K. De acordo com a curva TGA, há uma perda de massa no intervalo 340 - 428 K que corresponde à massa molar da água presente no material e, portanto, foi atribuída à perda gradual de uma molécula e meia de água de hidratação e uma molécula de água de coordenação (exper. 43 g/mol, calc. 45 g/mol). A perda de massa desta primeira fase de decomposição corresponde a 9,10% (3,20 mg). Esta decomposição é acompanhada por um evento exotérmico na curva DSC em torno de 400 K. A segunda perda de massa de 6,29% (2,21 mg) de 428 a 456 K corresponde à massa molar do átomo de cloro (exper. 30 g/mol, calc. 35 g/mol) e é confirmada pelo evento endotérmico na curva DSC a 440 K.

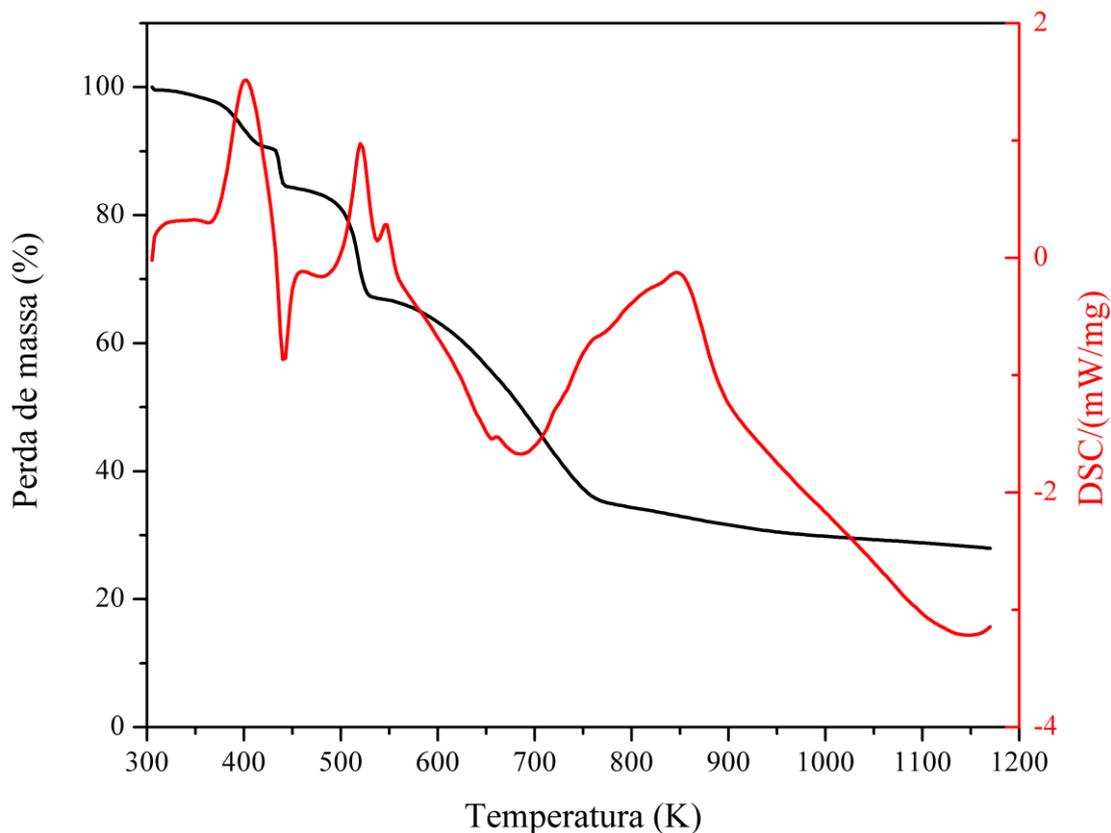


Figura 36. Curvas TGA e DSC do complexo Cu(Fen)(Met).

A parte orgânica dos complexos pode se decompor em uma ou mais etapas de acordo com Zhong 2014 [224]. A curva TGA mostra que a decomposição térmica de ligantes como fenantrolina e metionina ocorre em duas etapas consecutivas, entre 456 - 531 K e 531 - 762 K com perda de massa total referente aos dois estágios de 48,19%. Os eventos na curva DSC correspondentes a essas perdas são encontradas em 520 e 546 K. A última perda de massa de 17,2% na faixa de 762 - 1170 K é atribuída à formação de CuO [220,225,226], evento observado também na curva DSC em 844 K. O resíduo final é de 28,62% (10 mg), e o complexo é decomposto completamente em cerca de 1170 K.

Para o complexo Cu(Fen)(Asn), as medidas TGA e DSC também foram realizadas no intervalo de 305 - 1170 K, como mostrado na Figura 37. A curva TGA exibiu quatro etapas de decomposição térmica. A primeira perda de massa de 8,07% (2,62 mg) em torno de 400 - 461 K corresponde à perda gradual de moléculas de água do material (exper. 36 g/mol, calc. 36 g/mol). O complexo possui uma molécula de água de hidratação e uma molécula de água de coordenação, e a massa molar referente ao primeiro estágio de decomposição era exatamente igual à massa molar de duas moléculas de água. A curva DSC mostra esta desidratação em dois eventos exotérmicos em 393 e 446 K. A segunda

perda de massa de 8,04% (2,61 mg) no intervalo de 461 - 483 K corresponde à massa molar do átomo de cloro (exper. 35 g/mol, calc. 35 g/mol) e é confirmado pela curva DSC exotérmica a 481 K.

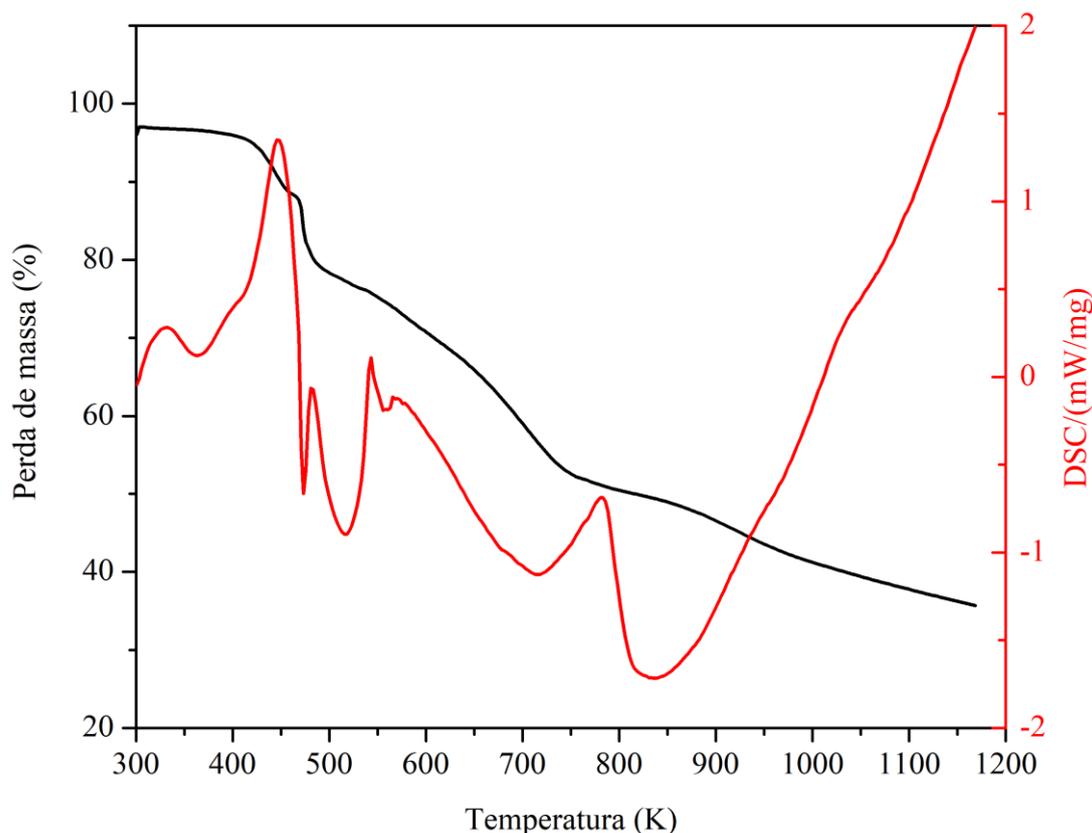


Figura 37. Curvas TGA e DSC do complexo Cu(Fen)(Asn).

Normalmente entre 373 - 773 K, muitas moléculas orgânicas comuns se quebram [223], como visto na curva TGA do cristal Cu(Fen)(Asn) que perdeu sua parte orgânica em 487 - 752 K. Weiss e colaboradores (2018) relataram que a quebra do aminoácido L-asparagina pura ocorre em uma única etapa de decomposição, um largo pico em 505 K, no qual os produtos de decomposição são mostrados na reação: $C_4H_8N_2O_3 \rightarrow H_2O + NH_3 + C_4H_3NO_2$ [227]. Wojciechowska et al (2019) relatou a decomposição do ligante fenantrolina em 593 K (TGA) e 563 K (DSC) [223]. De acordo com a Figura 37, a perda de massa total devido à decomposição de compostos orgânicos como os ligantes asparagina e fenantrolina foi de 27,14% (8,80 mg). As curvas DSC correspondentes a este estágio são encontradas em 542 e 569 K.

O último estágio observado na faixa de 752 - 1170 K com perda de massa de 16,76% (5,43 mg) é atribuído à pirólise de produtos carbonáceos como gases não

condensáveis e formação de CuO [220,225,226], com evento na curva DSC em aproximadamente 781 K e massa residual de 39,99% (12,96 mg). Motivados pelos resultados da análise térmica, realizamos difração de raios X em função da temperatura para caracterizar essa transformação de fase.

4.4. Análise estrutural em função da temperatura por DRX

A Figura 38 mostra os padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Met) com simetria ortorrômbica pertencente ao grupo espacial P21212, Z = 12, realizado sob vácuo na faixa de temperatura de 12 – 300 K. Para uma melhor visualização e análise mais detalhada do comportamento dos picos em função da temperatura é mostrado uma ampliação dos padrões de difração, sendo possível observar mudanças a partir da temperatura de 240 K devido ao início da transformação de fase.

Os padrões de difração analisados mostram um deslocamento para maiores ângulos (2θ) com a queda de temperatura, indicando a contração da célula unitária em todas as direções. Isso é esperado devido aos efeitos da baixa temperatura, embora não constitua um papel geral entre os cristais de aminoácidos [228].

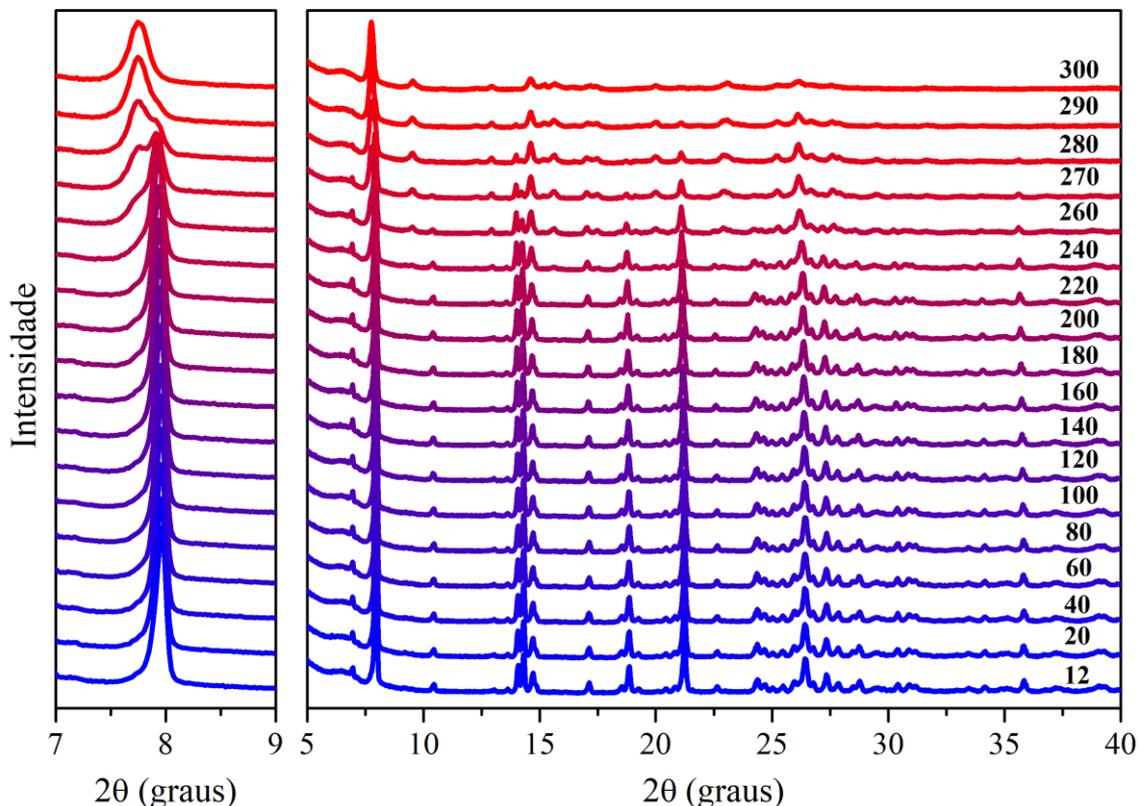


Figura 38. Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Met) no intervalo de temperatura de 12 - 300 K.

O comportamento dos parâmetros de rede (a , b , c) e volume da célula unitária foram analisados até a temperatura de 240 K, temperatura na qual se inicia a transformação de fase. A variação é dada por: $\Delta a = 0,117 \text{ \AA}$, $\Delta b = 0,1217 \text{ \AA}$, $\Delta c = 0,0753 \text{ \AA}$ e $\Delta V = 101,5 \text{ \AA}^3$. O comportamento dos parâmetros de rede são mostrados na Figura 39.

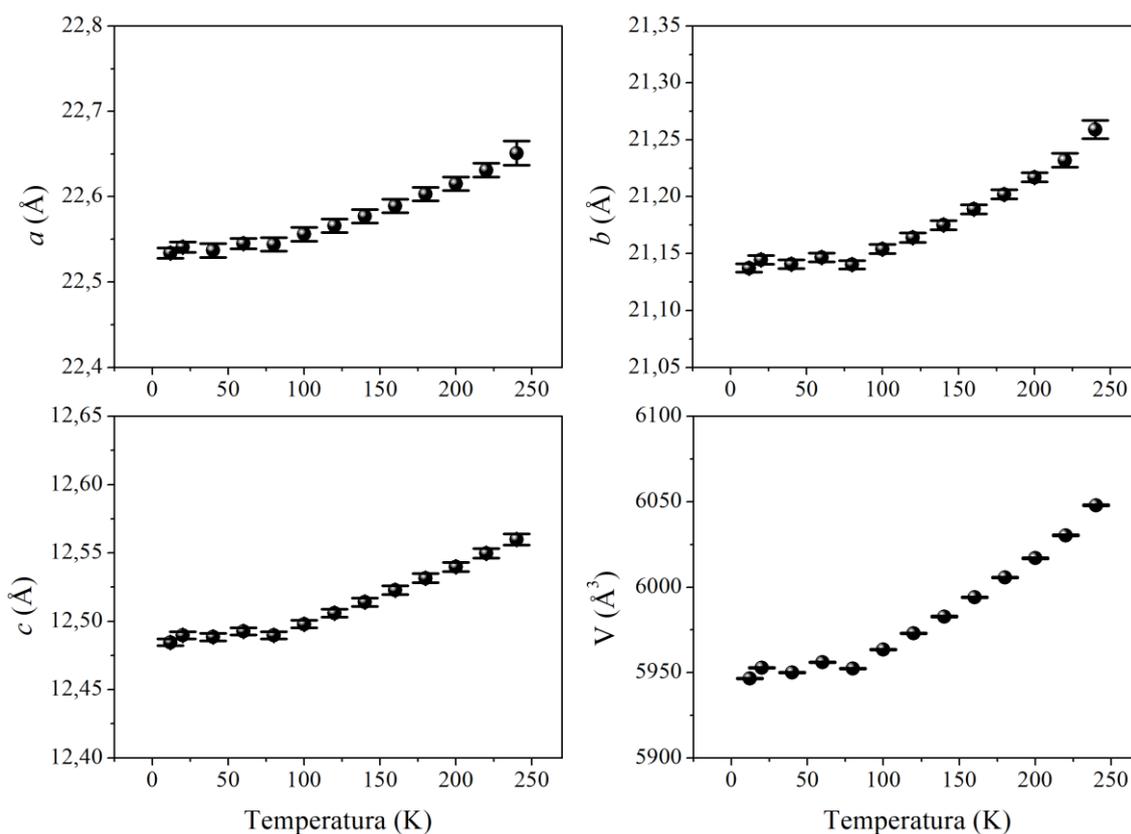


Figura 39. Comportamento dos parâmetros de rede (a , b , c) e volume da célula unitária do complexo Cu(Fen)(Met) em baixas temperaturas.

A Figura 40 (a) mostra medidas do material a 300 K em diferentes condições de ambiente. A medida realizada em atmosfera de ar mostra o material na fase cristalina inicial. Quando o material é medido sob vácuo (10^{-5} mbar), ocorre a transformação de fase, que tem seu padrão comparado ao da temperatura de 240 K no qual é observado a transformação de fase (Figura 40 (b)). Esse comportamento mostra que as mudanças no padrão de difração são devido a saída da água de hidratação do complexo, conseqüentemente facilitada pelo vácuo utilizado na medida. A medida a 300K em atmosfera de ar foi realizada após 60h da retirada do vácuo e mostrou o retorno de picos da fase inicial, mas sem o retorno completo da água ao cristal. Por isso, posteriormente,

a amostra foi umedecida para facilitar a absorção da água e conseqüentemente retornar ao padrão de difração inicial, mostrando que o material é higroscópico.

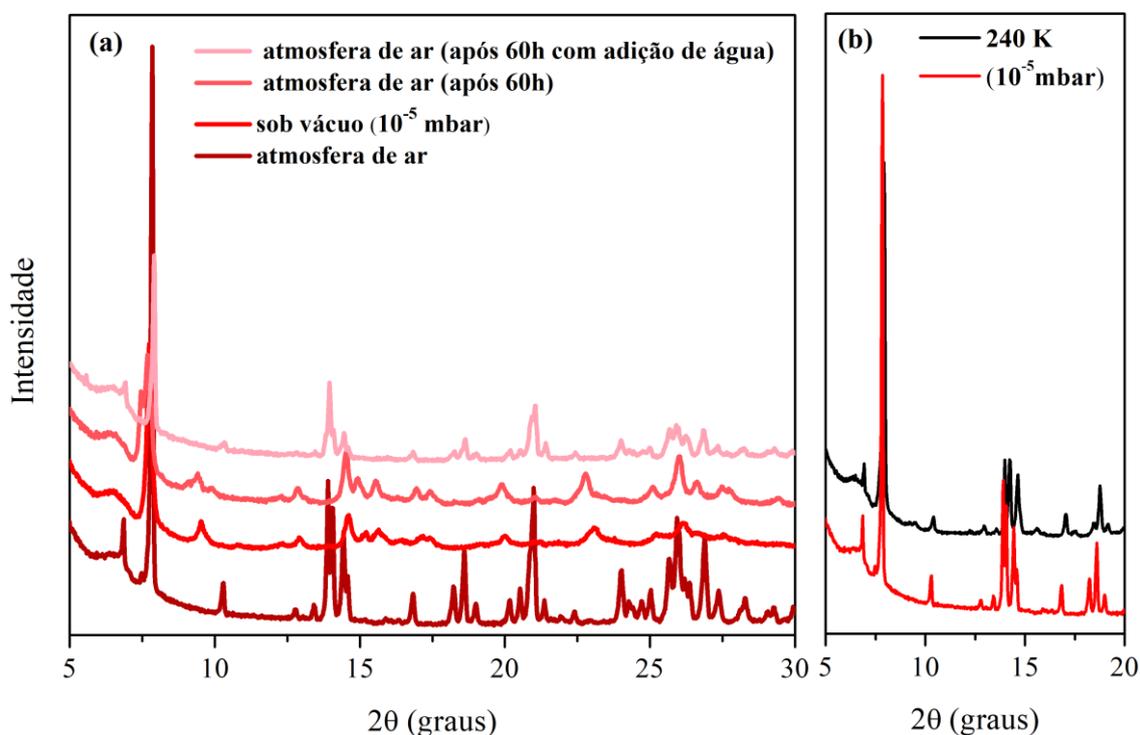


Figura 40. (a) Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Met) em diferentes condições de ambiente na temperatura de 300 K (b) a comparação da medida sob vácuo com a medida na temperatura de 240 K.

A Figura 41 mostra os padrões DRX em alta temperatura do complexo Cu(Fen)(Met) na faixa de 300 - 460 K. Os resultados mostraram que a partir de 345 K o complexo apresentou mudanças no comportamento dos picos, como deslocamento, alargamento e diminuição nas intensidades. Essas mudanças mostram que a 345 K o material inicia uma transformação de fase, porém ainda apresenta picos da fase original. A uma temperatura de 405 K o padrão de difração completa a transformação. A partir de 420 K é possível observar que o material já apresenta um perfil de difração semelhante a de um material amorfo, o que no entanto, não o impossibilitou de voltar a cristalizar na temperatura de 435 K. Essas mudanças são confirmadas pela primeira perda de massa observada na curva TGA devido à perda de água no material.

O material apresenta estrutura [Cu(Fen)(L-metionina)H₂O]Cl·1.5H₂O em uma curta faixa de temperatura (300 - 330 K), por isso não foi possível mostrar os gráficos dos parâmetros de rede em função da temperatura.

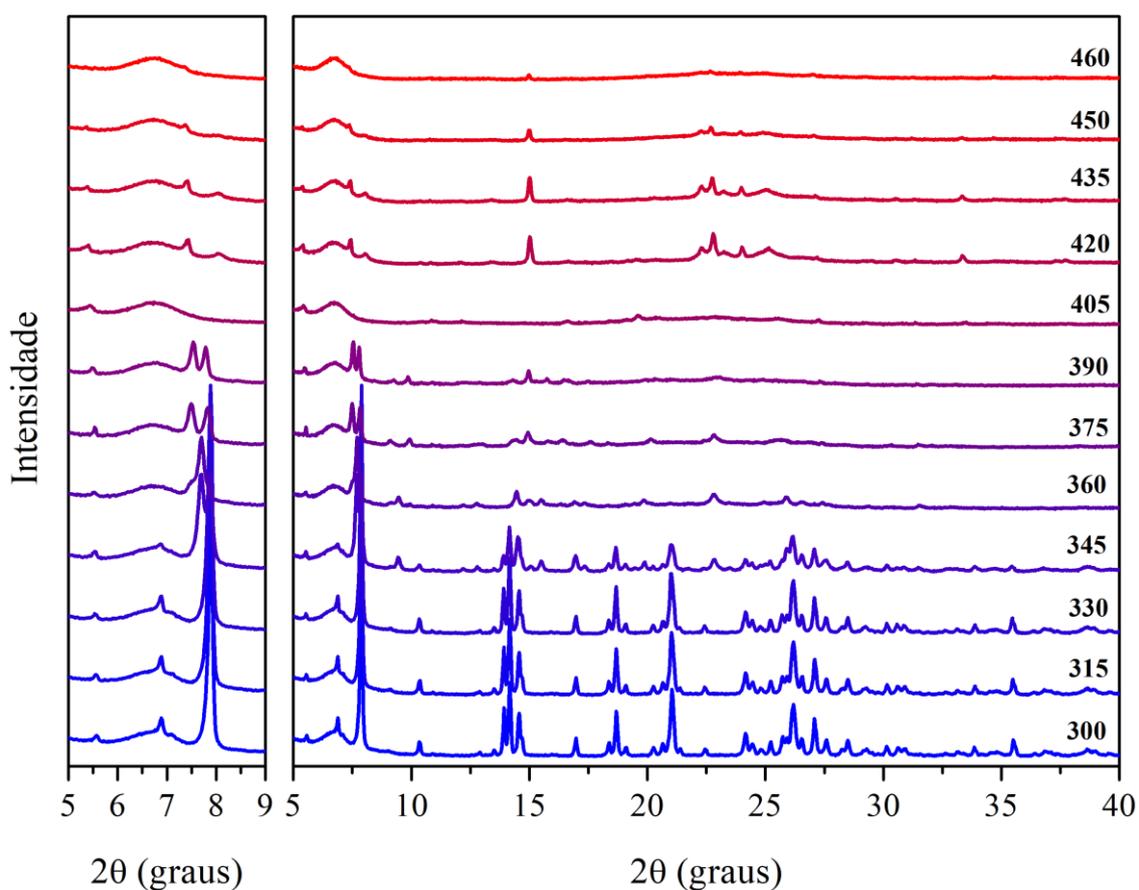


Figura 41. Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Met) no intervalo de temperatura de 300 a 460 K.

As medidas em função da temperatura também foram realizadas para o complexo Cu(Fen)(Asn). Em baixa temperatura foram realizadas medidas sob vácuo na faixa de 12 - 300 K. A Figura 42 mostra os padrões e uma ampliação para uma melhor visualização do comportamento de alguns picos em função da temperatura. Observamos que o comportamento de vários picos muda em torno de 280 K. Por exemplo, é possível ver o comportamento das reflexões $(0\bar{1}1)$ e (011) que perdem intensidade com o aumento da temperatura, e o aparecimento de dois novos picos aproximadamente em $12,42^\circ$ e $14,50^\circ$ (2θ), indicando o início da transformação de fase.

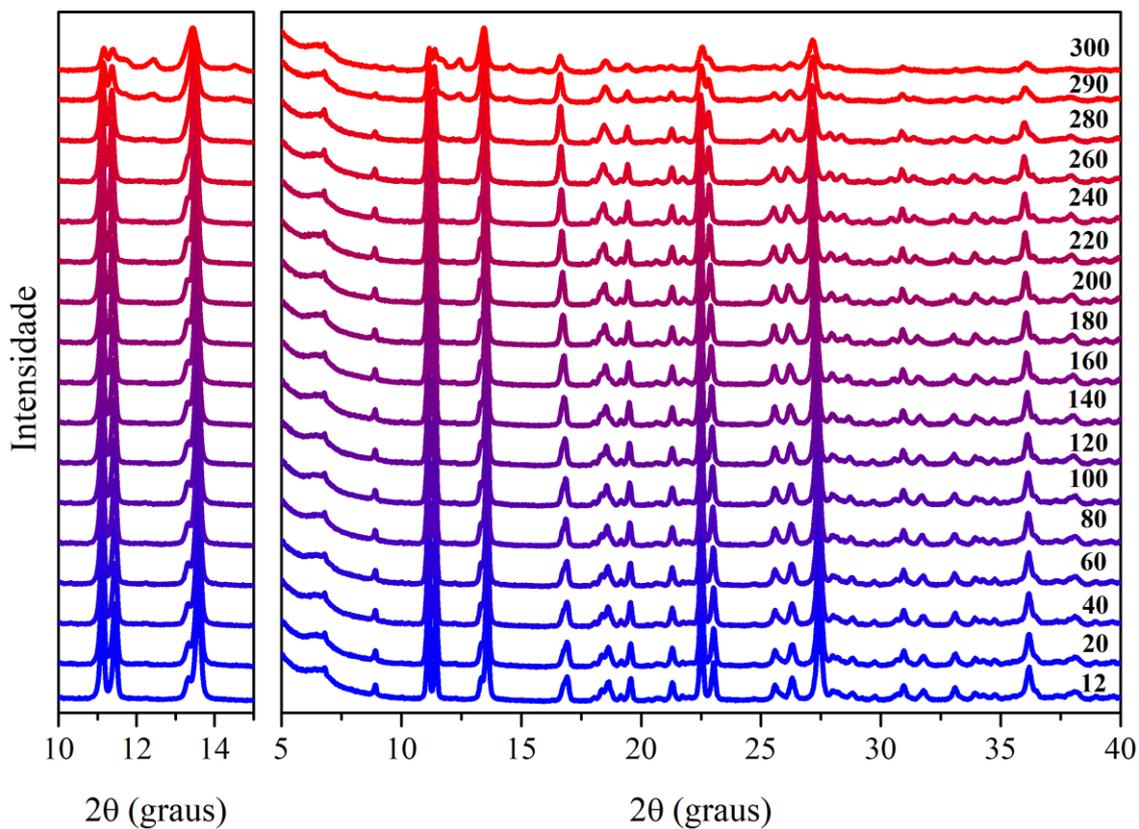


Figura 42. Padrões DRX do complexo Cu(Fen)(Asn) no intervalo de temperatura de 12 a 300 K.

O comportamento dos parâmetros de rede são mostrados até a temperatura de início da transformação de fase (280 K), na Figura 43. O parâmetro c foi o que obteve a maior variação ($\Delta c = 0,1646 \text{ \AA}$), seguido por a ($\Delta a = 0,0467 \text{ \AA}$), e b ($\Delta b = 0,0428 \text{ \AA}$), enquanto a variação no volume da célula unitária foi $\Delta V = 16,42 \text{ \AA}^3$.

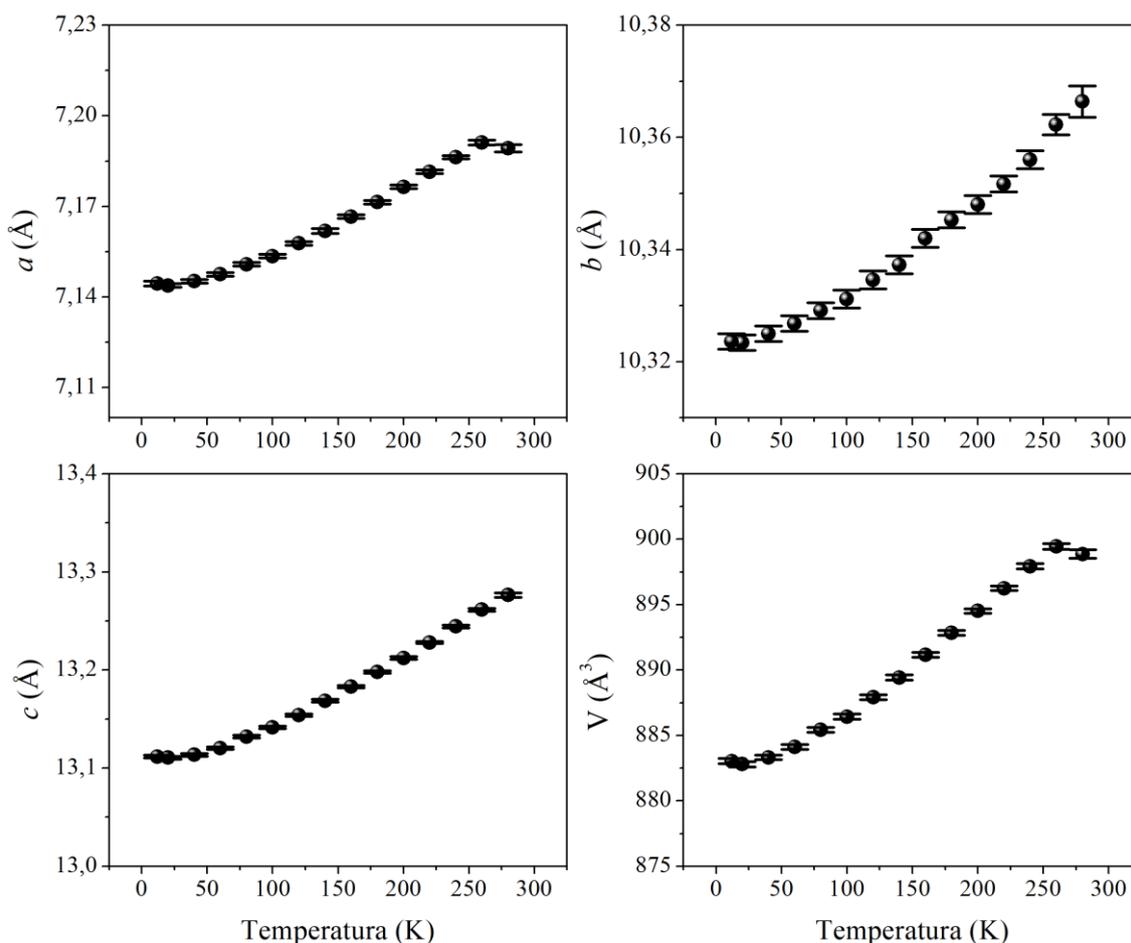


Figura 43. Comportamento dos parâmetros de rede (a , b , c) e volume da célula unitária do complexo Cu(Fen)(Asn) em baixas temperaturas.

Entre os parâmetros α , β e γ , o parâmetro β apresentou a maior variação ($\Delta\beta = 1,064^\circ$), seguido por γ ($\Delta\gamma = 0,178^\circ$) e α ($\Delta\alpha = 0,108^\circ$), como visto na Figura 44. É possível observar que os parâmetros de rede (a , b , c), volume da célula unitária, e parâmetros térmicos (α e γ) aumentam com a temperatura e este é um comportamento comum, visto que uma expansão térmica é esperada com o aumento da temperatura. Porém, o parâmetro β diminui com a temperatura apresentando expansão térmica negativa, que pode ocorrer quando as moléculas experimentam movimentos do tipo *hinge* ou *scissor*, além de suas vibrações transversais usuais [229]. Entre os parâmetros, o parâmetro gama mostrou maior sensibilidade à transformação de fase, apresentando uma descontinuidade já a partir da temperatura de 240 K.

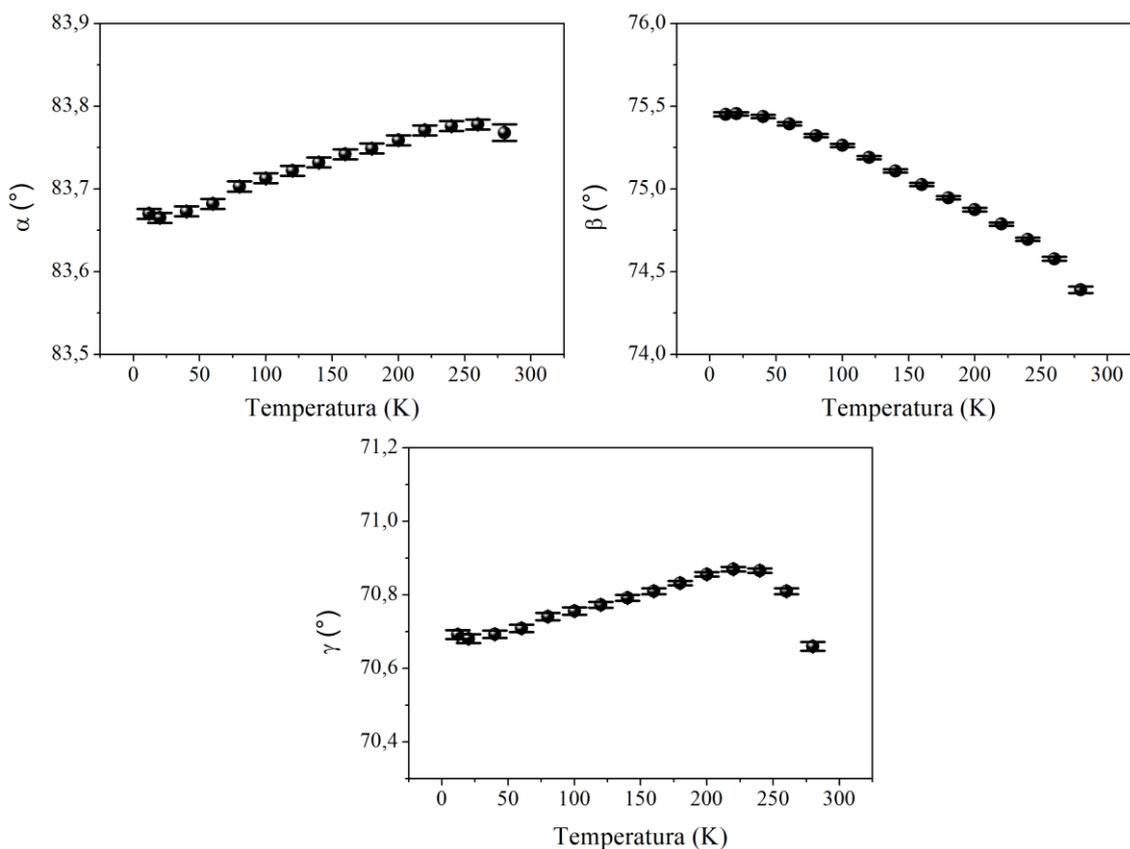


Figura 44. Comportamento dos parâmetros (α, β, γ) do complexo Cu(Fen)(Asn) em baixas temperaturas.

A Figura 45 (a) mostra medidas do material a 300 K sob condições de vácuo e em atmosfera de ar, afim de comprovar a influencia do vácuo na saída da água do material, promovendo sua transformação de fase, como comparado na Figura 45 (b). Após 24h da retirada do vácuo (10^{-5} mbar), a amostra voltou a apresentar o padrão de difração inicial, estrutura triclinica, grupo espacial $P-1$, $Z = 2$, pois conseguiu absorver água nesse intervalo de tempo, tratando-se de um material higroscópico.

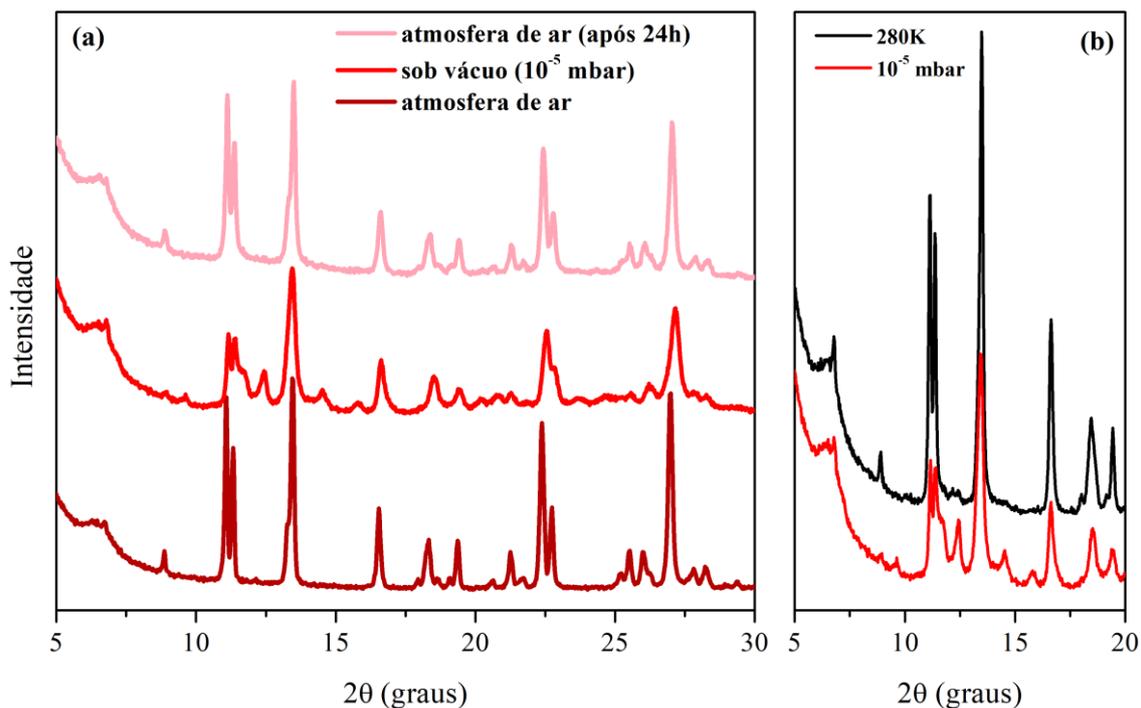


Figura 45. (a) Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Asn) em diferentes condições de ambiente na temperatura de 300 K (b) comparação da medida sob vácuo com a medida na temperatura de 280 K.

As medidas de alta temperatura em atmosfera de ar foram realizadas em várias temperaturas no intervalo de 300 - 480 K, e os padrões são mostrados na Figura 46. Os padrões obtidos entre 300 e 390 K exibem apenas a estrutura triclinica [Cu(Fen)(L-asparagina)H₂OCl]H₂O, grupo espacial *P*-1, *Z* = 2. Os resultados de DRX confirmam que a partir da temperatura de 405 K o cristal sofre uma transformação de fase apresentando características de um material amorfo. A temperatura de transformação de fase mostrada nos resultados de DRX em função da temperatura está de acordo com a primeira etapa de perda de massa identificada na medida de TGA.

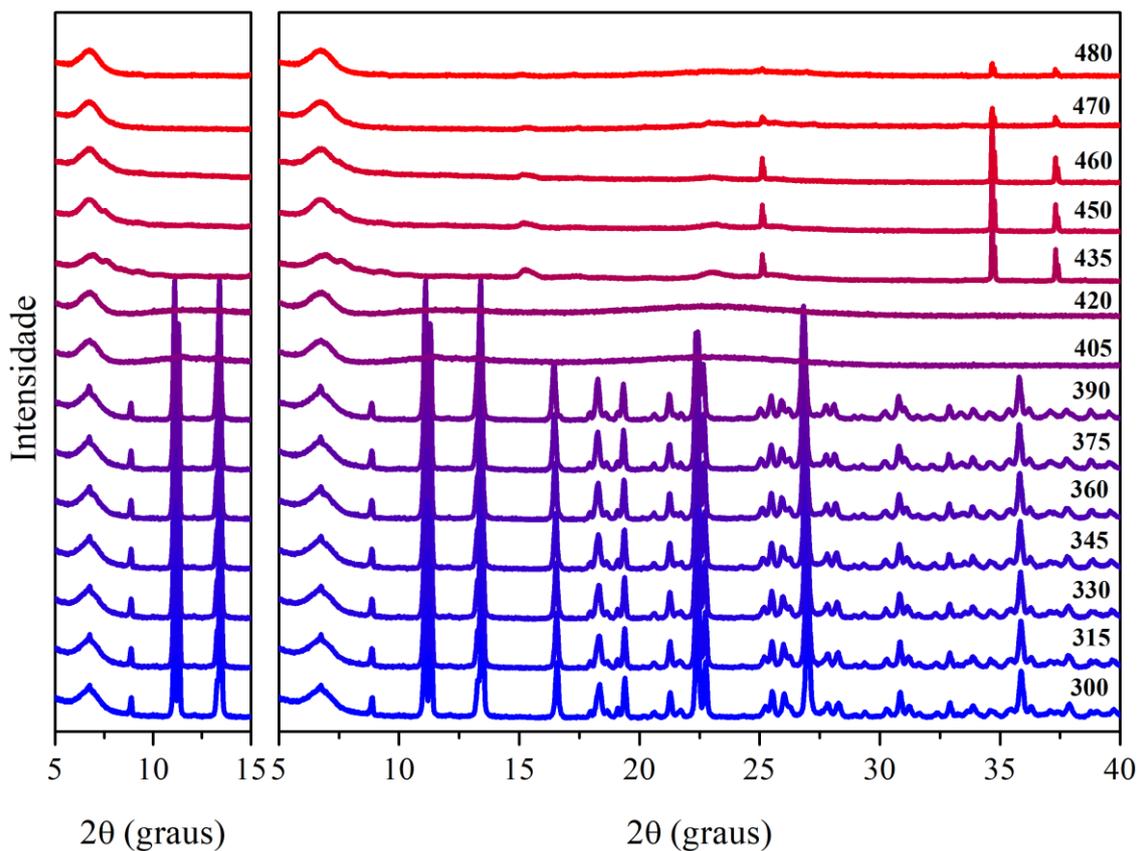


Figura 46. Padrões de difração do complexo Cu(Fen)(Asn) no intervalo de temperatura de 300 - 480 K.

A Figura 47 e 48 mostra o comportamento dos parâmetros em função da temperatura obtidos no Refinamento Rietveld. Esses dados confirmam que a estrutura cristalina é estável até 390 K, onde os parâmetros de rede (a , b , c), o volume e α aumentam, enquanto β e γ apresentam comportamento contrário. O β diminui com o aumento da temperatura, apresentando comportamento semelhante ao resultado em baixas temperaturas, e γ começa já começa a diminuir a partir da temperatura de 360 K, novamente mostrando que é mais sensível do que os outros parâmetros para a transformação de fase.

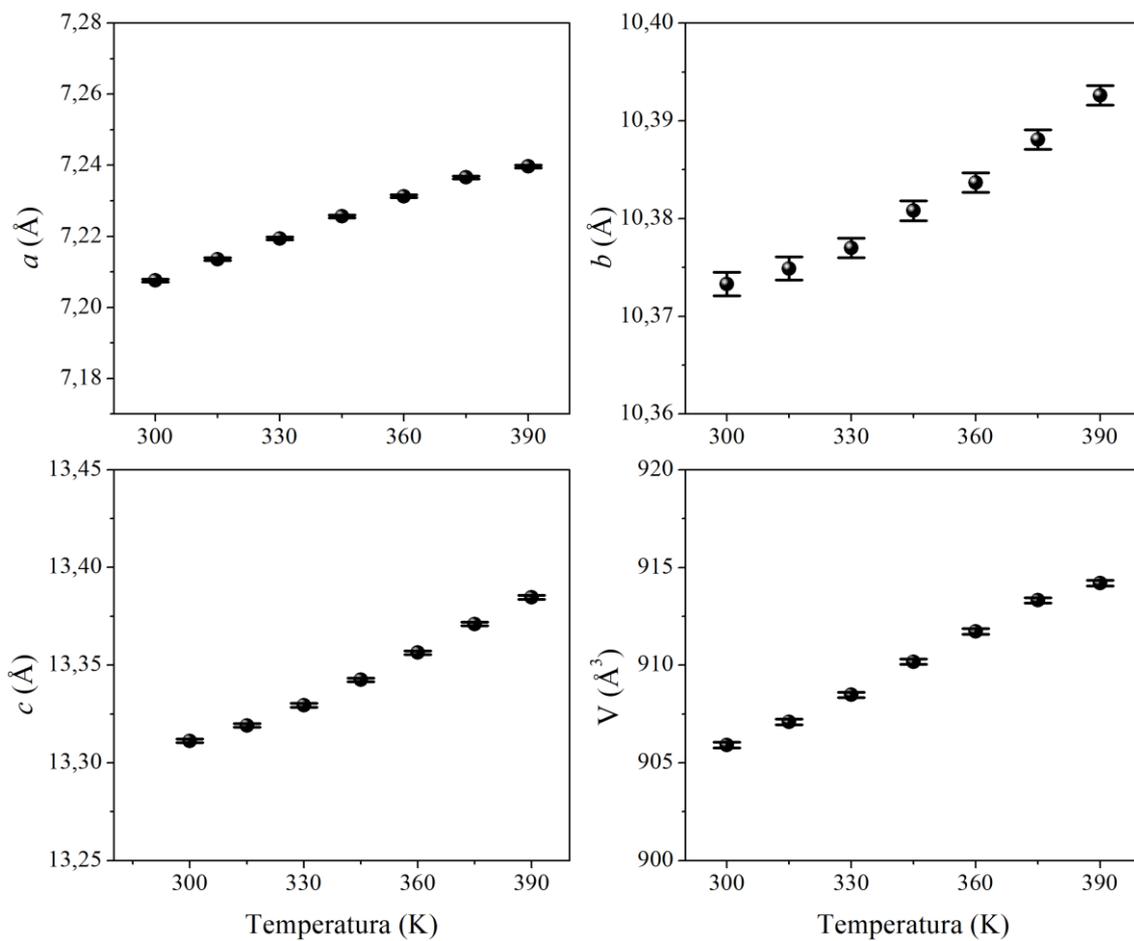


Figura 47. Comportamento dos parâmetros (a , b , c) e volume da célula unitária do complexo Cu(Fen)(Asn) em altas temperaturas.

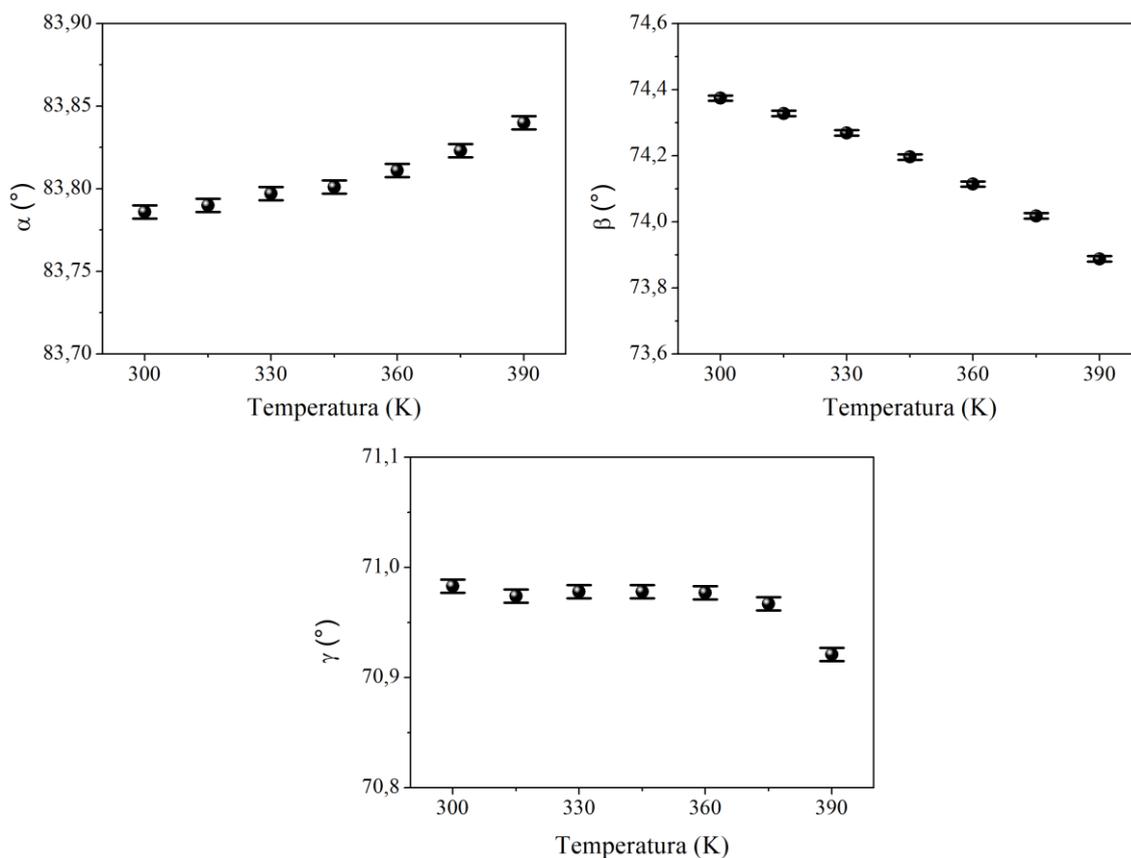


Figura 48. Comportamento dos parâmetros (α, β, γ) do complexo Cu(Fen)(Asn) em altas temperaturas.

É possível observar que entre os parâmetros de rede, o parâmetro c apresentou maior taxa de variação ($\Delta c = 0,0734 \text{ \AA}$), seguido por a ($\Delta a = 0,0321 \text{ \AA}$) e b ($\Delta b = 0,0193 \text{ \AA}$), e uma variação no volume da célula unitária de $\Delta V = 8,29 \text{ \AA}^3$. Entre os parâmetros α , β e γ , o parâmetro β apresentou maior taxa de variação ($\Delta\beta = 0,486^\circ$), seguido por α ($\Delta\alpha = 0,054^\circ$) e γ ($\Delta\gamma = 0,016^\circ$).

5. Resultados biológicos

5.1. Testes citotóxicos

O fato de os complexos de cobre serem capazes de interagir e clivar a molécula de DNA nos levou a estudar sua citotoxicidade em células. Assim, o ensaio MTT foi realizado para avaliar a influência dos complexos de cobre na viabilidade celular de DU-145, PC3, MDA-MB-231, MCF7 e MV3. O ensaio MTT é uma análise indireta de sobrevivência celular com base na atividade mitocondrial [230].

Com exceção da concentração de $1 \mu\text{g/mL}$, os resultados mostraram que os complexos Cu(Fen)(Met) e Cu(Fen)(Asn) foram eficientes por apresentarem mais de 60%

de inibição celular nas diferentes concentrações testadas, sendo capazes de inibir a proliferação de DU-145 (câncer de próstata independente de andrógeno), PC3 (câncer de próstata metastático independente de andrógeno), MDA-MB-231 (câncer de mama triplo negativo), MCF7 (câncer de mama dependente de hormônio) e MV3 (melanoma).

Os efeitos de citotoxicidade dos complexos Cu(Fen)(Met) e Cu(Fen)(Asn) nas células de câncer de próstata podem ser visto na Figura 49. Em 10 µg/mL, os complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) inibiram a proliferação das células DU-145 e PC3 em 71% e 64%, respectivamente. Para as linhagens de câncer de próstata, em 50 µg/mL, a inibição dos complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) chega a 80%. Os resultados são muito semelhantes para a concentração de 100 µg/mL.

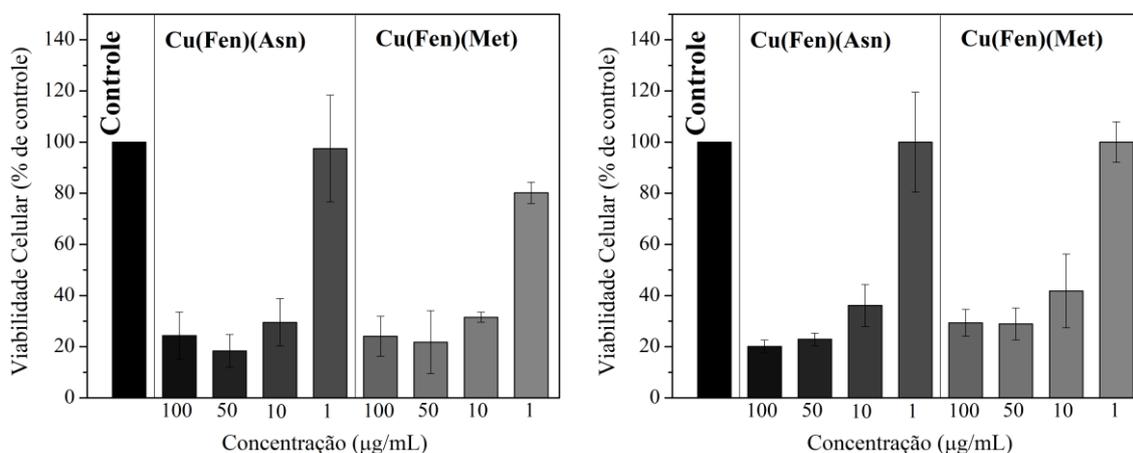


Figura 49. Citotoxicidade dependente da dose dos complexos ao longo de um período de 24 horas em células DU 145 (esquerda) e PC3 (direita) utilizando o ensaio MTT.

A Figura 50 mostra o gráfico de viabilidade celular para as linhagens de células de câncer de mama MCF7 e MDA-MB-231. Para as células MCF7, os complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) apresentaram efeitos inibidores muito bons de proliferação celular, reduzindo a viabilidade celular significativamente, chegando a inibir cerca de 85% das células na concentração de 50 µg/mL e mais de 90% na concentração de 100 µg/mL. Na concentração mais baixa de 10 µg/mL, a proliferação das células MCF7 teve uma inibição pelos complexos de aproximadamente 65%.

Os complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) apresentaram efeitos semelhantes nas células MDA-MB-231 nas concentrações de 10, 50 e 100 µg/mL. A inibição nas concentrações de 10 e 50 µg/mL foram próximas de 70%, enquanto na concentração de

100 µg/mL o resultado foi semelhante ao obtido nas linhagens de câncer de próstata (DU-145 e PC3), chegando a inibir cerca de 80% das células.

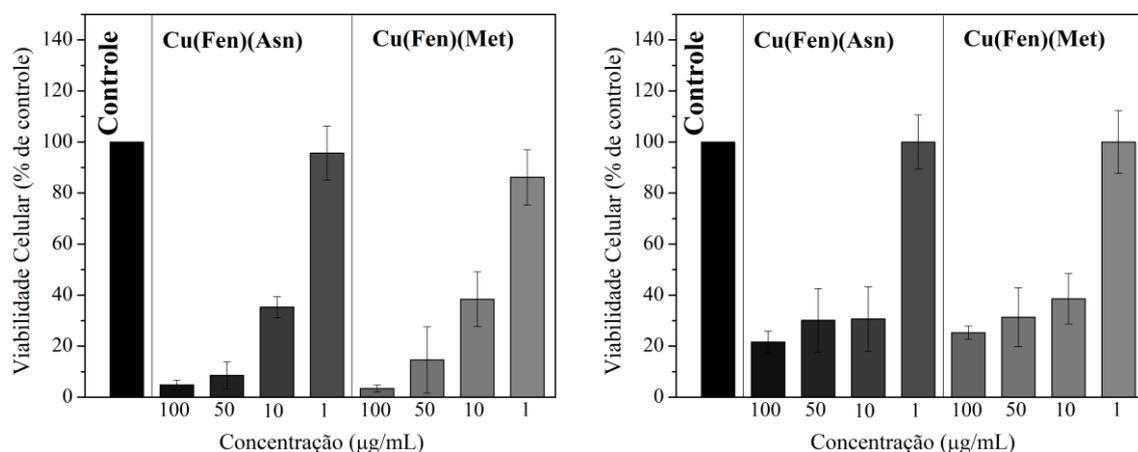


Figura 50. Citotoxicidade dependente da dose dos complexos ao longo de um período de 24 horas em células MCF7 (esquerda) e MDA-MB-231 (direita) utilizando o ensaio MTT.

Nas células MV3, o efeito inibidor mais potente de ambos os complexos foi observado a partir da concentração de 50 µg/mL, no qual os complexos reduziram totalmente a viabilidade das células de melanoma, ou seja, conseguiram uma inibição de 100%, como podem ser vistos na Figura 51. Essas características geralmente indicam o alto potencial dos complexos como candidatos a fotossensibilizadores em terapia fotodinâmica [231,232].

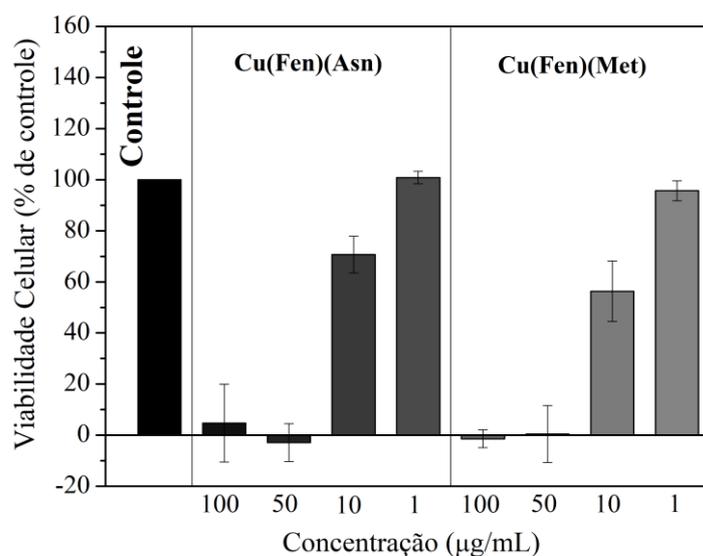


Figura 51. Citotoxicidade dependente da dose dos complexos ao longo de um período de 24 horas em células MV3 utilizando o ensaio MTT.

A partir dos resultados de citotoxicidade, foram calculados os valores de IC₅₀ dos complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) para as linhagens estudadas. Como pode ser visto na Tabela 7, os complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) apresentam baixos valores de IC₅₀. Por sua vez, apesar dos complexos apresentarem nas maiores concentrações, altos poderes inibitórios na proliferação celular da linhagem MV3, em baixas concentrações o seu efeito foi insignificante, resultando em altos valores de IC₅₀ quando comparado aos valores das linhagens de câncer de próstata e mama. Sendo a linhagem celular MDA-MB-231 aquela com os valores de IC₅₀ mais baixos.

Tabela 7. Valores de IC₅₀ em µg/mL usando a metodologia MTT em 24 horas para as linhagens celulares DU-145, PC3, MDA-MB-231, MCF7 e MV3.

Linhagens de células de câncer	Cu(Fen)(Asn)	Cu(Fen)(Met)
DU-145	7,0	7,4
PC3	5,7	7,4
MDA-MB-231	4,7	5,2
MCF7	7,1	7,9
MV3	11,1	11,6

O cobre é um metal essencial que realiza a maturação das cuproenzimas e atua na proliferação e angiogênese celular [233–238]. Recentemente, Zhang *et al.* [239] estabeleceram uma conexão entre o cobre e a inibição do proteassoma, bem como a proliferação e apoptose celular. É conhecido na literatura que para desenvolver um forte efeito sobre a proliferação celular, primeiro os complexos de cobre devem ser transportados para dentro das células. A entrega desses complexos nas células é dificultada por várias proteínas específicas e inespecíficas que evitam a entrada [150,237]. No entanto, uma vez que entram nas células, os complexos de cobre são capazes de induzir apoptose [240,241]. A presença de 1,10-fenantrolina desempenha um papel fundamental no transporte pois aumenta a adsorção/permeabilidade do complexo na membrana celular, aumentando a penetração [242–244].

5.2. Testes antibacterianos

Os valores da concentração inibitória mínima foram determinados para os complexos sintetizados e a droga padrão comercial Gentamicina, como mostrado na Tabela 8.

Tabela 8. Concentração Inibitória Mínima (MIC) dos complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) e da droga padrão Gentamicina ($\mu\text{g/mL}$) contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Espécies de bactérias	Cu(Fen)(Asn)	Cu(Fen)(Met)	Gentamicina
Bactérias Gram-positivas			
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	50	50	0,48
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	200	200	15,62
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC 496190)	100	100	31,25
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	50	50	0,24
Bactérias Gram-negativas			
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700603)	200	200	7,81
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	100	100	1,95
<i>Escherichia coli-ESBL</i> (ATCC 35218)	50	50	0,48
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	50	50	0,24

Os complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) mostraram atividade antibacteriana contra todas as cepas testadas, pois o maior valor de MIC encontrado foi de 200 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 8), e de acordo com a literatura [245] valores de MIC até 1000 $\mu\text{g/mL}$ possuem relevância do ponto de vista clínico. Entretanto, as mais baixas concentrações inibitórias foram observadas contra as cepas bacterianas *S. aureus* ATCC 25923, *S. mutans* ATCC 25175, *E. coli-ESBL* ATCC 35218 e *P. aeruginosa* ATCC 27853, com valores de 50 $\mu\text{g/mL}$.

Os valores de MIC determinados neste estudo para os complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) também comprovam maior eficiência antibacteriana quando comparados ao efeito dos ligantes livres, CuCl_2 e 1,10-fenantrolina, previamente determinados na literatura [245–247]. Como exemplo, para a bactéria *P. aeruginosa* ATCC 27853, a atividade dos complexos é consideravelmente melhor que a dos ligantes livres, nas mesmas condições, a concentração capaz de inibir a bactéria mencionada foi de 375 $\mu\text{g/mL}$ para cada ligante livre. Esses achados revelam que houve uma melhora na atividade antibacteriana devido à coordenação do cobre (II) com 1,10-fenantrolina e o aminoácido.

O aumento da atividade antimicrobiana dos complexos pode ser explicado com base na teoria da quelação de Tweedy, que propõe que a complexação aumenta a lipossolubilidade dos metais iônicos, sendo a lipossolubilidade um importante fator de controle da atividade antimicrobiana; e o conceito de Overtone que sugere uma maior permeabilidade celular para compostos lipossolúveis e um aumento da passagem pela membrana que envolve a célula. Tal complexação poderia potencializar o caráter lipofílico do átomo central, que posteriormente favorece sua permeação através das camadas lipídicas da membrana celular, o que inibe o crescimento de bactérias [245,248]. Neste contexto, os complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) assumem um perfil antibacteriano melhor que os ligantes livres.

A atividade antibacteriana dos complexos também foi analisada em comparação a um antibiótico comercial. Embora a atividade antibacteriana dos complexos Cu(Fen)(Asn) e Cu(Fen)(Met) seja mais branda do que o antibiótico comercialmente disponível Gentamicina, alguns fármacos já podem atuar sinergicamente com antibióticos comuns para potencializar sua atividade, como visto em Sharaf *et al.* [249]. Por exemplo, observando os resultados na Tabela 8 para a bactéria Gram-positiva *Streptococcus pneumoniae*, a concentração inibitória dos complexos foi apenas 3x maior comparada a Gentamicina. Assim, os complexos estudados nesse trabalho podem ser considerados como uma plataforma para a criação de potentes drogas antibacterianas.

6. Conclusões

Os complexos $[\text{Cu}(\text{Fen})(\text{L-Asparagina})\text{H}_2\text{O}\cdot\text{Cl}]\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Cu}(\text{Fen})(\text{L-Metionina})\text{H}_2\text{O}]\text{Cl}\cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ foram obtidos e tiveram suas propriedades estruturais, vibracionais e térmicas estudadas. O monocristal $[\text{Cu}(\text{Fen})(\text{L-Asparagina})\text{H}_2\text{O}\cdot\text{Cl}]\text{H}_2\text{O}$ teve sua estrutura resolvida pela primeira vez nesse trabalho usando a técnica de DRX em monocristal.

Os espectros Raman e FT-IR foram obtidos e os cálculos DFT desenvolvidos mostraram boa concordância com os números de onda experimentais permitindo a atribuição de todos os modos vibracionais dos complexos. A atribuição de cada modo normal foi feita com base no PED calculado e em dados disponíveis na literatura, principalmente de estudos anteriores de espectroscopia vibracional de outros complexos de cobre.

O estudo também forneceu uma descrição detalhada das propriedades térmicas dos complexos por meio de técnicas como TGA e DSC. Resultados de DRX em função da temperatura também permitiram analisar a estabilidade térmica dos materiais. Os complexos $\text{Cu}(\text{Fen})(\text{Met})$ e $\text{Cu}(\text{Fen})(\text{Asn})$ mostraram que mantêm sua estabilidade, respectivamente, até a temperatura de 340 e 400 K. Os resultados de DRX em baixa temperatura mostraram que os complexos sofrem mudanças em seus padrões de difração devido a influência da condição sob vácuo utilizada durante a realização das medidas que ocasiona a saída da água de hidratação dos complexos, e resulta por fim na transformação de fase.

Os dois complexos exibiram efeitos citotóxicos *in vitro* contra as linhagens celulares testadas. Analisando os gráficos de dose-resposta, a linhagem celular tumoral MV3 foi 100% inibida, seguida pela linhagem celular tumoral MCF7 com 90% de inibição, e demais linhagens testadas com inibição entre 70-80%. Para tanto, considerando os valores de IC_{50} , o melhor resultado foi para a linhagem tumoral MDA-MB-231, com valor de 4,7 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Os complexos estudados também demonstraram promissoras propriedades antibacterianas, mostrando ser um estudo inicial de possíveis potencializadores de antibióticos comerciais, que podem contribuir consideravelmente para aumentar o arsenal terapêutico disponível em erradicar bactérias resistentes.

7. Perspectivas

- Aprofundar o estudo térmico dos materiais por meio de medidas de Espectroscopia Raman em função da temperatura.
- Estudar a viabilidade celular dos complexos em células sadias.
- Aperfeiçoar resultados contra o câncer de melanoma, visando sintetizar um material de uso tópico que tenha na formulação os complexos estudados.
- Estudar a obtenção do antibiótico comercial Gentamicina potencializado com os complexos estudados para a erradicação da bactéria Gram-positiva *Streptococcus pneumoniae*.

Referências

- [1] S.D. Williams, R. Birch, L.H. Einhorn, L. Irwin, F.A. Greco, P.J. Loehrer., Treatment of disseminated germ-cell tumors with cisplatin, bleomycin, and either vinblastine or etoposide, *N Engl J Med.* 316 (2010) 1435–1440.
- [2] U. Studer, M. Bacchi, C. Biedermann, P. Jaeger, R. Kraft, L. Mazzucchelli, R. Markwalder, E. Senn, R.W. Sonntag, Adjuvant cisplatin chemotherapy following cystectomy for bladder cancer : results of a prospective randomized trial, 152 (1994) 81–84. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)32822-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)32822-7).
- [3] B.A. Pace, A. Savarese, M. Picardo, V. Maresca, U. Pacetti, G. Del Monte, A. Biroccio, C. Leonetti, B. Jandolo, F. Cognetti, L. Bove, Neuroprotective Effect of Vitamin E Supplementation in Patients Treated With Cisplatin Chemotherapy, *Journal of Clinical Oncology.* 21 (2015) 927–931. <https://doi.org/10.1200/JCO.2003.05.139>.
- [4] D.B. Ana-Maria Florea, Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects, *Cancers (Basel).* 3 (2011) 1351–1371. <https://doi.org/10.3390/cancers3011351>.
- [5] S. Ray, R. Mohan, J.K. Singh, M.K. Samantaray, M.M. Shaikh, D. Panda, P. Ghosh, Anticancer and antimicrobial metallopharmaceutical agents based on palladium, gold, and silver N-heterocyclic carbene complexes, *J Am Chem Soc.* 129 (2007) 15042–15053. <https://doi.org/10.1021/ja075889z>.
- [6] G. Valora, G. Munzi, R.P. Bonomo, Ternary copper (II) complexes with 1 , 10 - phenanthroline and various aminoacidates : A spectroscopic and voltammetric study in aqueous solution, *J Inorg Biochem.* 191 (2019) 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.10.012>.
- [7] J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. Dikshit, S. Eser, C. Mathers, M. Rebelo, D.M. Parkin, D. Forman, F. Bray, Cancer incidence and mortality worldwide : Sources , methods and major patterns in GLOBOCAN 2012, *Int J Cancer.* 136 (2015) E359–E386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>.
- [8] B. Domingues, J.M. Lopes, P. Soares, H. Pópulo, Melanoma treatment in review, *Immunotargets Ther.* 7 (2018) 35–49.
- [9] Colin B Seymour; Carmel Mothersill, Breast cancer causes and treatment : where are we going wrong ?, *Breast Cancer: Targets and Therapy.* 5 (2013) 111–119.

- [10] S. Rodney, T.T. Shah, M. Arya, Key papers in prostate cancer, *Expert Rev. Anticancer Ther.* 14 (2014) 1379–1384. <https://doi.org/10.1586/14737140.2014.974565>.
- [11] T. Ma, J. Xu, Y. Wang, H. Yu, Y. Yang, Y. Liu, W. Ding, W. Zhu, R. Chen, Z. Ge, Y. Tan, L. Jia, T. Zhu, Ternary copper(II) complexes with amino acid chains and heterocyclic bases: DNA binding, cytotoxic and cell apoptosis induction properties, *J Inorg Biochem.* 144 (2015) 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.12.011>.
- [12] C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, T. Sez, U. Camerino, S. Agostino, U. Padova, Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents, *Chem Rev.* 114 (2014) 815–862. <https://doi.org/10.1021/cr400135x>.
- [13] I. V Esarev, A. V Eremin, V. V Gurzhii, Synthesis , Crystal and Molecular Structure of the Copper (II) Aminate Complex with Methionine, *Russ J Gen Chem.* 87 (2017) 1887–1889. <https://doi.org/10.1134/S1070363217080412>.
- [14] P. Jaividhya, R. Dhivya, M.A. Akbarsha, M. Palaniandavar, Efficient DNA cleavage mediated by mononuclear mixed ligand copper(II) phenolate complexes: The role of co-ligand planarity on DNA binding and cleavage and anticancer activity, *J Inorg Biochem.* 114 (2012) 94–105. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.04.018>.
- [15] I. Correia, S. Roy, C.P. Matos, S. Borovic, N. Butenko, I. Cavaco, F. Marques, J. Lorenzo, A. Rodríguez, V. Moreno, J.C. Pessoa, Vanadium(IV) and copper(II) complexes of salicylaldimines and aromatic heterocycles: Cytotoxicity, DNA binding and DNA cleavage properties, *J Inorg Biochem.* 147 (2015) 134–146. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.02.021>.
- [16] N. Aston, N. Watt, I. Morton, M. Tanner, G. Evans, Copper toxicity affects proliferation and viability of human hepatoma cells (HepG2 line), *Hum Exp Toxicol.* 19 (2000) 367–376. <https://doi.org/10.1191/096032700678815963>.
- [17] C.A. Grillo, M.A. Reigosa, M.F. Lorenzo de Mele, Effects of copper ions released from metallic copper on CHO-K1 cells, *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 672 (2009) 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.09.012>.
- [18] T. Theophanides, J. Anastassopoulou, Copper and carcinogenesis, *Crit Rev Oncol Hematol.* 42 (2002) 57–64. [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(02\)00007-0](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(02)00007-0).
- [19] V.S. Narayanan, C.A. Fitch, C.W. Levenson, Tumor suppressor protein p53 mRNA and subcellular localization are altered by changes in cellular copper in

- human Hep G2 cells, *Journal of Nutrition*. 131 (2001) 1427–1432. <https://doi.org/10.1093/jn/131.5.1427>.
- [20] O.O.E. Onawumi, I.O. Adeoye, F.A.O. Adekunle, Synthesis, characterisation and microbial studies of [bis(1,10-phenanthroline) (ethylenediamine) copper(II)] diperchlorate and its bromide analogue, *Open J Inorg Chem*. 3 (2013) 26–33.
- [21] N.M. Urquiza, M.S. Islas, M.L. Dittler, M.A. Moyano, S.G. Manca, L. Lezama, T. Rojo, J.J.M. Medina, M. Diez, L.L. Tévez, P.A.M. Williams, E.G. Ferrer, Inhibition behavior on alkaline phosphatase activity, antibacterial and antioxidant activities of ternary methimazole-phenanthroline-copper(II) complex, *Inorganica Chim Acta*. 405 (2013) 243–251. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2013.05.022>.
- [22] M. Vincent, R.E. Duval, P. Hartemann, M. Engels-Deutsch, Contact killing and antimicrobial properties of copper, *J Appl Microbiol*. 124 (2018) 1032–1046. <https://doi.org/10.1111/jam.13681>.
- [23] K.Y. Djoko, C.L. Y. Ong, M.J. Walker, A.G. McEwan, The role of copper and zinc toxicity in innate immune defense against bacterial pathogens, *Journal of Biological Chemistry*. 290 (2015) 1854–1861. <https://doi.org/10.1074/jbc.R115.647099>.
- [24] T. Rosu, E. Pahontu, S. Pasculescu, R. Georgescu, N. Stanica, A. Curaj, A. Popescu, M. Leabu, Synthesis, characterization antibacterial and antiproliferative activity of novel Cu(II) and Pd(II) complexes with 2-hydroxy-8-R-tricyclo[7.3.1.0.2,7]tridecane-13-one thiosemicarbazone, *Eur J Med Chem*. 45 (2010) 1627–1634. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.015>.
- [25] A. Stănilă, C. Braicu, S. Stănilă, R.M. Pop, Antibacterial activity of copper and cobalt amino acids complexes, *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca*. 39 (2011) 124–129. <https://doi.org/10.15835/nbha3926847>.
- [26] G. Psomas, C.P. Raptopoulou, L. Iordanidis, C. Dendrinou-Samara, V. Tangoulis, D.P. Kessissoglou, Structurally diverse copper(II)-carboxylato complexes: Neutral and ionic mononuclear structures and a novel binuclear structure, *Inorg Chem*. 39 (2000) 3042–3048. <https://doi.org/10.1021/ic991476q>.
- [27] M. Barceló-Oliver, Á. García-Raso, Á. Terrón, E. Molins, M.J. Prieto, V. Moreno, J. Martínez-Serra, V. Lladó, I. López, A. Gutiérrez, P. V. Escribá, Ternary copper(II) complexes with hippurate derivatives and 1,10-phenanthroline: Synthesis and biological activity, *Inorganica Chim Acta*. 362 (2009) 4744–4753. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2009.06.042>.

- [28] M. Barceló-Oliver, Á. García-Raso, Á. Terrón, E. Molins, M.J. Prieto, V. Moreno, J. Martínez, V. Lladó, I. López, A. Gutiérrez, P. V. Escribá, Synthesis and mass spectroscopy kinetics of a novel ternary copper(II) complex with cytotoxic activity against cancer cells, *J Inorg Biochem.* 101 (2007) 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.12.008>.
- [29] K.M. Vyas, R.N. Jadeja, D. Patel, R. V Devkar, V.K. Gupta, A new pyrazolone based ternary Cu(II) complex : Synthesis, characterization , crystal structure, DNA binding , protein binding and anti-cancer activity towards A549 human lung carcinoma cells with a minimum cytotoxicity to non- cancerous cells, *Polyhedron.* (2013) 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2013.08.051>.
- [30] P.P. Silva, W. Guerra, G. Coelho, N.G. Fernandes, J.N. Silveira, M. Ana, C. Ferreira, T. Bortolotto, H. Terenzi, A. João, A. Neves, E.C. Pereira-maia, Correlation between DNA interactions and cytotoxic activity of four new ternary compounds of copper (II) with N-donor heterocyclic ligands, *J Inorg Biochem.* 132 (2014) 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.014>.
- [31] P.R. Chetana, R. Rao, S. Saha, R.S. Policegoudra, P. Vijayan, M.S. Aradhya, Oxidative DNA cleavage , cytotoxicity and antimicrobial studies of L -ornithine copper (II) complexes, *Polyhedron.* 48 (2012) 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2012.08.081>.
- [32] A. Barve, A. Kumbhar, M. Bhat, B. Joshi, R. Butcher, U. Sonawane, A. Computing, Mixed-Ligand Copper (II) Maltolate Complexes : Synthesis , Characterization , DNA Binding and Cleavage , and Cytotoxicity, *Inorg. Chem.* 48 (2009) 9120–9132. <https://doi.org/10.1021/ic9004642>.
- [33] D.S. Sigman, A. Mazumder, D.M. Perrin, Chemical Nucleases, *Chem Rev.* 93 (1993) 2295–2316. <https://doi.org/10.1021/cr00022a011>.
- [34] D.S. Sigman, D.R. Graham, V. D'Aurora, A.M. Stern, Oxygen-dependent Cleavage of DNA by the 1,10-Phenanthroline . Cuprous Complex, *Journal of Biological Chemistry.* 254 (1979) 12269–12272.
- [35] R. Ren, P. Yang, W. Zheng, Z. Hua, A simple Copper(II)-L-histidine system for efficient hydrolytic cleavage of DNA, *Inorg Chem.* 39 (2000) 5454–5463. <https://doi.org/10.1021/ic0000146>.
- [36] I. Gracia-Mora, L. Ruiz-Ramírez, C. Gómez-Ruiz, M. Tinoco-Méndez, A. Márquez-Quñones, L.R. De Lira, Á. Marín-Hernández, L. Macías-Rosales, M.E. Bravo-Gómez, Knight's move in the periodic table, from copper to platinum, novel

- antitumor mixed chelate copper compounds, casiopeínas, evaluated by an in vitro human and murine cancer cell line panel, *Met Based Drugs*. 8 (2001) 19–28. <https://doi.org/10.1155/MBD.2001.19>.
- [37] S. Zhang, Y. Zhu, C. Tu, H. Wei, Z. Yang, L. Lin, J. Ding, J. Zhang, Z. Guo, A novel cytotoxic ternary copper(II) complex of 1,10-phenanthroline and l-threonine with DNA nuclease activity, *J Inorg Biochem*. 98 (2004) 2099–2106. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2004.09.014>.
- [38] S.M.G. Leite, L.M.P. Lima, S. Gama, F. Mendes, M. Orio, I. Bento, A. Paulo, R. Delgado, O. Iranzo, Copper(II) complexes of phenanthroline and histidine containing ligands: Synthesis, characterization and evaluation of their DNA cleavage and cytotoxic activity, *Inorg Chem*. 55 (2016) 11801–11814. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.6b01884>.
- [39] M.E. Bravo-Gómez, J.C. García-Ramos, I. Gracia-Mora, L. Ruiz-Azuara, Antiproliferative activity and QSAR study of copper(II) mixed chelate [Cu(N-N)(acetylacetonato)]NO₃ and [Cu(N-N)(glycinato)]NO₃ complexes, (Casiopeínas®), *J Inorg Biochem*. 103 (2009) 299–309. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.10.006>.
- [40] WHO, World Health Organization, https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1. (2022).
- [41] OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde, <https://www.paho.org/pt/topicos/doencas-cardiovasculares#:~:Text=As%20doen%C3%A7as%20cardiovasculares%20s%C3%A3o%20a,As%20mortes%20em%20n%C3%ADvel%20global>. (n.d.).
- [42] A.O.C. Schilithz, F.C. da S. de Lima, J.F.P. Oliveira, M. de O. Santos, M.S. Rebelo, Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2020.
- [43] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R.L. Siegel, L.A. Torre, A. Jemal, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA Cancer J Clin*. 68 (2018) 394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.
- [44] C. Mathers, C. Bernard, K. Iburg, Global burden of disease in 2002: data sources, methods and results, *Global Programme on Evidence for Health Policy Discussion*. 54 (2004) 1–116.

- [45] V.L. de Almeida, A. Leitão, L. del C.B. Reina, C.A. Montanari, C.L. Donnici, Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o dna: uma introdução, *Quim Nova*. 28 (2005) 118–129. <https://doi.org/10.17877/DE290R-7556>.
- [46] Instituto Nacional do Câncer - INCA, Como surge o câncer?, <https://www.inca.gov.br/como-surge-o-cancer>. (2021).
- [47] Instituto Nacional de Câncer, Como surge o câncer?, <https://www.inca.gov.br/como-surge-o-cancer>. (2019).
- [48] T.M. Allen, Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy, *Nat Rev Cancer*. 2 (2002) 750–763. <https://doi.org/10.1038/nrc903>.
- [49] Acessado em 26 de março, <https://escuelapacientes.weebly.com/quimioterapia.html>, (2020).
- [50] B.M. Oliveira, O mecanismo de ação de agentes quimioterápicos em neoplasias do cólon e reto, 2015.
- [51] <https://alunosonline.uol.com.br/biologia/quimioterapia.html>, Acessado em 27 de março, (2020).
- [52] M.C. Azevedo, D. R.; de Barros, M. C. M.; Müller, *Psicooncologia e interdisciplinaridade: uma experiência na educação a distancia.*, Edipucrs, Porto Alegre, 2004.
- [53] Carolina Gonçalves Oliveira, Paládio e platina com ligantes tiossemicarbazonas derivados do pireno visando a obtenção de novos quimioterápicos anticâncer, 2017.
- [54] S. Chakraborty, T. Rahman, The difficulties in cancer treatment, *Ecancer*. 6 (2012) 1–5. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2012.ed16>.
- [55] N.L. Komarova, D. Wodarz, S.A. Levin, N.L. Komarova, D. Wodarz, Drug Resistance in Cancer : Principles of Emergence and Prevention, *PNAS*. 102 (2016) 9714–9719. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501870102>.
- [56] G.K. Dy, Systemic Cancer Therapy : Evolution Over the Last 60 Years, *CANCER Supplement*. 113 (2008) 1857–1887. <https://doi.org/10.1002/cncr.23651>.
- [57] C. Holohan, S. Van Schaeybroeck, D.B. Longley, P.G. Johnston, Cancer drug resistance : an evolving paradigm, *Nature Publishing Group*. 13 (2013) 714–726. <https://doi.org/10.1038/nrc3599>.

- [58] J. Gong, R. Jaiswal, J. Mathys, V. Combes, G.E.R. Grau, M. Bebawy, Microparticles and their emerging role in cancer multidrug resistance, *Cancer Treat Rev.* 38 (2012) 226–234. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2011.06.005>.
- [59] D.B. Longley, P.G. Johnston, Molecular mechanisms of drug resistance, *Journal of Pathology.* 205 (2005) 275–292. <https://doi.org/10.1002/path.1706>.
- [60] A.G. Weidmann, A.C. Komor, J.K. Barton, Targeted Chemotherapy with Metal Complexes, *Comments on Inorganic Chemistry.* 34 (2014) 114–123. <https://doi.org/10.1080/02603594.2014.890099>.
- [61] Taxonomy browser,
<Http://Www.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/Taxonomy/Browser/Wwwtax.Cgi?Id=1279>.
 (n.d.).
- [62] A.E. Namvar, S. Bastarahang, N. Abbasi, G.S. Ghehi, S. Farhadbakhtiarian, P. Arezi, M. Hosseini, S.Z. Baravati, Z. Jokar, S.G. Chermahin, Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: a systematic review., *GMS Hyg Infect Control.* 9 (2014) 1–10. <https://doi.org/10.3205/dgkh000243>.
- [63] K. Becker, F. Schaumburg, C. Fegeler, A.W. Friedrich, R. Köck, *Staphylococcus aureus* from the German general population is highly diverse, *International Journal of Medical Microbiology.* 307 (2017) 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2016.11.007>.
- [64] R. Coates, J. Moran, M.J. Horsburgh, *Staphylococci: Colonizers and pathogens of human skin,* *Future Microbiol.* 9 (2014) 75–91. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.145>.
- [65] V. P.O., G. J., B.-N. E., G. F., C. A., L. F., P. B., B. P., P.O. Verhoeven, J. Gagnaire, E. Botelho-Nevers, F. Grattard, A. Carricajo, F. Lucht, B. Pozzetto, P. Berthelot, Detection and clinical relevance of *Staphylococcus aureus* nasal carriage: An update, *Expert Rev Anti Infect Ther.* 12 (2014) 75–89.
- [66] M.E. Stryjewski, G.R. Corey, Methicillin-resistant *staphylococcus aureus*: An evolving pathogen, *Clinical Infectious Diseases.* 58 (2014) 10–19. <https://doi.org/10.1093/cid/cit613>.
- [67] L. Ali, M.U. Goraya, Y. Arafat, M. Ajmal, J.L. Chen, D. Yu, Molecular mechanism of quorum-sensing in *Enterococcus faecalis*: Its role in virulence and therapeutic approaches, *Int J Mol Sci.* 18 (2017) 960. <https://doi.org/10.3390/ijms18050960>.
- [68] E. Tornero, E. Senneville, G. Euba, S. Petersdorf, D. Rodriguez-Pardo, B. Lakatos, M.C. Ferrari, M. Pilares, A. Bahamonde, R. Trebse, N. Benito, L. Sorli, M.D. del

- Toro, J.M. Baraiaetxaburu, A. Ramos, M. Riera, A. Jover-Sáenz, J. Palomino, J. Ariza, A. Soriano, Characteristics of prosthetic joint infections due to *Enterococcus* sp. and predictors of failure: A multi-national study, *Clinical Microbiology and Infection*. 20 (2014) 1219–1224. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12721>.
- [69] W.R. Miller, J.M. Munita, C.A. Arias, Mechanisms of antibiotic resistance in enterococci, *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 12 (2014) 1221–1236.
- [70] D. Van Tyne, M.S. Gilmore, Friend turned foe: Evolution of enterococcal virulence and antibiotic resistance, *Annu Rev Microbiol.* 68 (2014) 337–356. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091213-113003>.
- [71] E. Sadowy, W. Hryniewicz, Identification of *Streptococcus pneumoniae* and other Mitis streptococci: importance of molecular methods, *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 39 (2020) 2247–2256. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03991-9>.
- [72] World Health Organization. Pneumonia, <Http://Www.Who.Int/Mediacentre/Factsheets/Fs331/En/>. (2014).
- [73] D. Bogaert, R. De Groot, P.W.M. Hermans, *Streptococcus pneumoniae* colonisation: The key to pneumococcal disease, *Lancet Infectious Diseases*. 4 (2004) 144–154. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(04\)00938-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(04)00938-7).
- [74] D.H. Engholm, M. Kilian, D.S. Goodsell, E.S. Andersen, R.S. Kjærgaard, A visual review of the human pathogen *Streptococcus pneumoniae*, *FEMS Microbiol Rev.* 41 (2017) 854–879. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux037>.
- [75] C.M. Bedoya-Correa, R.J. Rincón Rodríguez, M.T. Parada-Sanchez, Genomic and phenotypic diversity of *Streptococcus mutans*, *J Oral Biosci.* 61 (2019) 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.job.2018.11.001>.
- [76] G. Wang, G. Zhao, X. Chao, L. Xie, H. Wang, The characteristic of virulence, biofilm and antibiotic resistance of *klebsiella pneumoniae*, *Int J Environ Res Public Health*. 17 (2020) 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>.
- [77] C.A. Broberg, M. Palacios, V.L. Miller, *Klebsiella*: A long way to go towards understanding this enigmatic jet-setter, *F1000Prime Rep.* 6 (2014). <https://doi.org/10.12703/P6-64>.
- [78] F.C.C. de Campos, Caracterização molecular de *Escherichia coli*, isolada de leite de vacas com mastite clínica, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” - UNESP, 2019.

- [79] A.C.M. Saúde, O uso de peptídeos antimicrobianos precursores de ceruleína acoplados a polímeros silk-like no controle de infecções bacterianas, Universidade Católica de Brasília - UCB, 2016.
- [80] H. Blaak, G. Lynch, R. Italiaander, R.A. Hamidjaja, F.M. Schets, A.M.R. De Husman, Multidrug-resistant and extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch surface water and wastewater, *PLoS One*. 10 (2015) 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127752>.
- [81] A.F.C. Leonard, L. Zhang, A.J. Balfour, R. Garside, P.M. Hawkey, A.K. Murray, O.C. Ukoumunne, W.H. Gaze, Exposure to and colonisation by antibiotic-resistant *E. coli* in UK coastal water users: Environmental surveillance, exposure assessment, and epidemiological study (Beach Bum Survey), *Environ Int*. 114 (2018) 326–333. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.11.003>.
- [82] Y. Doi, A. Iovleva, R.A. Bonomo, The ecology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in the developed world, *J Travel Med*. 24 (2017) S44–S51. <https://doi.org/10.1093/jtm/taw102>.
- [83] K.A. Mielko, S.J. Jabłoński, J. Milczewska, D. Sands, M. Łukaszewicz, P. Młynarz, Metabolomic studies of *Pseudomonas aeruginosa*, *World J Microbiol Biotechnol*. 35 (2019) 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2739-1>.
- [84] K. Lalchhandama, Reappraising Fleming's snot and mould, *Sci Vis*. 20 (2020) 29–42. <https://doi.org/10.33493/scivis.20.01.03>.
- [85] N. Saleem, F. Ryckaert, T.A.C. Snow, G. Satta, M. Singer, N. Arulkumaran, Mortality and clinical cure rates for pneumonia: a systematic review, meta-analysis, and trial sequential analysis of randomized control trials comparing bactericidal and bacteriostatic antibiotic treatments, *Clinical Microbiology and Infection*. (2022). <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.12.021>.
- [86] M. Frieri, K. Kumar, A. Boutin, Antibiotic resistance, *J Infect Public Health*. 10 (2017) 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>.
- [87] B. Khameneh, R. Diab, K. Ghazvini, B.S. Fazly Bazzaz, Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them, *Microb Pathog*. 95 (2016) 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.009>.
- [88] S. Auletta, F. Galli, C. Lauri, D. Martinelli, I. Santino, A. Signore, Imaging bacteria with radiolabelled quinolones, cephalosporins and siderophores for imaging infection: a systematic review, *Clin Transl Imaging*. 4 (2016) 229–252. <https://doi.org/10.1007/s40336-016-0185-8>.

- [89] F. Prestinaci, P. Pezzotti, A. Pantosti, Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon, *Pathog Glob Health*. 109 (2015) 309–318. <https://doi.org/10.1179/2047773215Y.00000000030>.
- [90] D. Kern, The Dangers and Ineffectiveness of Antibiotics for Acne, <https://www.acne.org/the-dangers-and-ineffectiveness-of-antibiotics-for-acne.html>. (2021).
- [91] G. Mancuso, A. Midiri, E. Gerace, C. Biondo, Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens, *Pathogens*. 10 (2021) 1310. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>.
- [92] A.S. Pires, J. Batista, D. Murtinho, C. Nogueira, A. Karamysheva, M. Luísa Ramos, B.F. Milne, N.T. Tavares, J. Gonçalves, A.C. Gonçalves, A.M. Abrantes, R. Soares, T. Gonçalves, M.F. Botelho, M.E. Silva Serra, Synthesis, Characterization and Evaluation of the Antibacterial and Antitumor Activity of HalogenatedSalen Copper (II) Complexes derived from Camphoric Acid, *Appl Organomet Chem*. 34 (2020) 1–18. <https://doi.org/10.1002/aoc.5569>.
- [93] V.M. Dcosta, C.E. King, L. Kalan, M. Morar, W.W.L. Sung, C. Schwarz, D. Froese, G. Zazula, F. Calmels, R. Debruyne, G.B. Golding, H.N. Poinar, G.D. Wright, Antibiotic resistance is ancient, *Nature*. 477 (2011) 457–461. <https://doi.org/10.1038/nature10388>.
- [94] R.F. Farias, O.A. Oliveira, C.W.B. Bezerra, A.B. Oliveira, C. Airoidi, E.C.P. Maia, C.P. Demicheli, M.R. Salles, S.P. Gonçalves, N. S.; Machado, *Química de Coordenação: Fundamentos e Atualidades*, Editora Átomo, Campinas, 2005.
- [95] H.L.C. Barros, *Química Inorgânica - Uma Introdução*, 1ª, Editora UFMG, 1992.
- [96] L. Brown, H. Lemay, E. Bursten, *Química Ciência Central*, Editora LTC, 1999.
- [97] G.R. De Andrade, *Síntese , caracterização espectroscópica e estrutural de um complexo de cobre (II) com ligante diimina derivado da aminoguanidina*, Universidade Federal da Grande Dourados, 2014.
- [98] J.D. Lee, *Química Inorgânica não tão concisa*, 5ª, Edgard Blücher, São Paulo, 1999.
- [99] D.F. Shriver, P. Atkins, *Química Inorgânica*, 4ª, Bookman, Porto Alegre, 2008.
- [100] L. Gasque, R. Moreno-Esparza, L. Ruíz-Ramírez, G. Medina-Dickinson, (5,6-Dimethyl-1,10-phenanthroline)-(nitrate)(salicylaldehydato)copper(II), *Acta Cryst. C55* (1999) 1065.

- [101] S. Balboa Benavente, *Química de coordinación de iones metálicos en estado de oxidación II derivados de α -hidroxicarboxilatos*, Universidad de Santiago de Compostela, 2007.
- [102] A.N. Bootsma, S.E. Wheeler, Tuning Stacking Interactions between Asp-Arg Salt Bridges and Heterocyclic Drug Fragments, *J Chem Inf Model.* 59 (2019) 149–158. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.8b00563>.
- [103] A.M. de Almeida, B.A. de Oliveira, P.P. de Castro, C.C. de Mendonça, R.A. Furtado, H.D. Nicolella, V.L. da Silva, C.G. Diniz, D.C. Tavares, H. Silva, M.V. de Almeida, Lipophilic gold(I) complexes with 1,3,4-oxadiazol-2-thione or 1,3-thiazolidine-2-thione moieties: synthesis and their cytotoxic and antimicrobial activities, *BioMetals.* 30 (2017) 841–857. <https://doi.org/10.1007/s10534-017-0046-6>.
- [104] S.M. Hiremath, A. Suvitha, N.R. Patil, C.S. Hiremath, S.S. Khemalpure, S.K. Pattanayak, V.S. Negalurmath, K. Obelannavar, S.J. Armaković, S. Armaković, Synthesis of 5-(5-methyl-benzofuran-3-ylmethyl)-3H- [1, 3, 4] oxadiazole-2-thione and investigation of its spectroscopic, reactivity, optoelectronic and drug likeness properties by combined computational and experimental approach, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 205 (2018) 95–110. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.07.003>.
- [105] S.M. Soliman, M. Hagar, F. Ibid, E.S.H. El Ashry, Experimental and theoretical spectroscopic studies, HOMO-LUMO, NBO analyses and thione-thiol tautomerism of a new hybrid of 1,3,4-oxadiazole-thione with quinazolin-4-one, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 145 (2015) 270–279. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.01.061>.
- [106] S. Bajaj, P.P. Roy, J. Singh, Synthesis, thymidine phosphorylase inhibitory and computational study of novel 1,3,4-oxadiazole-2-thione derivatives as potential anticancer agents, *Comput Biol Chem.* 76 (2018) 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.05.013>.
- [107] B.B. Mishra, D. Kumar, A. Mishra, P.P. Mohapatra, V.K. Tiwari, *Cyclo-Release Strategy in Solid-Phase Combinatorial Synthesis of Heterocyclic Skeletons*, Elsevier, 2012. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396532-5.00002-0>.
- [108] P. Pitasse-santos, V. Sueth-santiago, M.E.F. Lima, 1,2,4- and 1,3,4-Oxadiazoles as Scaffolds in the Development of Antiparasitic Agents Paulo, *J. Braz. Chem. Soc.* 29 (2018) 435–456.

- [109] E. Vitaku, D.T. Smith, J.T. Njardarson, Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among U.S. FDA approved pharmaceuticals, *J Med Chem.* 57 (2014) 10257–10274. <https://doi.org/10.1021/jm501100b>.
- [110] A. Abu Ammar, R. Raveendran, D. Gibson, T. Nassar, S. Benita, A Lipophilic Pt(IV) Oxaliplatin Derivative Enhances Antitumor Activity, *J Med Chem.* 59 (2016) 9035–9046. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00955>.
- [111] G. Ayyannan, M. Mohanraj, G. Raja, N. Bhuvanesh, R. Nandhakumar, C. Jayabalakrishnan, Design, synthesis, structure and biological evaluation of new palladium(II) hydrazone complexes, *Inorganica Chim Acta.* 453 (2016) 562–573. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.09.025>.
- [112] M. Fanelli, M. Formica, V. Fusi, L. Giorgi, M. Micheloni, P. Paoli, New trends in platinum and palladium complexes as antineoplastic agents, *Coord Chem Rev.* 310 (2016) 41–79. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.11.004>.
- [113] T. Lazarević, A. Rilak, Ž.D. Bugarčić, Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives, *Eur J Med Chem.* 142 (2017) 8–31. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.04.007>.
- [114] B.J. Pages, F. Li, P. Wormell, D.L. Ang, J.K. Clegg, C.J. Kepert, L.K. Spare, S. Danchaiwijit, J.R. Aldrich-Wright, Synthesis and analysis of the anticancer activity of platinum(ii) complexes incorporating dipyridoquinoxaline variants, *Dalton Transactions.* 43 (2014) 15566–15575. <https://doi.org/10.1039/c4dt02133a>.
- [115] Y. Martínez, X. Li, G. Liu, P. Bin, W. Yan, D. Más, M. Valdiviá, C.-A.A. Hu, W. Ren, Y. Yin, The role of methionine on metabolism, oxidative stress, and diseases, *Amino Acids.* 49 (2017) 2091–2098. <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2494-2>.
- [116] J.A. Lima Júnior, Espectroscopia Raman dos aminoácidos L-metionina e DL-alanina e de nanotubos de carbono, Tese (Doutorado), Universidade Federal do Ceará, 2008.
- [117] Amino Acids, <https://Aminoacidsguide.Com/>. (n.d.).
- [118] K. Denniston, D. Quirk, J. Topping, R. Caret, *General, Organic, and Biochemistry*, 11th ed., 2022.
- [119] T.S. Baldez, C.M.R. Remédios, A.S. de Menezes, A.O. dos Santos, F.F. de Sousa, New structural phases of [bis(L-alaninato) diaqua] nickel(II) dihydrate crystal,

- Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 214 (2019) 294–301.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.02.043>.
- [120] 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 (2009) 300–307.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3011.1992.tb00305.x>.
- [121] J. Wisniak, Pierre-Jean Robiquet, *Educación Química.* 24 (2013) 139–149.
[https://doi.org/10.1016/S0187-893X\(13\)72507-2](https://doi.org/10.1016/S0187-893X(13)72507-2).
- [122] P. Li, Y.L. Yin, D. Li, W.S. Kim, G. Wu, Amino acids and immune function, *British Journal of Nutrition.* 98 (2007) 237–252.
<https://doi.org/10.1017/S000711450769936X>.
- [123] M. Kohlmeier, Asparagine, in: *Nutrient Metabolism*, Elsevier, 2003: pp. 389–395.
<https://doi.org/10.1016/B978-012417762-8.50061-2>.
- [124] R. Ohno, E.M. Hersh, The Inhibition of Lymphocyte Blastogenesis By L-Asparaginase, n.d. <http://ashpublications.org/blood/article-pdf/35/2/250/575330/250.pdf>.
- [125] D. Kafkewitz, A. Bendich, Enzyme-induced asparagine and glutamine depletion and immune system function, *Am J Clin Nutr.* 37 (1983) 1025–1030.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/37.6.1025>.
- [126] E.H. Panosyan, Y. Wang, P. Xia, W.-N.P. Lee, Y. Pak, D.R. Laks, H.J. Lin, T.B. Moore, T.F. Cloughesy, H.I. Kornblum, J.L. Lasky, Asparagine Depletion Potentiates the Cytotoxic Effect of Chemotherapy against Brain Tumors, *Molecular Cancer Research.* 12 (2014) 694–702. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-13-0576>.
- [127] Y. Martínez, X. Li, G. Liu, P. Bin, W. Yan, D. Más, M. Valdiviá, C.-A.A. Hu, W. Ren, Y. Yin, The role of methionine on metabolism, oxidative stress, and diseases, *Amino Acids.* 49 (2017) 2091–2098. <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2494-2>.
- [128] P.K. Dash, G.W. Hergenroeder, C.B. Jeter, H.A. Choi, N. Kobori, A.N. Moore, Traumatic Brain Injury Alters Methionine Metabolism: Implications for Pathophysiology, *Front Syst Neurosci.* 10 (2016).
<https://doi.org/10.3389/fnsys.2016.00036>.
- [129] S.B. Nimse, D. Pal, Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms, *RSC Adv.* 5 (2015) 27986–28006.
<https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>.

- [130] Q. Xiao, N.D. Freedman, J. Ren, A.R. Hollenbeck, C.C. Abnet, Y. Park, Intakes of folate, methionine, vitamin B6, and vitamin B12 with risk of esophageal and gastric cancer in a large cohort study, *Br J Cancer*. 110 (2014) 1328–1333. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.17>.
- [131] O.D.K. Maddocks, C.F. Labuschagne, P.D. Adams, K.H. Vousden, Serine Metabolism Supports the Methionine Cycle and DNA/RNA Methylation through De Novo ATP Synthesis in Cancer Cells, *Mol Cell*. 61 (2016) 210–221. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.12.014>.
- [132] S.P. Jackson, J. Bartek, The DNA-damage response in human biology and disease, *Nature*. 461 (2009) 1071–1078. <https://doi.org/10.1038/nature08467>.
- [133] S. Khunger, A Study Based on Role of Amino Acids as Remedy for Nosocomial Bacterial Infections, *Biosci Biotechnol Res Commun*. 14 (2021) 405–408. <https://doi.org/10.21786/bbrc/14.7.85>.
- [134] C.S. Rocha, Sínteses e estudos biológicos de novos complexos de prata (I) de hidrazonas e de ácidos N, R- sulfonilaminobenzóicos, Universidade Federal de Minas Gerais, 2019.
- [135] S. Dasari, P. Bernard Tchounwou, Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action, *Eur J Pharmacol*. 740 (2014) 364–378. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>.
- [136] M. Gielen, E.R.T. Tiekink, Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents the use of metals in medicine, John Wiley, New York, 2005.
- [137] B. Desoize, Metals and metal compounds in cancer treatment, *Anticancer Res*. 24 (2004) 1529–1544.
- [138] M. Frezza, S. Hindo, D. Chen, A. Davenport, S. Schmitt, D. Tomco, Q. Ping Dou, Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy, *Curr Pharm Des*. 16 (2010) 1813–1825. <https://doi.org/10.2174/138161210791209009>.
- [139] P. Zhang, P.J. Sadler, Redox-Active Metal Complexes for Anticancer Therapy, *Eur J Inorg Chem*. 2017 (2017) 1541–1548. <https://doi.org/10.1002/ejic.201600908>.
- [140] L. Kelland, The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy, *Nat Rev Cancer*. 7 (2007) 573–584. <https://doi.org/10.1038/nrc2167>.
- [141] J. Graham, M. Muhsin, P. Kirkpatrick, Oxaliplatin. Market analysis, *Nat Rev Drug Discov*. 3 (2004) 11–12. <https://doi.org/10.1038/nrd1287>.

- [142] B. Therrien, J. Furrer, The Biological Side of Water-Soluble Arene Ruthenium Assemblies, *Advances in Chemistry*. 2014 (2014) 1–20. <https://doi.org/10.1155/2014/589686>.
- [143] N.J. Wheate, S. Walker, G.E. Craig, R. Oun, The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials, *Dalton Transactions*. 39 (2010) 8113–8127. <https://doi.org/10.1039/c0dt00292e>.
- [144] E.W. Wong, C.M. Giandomenico, Current status of platinum-based antitumour agents, *Chem. Rev.* 99 (1999) 2451–2466.
- [145] P.J. Dyson, G. Sava, Metal-based antitumour drugs in the post genomic era, *Dalton Transactions*. (2006) 1929–1933. <https://doi.org/10.1039/b601840h>.
- [146] F. Tisato, C. Marzano, M. Porchia, M. Pellei, C. Santini, Copper in Diseases and Treatments, and Copper-Based Anticancer Strategies, *Med Res Rev.* 30 (2010) 708–749. <https://doi.org/10.1002/med>.
- [147] K. Tummalapalli, V. C.S, P. Munusami, M. Pathak, M.M. Balamurali, Evaluation of DNA/Protein interactions and cytotoxic studies of copper(II) complexes incorporated with N, N donor ligands and terpyridine ligand, *Int J Biol Macromol.* 95 (2017) 1254–1266. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.022>.
- [148] S. Anbu, A. Killivalavan, E.C.B.A. Alegria, G. Mathan, M. Kandaswamy, Effect of 1,10-phenanthroline on DNA binding, DNA cleavage, cytotoxic and lactate dehydrogenase inhibition properties of Robson type macrocyclic dicopper(II) complex, *J Coord Chem.* 66 (2013) 3989–4003. <https://doi.org/10.1080/00958972.2013.858136>.
- [149] M.T. Miller, T.B. Karpishin, Phenylethynyl substituent effects on the photophysics and electrochemistry of [Cu(dpp)₂]⁺ (dpp = 2,9-diphenyl-1,10-phenanthroline), *Inorg Chem.* 38 (1999) 5246–5249. <https://doi.org/10.1021/ic990588e>.
- [150] S. Iglesias, N. Alvarez, M.H. Torre, E. Kremer, J. Ellena, R.R. Ribeiro, R.P. Barroso, A.J. Costa-Filho, G.M. Kramer, G. Facchin, Synthesis, structural characterization and cytotoxic activity of ternary copper(II)-dipeptide-phenanthroline complexes. A step towards the development of new copper compounds for the treatment of cancer, *J Inorg Biochem.* 139 (2014) 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.06.007>.
- [151] Q. Wang, H. Mao, W. Wang, H. Zhu, L. Dai, Y. Chen, X. Tang, Synthesis, X-ray crystal structure, DNA / BSA binding, DNA cleavage and cytotoxicity studies of

- phenanthroline based copper (II)/ zinc (II) complexes, *BioMetals*. (2017) 1–13. <https://doi.org/10.1007/s10534-017-0028-8>.
- [152] J. Vicente, Síntese, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana in vitro de complexos formados a partir de metais da primeira série de transição com o ligante 5,6-dioxima-1,10-fenantrolina, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
- [153] S. Pal, Y.K. Tak, J.M. Song, Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*, *Appl Environ Microbiol.* 73 (2007) 1712–1720. <https://doi.org/10.1128/AEM.02218-06>.
- [154] G. Franci, A. Falanga, S. Galdiero, L. Palomba, M. Rai, G. Morelli, M. Galdiero, Silver nanoparticles as potential antibacterial agents, *Molecules*. 20 (2015) 8856–8874. <https://doi.org/10.3390/molecules20058856>.
- [155] A. Hordyjewska, Ł. Popiołek, J. Kocot, The many “faces” of copper in medicine and treatment, *BioMetals*. 27 (2014) 611–621. <https://doi.org/10.1007/s10534-014-9736-5>.
- [156] K.D. Mjos, E. Polishchuk, M.J. Abrams, C. Orvig, Synthesis, characterization, and evaluation of the antimicrobial potential of copper(II) coordination complexes with quinolone and p-xilylenyl-linked quinolone ligands, *J Inorg Biochem.* 162 (2016) 280–285. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.02.026>.
- [157] L.M. Yamamoto, J.H.B. Nunes, M.A. Ribeiro, A.M. da C. Ferreira, W.R. Lustri, P.P. Corbi, Copper(II) and silver(I) complexes with sulfamethizole: synthesis, spectroscopic characterization, ESI-QTOF mass spectrometric analysis, crystal structure and antibacterial activities, *Polyhedron*. 138 (2017) 168–176. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.09.034>.
- [158] A.P. Kornblatt, V.G. Nicoletti, A. Travaglia, The neglected role of copper ions in wound healing, *J Inorg Biochem.* 161 (2016) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.02.012>.
- [159] B.D. Cullity, *Elements of X-Ray Diffraction*, Addison-Wesley Publishing Company, Inc., 1956.
- [160] J.M. Sasaki, L. Bleicher, *Introdução à difração de raios-X em cristais*, Universidade Federal do Ceará, 2000.

- [161] E.B. Melo, Síntese e Determinação Da Estrutura do Complexo Ni(II)(L-Treonina)₂ (H₂O)₂ por Difração De Raios X em Monocristais, Universidade Federal Do Maranhão, 2015.
- [162] W.H. Zachariasen, Theory of X-Ray Diffraction in Crystals, New York: Dover publications, 1945.
- [163] Jessica Andreza Oliveira Rodrigues, Estudo estrutural e vibracional do cristal tris (glicinato) de cromo (III) monohidratado em função da temperatura, (2018) 109.
- [164] H. M. Rietveld, A Profile Refinement Method for Nuclear and Magnetic Structures, J. Appl. Cryst. 2 (1969) 65.
- [165] H. M. Rietveld, Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement, Acta Cryst. 22 (1967) 151.
- [166] L. de A. Gobbo, Os compostos do clínquer portland: sua caracterização por difração de raios-x e quantificação por refinamento, Dissertação, Universidade de São Paulo, 2003.
- [167] P. Paufler, The Rietveld Method, Wiley Online Library , 1995.
- [168] A.B. Pereira, Dissertação de mestrado Caracterização estrutural e térmica de cristais de L-Arginina•HClxHBr1-x, Dissertação, Universidade Federal do Maranhão, 2016.
- [169] A. el Yacoubi, A. Massit, S. el Moutaouikel, A. Rezzouk, B. Chafik El Idrissi, Rietveld Refinement of the Crystal Structure of Hydroxyapatite Using X-ray Powder Diffraction, American Journal of Materials Science and Engineering. 5 (2017) 1–5. <https://doi.org/10.12691/ajmse-5-1-1>.
- [170] O. Sala, Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho, UNESP, São Paulo, 1996.
- [171] J.M. Hollas, Modern Spectroscopy, 4a ed., John Wiley & Sons Ltd., England, 2004.
- [172] J.L. Mchale, Molecular Spectroscopy, first, Upper Saddle River, New Jersey, 1998.
- [173] R.M. Silverstein, G.C. Bassler, T.C. Morrill, Spectrometric identification of organic compounds, John Wiley & Sons, 1981.
- [174] F.F. SOUSA, Estudo de espalhamento Raman nos ácidos palmítico e esteárico: forma C, Tese (Doutorado em Física), Universidade Federal do Ceará, 2010.
- [175] 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>.
- [176] G. Socrates, *Infrared and Raman characteristic group frequencies*, 2004.
- [177] 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. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2007.10.008>.
- [178] D.L. Pavia, G.M. Lampman, G.S. Kriz, *Introduction to Spectroscopy*, 2001.
- [179] K.S. Booksh, B.R. Kowalski, *Theory of Analytical Chemistry*, *Anal Chem.* 66 (1994) 782A-791A. <https://doi.org/10.1021/ac00087a718>.
- [180] F. Kealey, *Principles and Practice of Analytical Chemistry*, 2000.
- [181] S.E. Colthup, N.B. Daly, L.H. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 1990.
- [182] J.G.D.O. NETO, Síntese E Caracterização Do Cristal Ternário De 1 , 10-Fenantrolina E Glicina Complexado Com Cobre (Ii) Para O Uso Em Antitumorais De 1 , 10-Fenantrolina E Glicina Complexado Com Cobre (Ii) Para O Uso Em Antitumorais, *Ufma*. (2019).
- [183] D.A. Skoog, S.R. Crouch, *Principios de análise instrumental*, 2007.
- [184] D.V.C. Mendonça, *Isobruceína B e neosergeolida: Modelagem em nível de DFT e estudos de docking molecular com Dihidrofolato Redutase de Plasmodium vivax*, Universidade Federal do Amazonas, 2020.
- [185] J.A. Vanin, *Alquimistas e Químicos: o passado, o presente e o futuro*, Editora Moderna, São Paulo, 1994.
- [186] J.R. Partington, *A short history of chemistry*, 3rd ed., Dover Publication, New York, 1989.
- [187] D.P.L. Pires, J.C. Afonso, F.A.B.A. Chaves, A termometria nos séculos XIX e XX, *Revista Brasileira de Ensino De Física.* 28 (2006) 101–114.
- [188] L.S. ;Farias, R.F. Neves, *História da Química: um livro-texto para a graduação*, Editora Átomo, Campinas, 2008.
- [189] R. Alves, *Estudo termoanalítico e compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose*, Dissertação de Mestrado , Universidade de São Paulo, 2007.
- [190] R. Parameshwaran, A. Sarı, N. Jalaiah, R. Karunakaran, Applications of Thermal Analysis to the Study of Phase-Change Materials, in: 2018: pp. 519–572. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64062-8.00005-X>.

- [191] J. Gomes, J. Batra, V.R. Chopda, P. Kathiresan, A.S. Rathore, Monitoring and Control of Bioethanol Production From Lignocellulosic Biomass, in: Waste Biorefinery, Elsevier, 2018: pp. 727–749. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63992-9.00025-2>.
- [192] L. Kumar, Md.S. Alam, C.L. Meena, R. Jain, A.K. Bansal, Fexofenadine Hydrochloride, in: 2009: pp. 153–192. [https://doi.org/10.1016/S1871-5125\(09\)34004-2](https://doi.org/10.1016/S1871-5125(09)34004-2).
- [193] B.T. Tomoda, P.H. Yassue-Cordeiro, J.V. Ernesto, P.S. Lopes, L.O. Péres, C.F. da Silva, M.A. de Moraes, Characterization of biopolymer membranes and films: Physicochemical, mechanical, barrier, and biological properties, in: Biopolymer Membranes and Films, Elsevier, 2020: pp. 67–95. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818134-8.00003-1>.
- [194] T.M. de M. Pereira, Caracterização térmica (TG/DTG, DTA, DSC, DSC-fotovisual) de hormônios bioidênticos (estriol e estradiol), Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2013.
- [195] Por que escolher um analisador termogravimétrico simultâneo STA ao invés de um TGA?, Hitachi High-Tech Analytical Science, <https://Dpunion.Com.Br/Por-Que-Escolher-Um-Analisador-Termogravimetrico-Sta-Ao-Inves-de-Apenas-Um-Tga/>. (n.d.).
- [196] F.J. Holler, D.A. Skoog, S.R. Crouch, C. Pasquini, Princípios de análise instrumental, Bookman, 2009.
- [197] F. Teixeira, M.N.D.S. Cordeiro, Improving Vibrational Mode Interpretation Using Bayesian Regression, *J Chem Theory Comput.* 15 (2019) 456–470. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00439>.
- [198] M.-S. Maryam, V. Karbasizadeh, S.C. Dokhaharani, Evaluation of biofilm removal activity of *Quercus infectoria* galls against *Streptococcus mutans* biofilm, *Dental Research Journal Original.* 13 (2016) 46–51.
- [199] G.S.S. Njateng, Z. Du, D. Gatsing, R.S. Mouokeu, Y. Liu, H.X. Zang, J. Gu, X. Luo, J.R. Kuate, Antibacterial and antioxidant properties of crude extract, fractions and compounds from the stem bark of *Polyscias fulva* Hiern (Araliaceae), *BMC Complement Altern Med.* 17 (2017) 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1572-z>.

- [200] Clinical and Laboratory Standards Institute, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically ; Approved Standard — Ninth Edition, 2012.
- [201] D.L. Rousseau, R.P. Bauman, S.P.S. Porto, Normal Mode Determination in Crystals, *Journal of Raman Spectroscopy*. 10 (1981) 253–290.
- [202] List of space groups, https://en.wikipedia.org/wiki/List_of_space_groups#List_of_monoclinic 1/11. (2018) 1–11.
- [203] J.A. Lima, P.T.C. Freire, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, G.P. de Sousa, R.J.C. Lima, P.F. Façanha Filho, H.N. Bordallo, Low-temperature Raman spectra of racemate DL-Alanine crystals, *Journal of Raman Spectroscopy*. 41 (2010) 808–813. <https://doi.org/10.1002/jrs.2507>.
- [204] F.M. Almeida, P.T.C. Freire, R.J.C. Lima, C.M.R. Remedios, J.M. Filho, F.E.A. Melo, Raman spectra of L-isoleucine crystals, *Journal of Raman Spectroscopy*. 37 (2006) 1296–1301. <https://doi.org/10.1002/jrs>.
- [205] G.P. De Sousa, P.T.C. Freire, J.M. Filho, F.E.A. Melo, C.L. Lima, Low-Temperature Raman Spectra of l-Histidine Crystals, *Brazilian Journal of Physics*. 43 (2013) 137–144. <https://doi.org/10.1007/s13538-013-0132-3>.
- [206] F.F. De Sousa, P.T.C. Freire, A.S. De Menezes, G.S. Pinheiro, L.P. Cardoso, P. Alcantara, S.G.C. Moreira, F.E.A. Melo, J. Mendes Filho, G.D. Saraiva, Low-temperature phase transformation studies in the stearic acid: C form, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 148 (2015) 280–288. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.04.003>.
- [207] G.D. Saraiva, J.A. Lima, F.F. De Sousa, P.T.C. Freire, J.M. Filho, A.G.S. Filho, Temperature dependent Raman scattering study of l-ascorbic acid, *Vib Spectrosc*. 55 (2011) 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2010.09.006>.
- [208] J.R. Maia, J.A. Lima, P.T.C. Freire, J. Mendes Filho, C.E.S. Nogueira, A.M.R. Teixeira, A.S. De Menezes, C.M.R. Remédios, L.P. Cardoso, FT-IR and Raman spectra and DFT calculations on bis(L-histidinato) nickel(II) monohydrate, *J Mol Struct*. 1054–1055 (2013) 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2013.09.042>.
- [209] J.G.O. Neto, J.G. da Silva Filho, N.S. Cruz, F.F. de Sousa, P.F.F. Filho, A.O. Santos, Growth, structural, vibrational, DFT and thermal studies of bis(β -alanine)

- nickel(II) dihydrate crystals, *Journal of Physics and Chemistry of Solids*. 141 (2020) 109435. <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2020.109435>.
- [210] A.W. Herlinger, T.V. Long, *Laser-Raman and Infrared Spectra of Amino Acids and Their Metal Complexes.*, *J Am Chem Soc*. 6474 (1970) 6481–6486.
- [211] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry.*, John Wiley & Sons, 2008. <https://doi.org/10.1002/9780470405888>.
- [212] E.J. Baran, I. Viera, M.H. Torre, *Vibrational spectra of the Cu(II) complexes of l-asparagine and l-glutamine*, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 66 (2007) 114–117. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2006.01.052>.
- [213] C.C. Wagner, E.J. Baran, *Spectroscopic and magnetic behaviour of the copper (II) complex of L-tryptophan*, *Acta Farmaceutica Bonaerense*. 23 (2004) 339–342.
- [214] C.C. Wagner, E.J. Baran, *Vibrational spectra of Bis(L-methioninato)copper(II)*, *Acta Farmaceutica Bonaerense*. 21 (2003) 287–290.
- [215] J.M. Ramos, M.T. De, A.C. Costa, G.F. Ondar, G.B. Ferreira, L. Raniero, A.A. Martin, O. Versiane, C.A. Téllez Soto, *Molecular structure, natural bond analysis, vibrational, and electronic spectra of aspartateguanidoacetatenickel(II), [Ni(Asp)(GAA)]·H 2O: DFT quantum mechanical calculations*, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 97 (2012) 1041–1051. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.07.087>.
- [216] A. Pawlukojać, K. Hołderna-Natkaniec, G. Bator, I. Natkaniec, *L-glutamine: Dynamical properties investigation by means of INS, IR, RAMAN, 1H NMR and DFT techniques*, *Chem Phys*. 443 (2014) 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2014.08.003>.
- [217] O.V. Cabral, C.A. Téllez S., T. Giannerini, J. Felcman, *Fourier-transform infrared spectrum of aspartate hydroxo-aqua nickel (II) complex and DFT-B3LYP/3-21G and 6-311G structural and vibrational calculations*, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 61 (2005) 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.02.037>.
- [218] A.L. Jenkins, R.A. Larsen, T.B. Williams, *Characterization of amino acids using Raman spectroscopy*, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 61 (2005) 1585–1594. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.11.055>.
- [219] J.M. Ramos, O. Versiane, J. Felcman, C.A.T. Soto, *FT-IR vibrational spectrum and DFT:B3LYP/6-31G structure and vibrational analysis of*

- guanidinoaceticserinenickel(II) complex: [Ni(GAA)(Ser)], *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 67 (2007) 1037–1045. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2006.07.058>.
- [220] R.M.C.S. Diniz, C.E.S. Nogueira, C.C. Santos, F.S.M. Sinfrônio, F.F. De Sousa, A.S. De Menezes, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy Structural*, vibrational and thermal studies on bis (L -glutaminato) copper (II), *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 205 (2018) 603–613. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.07.096>.
- [221] A.M. Petrosyan, R.P. Sukiasyan, Vibrational spectra of l-arginine nitrates, *J Mol Struct.* 874 (2008) 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2007.03.032>.
- [222] J.R. Govani, W.G. Durrer, M. Manciu, C. Botez, F.S. Manciu, Spectroscopic study of L-arginine interaction with potassium dihydrogen phosphate crystals, *J Mater Res.* 24 (2009) 2316–2320. <https://doi.org/10.1557/jmr.2009.0290>.
- [223] A. Wojciechowska, J. Janczak, W. Zierkiewicz, P. Rytlewski, T. Rojek, M. Duczmal, Copper (II) complex with L-arginine – Crystal structure, DFT calculations, spectroscopic, thermal and magnetic properties, *Mater Chem Phys.* 228 (2019) 272–284. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.02.037>.
- [224] 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>.
- [225] N.S. Fernandes, M.A. Da Silva Carvalho Filho, R.A. Mendes, M. Ionashiro, Thermal Decomposition of Some Chemotherapeutic Substances, *J Braz Chem Soc.* 10 (1999) 459–462. <https://doi.org/10.1590/S0103-50531999000600007>.
- [226] G.J. Kharadi, Thermal decomposition and mass spectra of mixed ligand copper(II) complexes of 1,10-phenanthroline and coumarin derivatives, *J Therm Anal Calorim.* 107 (2012) 651–659. <https://doi.org/10.1007/s10973-011-1671-x>.
- [227] I.M. Weiss, C. Muth, R. Drumm, H.O.K. Kirchner, Thermal decomposition of the amino acids glycine, cysteine, aspartic acid, asparagine, glutamic acid, glutamine, arginine and histidine, *BMC Biophys.* 11 (2018) 1–15. <https://doi.org/10.1186/s13628-018-0042-4>.
- [228] E.J. Gomes, J.A. Lima, P.T.C. Freire, G.S. Pinheiro, F.F. de Sousa, C.M.R. Remédios, Effect of Fe (III) on L-asparagine monohydrate investigated under low-

- and high-temperature conditions, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 241 (2020) 118643. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118643>.
- [229] D. Das, T. Jacobs, L.J. Barbour, Exceptionally large positive and negative anisotropic thermal expansion of an organic crystalline material, *Nat Mater.* 9 (2010) 36–39. <https://doi.org/10.1038/nmat2583>.
- [230] C.T. Pich, P.R. Dos Santos, T.V.O. Fortunato, M. Chiarello, I.M. De Oliveira, B.Q. Soares, N.E. Ghermani, M. Machado, M. Roesch-Ely, F. Dumas, H. Terenzi, J.A.P. Henriques, S. Moura, Mixed ternary mononuclear copper(II) complexes based on valproic acid with 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine ligands: DNA interaction and cytotoxicity in V79 cells, *J Braz Chem Soc.* 30 (2019) 597–613. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180229>.
- [231] R.K. Lin, C.I. Chiu, C.H. Hsu, Y.J. Lai, P. Venkatesan, P.H. Huang, P.S. Lai, C.C. Lin, Photocytotoxic Copper(II) Complexes with Schiff-Base Scaffolds for Photodynamic Therapy, *Chemistry - A European Journal.* 24 (2018) 4111–4120. <https://doi.org/10.1002/chem.201705640>.
- [232] P. Sarbadhikary, A. Dube, P.K. Gupta, Synthesis and characterization of photodynamic activity of an iodinated Chlorin: P 6 copper complex, *RSC Adv.* 6 (2016) 75782–75792. <https://doi.org/10.1039/c6ra14026b>.
- [233] X.Y. Qin, Y.N. Wang, H.F. Liu, Z.H. Luo, P.L. Zhang, H. Li-Fang, M.R. Liu, Anti-cancer activities of metal-based complexes by regulating the VEGF/VEGFR2 signaling pathway and apoptosis-related factors Bcl-2, Bax, and caspase-9 to inhibit angiogenesis and induce apoptosis, *Metallomics.* 12 (2020) 92–103. <https://doi.org/10.1039/c9mt00248k>.
- [234] D.M. Heuberger, S. Harankhedkar, T. Morgan, P. Wolint, M. Calcagni, B. Lai, C.J. Fahrni, J. Buschmann, High-affinity Cu(I) chelator PSP-2 as potential anti-angiogenic agent, *Sci Rep.* 9 (2019) 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50494-5>.
- [235] V.S. Bollu, T. Bathini, A.K. Barui, A. Roy, N.C. Ragi, S. Maloth, P. Sripadi, B. Sreedhar, P. Nagababu, C.R. Patra, Design of DNA-intercalators based copper(II) complexes, investigation of their potential anti-cancer activity and sub-chronic toxicity, *Materials Science and Engineering C.* 105 (2019) 110079. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110079>.

- [236] G.R. Walke, S. Ruthstein, Does the ATSM-Cu(II) Biomarker Integrate into the Human Cellular Copper Cycle?, *ACS Omega*. 4 (2019) 12278–12285. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b01748>.
- [237] A. Lasorsa, M.I. Nardella, A. Rosato, V. Mirabelli, R. Caliendo, R. Caliendo, G. Natile, F. Arnesano, Mechanistic and Structural Basis for Inhibition of Copper Trafficking by Platinum Anticancer Drugs, *J Am Chem Soc*. 141 (2019) 12109–12120. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b05550>.
- [238] B. Thati, A. Noble, B.S. Creaven, M. Walsh, K. Kavanagh, D.A. Egan, Apoptotic cell death: A possible key event in mediating the in vitro anti-proliferative effect of a novel copper(II) complex, [Cu(4-Mecdoa)(phen)₂] (phen = phenanthroline, 4-Mecdoa = 4-methylcoumarin-6,7-dioxactetate), in human malignant cancer cells, *Eur J Pharmacol*. 569 (2007) 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.04.064>.
- [239] Q.P.D. Zhen Zhang, Caifeng Bi, Sara M. Schmitt, Yuhua Fan, Lili Dong, Jian Zuo, 1,10-phenanthroline promotes copper complexes into tumor cells and induces apoptosis by inhibiting the proteasome activity, *J Biol Inorg Chem*. 17 (2012) 1257–1267. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>.
- [240] A. Rezaei, S.K. Falahati-Pour, F. Mohammadzadeh, M.R. Hajizadeh, M.R. Mirzaei, A. Khoshdel, M.A. Fahmidehkar, M. Mahmoodi, Effect of a Copper (II) complex on the induction of apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 19 (2018) 2877–2884. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.10.2877>.
- [241] . Z. Qiwei, J. Hongbin, Z. Zhongcheng, Y. Xiang, S. Lanyin, L. Xinyuan, Copper Induces Apoptosis in BA/F3beta Cells: Bax, Reactive Oxygen Species, and NFκB Are Involved, *J Cell Physiol*. 184 (2000) 161–170.
- [242] A. Hussain, M.F. AlAjmi, M.T. Rehman, S. Amir, F.M. Husain, A. Alsalme, M.A. Siddiqui, A.A. AlKhedhairy, R.A. Khan, Copper(II) complexes as potential anticancer and Nonsteroidal anti-inflammatory agents: In vitro and in vivo studies, *Sci Rep*. 9 (2019) 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41063-x>.
- [243] X. Mo, Z. Chen, B. Chu, D. Liu, Y. Liang, F. Liang, Structure and anticancer activities of four Cu(ii) complexes bearing tropolone, *Metallomics*. 11 (2019) 1952–1964. <https://doi.org/10.1039/c9mt00165d>.
- [244] I. Naletova, C. Satriano, A. Curci, N. Margiotta, G. Natile, G. Arena, D. La Mendola, V.G. Nicoletti, E. Rizzarelli, Cytotoxic phenanthroline derivatives alter

- metallostasis and redox homeostasis in neuroblastoma cells, *Oncotarget*. 9 (2018) 36289–36316. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26346>.
- [245] L.G. Naso, J.J. Martínez Medina, F. D'Alessandro, M. Rey, A. Rizzi, O.E. Piro, G.A. Echeverría, E.G. Ferrer, P.A.M. Williams, Ternary copper(II) complex of 5-hydroxytryptophan and 1,10-phenanthroline with several pharmacological properties and an adequate safety profile, *J Inorg Biochem*. 204 (2019) 110933. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110933>.
- [246] J.J. Martínez Medina, M.S. Islas, L.L. López Tévez, E.G. Ferrer, N.B. Okulik, P.A.M. Williams, Copper(II) complexes with cyanoguanidine and o-phenanthroline: Theoretical studies, in vitro antimicrobial activity and alkaline phosphatase inhibitory effect, *J Mol Struct*. 1058 (2014) 298–307. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2013.11.014>.
- [247] J.J. Martínez Medina, C.A. Torres, W.S. Alegre, C.A. Franca, L.L. López Tévez, E.G. Ferrer, N.B. Okulik, P.A.M. Williams, DFT vibrational assignments, in vitro antifungal activity, genotoxic and acute toxicity determinations of the $[Zn(phen)_2(cnge)(H_2O)](NO_3)_2 \cdot H_2O$ complex, *J Mol Struct*. 1100 (2015) 366–375. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.07.061>.
- [248] S. Chandraleka, K. Ramya, G. Chandramohan, D. Dhanasekaran, A. Priyadharshini, A. Panneerselvam, Antimicrobial mechanism of copper (II) 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridyl complex on bacterial and fungal pathogens, *Journal of Saudi Chemical Society*. 18 (2014) 953–962. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2011.11.020>.
- [249] M.H. Sharaf, G.M. El-Sherbiny, S.A. Moghannem, M. Abdelmonem, I.A. Elsehemy, A.M. Metwaly, M.H. Kalaba, New combination approaches to combat methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Sci Rep*. 11 (2021) 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82550-4>.

ANEXOS

Tabela 9. Coordenadas atômicas ($\times 10^4$) e parâmetros equivalentes de deslocamento isotrópico ($\text{Å}^2 \times 10^3$) para Cu(Fen)(Asn).

Átomo	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	U(eq)
Cu	5061,9(11)	6869,7(6)	7630,4(5)	34,9(2)
Cl	1140(2)	8064,2(15)	7214,0(11)	42,3(3)
O1	4354(7)	5299(4)	8352(3)	38,9(9)
N2	6331(7)	5873(4)	6288(3)	33,0(9)
O1W	8433(8)	6081(6)	8072(4)	52,9(12)
N3	3770(7)	7747(4)	9031(3)	32,5(9)
O2	2615(10)	4595(5)	9809(4)	63,8(17)
N1	5990(7)	8372(4)	6759(3)	33,2(9)
C10	6563(10)	10522(6)	6298(5)	44,8(14)
C7	8462(10)	8407(7)	3925(5)	48,0(15)
C13	3209(11)	5495(6)	9262(4)	42,7(14)
C12	6863(8)	8006(5)	5743(4)	30,1(9)
C8	7607(9)	8865(6)	4973(4)	36,9(11)
C5	7901(9)	6215(6)	4462(4)	37,4(11)
C4	8086(10)	4875(7)	4268(5)	45,4(14)
C9	7419(10)	10177(6)	5274(5)	43,9(13)
C2	6516(10)	4599(6)	6089(5)	40,5(12)
C3	7400(10)	4070(6)	5086(5)	44,6(14)
C11	5838(10)	9612(6)	7012(5)	41,3(13)
C1	7013(8)	6664(6)	5482(4)	32,8(10)
C6	8596(11)	7135(8)	3678(5)	49,9(16)
N4	1570(30)	9240(20)	11462(18)	43(3)
O3	-1250(20)	9190(20)	11060(17)	45(3)
C15'	628(16)	7450(11)	10221(9)	37(2)
C14'	2897(17)	6847(10)	9798(8)	30(2)
C16'	-130(30)	8701(15)	10884(13)	35(4)
C14	2232(18)	7034(10)	9568(7)	26(2)
C15	1630(17)	7145(10)	10752(7)	32(2)
C16	520(30)	8599(14)	11102(12)	32(3)
O3'	-1960(20)	9340(20)	11060(20)	51(4)
N4'	1110(30)	9023(19)	11299(17)	48(4)
O2W'	5670(30)	8040(20)	10810(20)	79(6)
O2W	5750(40)	7790(30)	11400(20)	103(9)

Tabela 10. Comprimentos de ligação para Cu(Fen)(Asn).

Átomo	Átomo	Comprimento/Å	Átomo	Átomo	Comprimento/Å
Cu	O1	1,980(4)	C13	C14	1,550(11)
Cu	N2	1,960(4)	C12	C8	1,425(7)
Cu	N3	1,975(4)	C12	C1	1,422(7)
Cu	N1	2,063(4)	C8	C9	1,400(9)

O1	C13	1,253(6)	C5	C4	1,389(9)
N2	C2	1,323(7)	C5	C1	1,374(7)
N2	C1	1,390(6)	C5	C6	1,467(9)
N3	C14'	1,492(10)	C4	C3	1,411(9)
N3	C14	1,527(11)	C2	C3	1,377(8)
O2	C13	1,261(7)	N4	C16	1,35(2)
N1	C12	1,349(6)	O3	C16	1,23(2)
N1	C11	1,315(7)	C15'	C14'	1,500(13)
C10	C9	1,353(9)	C15'	C16'	1,481(14)
C10	C11	1,417(8)	C16'	O3'	1,230(19)
C7	C8	1,408(8)	C16'	N4'	1,30(2)
C7	C6	1,350(10)	C14	C15	1,519(11)
C13	C14'	1,540(11)	C15	C16	1,493(13)

Tabela 11. Ângulos de ligação para Cu(Fen)(Asn).

Átomo	Átomo	Átomo	Ângulo/°	Átomo	Átomo	Átomo	Ângulo/°
O1	Cu	N1	174,30(16)	C9	C8	C12	118,7(5)
N2	Cu	O1	92,94(17)	C4	C5	C6	125,2(5)
N2	Cu	N3	175,80(18)	C1	C5	C4	115,1(5)
N2	Cu	N1	81,54(17)	C1	C5	C6	119,7(5)
N3	Cu	O1	82,91(16)	C5	C4	C3	120,5(5)
N3	Cu	N1	102,59(17)	C10	C9	C8	116,5(5)
C13	O1	Cu	117,9(3)	N2	C2	C3	119,6(5)
C2	N2	Cu	127,2(4)	C2	C3	C4	120,8(5)
C2	N2	C1	119,6(4)	N1	C11	C10	124,0(5)
C1	N2	Cu	113,1(3)	N2	C1	C12	117,5(4)
C14'	N3	Cu	112,0(5)	C5	C1	N2	124,4(5)
C14	N3	Cu	105,3(4)	C5	C1	C12	118,1(5)
C12	N1	Cu	112,9(3)	C7	C6	C5	122,3(5)
C11	N1	Cu	131,7(4)	C16'	C15'	C14'	116,7(11)
C11	N1	C12	115,4(5)	N3	C14'	C13	110,3(7)
C9	C10	C11	121,2(6)	N3	C14'	C15'	112,5(9)
C6	C7	C8	118,5(6)	C15'	C14'	C13	104,4(8)
O1	C13	O2	124,8(5)	O3'	C16'	C15'	116(2)
O1	C13	C14'	115,4(6)	O3'	C16'	N4'	123,8(15)
O1	C13	C14	112,1(5)	N4'	C16'	C15'	119,9(17)
O2	C13	C14'	118,6(6)	N3	C14	C13	107,9(7)
O2	C13	C14	122,0(6)	C15	C14	N3	114,4(8)
N1	C12	C8	124,1(5)	C15	C14	C13	107,4(7)
N1	C12	C1	114,7(4)	C16	C15	C14	110,1(9)
C1	C12	C8	121,1(5)	N4	C16	C15	116,2(18)
C7	C8	C12	120,3(6)	O3	C16	N4	121,8(16)
C9	C8	C7	121,0(5)	O3	C16	C15	122,1(19)

Tabela 12. Comprimentos e ângulos das ligações de hidrogênio para Cu(Fen)(Asn).

Doador	---H	... Acceptor	D - H	H... A	D... A	D - H... A
1 O1W	--H1WA	..C1	0,85	2,4	3,240(6)	169
1 O1W	--H1WB	..O2	0,85	2,01	2,819(7)	159
1*N4'	--H4'A	..C1	0,86	2,54	3,40(2)	170
1 N3	--H3A	..O2W'	0,89	2,37	3,11(3)	141
1 N3	--H3B	..O3	0,89	2,27	3,11(2)	157
1 N3	--H3B	..O3'	0,89	2,1	2,88(2)	145'
1*N4'	--H4'B	..O2W'	0,86	2,17	2,99(3)	160
1*N4'	--H4'B	..O2W	0,86	2,39	3,19(4)	154'
1*N4	--H4A	..C1	0,86	2,34	3,15(2)	158
1*N4	--H4B	..O2W'	0,86	1,92	2,71(3)	151
1*N4	--H4B	..O2W	0,86	2	2,86(4)	175'
2*O2W'	--H2WA	..O2	0,85	2,11	2,68(2)	125
2*O2W'	--H2WB	..O3	0,85	2,13	2,94(3)	162
2*O2W'	--H2WB	..O3'	0,85	1,76	2,60(3)	171'
3*O2W	--H2WC	..O3	0,85	2,13	2,91(4)	152
3*O2W	--H2WC	..O3'	0,85	1,89	2,60(4)	141'
3*O2W	--H2WD	..O2	0,84	2,07	2,77(3)	141
Intra 1 C2	--H2	..O1	0,93	2,51	3,007(8)	114
1 C4	--H4	..O1W	0,93	2,55	3,395(9)	152
1 C11	--H11	..O2W	0,93	2,54	3,24(3)	132
1 C11	--H11	..O3'	0,93	2,39	3,17(2)	142'
Intra 1*C14	--H14	..C1	0,98	2,82	3,446(10)	123
1*C14'	--H14'	..O2W'	0,98	2,6	3,26(3)	125
1*C14'	--H14'	..O2	0,98	2,58	3,245(14)	125'
Intra 1*C15'	--H15B	..O2	0,97	2,46	2,849(12)	104