



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



JAYSON CABRAL DOS SANTOS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO DE
COBRE(II) COM OS LIGANTES 1,10-FENANTROLINA E
PROLINA PARA POTENCIAL USO COMO ANTITUMORAL**

Imperatriz - MA,
2022

JAYSON CABRAL DOS SANTOS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO DE
COBRE(II) COM OS LIGANTES 1,10-FENANTROLINA E
PROLINA PARA POTENCIAL USO COMO ANTITUMORAL**

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

Área de concentração: Ciências Exatas e da Terra

Orientador: Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos

Imperatriz - MA,

2022

Cabral dos Santos, Jayson.

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO DE COBRE II COM OS
LIGANTES 1,10-FENANTROLINA E PROLINA PARA POTENCIAL USO
COMO ANTITUMORAL / Jayson Cabral dos Santos. - 2022.

95 f.

Orientador(a): Adenilson Oliveira dos Santos.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Ciência dos Materiais/ccim, Universidade Federal do
Maranhão, Imperatriz, 2022.

1. Atividade antitumoral. 2. Complexo Metálico. 3.
DFT. 4. FT-IR. I. Oliveira dos Santos, Adenilson. II.
Título.

Membros da comissão julgadora da defesa da dissertação de mestrado do aluno Jayson Cabral dos Santos apresentada e aprovada ao Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM), em 22/12/2022.

COMISSÃO JULGADORA:

- Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos (PPGCM/UFMA) - Presidente e Orientador.
- Prof. Dr. José Alves de Lima Júnior (PPGF/UFC) - Avaliador externo.
- Prof. Dr. Mateus Ribeiro Lage (PPGCM/UFMA) - Avaliador(a) interno.

OBS.: Ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se na coordenação do programa da unidade.

A minha mãe Maria Euza Cabral dos Santos, por todo amor, dedicação e apoio durante os dias bons e especialmente os difíceis. A minha irmã, Jaiane Cabral, pelo companheirismo e a todos os meus familiares por serem um alicerce fundamental.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde, proteção e amor.

A minha família, em especial minha mãe, por serem fundamentais nessa conquista.

Ao Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos, pela orientação e ter me dado a oportunidade de aprender, crescer profissionalmente, como cientista e pesquisador. Ao longo da jornada percebi que para ser melhor é necessário estar entre os melhores.

Aos amigos, Walajhone Oliveira Pereira pelo auxílio no desenvolvimento do meu material, Jailton Romão Viana pelas inestimáveis contribuições e ensinamentos nos cálculos computacionais.

A, João Gomes de Oliveira Neto, pelos ensinamentos desde a época de IC, com você as dificuldades foram amenizadas, obrigado por ser parceiro e professor.

Aos amigos e companheiros acadêmicos e da vida, Ana Beatriz Nunes Moreira e Jacivan Viana Marques pelo companheirismo, parceria acadêmica e inestimáveis momentos de alegria.

Aos amigos e companheiros de caminhada acadêmica, Anderson Pedrosa da Silva, Ayslla Campos Moura, Ayla de Lucena Araújo e Taís Silva Moraes pelas contribuições e ajuda nos momentos difíceis e proporcionar também momentos de alegria.

Aos membros do LDRX, Kamila, Jardel, Jade, Marinaldo e todos os outros. Obrigado!

A todos os laboratórios do programa e seus respectivos professores e alunos que me ajudaram de forma direta ou indiretamente nas caracterizações deste trabalho. Em especial aos amigos, Otávio Cândido, Henrique Queiroz e Raychimam Douglas.

Aos laboratórios parceiros representados pelo Prof. Dr. Francisco Ferreira de Souza da UFPA, grupo de pesquisadores do Laboratório de e Investigação Terapêutica (LaFIT) e Laboratório de Oncologia Experimental, Núcleo de Pesquisa em Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM).

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da UFMA pelos conhecimentos em sala de aula e laboratoriais.

A todos da UFMA pela cordialidade. Obrigado!

A UFMA, CNPQ e CAPES pelo apoio à pesquisa, e à FAPEMA pela bolsa concedida.

Uma vida sem reflexão não merece ser vivida - Sócrates

RESUMO

O câncer se diferencia de maneira muito específica com relação a outras doenças porque existe uma proliferação anormal celular, afetando os processos das outras células, disseminando esse distúrbio, podendo se espalhar por várias partes do corpo. Por causa disso, o câncer é um dos grandes desafios enfrentados pela medicina. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho é obter um cristal a partir de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina e realizar o estudo de propriedades estruturais, ópticas, vibracionais e térmicas do material, além de um estudo computacional e de um teste de atividade antitumoral do complexo de coordenação formado. O cristal foi obtido após um período de 10 dias com coloração azul escura em forma de agulhas, foi caracterizado por DRX, com refinamento Rietveld, UV-Vis, FT-IR, Raman, TG, DTA, DSC, DRX em função da temperatura com refinamento Le Bail, avaliação da atividade antitumoral *in vitro* e um estudo teórico do complexo de coordenação foi realizado empregando-se a DFT. De acordo com a espectroscopia UV-Vis a complexação do cristal ocorreu em pH 6,3, o DRX em temperatura ambiente demonstrou que o complexo apresenta estrutura monoclinica com grupo espacial $P2_1$. O estudo DFT demonstrou que o índice de eletrofilicidade (ω) do complexo de coordenação estudado é maior que de outros compostos reportados na literatura, sendo este um parâmetro importante no estudo do potencial de um material apresentar atividade antitumoral. A partir do FT-IR e Raman ficou evidenciado a complexação do íon de cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e prolina. Os estudos térmicos indicaram que o material tem estabilidade térmica até 52°C, ou seja, superior à temperatura normal do corpo humano, o que favorece sua utilização como antitumoral, além de apresentar transformação de fase a partir de 57°C. A análise de DRX em função da temperatura confirmou os eventos indicados na análise térmica e através do refinamento pelo método Le Bail foram obtidos os dados cristalográficos da nova fase, com modificação de seu sistema de monoclinico para triclínico de grupo espacial $P1$. Os testes biológicos confirmaram a atividade antitumoral do complexo de coordenação, para as linhagens PC3 e SNB-19 os valores de IC50 ficaram respectivamente 1,5 e 2,9 μM . A atividade biológica apresentada pelo complexo estudado é maior que dá cisplatina e outros complexos de cobre reportados na literatura. Dessa forma, os resultados obtidos nesse estudo sugerem que o complexo de cobre(II) com os ligantes 1,10-Fenantrolina e Prolina apresenta potencial de aplicação no tratamento quimioterápico de células cancerígenas.

Palavras-chave: Complexo Metálico; DFT; FT-IR; Atividade antitumoral

ABSTRACT

Cancer differs in a very specific way from other diseases because there is an abnormal cellular perspective, affecting the processes of other cells, spreading this disorder, and can be restricted to various parts of the body. Because of this, cancer is one of the great challenges facing medicine. In this context, the objective of this work is to obtain a crystal from copper(II), 1,10-Phenanthroline and proline and to carry out the study of aquatic, optical, vibrational and thermal properties of the material, in addition to a computational study and a antitumor activity test of the formed coordination complex. The crystal was obtained after a period of 10 days with dark blue needle-shaped colors, characterized by XRD, with Rietveld refinement, UV-Vis, FT-IR, Raman, TG, DTA, DSC, XRD as a function of temperature with Le Bail refinement, evaluation of in vitro antitumor activity and a theoretical study of the coordination complex was performed using DFT. According to UV-Vis spectroscopy, the complexation of the crystal occurred at pH 6.3, XRD at room temperature showed that the complex has a monoclinic structure with space group P21. The DFT study proved that the electrophilicity index (ω) of the studied coordination complex is higher than that of other compounds reported in the literature, which is an important parameter in the study of the potential of a material to present antitumor activity. From the FT-IR and Raman, the complexation of the copper(II) ion with 1,10-Phenanthroline and proline was evidenced. The thermal studies indicated that the material has thermal stability at 52°C, that is, higher than the normal temperature of the human body, which favors its use as an antitumor, in addition to presenting phase transformation from 57°C. XRD analysis as a function of temperature confirmed the events indicated in the thermal analysis and through refinement by the Le Bail method, the crystallographic data of the new phase were obtained, with modification of its system from monoclinic to triclinic of space group P1. The biological tests confirmed the antitumor activity of the coordination complex, for the PC3 and SNB-19 strains the IC50 values remained respectively 1.5 and 2.9 μM . The biological activity presented by the complex studied is greater than that of cisplatin and other copper complexes reported in the literature. Thus, the results obtained in this study suggest that the complex of copper(II) with the ligands 1,10-Phenanthroline and Proline has potential for application in the chemotherapy treatment of cancer cells.

Keywords: Metallic Complex; DFT; FT-IR; antitumor activity

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

- **Patentes depositadas:**

- RAMOS, M. C.; OLIVEIRA NETO, J. G.; **SANTOS, J. C.**; SILVA, C. R.; SANTOS, A. O. FILME BIODEGRADÁVEL COM PROPRIEDADE ANTITUMORAL E SEU PROCESSO DE OBTENÇÃO. 2020, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020200027450, título: "FILME BIODEGRADÁVEL COM PROPRIEDADE ANTITUMORAL E SEU PROCESSO DE OBTENÇÃO". Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 10/02/2020.

- **Participação em eventos científicos:**

- XX Brazil MRS Meeting 2022
- XXI Seminário de iniciação científica – SEMIC, 2019
- XXI Seminário de iniciação científica – SEMIC, 2020

- **Resumos publicados em anais de congressos:**

- **SANTOS, J, C**; OLIVEIRA NETO, J. G.; MARQUES, J. V.; MOREIRA, A. B. N; SANTOS, A. O. PREPARATION AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION ACCORDING TO THE TEMPERATURE OF THE CYTOSINE CRYSTAL. In: XX Brazil MRS Meeting 2022, 2022, Foz da Iguaçu. XX Brazil MRS Meeting 2022, 2022. v. 1. p. 1.
- **SANTOS, J, C.**; MARQUES, J. V.; OLIVEIRA NETO, J. G.; SANTOS, A. O. GROWTH, STRUCTURAL AND OPTICAL PROPERTIES OF LUMINESCENT Eu³⁺ and Mn²⁺ L-THREONINE DOPED CRYSTALS. In: XX Brazil MRS Meeting 2022, 2022, Foz da Iguaçu. XX Brazil MRS Meeting 2022, 2022. v. 1. p. 1.
- MARQUES, J. V.; OLIVEIRA NETO, J. G.; LOPES, J. B. O.; VIANA, J. R.; **SANTOS, J, C.**; SANTOS, A. O.; LANG, R. (NH₄)₂Zn(1-X) NiX (SO₄)₂(H₂O)₆ crystals: Synthesis, structural, thermal and vibrational properties. In: XX Brazil

MRS Meeting 2022, 2022, Foz da Iguaçu. XX Brazil MRS Meeting 2022, 2022. v. 1. p. 1.

- **Apresentação de Trabalhos:**

- **SANTOS, J. C.; SANTOS, A. O.** Crescimento e estudo estrutural, térmico e óptico de cristais sulfatados dopados e codopados com íons lantanídeos (Sm^{3+} , Tb^{3+} e Dy^{3+}) para emissão de luz visível. 2021. (Apresentação de Trabalho/Seminário).
- **SANTOS, J. C.; SANTOS, A. O.** Preparação e Caracterização Estrutural em Função da Temperatura do Cristal de Citosina. 2020. (Apresentação de Trabalho/Seminário).
- **RAMOS, M. C.; OLIVEIRA NETO, J. G.; SANTOS, G. C.; REIS, I. F. S.; SANTOS, J. C.; SANTOS, A. O.** Synthesis and characterization of 1,10-phenanthroline and serine complexed with copper (II). 2020. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
- **SANTOS, J. C.; SANTOS, A. O.** Síntese e Caracterização por Difração de Raios X do Cristal de Fenantrolina e Serina Complexado com íon Cu^{2+} . 2019. (Apresentação de Trabalho/Seminário).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Capacidades adquiridas pelas células cancerígenas que dificultam o combate a sua proliferação pelo corpo humano.	19
Figura 2 - Representação de como ocorre a proliferação de células cancerosas para outros órgãos e tecidos	20
Figura 3 - Representação de um íon metálico (cobre) coordenado com ligantes (1,10-Fenantrolina)	21
Figura 4 - Representação de uma interação Cu^{2+} , bases schiff com a molécula de DNA	23
Figura 5 - Espectro de radiação X em função do comprimento de onda em torno de 0,1 nm....	25
Figura 6 - Representação da Lei de lei de Bragg incidindo sobre um cristal	26
Figura 7 - Espectro de radiação eletromagnética, com a faixa de luz visível	28
Figura 8 - A natureza ondulatória de uma onda eletromagnética, como a luz	28
Figura 9 - Movimentos vibracionais.....	30
Figura 10 - Exemplificação de um espalhamento Raman (Stokes e Anti-Stokes)	31
Figura 11 - Representação gráfica da perda de massa em função da temperatura	32
Figura 12 - Representação das curvas de temperatura da amostra e da temperatura diferencial em função de T.....	33
Figura 13 - Representação do fluxo de calor em função da temperatura	34
Figura 14 - Difratorômetro da PANalytical modelo Empyrean	37
Figura 15 - Espectrofotômetro UV-Vis SHIDMADZU	38
Figura 16 - Espectrômetro FT-IR marca Bruker modelo Vertex 70V.	39
Figura 17 - Espectrômetro Raman marca Jobin-Yvon modelo T64000.....	40
Figura 18 - Analisador térmico (TG/DTA) marca Shimadzu modelo DTG-60.....	40
Figura 19 - Analisador térmico (DSC) marca Shimadzu modelo DSC-60	41
Figura 20 - Espectros de absorbância da solução do cristal FPCu em pH 2,3 e 6,3.....	43
Figura 21 - Coloração das soluções do complexo FPCu em a) pH = 2,3 e b) pH = 6,3.....	44
Figura 22 - Cristal ternário de Cu com 1,10-Fenantrolina e Prolina.....	45
Figura 23 - Morfologia do cristal FPCu.	45
Figura 24 - Difratograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre, 1,10 Fenantrolina e Prolina	46
Figura 25 - Célula unitária do cristal de Cobre com 1,10-Fenantrolina e Prolina	47

Figura 26 - Gráficos de comparação do cálculo computacional e valores experimentais dos comprimentos das ligações do complexo FPCu em solvatação utilizando solvente metanol (a) e vácuo (b)	48
Figura 27 - Gráficos de comparação do cálculo computacional e valores experimentais dos ângulos das ligações do complexo FPCu em solvatação utilizando solvente metanol (a) e vácuo (b)	48
Figura 28 - Geometria otimizada do complexo FPCu obtida pelo método DFT/PBE1PBE com cálculo no vácuo e solvatação com solvente metanol.....	49
Figura 29 - Orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO para o complexo FPCu calculados com o método DFT/PBE1PBE utilizando cálculo de solvatação com metanol como solvente.....	50
Figura 30 - Orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO para o complexo FPCu calculados com o método DFT/PBE1PBE no vácuo	50
Figura 31 - Mapa de potencial eletrostático molecular com superfícies semitransparente para o complexo FPCu calculado com o método DFT/PBE1PBE no vácuo e em solvatação utilizando metanol como solvente	52
Figura 32 - Espectros teórico e experimental de FT-IR do cristal ternário FPCu na faixa espectral de 2800 a 4000 cm^{-1}	56
Figura 33 - Espectros Raman teórico e experimental do cristal FPCu na faixa espectral de 2800 a 3200 cm^{-1}	57
Figura 34 - Espectros teórico e experimental de FT-IR do cristal ternário FPCu na faixa espectral de 800 a 1800 cm^{-1}	59
Figura 35 - Espectros Raman teórico e experimental do cristal FPCu na faixa espectral de 800 a 1800 cm^{-1}	60
Figura 36 - Espectros teórico e experimental de FT-IR do cristal ternário FPCu na faixa espectral de 400 a 800 cm^{-1}	62
Figura 37 - Espectros Raman teórico e experimental do cristal FPCu na faixa espectral de 40 a 800 cm^{-1}	63
Figura 38 - Curva TG-DTA do cristal de Cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e Prolina	65
Figura 39 - Curva DSC do cristal ternário de Cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e Prolina.	66
Figura 40 - Difrátogramas do cristal ternário FPCu em função da temperatura (27 a 242°C).	67

Figura 41 - Transformação de fase do complexo FPCu no intervalo angular 2θ entre 8 e 30°	68
Figura 42 - Variação dos parâmetros de rede a, b e c do cristal FPCu em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld..	69
Figura 43 - Variação do ângulo β do cristal FPCu obtidos em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld.....	69
Figura 44 - Variação do volume do cristal FPCu obtidos em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld.....	70
Figura 45 - Dilatação térmica do cristal FPCu obtidos em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld.....	71
Figura 46 - Padrão de raios X em 107°C refinado pelo método Le Bail para o composto de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina após a transformação de fase.....	72
Figura 47 - Curva dose-resposta obtida pela análise de citotoxicidade do complexo FPCu em células PC3 (a) e SNB-19 (b)	74
Figura 48 - Curva analítica obtida para a solubilidade do cristal FPCu em água e a respectiva concentração do material medido em absorbância em função do comprimento de onda (nm) ..	75
Figura 49 - Perfil de solubilidade do complexo FPCu em função do tempo(min)	76
Figura 50 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre com 1,10 Fenantrolina e Prolina com variação de temperatura em 37°C	95
Figura 51 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre com 1,10 Fenantrolina e Prolina com variação de temperatura em 42°C	96
Figura 52 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre com 1,10 Fenantrolina e Prolina com variação de temperatura em 47°C	97
Figura 53 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre com 1,10-Fenantrolina e Prolina com variação de temperatura em 52°C	97
Figura 54 - Curva dose-resposta obtida pela análise de citotoxicidade do complexo FPCu em células normais	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados cristalográficos para o composto ternário de Cobre com 1,10-Fenantrolina e Prolina.....	46
Tabela 2 - Dados teóricos dos comprimentos e ângulos das ligações do complexo FPCu calculados com o funcional DFT/PBE1PBE no vácuo e em solvente comparado com os dados experimentais.....	48
Tabela 3 - Valores dos parâmetros termodinâmicos para o complexo FPCu calculados em solvatação utilizando solvente metanol e no vácuo.....	53
Tabela 4 - Valores dos descritores de reatividade química para o complexo FPCu calculados com o método DFT/PBE1PBE comparados com dados da cisplatina.....	54
Tabela 5 - Atribuições dos modos vibracionais FT-IR e Raman para o cristal FPCu na faixa espectral de 2800 a 4000 cm^{-1}	57
Tabela 6 - Atribuições dos modos vibracionais FT-IR e Raman para o cristal FPCu na faixa espectral de 800 a 1800 cm^{-1}	60
Tabela 7 - Atribuições dos modos vibracionais FT-IR e Raman para o cristal FPCu na faixa espectral de 40 a 800 cm^{-1}	63
Tabela 8 - IC50 do complexo FPCu para as linhagens PC3 e SNB-19 comparados com a cisplatina e complexos de cobre já reportado na literatura	73
Tabela 9 - Concentração das soluções padrão do cristal ternário FPCu utilizada para a construção da curva analítica (Absorbância = 617 nm)	75
Tabela 10 - Concentração do complexo FPCu em função do tempo(min)	77
Tabela 11 - Dados teóricos dos comprimentos e ângulos das ligações do complexo FPCu calculados com os funcionais PBE1PBE em comparação com os dados experimentais	93
Tabela 12 - Dados cristalográficos para o complexo de Cobre com 1,10-Fenantrolina e Prolina após o refinamento pelo método de Rietveld e Le Bail	94

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 Câncer: tratamento e perspectivas.....	19
2.2 Complexos metálicos: crescimento e aplicações antitumorais.....	22
2.3 Complexos de cobre e atividade antitumoral	23
2.4 Técnicas de Caracterização.....	25
2.4.1. Difração de Raios X.....	25
2.4.2 Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis).....	28
2.4.3 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR).....	30
2.4.4 Espectroscopia Raman	31
2.4.5 Análises Térmicas	32
2.5 Estudo Computacional	35
2.5.1 Teoria do funcional da densidade (DFT).....	35
3. METODOLOGIA.....	37
3.1. Síntese do cristal de cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e L-Prolina.....	37
3.2 Caracterizações	38
3.2.1 Difração de raios X.....	38
3.2.2 Análise óptica UV-Vis	39
3.2.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	39
3.2.4 Espectroscopia Raman	40
3.2.5 Análise Térmica	41
3.2.6 Avaliação da atividade antitumoral <i>in vitro</i>	42
3.2.7 Ensaio de solubilidade	43
3.3 Estudo computacional	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44

4.1 Síntese do cristal de cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e L-Prolina.....	44
4.2 Difração de Raios X e Refinamento pelo método de Rietveld	46
4.3 Estudo computacional	48
4.4 Análise Vibracional	55
4.4.1 Espectroscopia Raman e Infravermelho com transformada de Fourier.....	55
4.5 Análise térmica	64
4.6 Difração de raios X em função da temperatura.....	66
4.7 Testes químicos e biológicos.....	72
4.7.1 Avaliação da atividade antitumoral <i>in vitro</i>	72
5 CONCLUSÕES.....	78
6 PERSPECTIVAS.....	79
REFERÊNCIAS.....	80
APÊNDICE	92

1. INTRODUÇÃO

O câncer se diferencia de maneira muito específica com relação a outras doenças porque existe uma proliferação anormal celular. Uma célula cancerígena não possui controle sobre nenhum de seus processos metabólicos e de todo o mecanismo celular, afetando os processos das outras células, disseminando esse distúrbio, assim, os tecidos vizinhos, podendo se espalhar por várias partes do corpo. Os tecidos do corpo humano podem se transformar em cancerosos, para isso basta ter o potencial de crescer e se espalhar a quaisquer células, órgão ou mesmo no sistema linfático, se transformando em tumores e estes em metástases [1-3].

O câncer é um dos grandes desafios enfrentados pela medicina, sendo que os principais métodos de tratamento utilizados atualmente são as cirurgias, quimioterapia, radioterapia e terapia direcionada (terapia hormonal, imunológica e genética), entretanto, esses procedimentos envolvem muitos riscos aos pacientes, além de limitações como a recorrências dos tumores. No caso de tratamento com drogas há baixa biodisponibilidade, resistência do organismo, baixa seletividade e muitos efeitos colaterais indesejados [4-5].

Nas últimas décadas, os estudos com complexos metálicos como forma de tratamento do câncer têm aumentado de maneira significativa. Dentre os complexos aqueles contendo 1,10-Fenantrolina tem potencial antitumoral uma vez que esse ligante é uma molécula bioativa e pode produzir complexos com propriedades biológicas e fisiológicas por ter a capacidade de ligação ao DNA [6]. Os complexos com 1,10-Fenantrolina têm sido testados como agentes para ligação, clivagem e modificação oxidativa do DNA, tendo atividades citotóxicas contra várias células cancerosas e não cancerosas [7].

Dentre os complexos, os compostos de cobre são relatados na literatura como potenciais anticancerígenos ou como agentes antimicrobianos, com modo de ação variado, incluindo a interação com o DNA, comprometimento mitocondrial, inibição de proteossoma [8]. Os testes *in vitro* apontam ainda para a capacidade dos complexos de cobre de atuar em processos redox intracelulares e modular a interação com proteínas importantes no ciclo celular. Muitos mecanismos e propriedades anticancerígenas dos complexos de cobre, dentre eles, o cobre-fenantrolina vem sendo explorados pela comunidade científica nos últimos anos, seja o potencial de interação com o DNA ou de retardar a modificação celular, da mesma maneira, a utilização de aminoácidos nesses compostos está numa crescente, mas com muitas possibilidades a serem entendidas. Dentre os aminoácidos, a prolina tem sido bastante estudado [9].

A prolina é classificada como α -aminoácido, não essencial, com características muito específicas que constitui dentre outras coisas na formação do colágeno. Possui um papel importante em funções biológicas, fisiológicas e humanas, dentre elas a capacidade de evitar o envelhecimento das células pela ativação do ciclo redox e manutenção dos nucleotídeos de piridina [10-11]. Nos estudos sobre células cancerígenas, uma das principais funções é agir no retardo a invasão das células defeituosas nos sistemas do corpo humano.

Na literatura é reportada a síntese de complexos com prolina que modificaram o padrão de disseminação dessas células, impedindo o crescimento desordenados dessas células [12-14]. O complexo de cobre, 1,10-Fenantrolina e Prolina já foi sintetizado e determinado sua estrutura [15]. Entretanto, a partir dessas percepções, será realizado novas caracterizações do material, realizando além da análise estrutural, estudos inéditos como vibracionais, térmicas, ópticas, químicas e biológicas, observando a possibilidade desse complexo em ser aplicado em atividade antitumoral.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Câncer: tratamento e perspectivas

O câncer pode se desenvolver ao longo de todo corpo humano, com aumento rápido e irrestrito no número de células cancerígenas podendo alcançar outros tecidos ou órgãos. Dentre a dificuldade de controle e tratamento da doença está o fato de as células defeituosas adquirirem características diversas, como supressão de crescimento reduzida, metástase, elevada atividade de replicação, imortalidade, dentre outras. Esses aspectos da doença interferem diretamente nos variados processos vitais do corpo humano e dificulta a obtenção de tratamento mais eficazes e com menos efeitos colaterais [16].

Existem mais de 100 tipos diferentes de câncer e de subdivisões tumorais que são encontradas em órgãos específicos. Essa ampla quantidade de tipos aumenta ainda mais o desafio da ciência, uma vez que, os genes celulares de cada um desses tipos estão relacionados a modificações na fisiologia celular, classificando o crescimento como maligno ou benigno. Os malignos como demonstrado na Figura 1, por exemplo, têm um ciclo celular que se caracteriza por apoptose e ilimitado poder replicativo. Essas condições representam uma evolução das células cancerígenas significando que o mecanismo de defesa do corpo não conseguiu deter o avanço pelos tecidos e órgão [17].

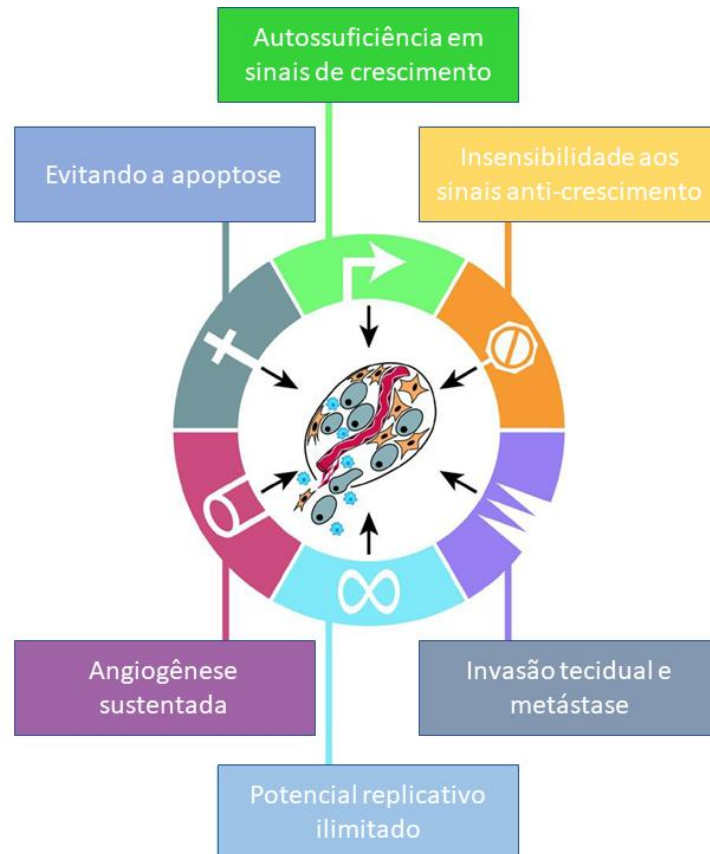


Figura 1 - Capacidades adquiridas pelas células cancerígenas que dificultam o combate a sua proliferação pelo corpo humano.

Fonte: Adaptado da referência [17]

Na Figura 2 abaixo é possível perceber como ocorre o processo de proliferação e ataque a outros tecidos e órgão após as células cancerígenas terem capacidades adquiridas.

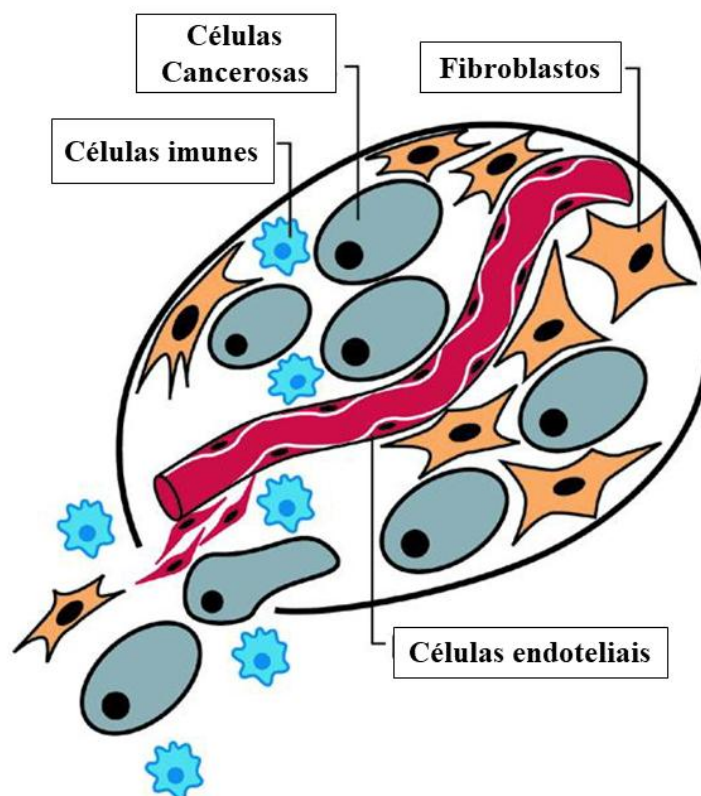


Figura 2 - Representação de como ocorre a proliferação de células cancerosas para outros órgãos e tecidos.

Fonte: Adaptado da referência [17].

As dificuldades para o tratamento da doença ficam evidenciadas quando se percebe como ocorre o processo de disseminação das células anormais, por causa disso, a ciência está sempre em evolução, buscando novas técnicas e métodos que possam ser cada vez mais eficientes e menos danosos a saúde dos pacientes. Os principais tratamentos empregados são as cirurgias, radioterapia, quimioterapia e transplante de medula óssea [17].

A quimioterapia, por exemplo, é uma das técnicas mais tradicionais utilizadas no tratamento e é comumente utilizada seja de maneira monoterápica ou em combinação com radioterapia e cirurgias. Entretanto, o uso do procedimento vem ao longo dos anos ganhando resistências devido os efeitos colaterais e a resistência do organismo a drogas utilizadas, fatores que são as principais causas de ineficácia no tratamento [18].

A radioterapia também é um método clássico onde a radiação quebra as fitas de DNA, provocando lesões que por fim provocam a morte de células cancerosas, entretanto, na maioria das vezes é necessário intervenção cirúrgica para retirada, principalmente tumores, além de não ser possível compreender o tipo de efeito relacionados aos eventos de quebra do DNA e morte celular [19].

Por causa disso, vem sendo desenvolvido outros meios de tratamento, com perspectivas de terapias a níveis moleculares que possam inibir proliferação de células tumorais. Dentre as

terapias tem-se inibidores da tirosina quinase, anticorpos bloqueadores de vasculatura tumoral [20]. Dessa forma, de acordo com forma de utilização e o modo de ação, agentes antitumorais moleculares são classificados como alquilantes ou genotóxicos, no qual se enquadra nesse grupo a cisplatina, agentes microtubulares que atuam como antimetabólitos, por exemplo, o paclitaxel, o metotrexato que age como metabólito bloqueador da doença inibindo sua proliferação e também o grupo de angiogêneses que conseguem modular o sistema imunológico afim de ter a capacidade de defesa aumentada, por exemplo, o bevacizumab [21-22].

2.2 Complexos metálicos: crescimento e aplicações antitumorais

Os estudos sobre complexos metálicos de transição derivam do início do século 20, tanto por interesse da biologia, quanto da medicina. O início das pesquisas com drogas medicinais levou à descoberta de compostos contendo metais como o arsênio, eficaz no tratamento contra a sífilis. Essa descoberta evidenciou o potencial desse tipo de medicamento, provocando uma busca intensa e contínua por fármacos dessa natureza para diversos fins terapêuticos [23].

Os complexos metálicos têm por características terem propriedades eletrônicas, químicas e físicas distintas, com especificidades, o que pode potencializar sua utilização. A maioria dos complexos tem como base, o íon metálico centralizado e coordenado a ligantes [24-25].

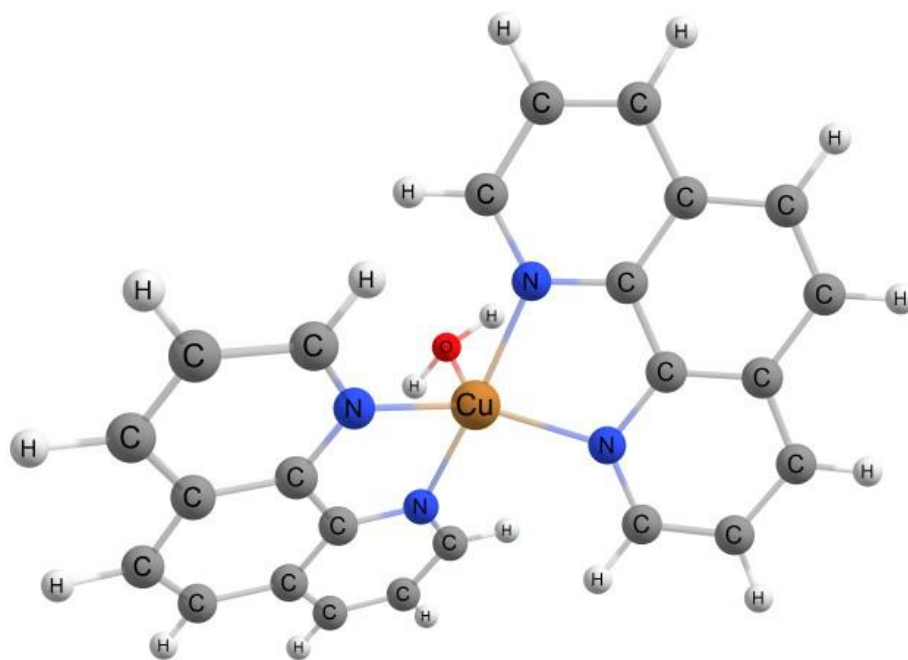


Figura 3 - Representação de um íon metálico (cobre) coordenado com ligantes (1,10-Fenantrolina).

Fonte: Adaptado da referência [26].

Complexo metálicos para potencial aplicação como antitumoral podem ser sintetizados por diversas técnicas diferentes, seja por métodos a vapor, solução ou fusão. Um dos procedimentos mais utilizados é a técnica de evaporação lenta do solvente que tem como vantagens obter cristais com poucos defeitos, contornos de graus com ângulos baixos, além de ser um método simples. Na preparação de cristais orgânicos e inorgânicos com aplicação citotóxica e farmacológica, a técnica de evaporação lenta é bastante utilizada porque os cristais obtidos possibilitam nos diversos tipos de caracterização, como estrutural, térmica e vibracional [27].

Após os estudos sobre o DNA terem largos avanços ao longo dos anos, sua estrutura foi sequenciada, tendo sido descoberto que ela consiste de duas fitas independentes com nucleotídeos numerosos de uma base orgânica e outro grupo fosfato girando em espiral formando uma dupla hélice. Além do entendimento, por exemplo, que os aminoácidos nas cadeias polipeptídicas levam a sequência de nucleotídeos no DNA, sendo necessária para a síntese de proteínas pelas células [28-30] observou-se que os íons metálicos podem de alguma maneira ajudar na estabilização ou clivagem da estrutura do DNA, influenciando a nível celular no desenvolvimento ou retardo de doenças [31-33].

2.3 Complexos de cobre e atividade antitumoral

O cobre tem grande importância em processos vitais como a capacidade de manter a ciclagem redox do sistema biológico, além de ser comprovadamente um fator de controle em processos durante o crescimento, angiogênese e metástase do câncer [34]. Sendo o terceiro metal mais abundante nos organismos, nos estados de oxidação Cu^{1+} e Cu^{2+} participam de funções enzimáticas. Diferentemente, por exemplo, do ferro, o cobre apresenta características específicas de transferência de elétrons, devido ao efeito Jan-Teller em seus orbitais *d*, única com grupos de estados redox variando entre o Cu^{1+} com coordenação para grupos doadores de aminoácidos como a metionina e a cisteína e o Cu^{2+} para grupos como histidina, ácido glutâmico e ácido aspártico [35].

O cobre participa de processos metabólicos e está presente em níveis considerados de desenvolvimento de células cancerígenas, tecidos e soro, deixando evidente que esse metal é necessário para a proliferação e disseminação celular, principalmente porque as células tumorais podem apresentar homeostase anormal do cobre, sendo dessa maneira alvo na busca por terapias [36-37]. Outros complexos metálicos já são amplamente utilizados comercialmente em quimioterapia como é o caso da platina e cisplatina [38-39], no qual a citotoxicidade está

relacionada a interações com alvos celulares como as sequências de DNA capazes de interromper a transcrição celular, e interação com DNA mitocondrial e proteínas [40] porém, efeitos colaterais como neurotoxicidade, toxicidade hematológica, insuficiência renal têm sido associados a esses complexos de platina, além de resistência das células cancerígenas a esses compostos [41].

Por causa disso, outros metais estão sendo utilizados em combinação com ligantes diversos como as bases de schiff, aminoácidos e polipiridina a fim de melhorar a eficácia do tratamento do câncer [42-45]. Complexos de cobre ampliam a possibilidade de novos compostos por serem utilizados em estudos de atividade antibacteriana, antiviral, antimicrobiana, anti-inflamatória e anticancerígena devido às suas propriedades redox e menor toxicidade quando comparados, por exemplo, a complexos de platina. Assim, variando os ligantes coordenados ao íon cobre em complexos de coordenação é possível modular o potencial redox do cobre, com base na ação de radicais livres na região intracelular na presença de oxidantes naturais da célula, podendo tratar o câncer [46].

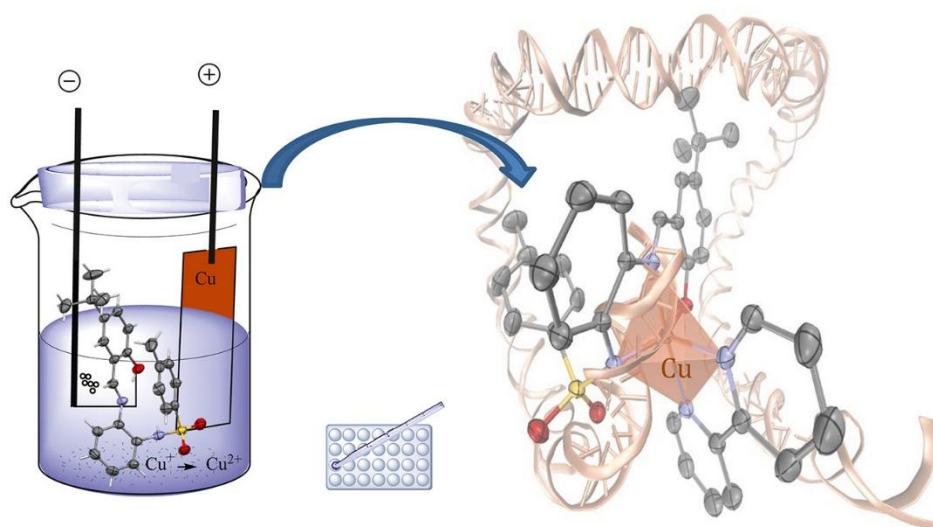


Figura 4 - Representação de uma interação Cu^{2+} , bases schiff com a molécula de DNA.

Fonte: Referência [47].

Dentre os ligantes utilizados na complexação com o cobre(II), a 1,10-Fenantrolina é um ligante bidentado quelante para íons de metais de transição porque exerce papel importante de coordenação por sua versatilidade para química orgânica, inorgânica e supramolecular [48]. Suas características de heteroaromático planar rígido, pobreza de elétrons e o fato de ter dois átomos de nitrogênio no anel atuando como doadores de elétrons, favorecerem a coordenação com íons metálicos [49-50].

Quando a 1,10-Fenantrolina está ligada com Cu^{2+} a capacidade de clivar eficientemente o esqueleto do DNA aumenta, por causa disso, atualmente, ela é muito utilizada nesse tipo de

complexação nos estudos da biologia molecular [51]. Estudos apontam sobre a capacidade do complexo cobre-fenantrolina, tanto com relação a sua permeabilidade de membrana quanto a interação com o DNA. Quando analisado atividade isolada da fenantrolina não foi observada nenhuma fita dupla e níveis muito baixos de quebra da fita simples de DNA, entretanto quando coordenada com cobre(II), a ação direta sobre o DNA atinge o núcleo celular, aumentando a quebra de fitas duplas e atividades antiprolifera de células defeituosas. Essa capacidade de interagir com o DNA pode ser ainda maior se a complexação cobre-fenantrolina ocorre também com aminoácidos, devido esses serem às bases formados das proteínas, necessárias para qualquer atividade celular [50-51].

Dentre os aminoácidos utilizados para complexação com íons metálicos, a prolina tem papel importante em processos biológicos como o crescimento celular, resposta ao estresse oxidativo e osmótico, estabilidade de proteínas e sinalização redox, além de, através de sua via catabólica, ser possível sua utilização como fonte de carbono, nitrogênio e energia pelo organismo [52]. Dentre todos os aminoácidos é aquele que possui a cadeia lateral que se enrola envolta do nitrogênio em ligação peptídica formando anel pirrolidina com cinco membros, sendo, de maneira estrutural, um α – aminoácido, sendo marcador de regiões funcionais e estruturais das proteínas. Quando as proteínas possuem alto teor de prolina, os processos metabólicos, nutricionais, de reconhecimento celular são potencializados, prologando a estabilização desses processos, um exemplo claro são os colágenos, que quanto maior a quantidade de prolina no tecido, maior será a resistência e elasticidade do material [53].

A prolina atua ainda na estabilidade dos processos metabólicos e na manutenção do equilíbrio redox das células. Essas características do aminoácido quando complexada com a 1,10-Fenantrolina e o Cu^{2+} podem ser potencializados, uma vez que o íon metálico e os ligantes bidentado favorecem a interação com alvos biomoleculares. [54].

Os potenciais anticancerígeno de alguns complexos de cobre(II) já são reportados na literatura e alguns complexos envolvendo íons metálicos com prolina disponíveis na literatura demonstraram eficiência citotóxica entre 5-13 vezes comparado com tratamento convencionais, uma vez que foi possível identificar uma redução significativa da taxa de replicação e empacotamento de DNA cancerígeno favorecendo o controle. Os testes *in vitro* apontaram ainda para um aumento da atividade antiproliferativa na DNA topoisomerase [55].

2.4 Técnicas de Caracterização

2.4.1. Difração de Raios X

A difração de Raios X é uma técnica experimental utilizada para determinar a estrutura de materiais novos ou confirmar existentes. A radiação X representa, de acordo com demonstrado na Figura 5 abaixo, uma fração de comprimento de onda equivalente a aproximadamente 0,1 nm, ocorrendo a partir do espalhamento de radiação por meio de um centro de difusão que possui a mesma grandeza do comprimento de onda da radiação [56].

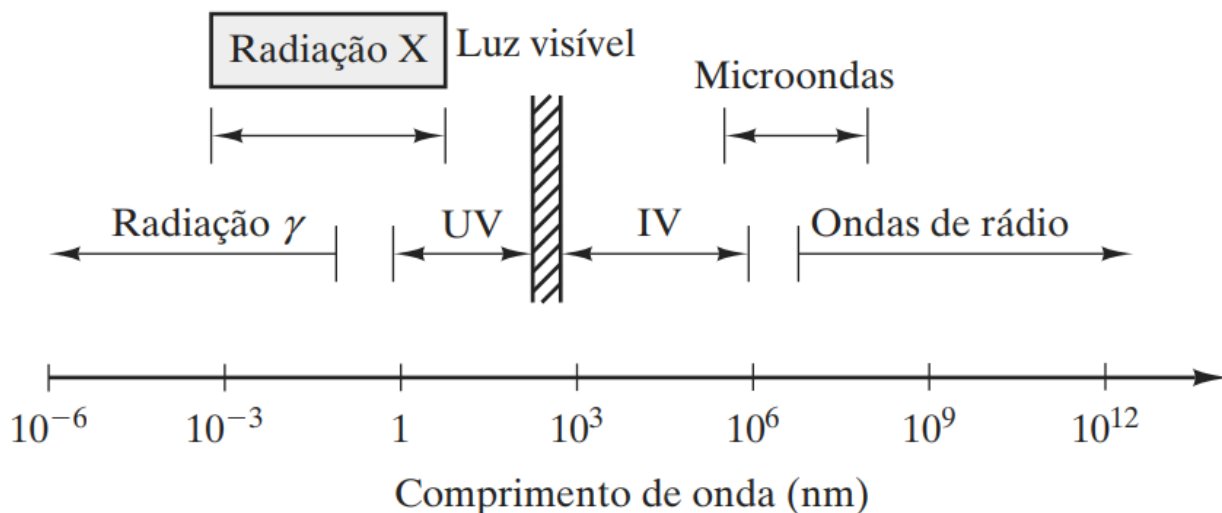


Figura 5 - Espectro de radiação X em função do comprimento de onda em torno de 0,1 nm

Fonte: Referência [56]

A lei de Bragg por sua vez refere-se ao comportamento dos raios X quando incididos sobre determinado cristal. De acordo com a lei, quando um feixe de raios X entra em contato com um sistema cristalinos são gerados feixes e difratados com planos paralelos, porém bastante específicos daquele cristal [56-58]. Quando uma onda plana de comprimento de onda λ , da mesma ordem da distância interplacar, incide em um cristal ocorre o fenômeno de difração. Se a diferença entre os raios incidentes e os raios difratados pelos átomos é igual a um número inteiro vezes o comprimento de onda ocorre uma interferência construtiva como descrito na equação 1.

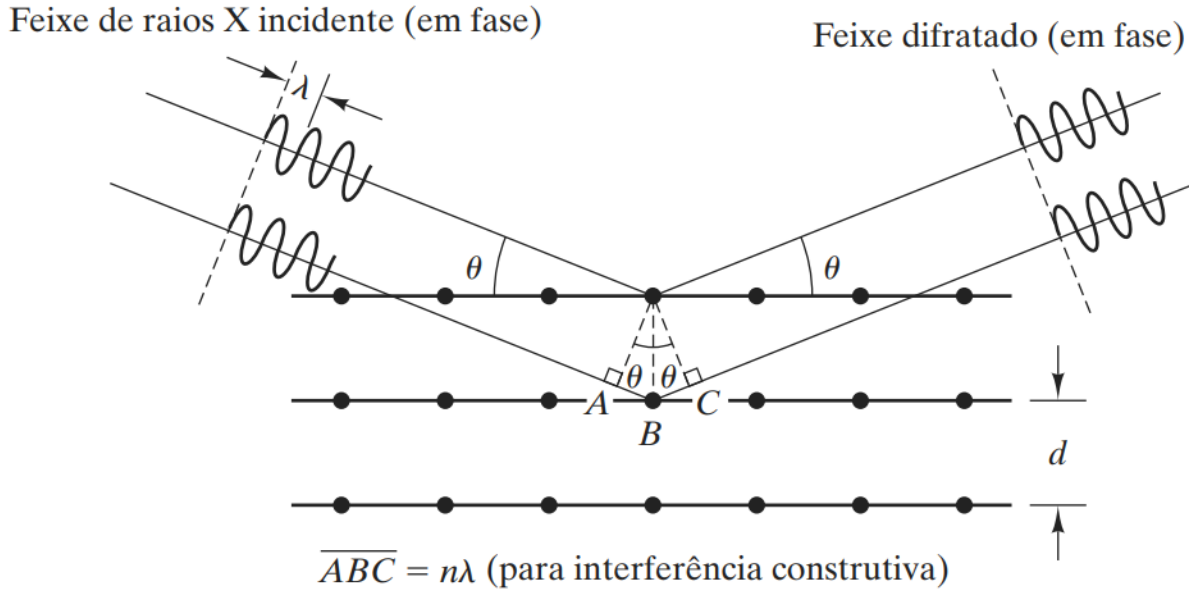


Figura 6 - Representação da Lei de Bragg incidindo sobre um cristal.

Fonte: Referência [56]

$$2d_{hkl} \sin \theta = m\lambda \quad (1)$$

Essa equação é conhecida como Lei de Bragg devido às contribuições dos físicos e matemáticos britânicos William Henry Bragg e seu filho William Laurence Bragg que em 1913, laureados com o Nobel de Física em 1915 por suas contribuições na análise de estruturas cristalinas por meio da difração de raios X

Para realização da difração de raios X, os equipamentos possuem detectores que registra a intensidade dos feixes de raios X difratados, produzindo assim um padrão de difração característico a cada material. Esses difratogramas podem ser analisados através de do método de Rietveld e Le Bail [57; 59-63].

2.4.1.1 Método de Rietveld e Le Bail

O método de Rietveld foi inicialmente desenvolvido na década de 60 por Hugo Rietveld sendo utilizado em conjunto com o método dos mínimos quadrados [64-65]. A partir dos cálculos de mínimos quadrados o método de Rietveld consegue obter o ajuste mais adequado para as intensidades teóricas e experimentais à medida que os passos angulares foram medidos. A equação 1 possibilita os cálculos:

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

Onde: S_y representa o somatório da diferença entre as medidas experimentais e teóricas, representando a quantidade minimizada do refinamento.

A qualidade do refinamento é definida com base em alguns parâmetros que estimam a concordância entre o modelo utilizado e os resultados experimentais, levando-se em consideração as condições de difração e a existência de mínimos globais. Esses parâmetros são monitorados durante o refinamento e definidos por:

$$R\text{-perfil} = R_p = \frac{\sum_{i=1}^n |y_{io} - y_{ic}|}{\sum_{i=1}^n y_{io}} \quad (3)$$

$$R\text{-perfil ponderado} = R_{wp} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{io} - y_{ic})^2}{\sum_{i=1}^n w_i (y_{io})^2}} \quad (4)$$

$$R\text{-esperado} = R_{exp} = \sqrt{\frac{N - P}{\sum_{i=1}^n w_i (y_{io})^2}} \quad (5)$$

$$\text{GOF} = S = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} \quad (6)$$

onde N é o número de pontos experimentais e P é o número de parâmetros ajustados.

Os parâmetros estatisticamente mais significativos são o R_p e R_{wp} , que melhor refletem o progresso do refinamento, e o S (Goodness Of Fit – GOF), que relaciona a qualidade do ajuste entre os difratogramas observado e calculado. Bons refinamentos apresentam R_p e R_{wp} entre 2 e 10% e S o mais próximo de 1, sendo aceitável valores inferiores a 4 [62; 67].

O método de refinamento Le Bail diferente do método de Rietvel não precisa de posição atômica para que o refinamento seja realizado, sendo necessário conhecer o grupo espacial e os parâmetros de rede da célula unitária. Os fatores estruturais são obtidos por meio do padrão de ciclos utilizando os métodos dos mínimos quadrados sem necessidade de ação regulatória dos padrões de difração, posições dos átomos [68-69].

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

O estudo das propriedades ópticas em compostos orgânicos e inorgânicos está relacionado aos dos espectros eletromagnéticos de luz visível, ou seja, aquela parte que pode ser vista pelo olho humano. A luz visível pode ser percebida numa faixa de comprimento de onda que varia entre 400 a 700 nm, com sua natureza ondulatória indicando a variação dos campos elétricos e magnéticos em uma direção específica [56]. As Figuras 7 e 8 mostram a faixa de comprimento de onda e como funciona o processo ondulatório.

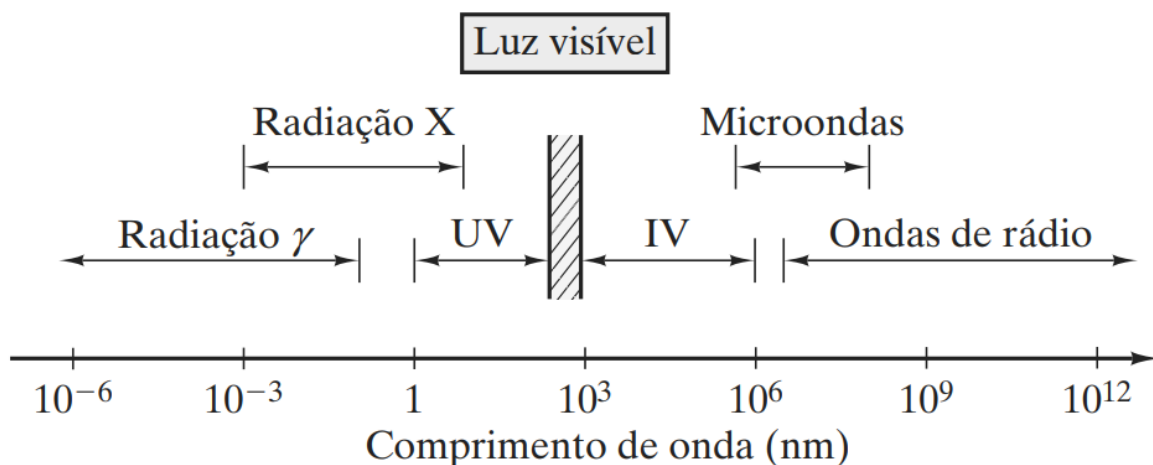


Figura 7 - Espectro de radiação eletromagnética, com a faixa de luz visível.

Fonte: Referência [56]

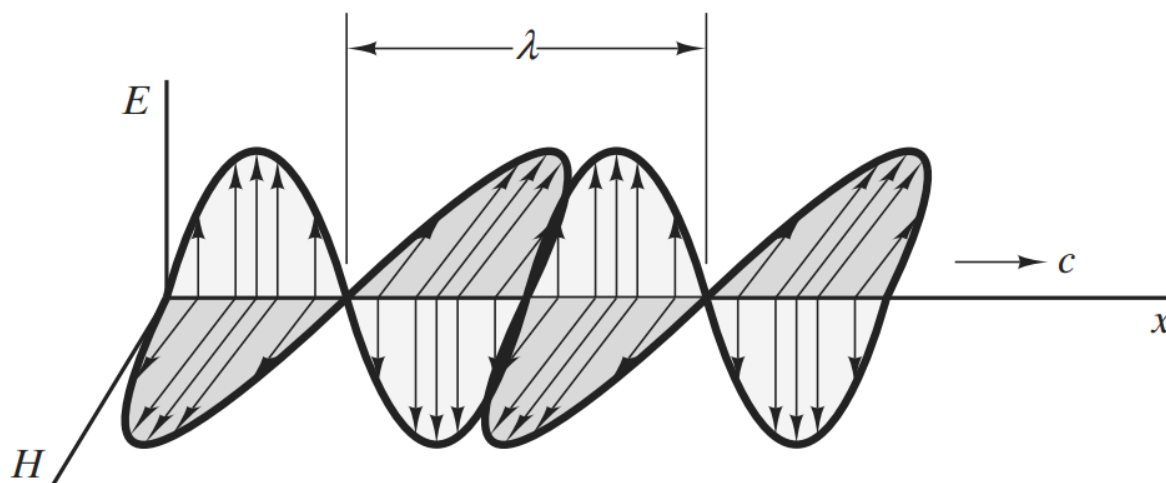


Figura 8 - A natureza ondulatória de uma onda eletromagnética, como a luz.

Fonte: Referência [56]

Quando consideramos a faixa de comprimento de onda levando em consideração a região do ultravioleta, a faixa varia entre 200 a 800 nm, isso se dá porque, no ultravioleta a luz é absorvida e transmitida por meio do quartzo devido a não absorção de radiação nessa faixa de espectro, dessa forma, ocorre sobreposição no processo de absorção eletrônica [56; 65; 70].

A absorção de luz é descrita pela lei de Lambert Berr, onde é relacionado as variáveis de absorbância ou transmitância [71]. A equação é demonstrada abaixo:

$$\text{Log} \left(\frac{I_0}{I} \right) = A = \varepsilon cl \quad (7)$$

Onde:

A = Absorbância; ε = Absortividade Molecular; c = Concentração do Soluta; l = espessura do compartimento da amostra por onde a luz atravessa.

O cobre, por sua vez, tem banda de absorção na região do visível na faixa de 600 nm, esses valores são reportados na literatura, também em complexo de Cu^{2+} com aminoácidos e ligantes [72]. Os espectrofotômetros utilizados nas medidas possuem, em sua maioria, constituintes que possibilitam identificar com precisão a faixa de absorção dos compostos, dentre esses instrumentos estão os componentes óticos de quartzo, monocromador e outros [73].

2.4.3 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

A espectroscopia no infravermelho é muito utilizada para analisar materiais orgânicos e inorgânicos e suas possíveis transformações. Geralmente, as medidas são realizadas numa faixa que varia entre 4000 e 400 cm^{-1} porque esse tipo de material possui muitos grupos funcionais nessa faixa espectral [74-75].

O princípio de aplicação da técnica se dar através da aplicação de radiação infravermelha em uma amostra fazendo-as interagir. Essa interação possibilita absorção (quando a frequência utilizada é igual a frequência das ligações químicas do material) de energia o que provoca mudanças nos modos vibracionais dos átomos que as constituem, possibilitando a obtenção de espectros vibracionais dos compostos analisados [76-77].

Os modos vibracionais identificados pela técnica são classificados como estiramentos simétricos e antissimétricos (modificações nas distâncias interatômicas no eixo de ligação entre átomos) e dobramentos ou deformação (variação entre os ângulos de ligação dos átomos) que podem ser no plano, foram do plano ou ainda aquelas no qual os átomos fazem movimento em torno do eixo, passando pelo centro da molécula [73].

Na Figura 9 abaixo está especificado como ocorre essas vibrações.

Stretching (estiramento) e Bending (Deformações)

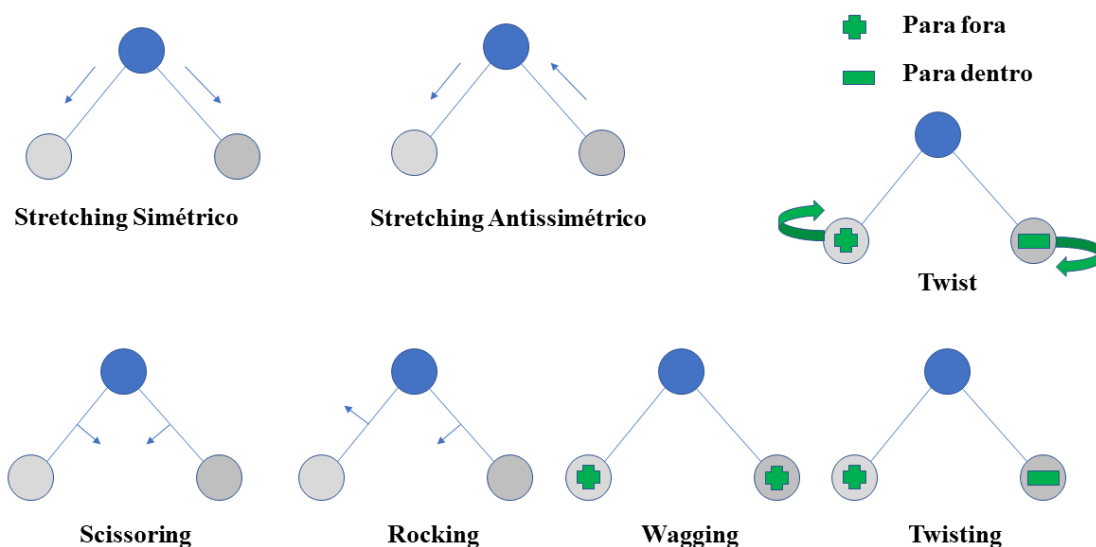


Figura 9 - Movimentos vibracionais

Fonte: Adaptado da referência [73].

2.4.4 Espectroscopia Raman

As análises por meio da espectroscopia Raman além de fornecer aspectos vibracionais, a técnica refere-se a um espalhamento inelástico (chamado também de Raman). Ou seja, a radiação em determinado material pode ser absorvida, transmitida ou espalhada. O espalhamento pode ser feito de forma elástica ou inelástica. O fenômeno inelástico se constitui em uma frequência que pode ser maior ou menor do que a radiação incidente [78-79].

O Raman ocorre a partir de uma modificação da polarizabilidade, ou seja, acontece quando um campo elétrico externo produz forças que causam deformação na nuvem eletrônica, causando uma mudança nas cargas e provocando um momento oscilante na estrutura molecular. Esse efeito acontece somente em aproximadamente 1% de toda a radiação que é transmitida e pode ser dividido em espalhamento stokes ou anti-stokes [75; 80].

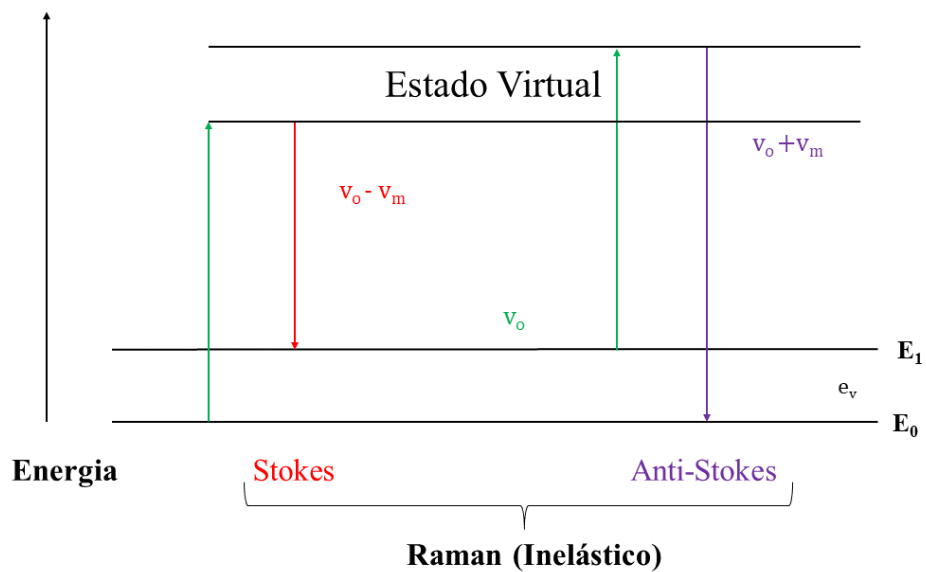


Figura 10 - Exemplificação de um espalhamento Raman (Stokes e Anti-Stokes).

Fonte: Elaboração própria

O espalhamento stokes ou anti-stokes acontece quando um fóton de energia entra em contato com uma molécula em seu estado fundamental. A partir desse processo, a molécula entra em um estado de energia mais alto, conhecido como estado virtual. Dessa forma, se a molécula sair do estado de energia elevado e for para um vibracional (desconsiderado a diferença nos níveis de energia) e a frequência do fóton espalhado ser inferior ao incidente aparecerá o espalhamento stokes. O anti-stokes será observado quando a molécula estiver num estado de energia maior e pela interação com o fóton incidente mudar para o estado fundamental espalhado do fóton [81-82].

A equação da conservação da energia explica o fenômeno.

$$h\nu_e = h\nu_o \pm h\nu_m \quad (8)$$

Onde: ν_e = frequência da radiação espalhada; ν_o = frequência de um fóton incidente; ν_m = a frequência da molécula.

2.4.5 Análises Térmicas

Os estudos de análise térmicas envolvem um grupo de técnicas para medir as propriedades físicas de um material através da adição de calor à amostra [73]. Dentre as caracterizações térmicas que podem ser realizadas estão a análise termogravimétrica (TG),

análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os próximos tópicos irão detalhar essas técnicas.

2.4.5.1 Análise Termogravimétrica (TG)

A análise termogravimétrica utiliza a variação de massa em um ambiente atmosférico controlado em função do acréscimo de temperatura, sendo registrado a chamada curva de decomposição térmica. A faixa de temperatura utilizado nas medidas variam da temperatura ambiente até geralmente 1000°C [83].

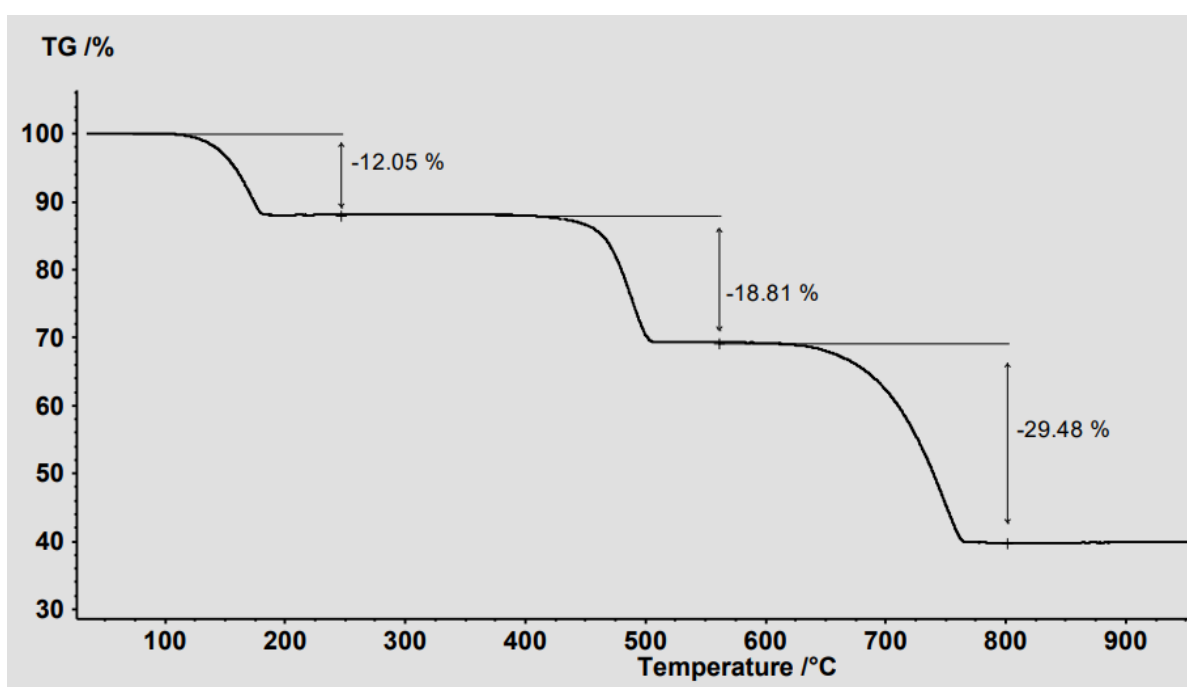


Figura 11 - Representação gráfica da perda de massa em função da temperatura.

Fonte: Adaptado da Referência [84]

A partir da curva TG (Figura 11) é possível identificar e calcular a perda de massa percentual da amostra analisada. A partir desses dados pode ser calculado a decomposição, processos de oxidação, desidratação e outros aspectos físicos à medida que a temperatura aumenta, ou seja, dar pra identificar, por exemplo, o possível momento da saída de água [84-85].

2.4.5.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A técnica de DTA tem como fundamento a análise em função da temperatura de uma mostra em comparação com um material de referência termicamente inerte. A diferença de

temperatura entre as duas substâncias torna possível plotar o gráfico do termograma diferencial [83].

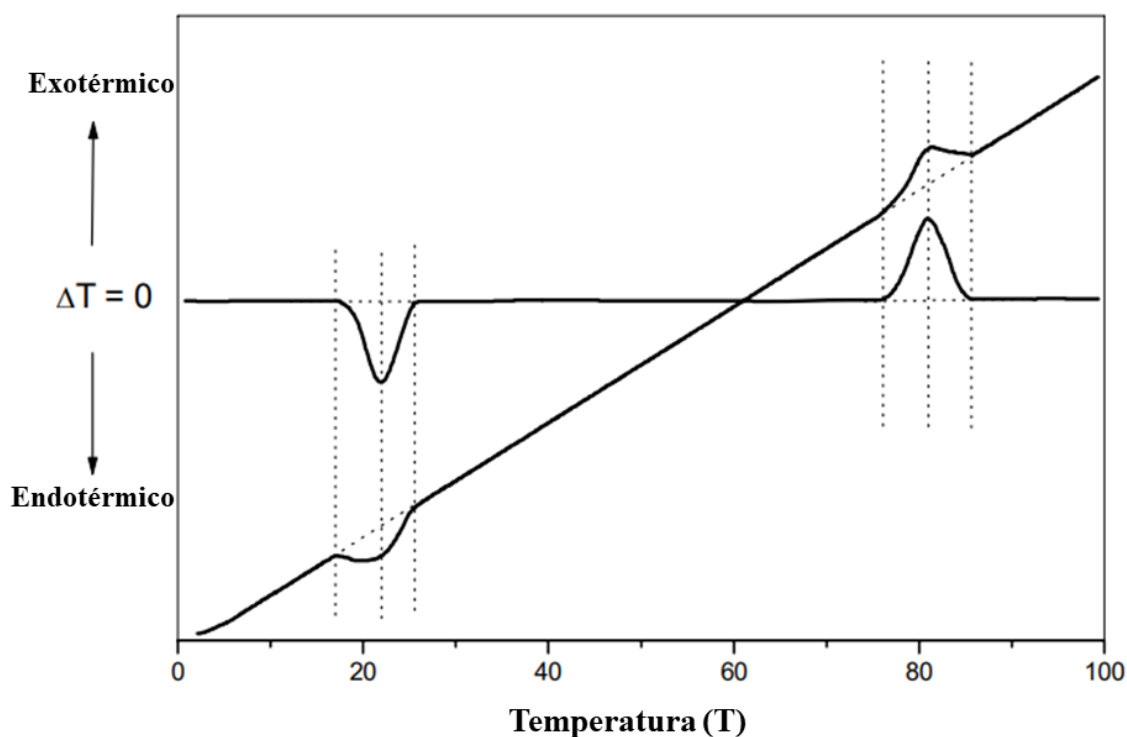


Figura 12 - Representação das curvas de temperatura da amostra e da temperatura diferencial em função de T.

Fonte: Adaptado da referência [84].

Os gráficos da análise DTA pode ser plotado junto com a medida TG, dessa forma, pode observar tanto a perda de massa do material como identificar se o evento é exotérmico (liberação de calor) ou endotérmico (absorção de calor). Nos materiais orgânicos e inorgânicos a técnica pode ser utilizada para identificar transições de fase, decomposição, cristalização, estabilidade térmica e outros [83].

2.4.5.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A medida de calorimetria exploratória diferencial assim como a análise térmica diferencial (DTA) utiliza a amostra em comparação com uma substância de referência a uma taxa já determinada. Dessa forma, será medido o fluxo de calor entre os dois materiais. O princípio é muito parecido com o DTA, porém o DSC mede calorimetria com diferença de energia e é uma técnica quantitativa, enquanto o DTA mede diferença de temperatura e é técnica qualitativa [83].

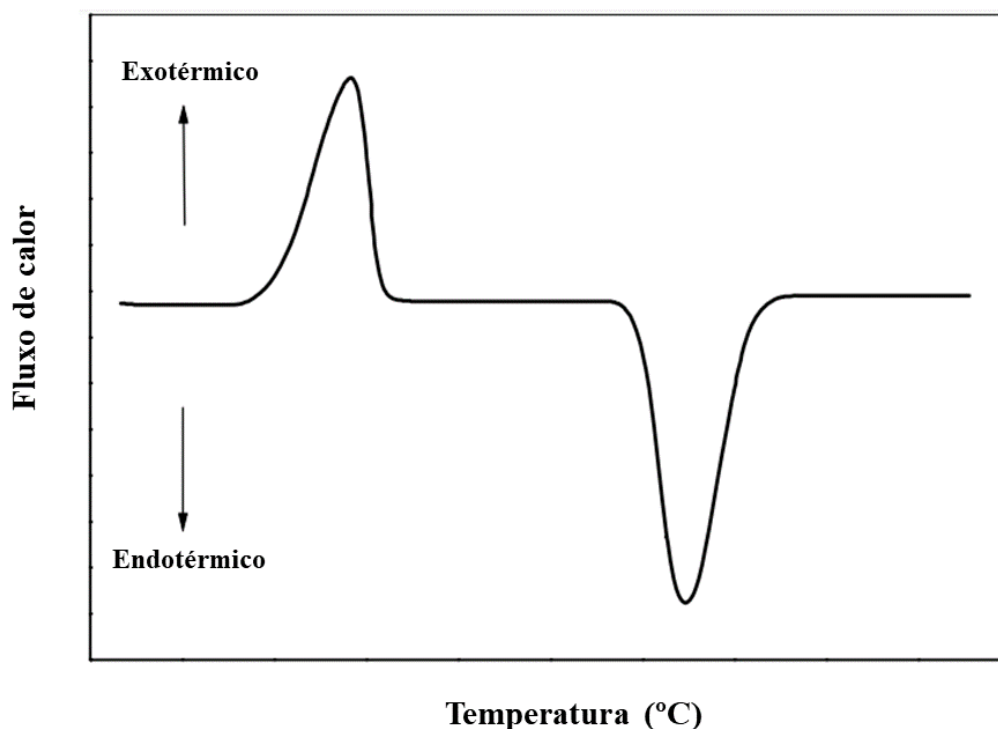


Figura 13 - Representação do fluxo de calor em função da temperatura.

Fonte: Adaptado da referência [84].

A medida de calorimetria DSC pode ser utilizada para determinar o fluxo de calor de fusão da amostra, além de ser possível entender até onde ocorre a cristalização e com auxílio de outras técnicas pode identificar a temperatura de transição vítrea, calor específico, pureza e outros, podendo ser utilizada amplamente na ciência dos materiais [83; 86-87].

2.5 Estudo Computacional

2.5.1 Teoria do funcional da densidade (DFT)

A partir da necessidade de desenvolver novas ferramentas para cálculos de mecânica quântica que abordassem descrições de teorias de ligações químicas, estruturas eletrônicas de moléculas e propriedades de elétrons sem que ocorressem um aumento nos custos computacionais, surgiu o método da teoria do funcional da densidade (DFT). Quando comparado, por exemplo, a outros métodos como Hartree-Fock ou pós-Hartree-Fock, esse método tem custo computacional menor [88-89].

A teoria foi estabelecida a partir de dois teoremas de Hohenberg-Kohn. No primeiro é dito que o potencial externo (e, portanto, a energia total) é um único funcional da densidade eletrônica, já o segundo afirma que o funcional que fornece a energia do estado fundamental do sistema fornece a menor energia se e somente se a densidade de entrada é a verdadeira

densidade do estado fundamental. Ambos foram desenvolvidos pelos físicos Pierre Hohenberg e Walter Kohn em 1964 [88; 134-135].

Foi a partir das equações de Kohn-Sham, desenvolvidas pelos cientistas Walter Kohn e Lu Jeu Sham que o método DFT ganhou aplicação prática na obtenção da densidade no estado fundamental. A abordagem utilizada nas equações aponta, dentre outras coisas, que pela energia cinética, potenciais elétron-núcleo e elétron-elétron é possível calcular a energia total do sistema [89-90; 135-136], como demonstrando na equação 9 para a energia total de um sistema com elétrons não interagentes.

$$E[n(r)] = V[n(r)] + F[n(r)] = \int n(r)V(r)dr + F[n(r)] \quad (9)$$

Onde:

$E[n(r)]$ = energia total para um sistema de elétrons não interagentes

$n(r)$ = densidade eletrônica

$V[n(r)]$ = funcional do potencial externo

$F[n(r)]$ = funcional de energia cinética dos elétrons e de interação clássica e quântica entre os elétrons.

As equações de Kohn-Sham proporcionaram melhorias na teoria do funcional da densidade porque possibilitou descrever melhor a energia existente entre os funcionais seja de troca ou de correlação. Ambas as energias possuem interações relacionadas aos elétrons, seja pela energia estática e dinâmica ou pela energia afetada pela correlação eletrônica influenciada pelos efeitos de repulsão, dessa forma é possível fazer uma aproximação entre a função de onda e a densidade [90;135].

O método DFT começou então a ser amplamente utilizado em cálculos envolvendo composto químicos. Na química foi possível através do método empregar funcionais que possibilitem investigar a geometria, propriedades eletrônicas, vibracionais e energia de complexo de coordenação com finalidades farmacológicas [137].

Na química orgânica e inorgânica, os complexos geralmente possuem uma quantidade grande de átomos o que necessita, além da utilização do método DFT, a utilização de funcionais que forneçam resultados com boa correlação com dados experimentais. Dentre os funcionais que podem ser utilizados para essa correlação está o B3LYP, muito popular nos cálculos computacionais que utilizam o método DFT, entretanto para complexo de coordenação existem outros funcionais que fornecem resultados mais satisfatórios, como o PBE1PBE.

O funcional PBE1PBE é fundamentado no funcional PBE, com a diferença de combinar gradiente desse funcional com determinada quantidade de trocas e correlação que são inseridos

como comandos de entradas nos softwares [89-92]. Na literatura é amplamente divulgado estudos computacionais utilizando o funcional PBE1PBE em comparação com outros funcionais para complexos orgânicos e inorgânicos.

Nos estudos realizados por GAO [138] sobre as estruturas moleculares e propriedade de drogas antitumorais envolvendo a platina (II) é afirmado que o PBE1PBE/SDD e PBE1PBE/CEP-121G são suficientes para prever os espectros de vibração do complexo carboplatina. Já FALLAH et al. [139] realizou uma comparação entre os funcionais B3LYP e PBE1PBE com os conjuntos de funções de bases 6-311 G (d, p) e 6-311 + G(d,p) respectivamente e concluiu que ambos tiveram boas correlações, porém o PBE1PBE apresentou resultados melhores quando analisado os orbitais moleculares de fronteira. WANG et al. [140] também realizou a comparação entre os funcionais no estudo sobre complexo de cobalto (II) e 1,10-Fenantrolina e o funcional PBE1PBE teve aproximação maior aos modos vibracionais experimentais. Esse e outros resultados reportados na literatura justificam a utilização do funcional PBE1PBE no presente estudo.

3. METODOLOGIA

3.1. Síntese do cristal de cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e L-Prolina

O cristal de cobre(II) com 1,10-Fenantrolina (Synth 98,0%) e prolina (Sigma-Aldrich 99,0%) foi crescido pela técnica de evaporação lenta de solvente por meio da preparação de solução equimolar. Primeiro foi preparado uma solução de 1,10-Fenantrolina (0,5 mmol) (Synth 98,0%) em um volume contendo 70% metanol (Synth 99,8%.) e 30% água deionizada ficando sob agitação magnética até a homogeneização. Foi preparado também uma solução de nitrato de cobre II (0,5 mmol) (Sigma-Aldrich 99%) em solução 10 mL de água deionizada que será adicionada a solução contendo 1,10-Fenantrolina (0,5 mmol) (Synth 98,0%). A nova solução ficou sob agitação magnética. Posteriormente, foi adicionado à solução a prolina (0,5 mmol) (Sigma-Aldrich 99,0%) e o bicarbonato de sódio (0,5 mmol) (Sigma-Aldrich 99,0%) ficando sob agitação magnética a temperatura de 70°C durante 3 horas. Ao final, a solução formada foi deixada em um becker vedado com filme plástico com pequenos furos e colocada em uma estufa com temperatura constante de 35 °C.

A síntese e o crescimento do cristal foram realizados no laboratório de difração de raios X (LDRX) e laboratório de crescimento de cristais (LCC) da unidade de preparação e caracterização de materiais (UPCM) do programa de pós-graduação em ciência dos materiais da UFMA campus Imperatriz.

O cristal de cobre(II) complexado com 1,10-fenantrolina e L-Prolina já foi reportado na literatura com o nome de Aqua(1,10-phenanthroline)(L-prolinato)-copper(II) nitrate monohydrate [15]. Para esse trabalho ser utilizado a abreviação de FPCu.

3.2 Caracterizações

3.2.1 Difração de raios X

O cristal utilizado no estudo foi confirmado através da técnica de difração de raios X (DRX). O cristal, após pulverizado em almofariz de ágata com pistilo, foi colocado em uma porta amostra de vidro, levado ao difratômetro da PANalytical modelo Empyrean operando com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), geometria Bragg-Brentano, monocromador de grafite pirolítico.



Figura 14 - Difratômetro da PANalytical modelo Empyrean

A medidas foram realizadas utilizando passo angular de $0,02^\circ$, em intervalo angular em 2θ de $5-45^\circ$, tempo de aquisição de 2s por passo. Os resultados obtidos por DRX dos cristais foram analisados pelo método de Rietveld [66], onde foi utilizado o software GSAS-EXPGUI [93] para realização do refinamento da estrutura cristalina do material e o banco de dados da Cambridge crystallographic data centre (CCDC).

As medidas em função da temperatura foram realizadas com auxílio da câmara de temperatura Anton-Paar modelo TTK 450 utilizando um difratômetro da PANalytical modelo Empyrean operando com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) e temperatura de 28 a 237 °C.

As medidas foram realizadas no laboratório de difração de raios X da unidade de preparação e caracterização de materiais (UPCM) do programa de pós-graduação em ciência dos materiais da UFMA campus Imperatriz.

3.2.2 Análise óptica UV-Vis

As medidas foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis da SHIMADZU de modelo UV-1900, utilizando se cubetas de quartzo com intervalo de 10 nm/s, em uma região espectral com comprimentos de onda entre 450 e 1100 nm, para soluções com pH 2,3 e 6,3 em temperatura ambiente. As medidas foram realizadas no Laboratório de Síntese e Caracterização de Materiais Farmacêuticos (LABFARMA) da unidade de preparação e caracterização de materiais (UPCM) do programa de pós-graduação em ciência dos materiais da UFMA campus Imperatriz.



Figura 15 - Espectrofotômetro UV-Vis SHIDMADZU

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

Os espectros de FT-IR foram obtidos utilizando a técnica de pastilhas de KBr, onde foram preparadas pastilhas com 99% de Brometo de Potássio (KBr) e 1% do cristal FPCu, prensadas com 8 toneladas e depois medidas por um tempo médio de 30 segundos.

Foi utilizado um FT-IR Vertex 70v da Bruker (Figura 23), à vácuo, em 32 varreduras e com resolução espectral 4 cm^{-1} . A análise foi realizada no Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fototérmica (LEOF) da unidade de preparação e caracterização de materiais (UPCM) do programa de pós-graduação em ciência dos materiais da UFMA campus Imperatriz.



Figura 16 - Espectrômetro FT-IR marca Bruker modelo Vertex 70V

3.2.4 Espectroscopia Raman

Para medidas de espectroscopia Raman foi utilizado um espectrômetro triplo, marca JobinYvon modelo T64000 com detector CCD resfriado a ar. Para as medidas foi utilizado um laser de estado sólido ($\lambda = 532\text{ nm}$), potência de 10 mW sobre a amostra e resolução espectral de 2 cm^{-1} . As medidas foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões (LEVAP) da Universidade Federal do Pará (UFPA).



Figura 17 - Espectrômetro Raman marca Jobin-Yvon modelo T64000.

3.2.5 Análise Térmica

Análise TG-DTA foi realizada no equipamento da Shimadzu modelo DTG-60 utilizando 3,281 mg em um cadinho de alumínio fechado, numa atmosfera de nitrogênio com fluxo de 100 ml/min, com uma faixa de temperatura de 28 a 900 ° em razão de aquecimento de (10°C) /min.



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

Foram realizadas as medidas de calorimetria exploratória diferencial - DSC utilizando o equipamento DSC-60 da Shimadzu, com aproximadamente 4,0 mg de amostra, sob atmosfera de nitrogênio (100 mL/min) em uma razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de alumínio fechado, na faixa entre 30 a 200 °C.



Figura 19 - Analisador térmico (DSC) marca Shimadzu modelo DSC-60.

As medidas foram realizadas no Laboratório de Síntese e Caracterização de Materiais Farmacêuticos (LABFARMA) da unidade de preparação e caracterização de materiais (UPCM) do programa de pós-graduação em ciência dos materiais da UFMA campus Imperatriz.

3.2.6 Avaliação da atividade antitumoral *in vitro*

Para avaliação antitumoral foram utilizadas as linhas celulares tumorais humanas PC-3 (câncer de próstata) e SNB-19 (glioblastoma). As células foram incubadas em placas de 96 poços com o meio Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino, 2 mM de glutamina, 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina a 310 K com 5% CO₂. Após 24 h, as células foram tratadas com uma solução contendo os complexos de cobre em concentrações em série na faixa de 12,5 – 0,2 µM por 72 h, a 310 K com 5% de CO₂. Este mesmo procedimento experimental foi realizado na droga de controle Cisplatina (PtCl₂N₂H₆, Sigma Aldrich, > 99,9%) para fins de comparação (50,0 – 0,4 µM). A citotoxicidade foi avaliada usando o ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetil 2-tiazolil) -2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT). Após o tempo de incubação, o sobrenadante foi removido e substituído

por um novo meio (150µL) contendo o corante MTT (0,5 mg/mL). A viabilidade celular foi quantificada pela capacidade de células vivas de reduzir o corante amarelo MTT a um produto formazan roxo por células metabolicamente ativas. Três horas depois, as placas foram centrifugadas, o produto MTT formazan foi dissolvido em 150µL de DMSO e a absorbância foi medida usando um leitor de placas múltiplas a 550 nm. A concentração inibitória semi-máxima (IC₅₀) e seus intervalos de confiança de 95% (IC 95%) foram obtidos por regressão não linear. O índice de seletividade de cada complexo foi calculado pela fórmula: $SI = IC_{50}^{RAW-264.7} / IC_{50}^{TUMOR\ CELLS}$. [94]. A análise foi realizada no laboratório de Fisiopatologia e Investigação Terapêutica (LaFIT) da UFMA e Laboratório de Oncologia Experimental, Núcleo de Pesquisa em Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da UFC.

3.2.7 Ensaio de solubilidade

O estudo de solubilidade do complexo de cobre, 1,10-Fenantrolina e prolina foi realizado preparando uma solução supersaturada do material em 50 mL de água deionizada em pH=7. A solução foi agitada magneticamente por 200 min a 35 °C e retiradas alíquotas em intervalos de tempos pré-determinados. A absorbância foi determinada em comprimento de onda de 617 nm, utilizando o espectrômetro UV-Vis descrito em 3.2.2. A curva analítica padrão foi obtida pela associação entre as concentrações do material e suas respectivas absorbâncias em 617 nm. A metodologia utilizada está de acordo com dados dispostos na literatura [143].

3.3 Estudo computacional

Os cálculos foram realizados utilizando software *Gaussian 16* e computadores da *ComputeCanada* por ser um programa muito utilizado para cálculos teóricos de estruturas eletrônicas de diversos sistemas químicos diferentes [95] empregando a teoria do funcional da densidade (DFT) [92].

Foi utilizado o conjunto de funções de base 6-311++G(d,p) [96-97] para H, N, C e O, e o pseudopotencial Stuttgart-Dresden (SDD) [98] para Cu. Os cálculos foram realizados no vácuo e com o método de solvatação IEFPCM (*Integral Equation Formalism of the Polarizable Continuum Model*) usando o metanol como solvente (meio dielétrico com $\epsilon = 24,852$) [99].

Foi utilizado o funcional DFT/PBE1PBE [91], fator de correção de 0,9594 [115]. A geometria otimizada do complexo foi analisada com o auxílio do software *Chemcraft* [141], observando ainda os modos vibracionais. A interpretação dos modos vibracionais foi realizada

utilizando a regressão bayesiana por meio da determinação de relevância automática do modo vibracional - VMARD [100] empregando o software livre *vibAnalysis* [101].

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese do cristal de cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e L-Prolina

A análise de absorvância foi realizada com as soluções que dão origem ao cristal de Cobre, 1,10-Fenantrolina e Prolina. As soluções possuíam pHs correspondentes a 2,3 (sem a adição de bicarbonato de sódio) e 6,3 (com a adição de bicarbonato de sódio). Dessa forma, foi analisada o padrão de complexação e a natureza dos ligantes.

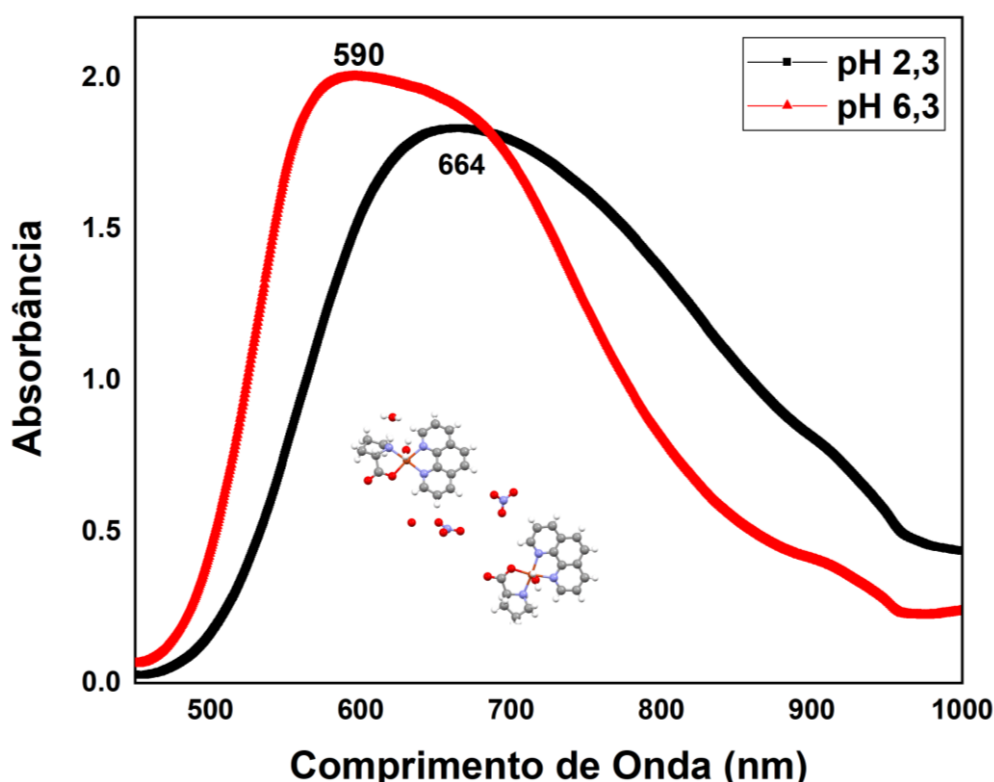


Figura 20 - Espectros de absorvância da solução do cristal FPCu em pH 2,3 e 6,3.

A Figura 20 mostra que ocorre um encurtamento da banda de absorvância à medida que aumenta o pH da solução. Este efeito pode ser provocado pela modificação da coordenação entre o metal e os ligantes. Tanto a 1,10-Fenantrolina e Prolina são ligantes de campo forte se comparado com a água. Dessa forma, a complexação entre o metal e os ligantes ocorre em faixa de absorção menor [102].

A partir da Figura 20 é possível perceber que o cobre em pH 2,3 possui uma faixa de absorção maior, 664 nm, isso se dar pela forte interação e coordenação com a água. A partir do aumento do pH, observa-se uma diminuição na região de absorção do metal, 590 nm, indicando uma transição de elétrons do orbital d do íon metálico para o orbital $d_{x^2-y^2}$. Essa mudança

acontece devido Cu^{2+} ter configuração $[\text{Ar}]3d^9$, com preferência em coordena-se com 4, 5 ou 6 ligantes. Fazendo 5 ligações, como é o caso nas ligações envolvendo a 1,10-Fenantrolina e prolina, o metal possui o orbital T_{2g} completo e o orbital E_g semipreenchido com geometria pirâmide quadrada com distorção de Jahn Teller, favorecendo a mudança de coordenação da água para a 1,10-Fenantrolina e Prolina [103-104].

A partir da modificação da natureza dos ligantes, como apresentado na Figura 21 abaixo, ocorre também uma alteração na coloração das soluções que formam o complexo, sendo a solução de pH 2,3 de cor azul claro e em pH 6,3 de coloração azul mais escura.

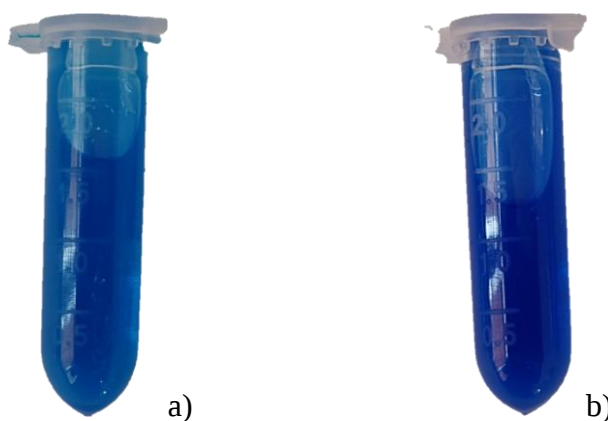


Figura 21 - Coloração das soluções do complexo FPCu em a) pH = 2,3 e b) pH = 6,3

De acordo com estudos reportados na literatura, os complexos de cobre, 1,10-Fenantrolina com aminoácidos apresentam absorção na região entre 600 a 630 nm quando analisado em pH variando entre 6,5 e 7,5, atribuídas principalmente às transições dos orbitais d descrita acima. Para esse estudo, a região de absorção diminui para 590 nm devido à complexação ocorrer na presença da prolina [102-103].

Dessa forma, o complexo FPCu foi crescido em pH 6,3, sendo o cristal obtido após 10 dias em formato de agulhas. O cristal obtido tem coloração azul escuro como mostra a Figura 22 abaixo.



Figura 22 - Cristal ternário de Cu com 1,10-Fenantrolina e Prolina

Os cristais maiores possuem dimensões de aproximadamente $9 \times 2 \text{ mm}^2$ e tem como planos morfológicos: $(-1-1-1)$ $(10-1)$ $(11-1)$ $(1-10)$ (100) $110)$ $(0-1-1)$ $(00-1)$ $(01-1)$ $(0-20)$ $(0-11)$ (001) (020) (011) $(-1-10)$ (-100) $(-1-11)$ (-101) (-110) (-111) .

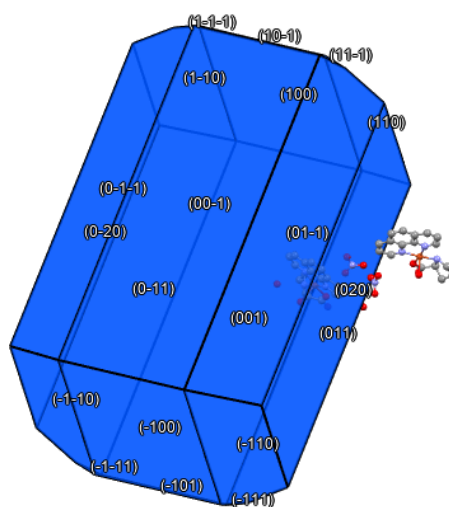


Figura 23 - Morfologia do cristal FPCu

*Obtidos no banco de dados CCDC e programa Mercury 2020.2.0

4.2 Difração de Raios X e Refinamento pelo método de Rietveld

A Figura 24 abaixo mostra o padrão de DRX do cristal refinado pelo método de Rietveld apontando que o cristal foi obtido como desejado. Este refinamento mostra uma boa qualidade de ajuste apontando que a diferença entre os padrões medidos e calculado é pequena.

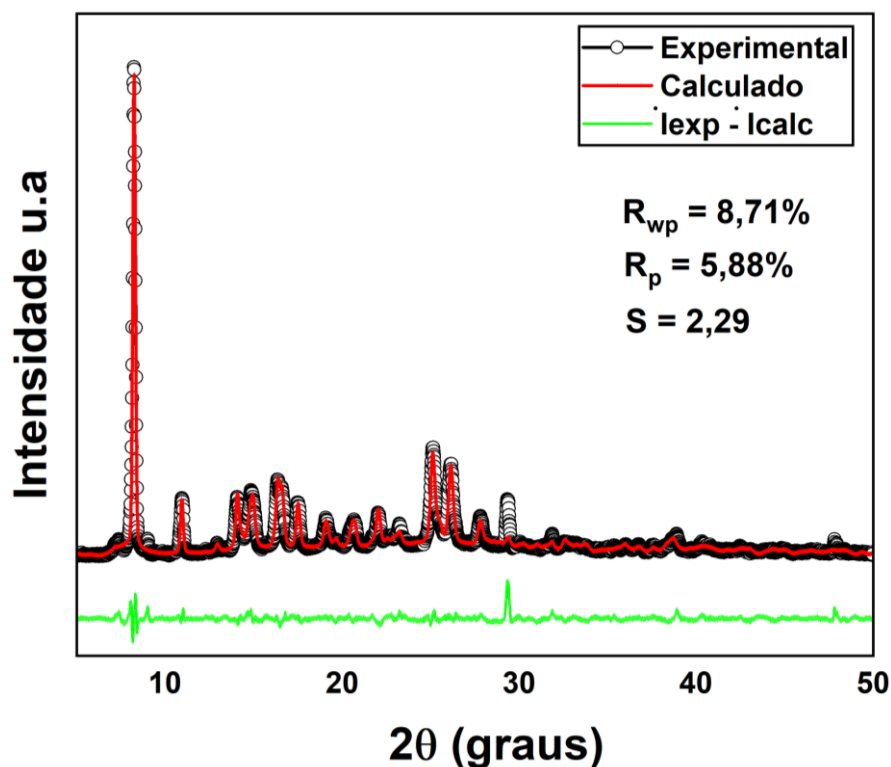


Figura 24 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre, 1,10-Fenantrolina e Prolina.

Como resultado do refinamento temos que o cristal cristaliza na estrutura monoclinica (grupo espacial $P2_1$) com duas moléculas por célula unitária ($Z=2$) e parâmetros de rede: $a = 7,17(2)$ Å, $b = 21,27(7)$ Å e $c = 12,26(1)$ Å e ângulo $\beta = 91,37^\circ$. Estes dados, como apresentados na Tabela 1 abaixo concordam com [15]. A diferença entre os dados do estudo e da literatura são menores que 1%.

Tabela 1 - Dados cristalográficos para o composto ternário de Cobre com 1,10-Fenantrolina e Prolina.

Dados Cristalográficos	Valores da Literatura [15]	Valores desse Estudo
Sistema Cristalino	Monoclínico ($\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$)	Monoclínico ($\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$)
Grupo Espacial	$P 2_1$	$P 2_1$
Parâmetros de Rede	$a = 7,17(3)$ $b = 21,28(5)$ $c = 12,28(0)$	$a = 7,17(2)$ $b = 21,27(7)$ $c = 12,26(1)$
Ângulo	$\beta = 92,05(2)$	$\beta = 91,37(0)$
Volume	1873,70(8)	1870,70(6)

Número de átomos por célula unitária	Z=2	Z=2
---	-----	-----

A Figura 25 mostra a célula unitária do cristal de cobre com 1,10-Fenantrolina e Prolina vista ao longo do eixo a. O composto tem fórmula $[\text{Cu}(\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_2)(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)(\text{H}_2\text{O})]\text{NO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, correspondendo a correspondente a 355,73 g/mol. A célula unitária é composta por quatro átomos de cobre, seis moléculas de 1,10-Fenantrolina, quatro moléculas de Prolina e dez moléculas de água, se repetindo pela estrutura cristalina. O íon metálico Cu^{2+} se liga a dois átomos de nitrogênio da molécula de 1,10-Fenantrolina, um átomo de oxigênio e outro nitrogênio advindo da prolina e uma molécula de água coordenada, além de possuir ao longo da estrutura nitratos não coordenados.

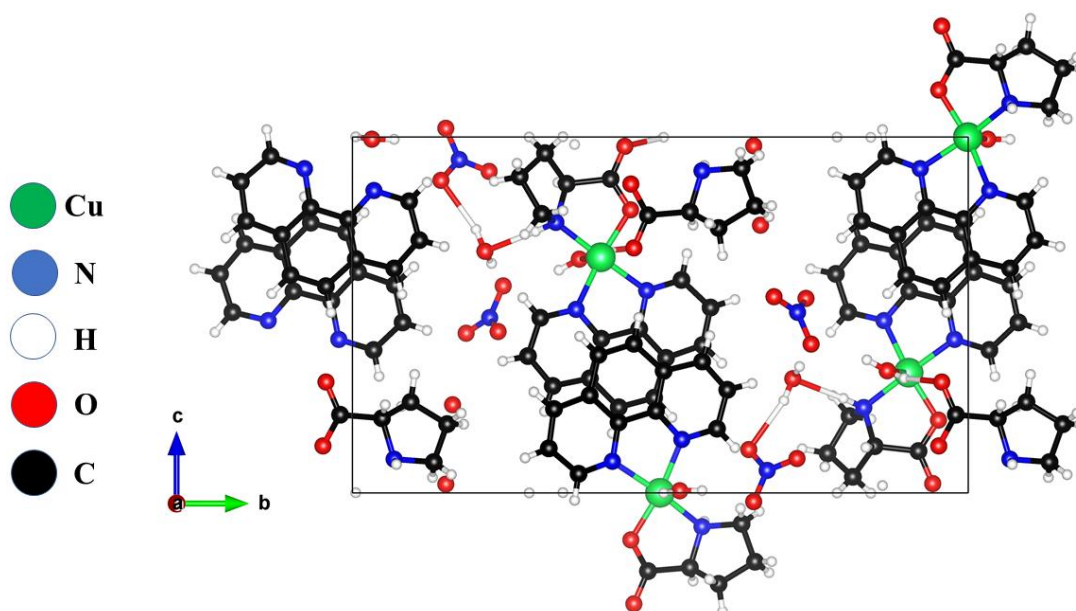


Figura 25 - Célula unitária do cristal de Cobre com 1,10-Fenantrolina e Prolina.

4.3 Estudo computacional

Os cálculos de otimização de geometria do complexo de coordenação e de frequências vibracionais foram realizados empregando-se a DFT [91]. O funcional DFT/PB1PBE foi utilizado na realização dos cálculos no vácuo e em metanol. O efeito de solvatação foi considerado utilizando o método IEFPCM. E o fator de correção de 0,9595 [115] foi utilizado na correção dos valores de frequências vibracionais calculados.

Tabela 2 - Dados teóricos dos comprimentos e ângulos das ligações do complexo FPCu calculados com o funcional DFT/PBE1PBE no vácuo e em solvente comparado com o experimental [15].

Comprimentos das ligações (Å)				Ângulos das ligações (°)			
Ligações	DFT/PBE1PBE Solvente	DFT/PBE1PBE Vácuo	Exp.	Ângulos	DFT/PBE1PBE Solvente	DFT/PBE1PBE Vácuo	Exp.
Cu1–N2	2,04(6)	2,05(0)	2,03(3)	N2–Cu1–N3	81,56(4)	81,30(1)	82,00(2)
Cu1–N3	2,01(9)	2,02(2)	2,01(9)	N2–Cu1–N4	101,16(4)	102,76(0)	100,62(2)
Cu1–N4	2,02(2)	2,02(7)	2,00(4)	N2–Cu1–O6	171,27(1)	172,35(3)	168,95(1)
Cu1–O6	1,93(5)	1,90(5)	1,91(9)	N2–Cu1–O40	90,89(7)	101,44(8)	92,97(2)
Cu1–O40	2,34(0)	2,38(1)	2,23(4)	N3–Cu1–N4	166,17(1)	162,34(7)	169,76(2)

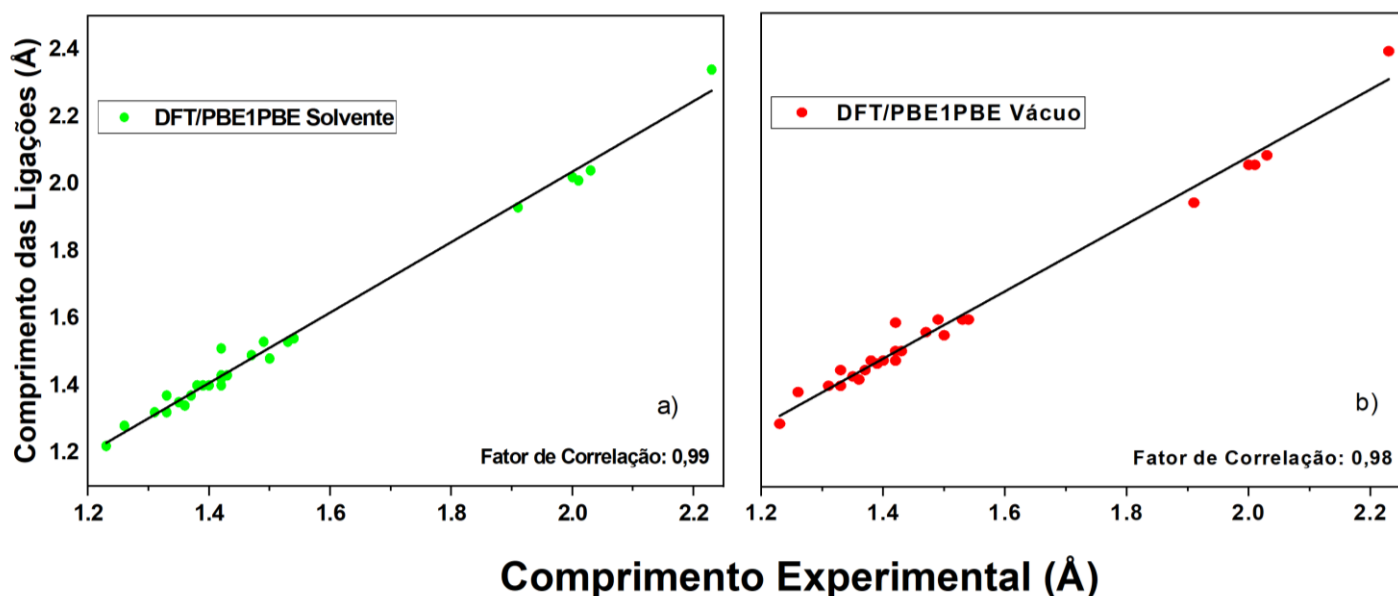


Figura 26 - Gráficos de comparação do cálculo computacional e valores experimentais dos comprimentos das ligações do complexo FPCu em solvatação utilizando solvente metanol (a) e vácuo (b).

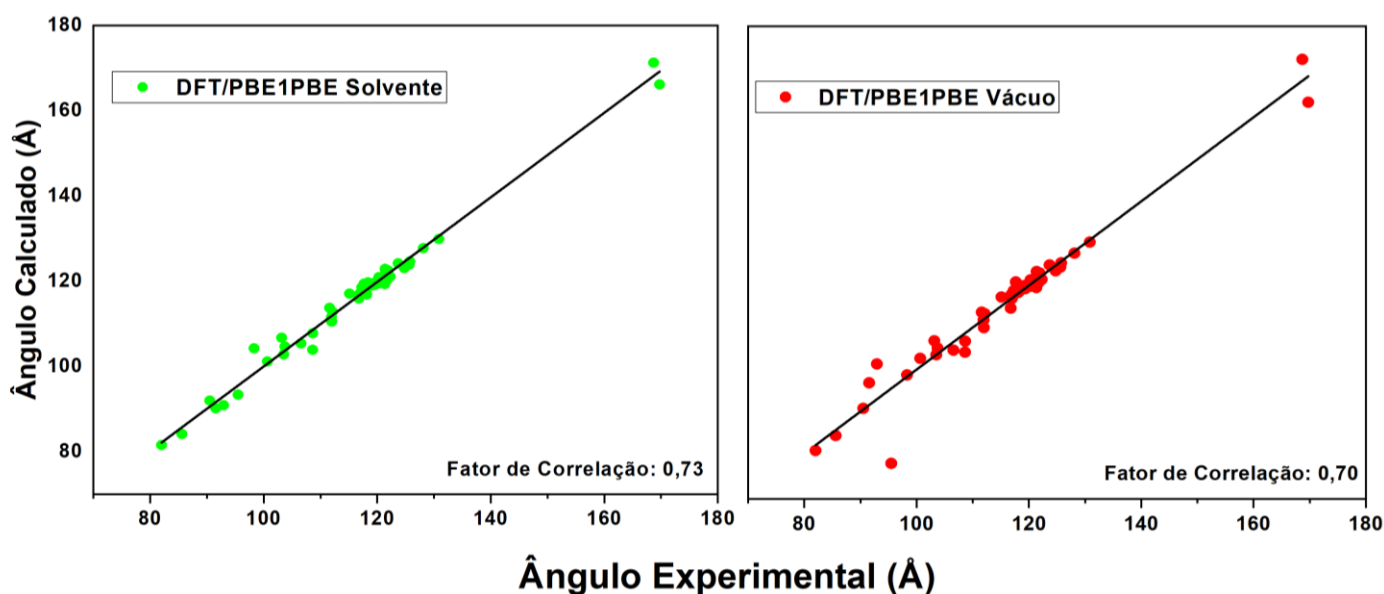


Figura 27 - Gráficos de comparação do cálculo computacional e valores experimentais dos ângulos das ligações do complexo FPCu em solvatação utilizando solvente metanol (a) e vácuo (b).

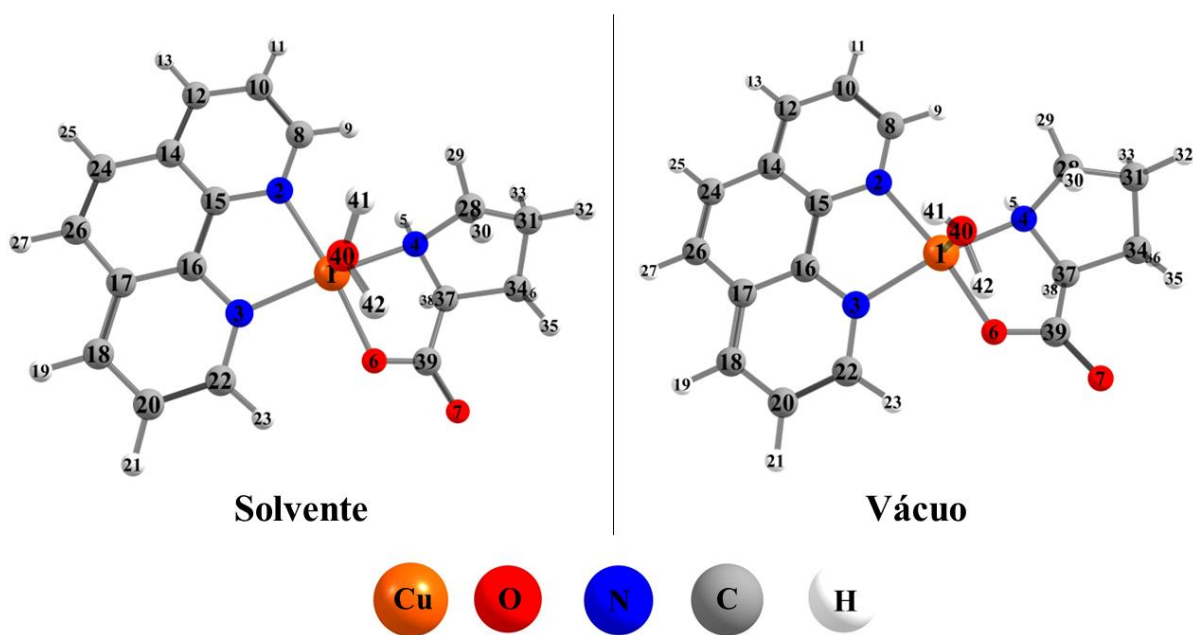


Figura 28 - Geometria otimizada do complexo FPCu obtida pelo método DFT/PBE1PBE com cálculo no vácuo e solvatação com solvente metanol.

Observando a Tabela 2 e as Figuras 26 a 28 é possível concluir que os resultados teóricos estão em bom acordo com os dados experimentais. Os dados apresentaram ainda um ajuste melhor em solvente. Foi possível ainda através do método obter a geometria otimizada do complexo, mapa de potencial eletrostático, orbitais HOMO e LUMO e suas respectivas energias, além de simulação dos espectros vibracionais.

O orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO), orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO) e o gapHOMO-LUMO (ΔE) são parâmetros importantes viabilizando a obtenção de uma correlação desses parâmetros com a atividade biológica [105].

O HOMO (orbital molecular ocupado de mais alta energia) tem a capacidade de doar elétrons e o LUMO (orbital molecular desocupado de mais baixa energia) tem sítios vazios aceitando mais facilmente elétrons. O gapHOMO-LUMO (ΔE) é a diferença entre o LUMO e o HOMO e indica a tendência na ocorrência de transição eletrônica. Dessa forma, quando o valor do gapHOMO-LUMO (ΔE) é baixo, indica que o complexo tem alta reatividade e baixa estabilidade, quando o valor é alto, indica mais estabilidade e menor reatividade [144].

Nas Figuras 29 e 30 são apresentados os valores para o LUMO, HOMO e gapHOMO-LUMO (ΔE) para os cálculos em solvatação e no vácuo.

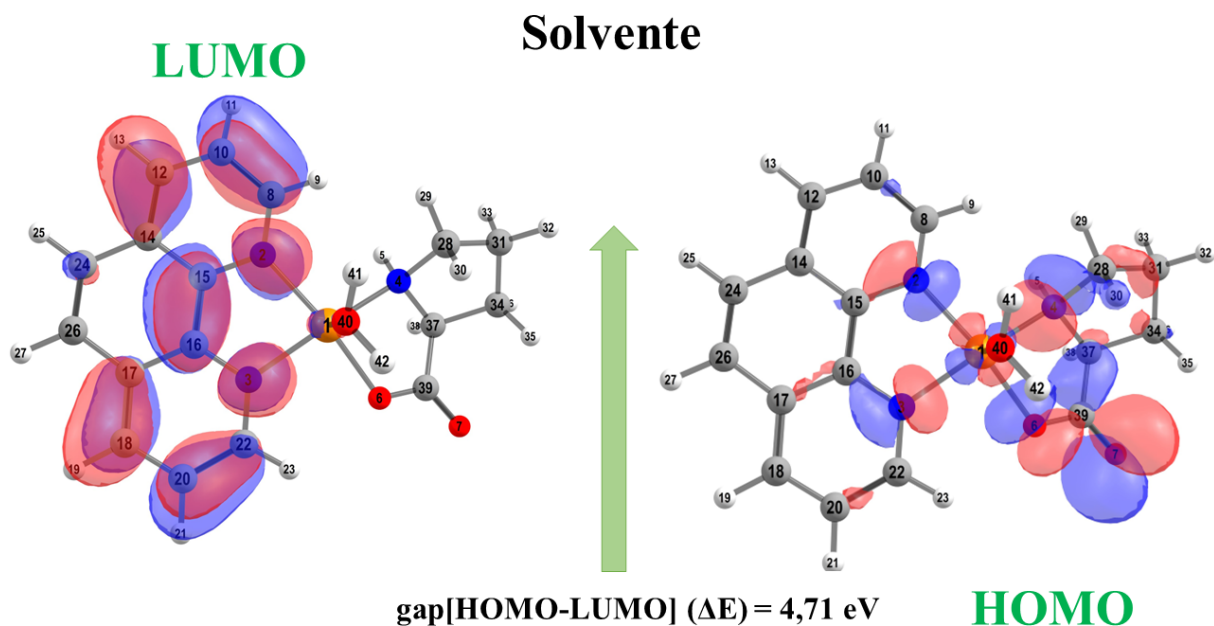


Figura 29 - Orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO para o complexo FPCu calculados com o método DFT/PBE1PBE utilizando cálculo de solvatação com solvente metanol.

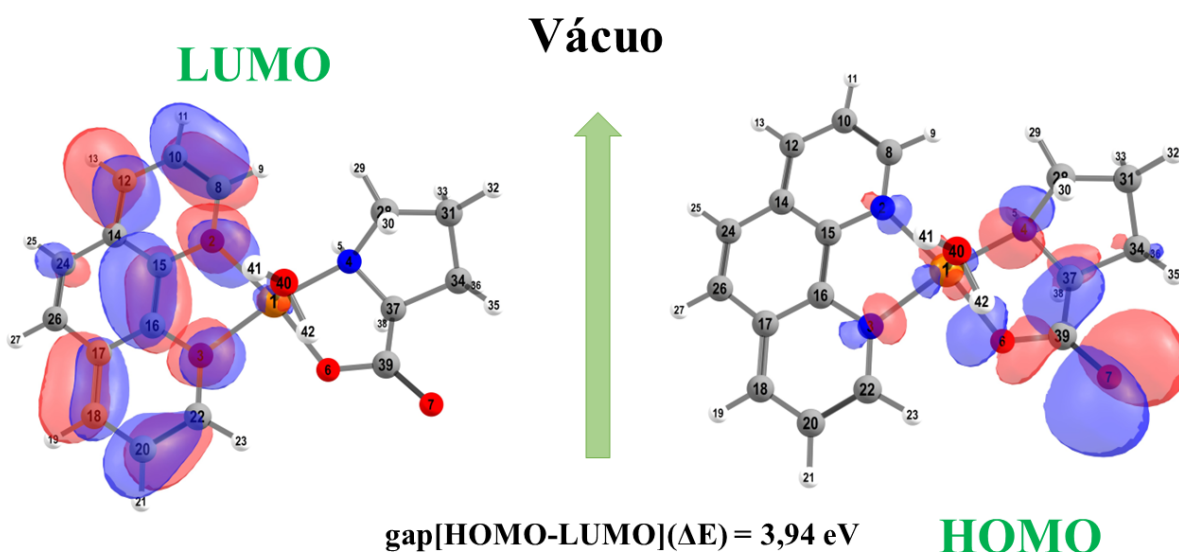


Figura 30 - Orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO para o complexo FPCu calculados com o método DFT/PBE1PBE no vácuo.

O valor de energia de cada um dos orbitais de fronteiras HOMO e LUMO calculados em solvente foram respectivamente -7,42 eV e -2,70 eV. No vácuo os valores foram -9,70 eV e -5,76 eV. Em ambos os meios o HOMO (E_{HOMO}) está localizado majoritariamente na molécula de prolina e o LUMO (E_{LUMO}) localizado na molécula de 1,10-Fenantrolina. Assim, o valor da $\text{gap}_{\text{HOMO-LUMO}} (\Delta E)$ em solvente e vácuo foram respectivamente 4,71 eV e 3,94 eV.

De acordo com XAVIER [105] e CARVALHO [144] sistemas com finalidades biológicas devem ter boa estabilidade para que o composto mantenha sua identidade e conformidade, mas é importante que tenha potencial para participar de reações químicas e assim interagir com o meio a ser aplicado. Dessa forma, o gapHOMO-LUMO (ΔE) calculado tanto em solvente quanto no vácuo demonstraram que o complexo FPCu possui estabilidade suficiente para manter sua conformidade (importante para garantir as características farmacológicas) e reatividade (importante na interação com alvos biomoleculares) [105;144-145].

Outro indicador de interação com sistemas biológicos importante é o mapa de potencial eletrostático, a partir dele é possível analisar o comportamento de determinado composto e entender onde pode ocorrer interações como ligações de hidrogênio. Essas ligações apresentam um papel importante no reconhecimento de drogas. As regiões de potenciais negativos (indicadas em vermelho) identificam as regiões ricas em elétrons de determinado sistema, enquanto que as regiões positivas são indicadores eletrolíticos [109-110].

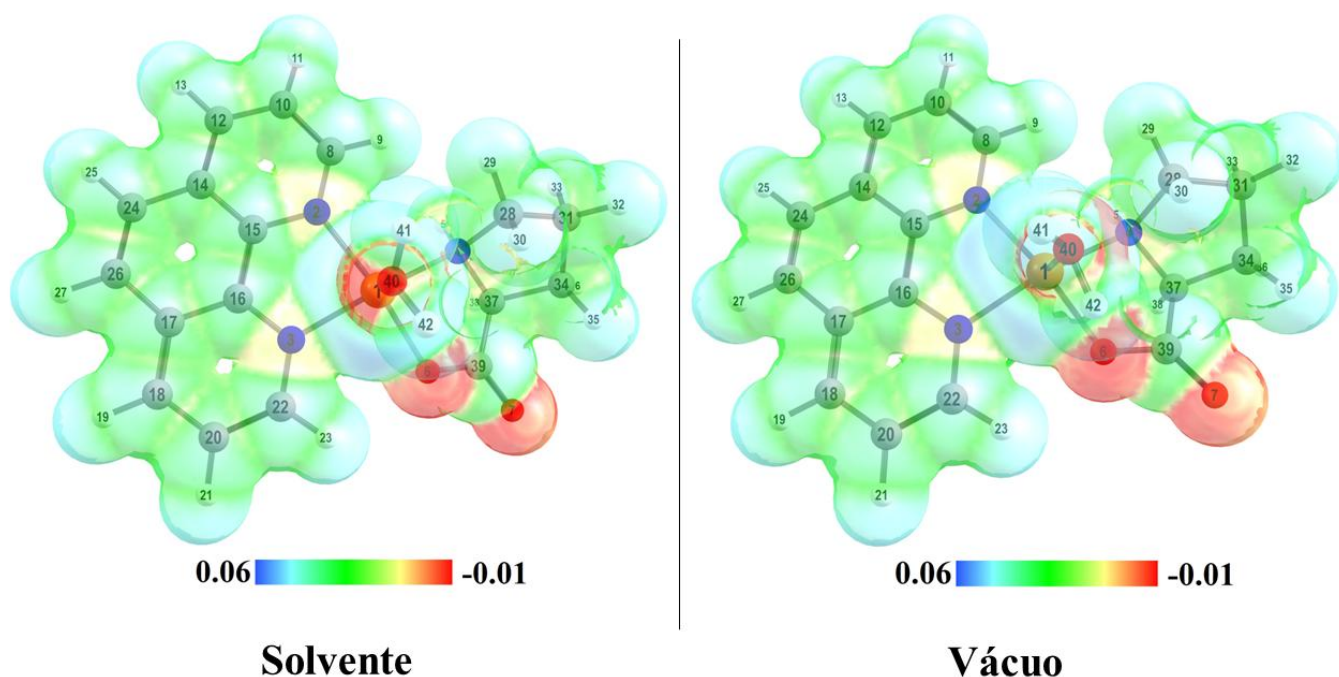


Figura 31 - Mapa de potencial eletrostático molecular com superfícies semitransparente para o complexo FPCu calculado com o método DFT/PBE1PBE no vácuo e em solvatação utilizando metanol.

A partir do mapa é possível perceber que as regiões de maior densidade eletrônica (destacadas em vermelho) estão ligadas ao oxigênio do anel da prolina e da água de coordenação ligada ao cobre. Essas regiões favorecem a formação de ligações de hidrogênio com bases nitrogenadas o que facilita a interação do complexo de Cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina

com o DNA e na sua atuação como antitumoral principalmente no apoptose de células cancerígenas [109-110]. De acordo com a Figura 31 não ocorre nenhuma modificação no mapa de potencial eletrostático quando comparado os cálculos realizados em solvatação e no vácuo.

Os valores da energia livre de Gibbs ($\Delta G_{\text{complexação}}$), entalpia ($\Delta H_{\text{complexação}}$) e energia vibracional de ponto zero (ZVPE) (*zero-point vibrational energy*) da complexação em solvente utilizando o metanol e no vácuo foram calculadas utilizando:

$$\Delta G_{\text{complexação}} = G_{\text{complexo}} - (G_{\text{fen}} + G_{\text{pro}} + G_{\text{Cu}} + G_{\text{água}}) \quad (10)$$

$$\Delta H_{\text{complexação}} = H_{\text{complexo}} - (H_{\text{fen}} + H_{\text{pro}} + H_{\text{Cu}} + H_{\text{água}}) \quad (11)$$

$$\Delta E_{\text{ZPVE}} = E_{\text{Complexo}} - (E_{\text{Fen}} + E_{\text{Pro}} + E_{\text{Cu}} + E_{\text{Água}}) \quad (12)$$

Onde:

G_{complexo} é energia livre de Gibbs do complexo; G_{fen} é a energia livre para molécula de 1,10-Fenantrolina; G_{pro} é energia livre para a molécula de prolina; G_{Cu} para o íon de cobre(II); $G_{\text{água}}$ para a molécula de água coordenada; H_{complexo} entalpia do complexo, H_{fen} entalpia da 1,10-Fenantrolina, H_{pro} entalpia da prolina, H_{Cu} entalpia do íon de cobre(II) e $H_{\text{água}}$ entalpia da molécula de água coordenada; E_{fen} energia eletrônica total da 1,10-Fenantrolina; E_{pro} energia eletrônica total da prolina; E_{Cu} energia eletrônica total do cobre(II) e $E_{\text{água}}$ energia eletrônica total da água coordenada. Para o cálculo da energia livre de Gibbs e entropia da complexação, utilizou-se a temperatura ambiente T de 25°C (298,15 K).

Tabela 3 - Valores dos parâmetros termodinâmicos para o complexo FPCu calculados em solvatação utilizando metanol e no vácuo.

Parâmetros Termodinâmicos	DFT/PBE1PBE Solvente	DFT/PBE1PBE Vácuo
$\Delta G_{\text{complexação}}$	-192,74 (kcal/mol)	-550,43 (kcal/mol)
$\Delta H_{\text{complexação}}$	-224,85 (kcal/mol)	-583,03 (kcal/mol)
ΔE_{ZPVE}	-223,97 (kcal/mol)	-581,94 (kcal/mol)

Os valores apresentados na Tabela 3 demonstram que a complexação é espontânea [146].

A partir dos valores obtidos para o $G_{\text{vácuo}} = -1244,56$ e $G_{\text{solvente}} = -1244,63$ foi possível obter o $\Delta G_{\text{solvatação}}$ igual a -43,92 (k.cal/mol) calculado pela diferença entre $G_{\text{solvente}} - G_{\text{vácuo}}$. De acordo com AZARBAYJANI [147] o valor negativo da energia livre de solvatação remete a

uma boa viabilidade química de dissolução para determinado composto em um solvente. Dessa forma, pelo $\Delta G_{\text{solvatação}}$ é possível afirmar que o complexo de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina tem afinidade com o solvente metanol, indicando que para o preparo de soluções do complexo FPCu, o metanol tem boa dissolução.

Além desses indicadores é possível obter o índice de eletrofilicidade que está relacionado a valores de energia mais baixo em função do fluxo máximo de elétrons entre o doador e receptor, indicando ainda o potencial de uma espécie em aceitar elétrons. Ao ocorrer a interação entre essas moléculas, a eletrofilicidade indicará de qual delas atuará como eletrófilo. Assim, esse descritor é um fator indicador de atividade biológica [106-108].

Na Tabela 4 abaixo são apresentados ainda os valores da dureza química (η), potencial químico (μ) e do índice de eletrofilicidade (ω). A tabela faz uma comparação com dados de complexos existentes na literatura que já são utilizados como agente antitumoral. O índice de dureza (η) e o potencial químico (μ) tem relação, respectivamente com a estabilidade e informações sobre a transferência de carga entre sistemas de maior e menor potencial químico. O índice de eletrofilicidade (ω) como já descrito acima pode ser correlacionado com a atividade biológica porque através dele é possível perceber se um complexo pode ser utilizado contra microrganismos patogênicos como bactérias, fungos e células cancerígenas.

Esses parâmetros são calculados a partir das seguintes equações:

$$\eta = \frac{I-A}{2} \quad (13)$$

$$\mu = \frac{-(I+A)}{2} \quad (14)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (15)$$

Tabela 4 - Valores dos descritores de reatividade química para o complexo FPCu calculados com o método DFT/PBE1PBE comparados com dados da cisplatina [111].

Propriedades (eV)	Complexo FPCu DFT/PBE1PBE Solvente	Complexo FPCu DFT/PBE1PBE Vácuo	Cisplatina DFT/LC- ω PBE [111]
E_{HOMO}	-7,42	-9,70	-9,44
E_{LUMO}	-2,70	-5,76	0,70
ΔE	4,71	3,94	10,15
η	2,35	1,97	5,07
μ	-5,06	-7,73	-4,37
ω	5,43	15,16	1,88

A partir da Tabela 4 é possível observar que o valor do índice de eletrofilicidade (ω) para o complexo de cobre, 1,10-Fenantrolina e prolina é maior que o calculado para a cisplatina

indicando que o complexo interage mais intensamente com o DNA. O fármaco Ciclofosfamida (utilizado no tratamento de linfoma e a leucemia) tem eletrofilicidade (ω) de 1,80 eV, inferior ao complexo FPCu, apontando ainda que o material estudado tem grande potencial de agir contra células cancerígenas [112-114].

4.4 Análise Vibracional

Os cálculos computacionais para o complexo FPCu no vácuo e em solvatação utilizando metanol apontaram que ocorreu pouca variação na molécula. A geometria otimizada indicou mudança apenas na água de coordenação ligada ao cobre(II), a energia livre de Gibbs e o cálculo de entalpia apontaram espontaneidade das reações, porém a energia livre de solvatação demonstrou uma maior afinidade entre o complexo FPCu e o cálculo em solvatação utilizando solvente metanol se comparado ao vácuo, o que ficou evidente quando observado que os espectros teórico em solvatação tiveram maior proximidade com o experimental, a partir disso as atribuições dos modos vibracionais foram feitas somente a partir dos cálculos dos números de onda utilizando o método DFT/PBE1PBE, conjuntos de funções de bases 6-311++G(d,p), fator de correção de 0,9594 em solvatação utilizando metanol[115].

4.4.1 Espectroscopia Raman e Infravermelho com transformada de Fourier

Para análise de espectroscopia Raman e FT-IR foram utilizados os dados experimentais obtidos de acordo com o procedimento descrito nas seções 3.2.3 e 3.2.4.

As atribuições dos modos de vibração foram realizadas pela regressão Bayesiana através do VMARD por possibilitar a obtenção e descrição de modos vibracionais com mais precisão uma vez que aumenta o uso os cálculos computacionais e favorece sua aplicação quando são necessárias a identificação de grande quantidade de modos vibracionais em um sistema químico. Por fim, a estrutura foi otimizada e com menor energia potencial [116].

A comparação entre os cálculos teóricos e os espectros experimentais indicaram um total de 68 bandas referentes aos modos vibracionais FT-IR e Raman com faixas de números de onda que variaram entre 400 e 4000 cm^{-1} no FT-IR e de 40 e 3200 cm^{-1} no Raman. Para análise das atribuições, os espectros teórico e experimental de FT-IR e Raman foram divididos em regiões com faixas espectrais de 40 a 800 cm^{-1} , 800 a 1800 cm^{-1} e 2800 a 4000 cm^{-1} . No decorrer dos próximos parágrafos será possível perceber que as bandas nos espectros experimentais e teóricos tiveram boa concordância.

4.4.1.1 Região de 2800 a 4000 cm^{-1}

Como mostram as Figuras 32 e 33, na região de 2800 a 4000 cm^{-1} do espectro FT-IR para o cristal de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e Prolina é possível observar movimentos de estiramento simétricos e anti-simétricos referentes a molécula de água que estão presentes no material, como identificado na Tabela 5 e em outros estudos presentes na literatura. Nessa mesma faixa espectral consta movimentos de estiramentos característicos do grupo amino ligado ao anel de prolina, entre as faixas de 3300 e 3400 cm^{-1} [117].

Através das atribuições do espectro Raman teórico e experimental, é possível perceber na região entre 2800 a 3200 cm^{-1} números de ondas associados às vibrações de estiramentos nas ligações C-H, sejam elas ligadas ao anel de 1,10-Fenantrolina com movimentos de estiramento entre 3092 a 3081 cm^{-1} ou movimentos do CH₂ ligados ao anel de prolina com estiramento anti-simétrico (H32C31H33) em 3006 cm^{-1} e simétrico do H35C34H36 em 2966 cm^{-1} [118].

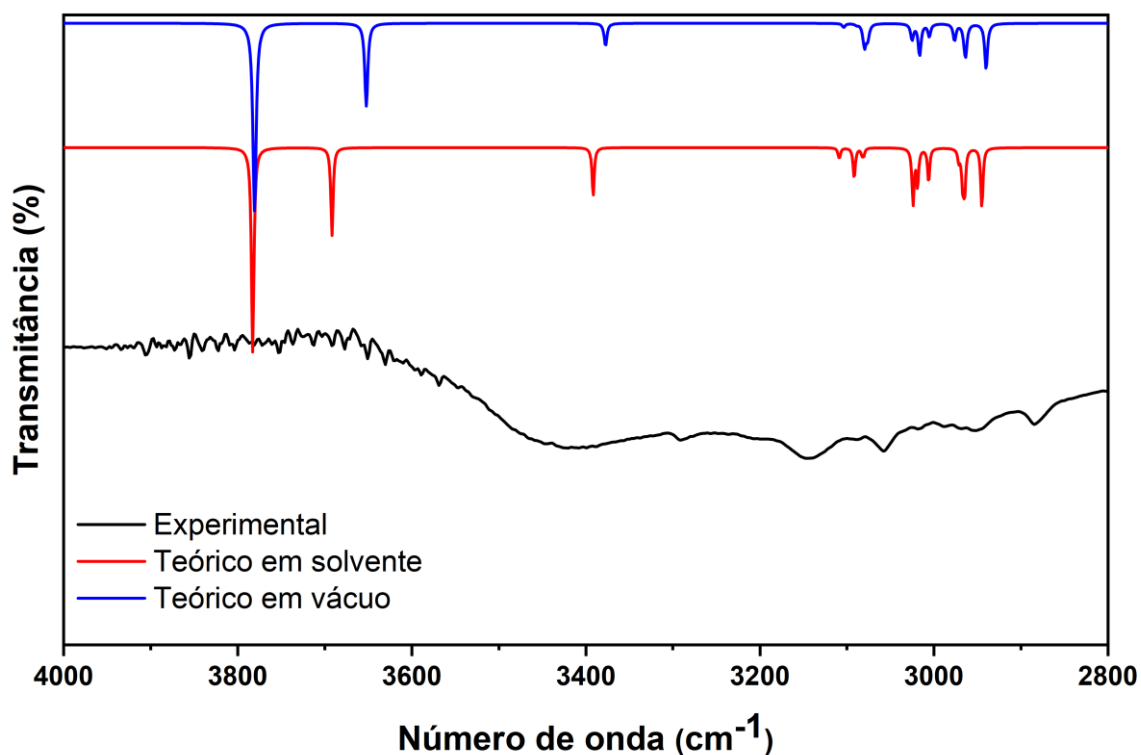


Figura 32 - Espectros teóricos e experimental de FT-IR do cristal ternário FPCu na faixa espectral de 2800 a 4000 cm^{-1} .

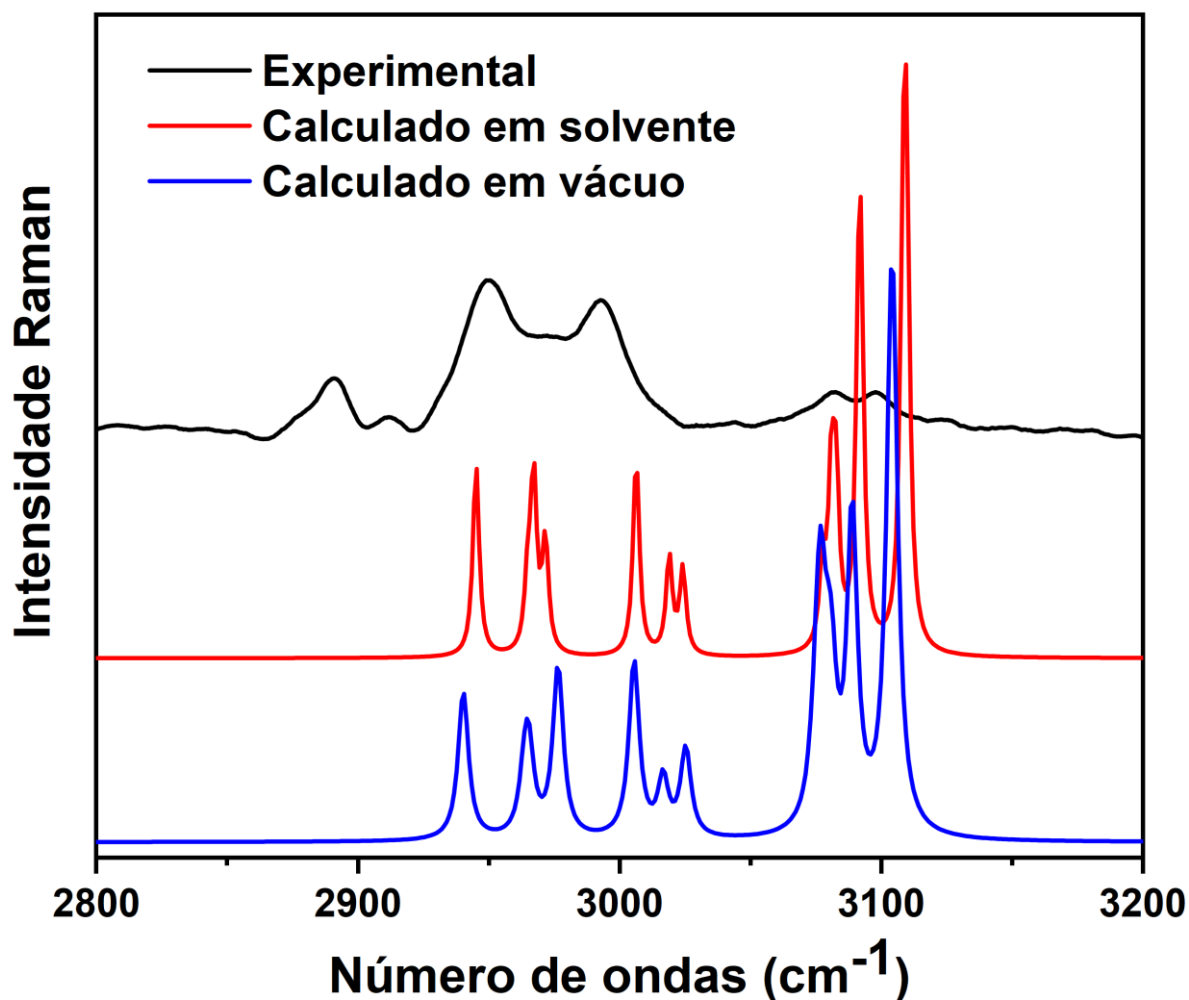


Figura 33 - Espectros Raman teórico e experimental do cristal FPCu na faixa espectral de 2800 a 3200 cm^{-1} .

A Tabela 5 abaixo apresenta as atribuições de bandas referentes aos espectros teórico (ω_{calc}) e experimental do FT-IR (ω_{IR}) e Raman (ω_{RAMAN}) na região de 2800 a 4000 cm^{-1} .

Tabela 5 - Atribuições dos modos vibracionais FT-IR e Raman para o cristal FPCu na faixa espectral de 2800 a 4000 cm^{-1} .

$\omega_{\text{calc}} (\text{cm}^{-1})$	$\omega_{\text{IR}} (\text{cm}^{-1})$	$\omega_{\text{RAMAN}} (\text{cm}^{-1})$	Atribuições com VMARD (%)
3783	-	-	$\nu_a(\text{H41O40H42})$ (85)
3691	-	-	$\nu_s(\text{H41O40H42})$ (85)
3391	3416	-	$\nu(\text{N4H5})$ (87)
3092	3146	3098	$\nu(\text{C22H23})$ (48) + $\nu(\text{C20H21})$ (14) + $\nu(\text{C18H19})$ (11)
3081	-	3082	$\nu(\text{C18H19})$ (56) + $\nu(\text{C20H21})$ (16) + $\nu(\text{C22H23})$ (9)
3024	3058	-	$\nu_a(\text{H29C28H30})$ (49) + $\nu_a(\text{H35C34H36})$ (23) + $\nu_a(\text{H32C31H33})$ (19)
3006	3013	2992	$\nu_a(\text{H32C31H33})$ (52) + $\nu(\text{C34H36})$ (15) + $\nu(\text{C28H29})$ (10)
2971	2970	2949	$\nu(\text{C37H38})$ (59)
2966	2952	2911	$\nu_s(\text{H35C34H36})$ (72)
2945	2885	2890	$\nu_s(\text{H32C31H33})$ (68)

*Espectro teóricos (ω_{calc}) / experimental FT-IR (ω_{IR}) / experimental RAMAN (ω_{RAMAN})

Números de onda foram calculados pelo método DFT, Funcional PBE1PBE, conjuntos de funções de base 6-311++G(d,p) para os átomos C, N, O, H e Pseudopotencial SDD para o átomo de Cu. São apresentados somente os valores de porcentagens VMARD acima de 9%. As atribuições sem VMARD foram atribuídos visualmente. Notação dos modos: ν – Estiramento; ν_s – Estiramento simétrico; ν_a – Estiramento antissimétrico; ρ – Rotação; δ – Deformação; γ – *scissoring*; ω – Balanço em fase; ω_t – Balanço fora de fase; τ – Torção.

4.4.1.2 Região entre 800 e 1800 cm^{-1}

Para a faixa de espectros compreendida entre 800 e 1800 cm^{-1} no FT-IR e Raman é observado uma banda alongada em 1644 cm^{-1} atribuído a ligação dupla C=O da molécula de Prolina. Os picos em torno de 1626 cm^{-1} , 1586 cm^{-1} e 1558 cm^{-1} são devidos, respectivamente, as deformações e estiramentos existentes na molécula de 1,10-Fenantrolina e vibrações de deformação em *scissoring* (corte ou tesoura) da molécula de água.

Nos modos de vibração entre 1300 cm^{-1} e 1500 cm^{-1} do espectro Raman, por exemplo, vibrações em 1465 cm^{-1} e 1431 cm^{-1} , são movimentos de deformações dos anéis pertencente a molécula de 1,10-Fenantrolina e também pequenas vibrações dos anéis pertencentes a molécula de prolina.

As bandas de 1091 cm^{-1} , 1059 cm^{-1} , 909 cm^{-1} , 855 cm^{-1} e 833 cm^{-1} tanto nos espectros de FT-IR quanto do Raman correspondem a deformações angulares dos anéis do ligante e do aminoácido com vibrações de deformações das ligações CH, por exemplo, em 1158 cm^{-1} onde ocorre um balanço fora de fase da ligação CH₂ na molécula da prolina. Nas Figuras 34 e 35 e na Tabela 6 é possível perceber as bandas acima atribuídas.

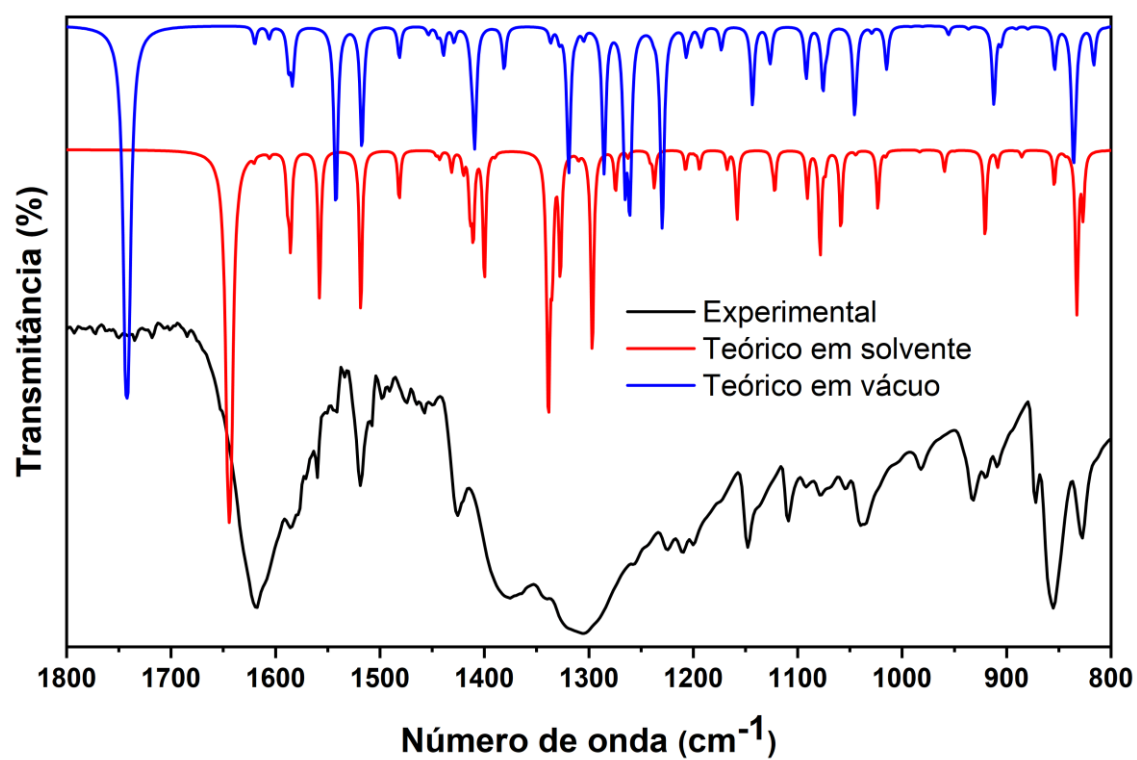


Figura 34 - Espectros teórico e experimental de FT-IR do cristal ternário FPCu na faixa espectral de 800 a 1800 cm⁻¹.

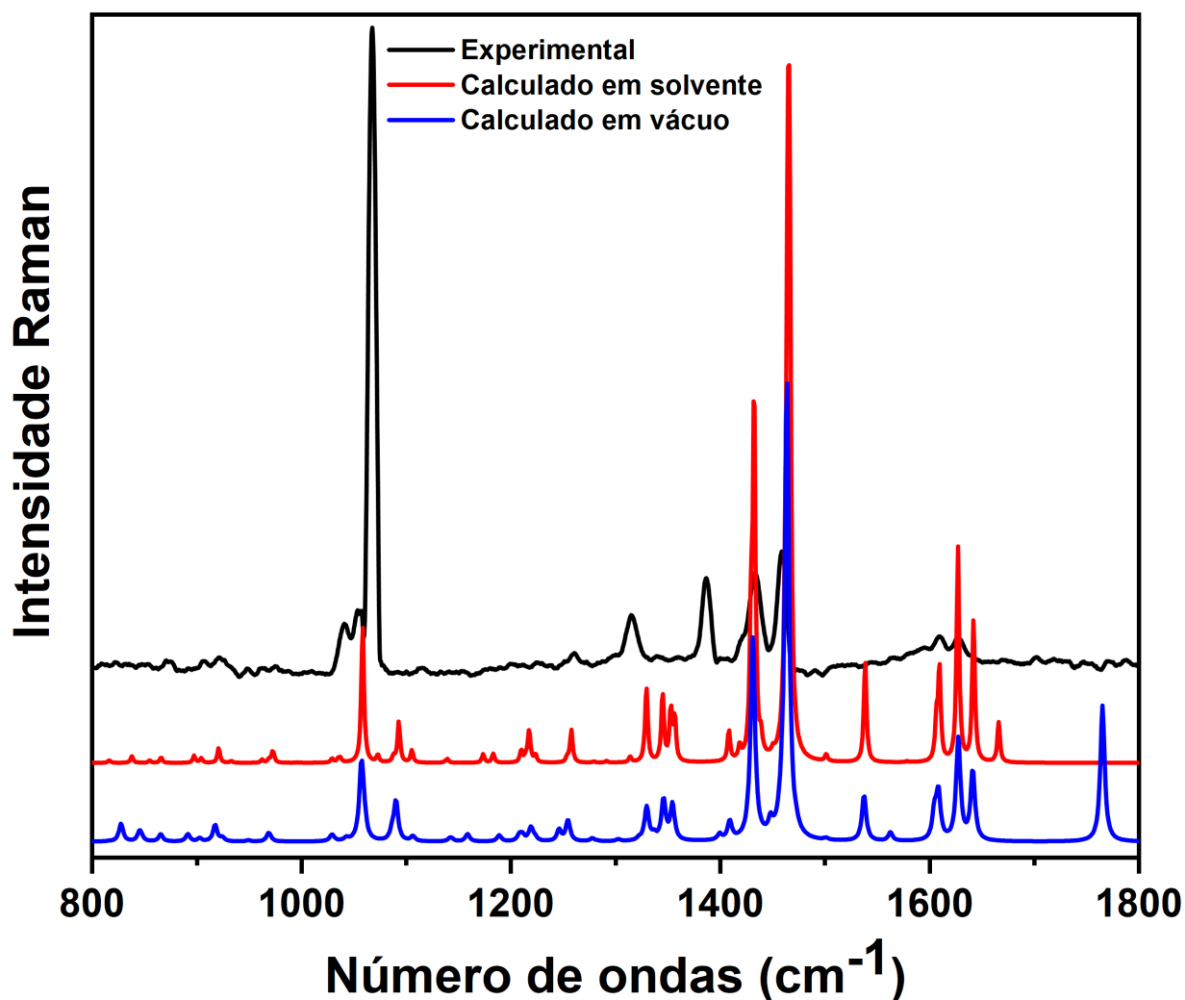


Figura 35 - Espectros Raman teórico e experimental do cristal FPCu na faixa espectral de 800 a 1800 cm⁻¹.

A Tabela 6 abaixo apresenta as atribuições de bandas referentes aos espectros teórico (ω_{calc}) e experimental do FT-IR (ω_{IR}) e Raman (ω_{RAMAN}) na região de 800 a 1800 cm⁻¹.

Tabela 6 - Atribuições dos modos vibracionais FT-IR e Raman para o cristal FPCu na faixa espectral de 800 a 1800 cm⁻¹.

ω_{calc} (cm ⁻¹)	ω_{IR} (cm ⁻¹)	ω_{RAMAN} (cm ⁻¹)	Atribuições com VMARD (%)
1644	1617	1670	$\nu(\text{C39O7})$ (67)
1640	1611	-	$\nu_a(\text{fen}_{\text{anel}})$ (68)
1626	1608	1627	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})$ (65)
1586	1584	1609	$\nu(\text{fen}_{\text{anel}})$ (67)
1558	1560	1573	$\gamma(\text{H41O40H42})$ (61)
1518	1518	1499	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})$ (56)
1481	1474	1484	$\tau(\text{fen}_{\text{anel}})$ (54)
1465	-	1459	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})$ (51)
1431	1457	-	$\gamma(\text{H35C34H36})$ (28) + $\gamma(\text{H29C28H30})$ (17) + $\gamma(\text{H32C31H33})$ (13)
1411	1427	1433	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})$ (58)

1409	1376	1410	$\rho(\text{N4H5})(14)$
1400	1364	1388	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(27)$
1338	1339	1339	$\nu(\text{O6C39})(16)$
1327	1305	-	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(42)$
1325	-	1315	$\delta(\text{phen}_{\text{anel}})(24) + \rho(\text{H29C28H30})(10)$
1297	1260	1298	$\nu(\text{O6C39})(16) + \rho(\text{C28N4C37})(11)$
1274	1225	1271	$\delta(\text{Pro}_{\text{anel}})(34)$
1208	1208	1201	$\delta(\text{phen}_{\text{anel}})(41)$
1158	1147	1154	$\rho(\text{N4H5})(10) + \omega(\text{H29C28H30})(11)$
1122	1108	1134	$\rho(\text{C20H21})(22) + \rho(\text{C18H19})$
1091	1092	1131	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(30)$
1059	1052	1067	$\delta(\text{pro}_{\text{anel}})(46)$
1023	981	1053	$\rho(\text{pro}_{\text{anel}})(23)$
960	934	975	$\delta(\text{pro}_{\text{anel}})(52)$
921	919	921	$\nu(\text{C28N4C37})(19)$
909	910	906	$\delta(\text{pro}_{\text{anel}})(52)$
885	891	873	$\tau(\text{pro}_{\text{anel}})(31)$
855	871	851	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(33)$
833	853	831	$\tau(\text{fen}_{\text{anel}})(41)$
827	823	821	$\omega(\text{O6C39O7})(11) + \delta(\text{pro}_{\text{anel}})(37)$
815	819	807	$\tau(\text{phen}_{\text{ring}})(44)$

*Espectro teóricos (ω_{calc}) / experimental FT-IR (ω_{IR}) / experimental RAMAN (ω_{RAMAN})

Números de onda foram calculados pelo método DFT, Funcional PBE1PBE, conjuntos de funções de base 6-311++G(d,p) para os átomos C, N, O, H e Pseudopotencial SDD para o átomo de Cu.

São apresentados somente os valores de porcentagens VMARD acima de 9%.

As atribuições sem VMARD foram atribuídos visualmente.

Notação dos modos: ν – Estiramento; ν_s – Estiramento simétrico; ν_a – Estiramento antissimétrico;

ρ – Rotação; δ – Deformação; γ – scissoring; ω – Balanço em fase; ω_t – Balanço fora de fase; τ – Torção.

4.4.1.3 Região entre 40 a 800 cm^{-1}

Para as atribuições da faixa espectral entre 40 e 800 cm^{-1} do Raman e FT-IR é possível perceber que à medida que os números de onda diminuem as bandas de vibração ficam mais fracas, isso tem relação com a interação existente entre as moléculas de 1,10-Fenantrolina, prolina e o centro metálico. As bandas localizadas em 429 cm^{-1} do espectro de FT-IR e 431 cm^{-1} do espectro Raman estão associadas ao estiramento entre o Cu^{2+} e os nitrogênios da 1,10-Fenantrolina e deformações entre a ligação Cu-O e Cu-N ($\delta(\text{Cu1N4O6})$) das moléculas da prolina.

As bandas de números de onda 306 cm^{-1} e 285 cm^{-1} do espectro Raman se referem a movimentos de deformações angulares de toda a estrutura do cristal FPCu, com atribuições que remetem a interações entre os anéis de prolina e 1,10-Fenantrolina com o centro metálico.

A banda em 262 cm^{-1} está relacionada a deformação do anel da molécula de prolina, sem muita interferência da interação com o íon metálico, enquanto que em 183 cm^{-1} existe um balanço fora de rede da molécula de água ($\text{H}_4\text{I}_2\text{O}_4\text{H}_4$) ligada ao centro metálico.

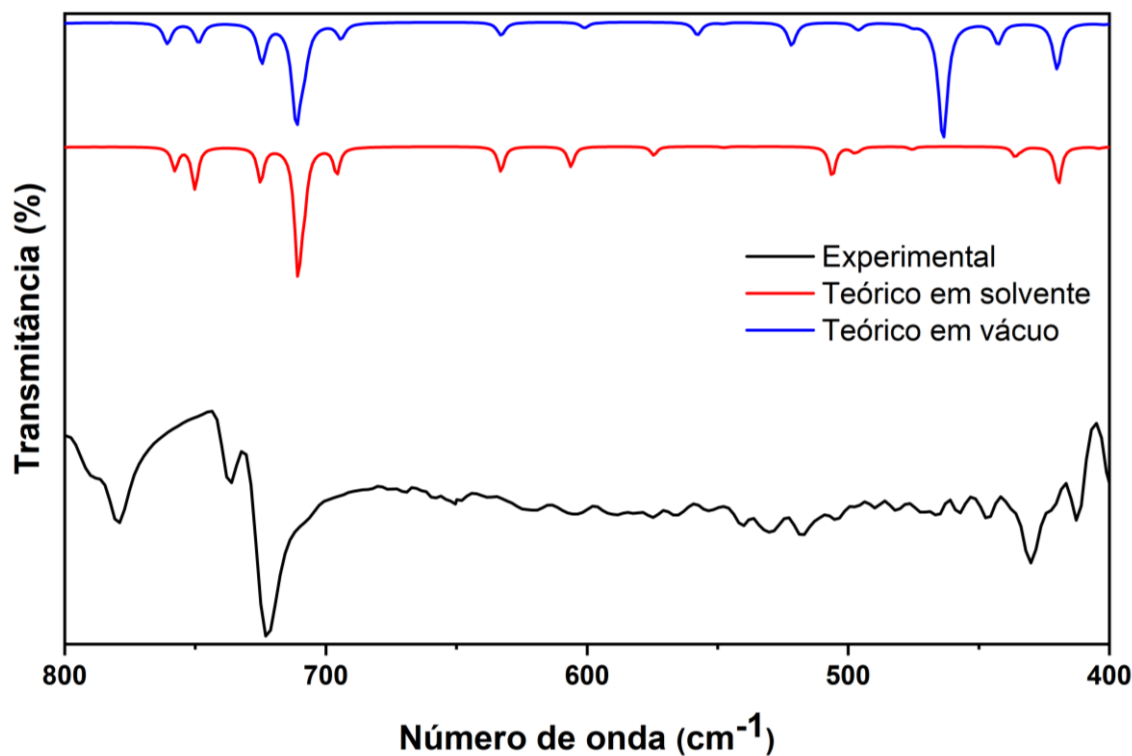


Figura 36 - Espectros teórico e experimental de FT-IR do cristal ternário FPCu na faixa espectral de 400 a 800 cm^{-1} .

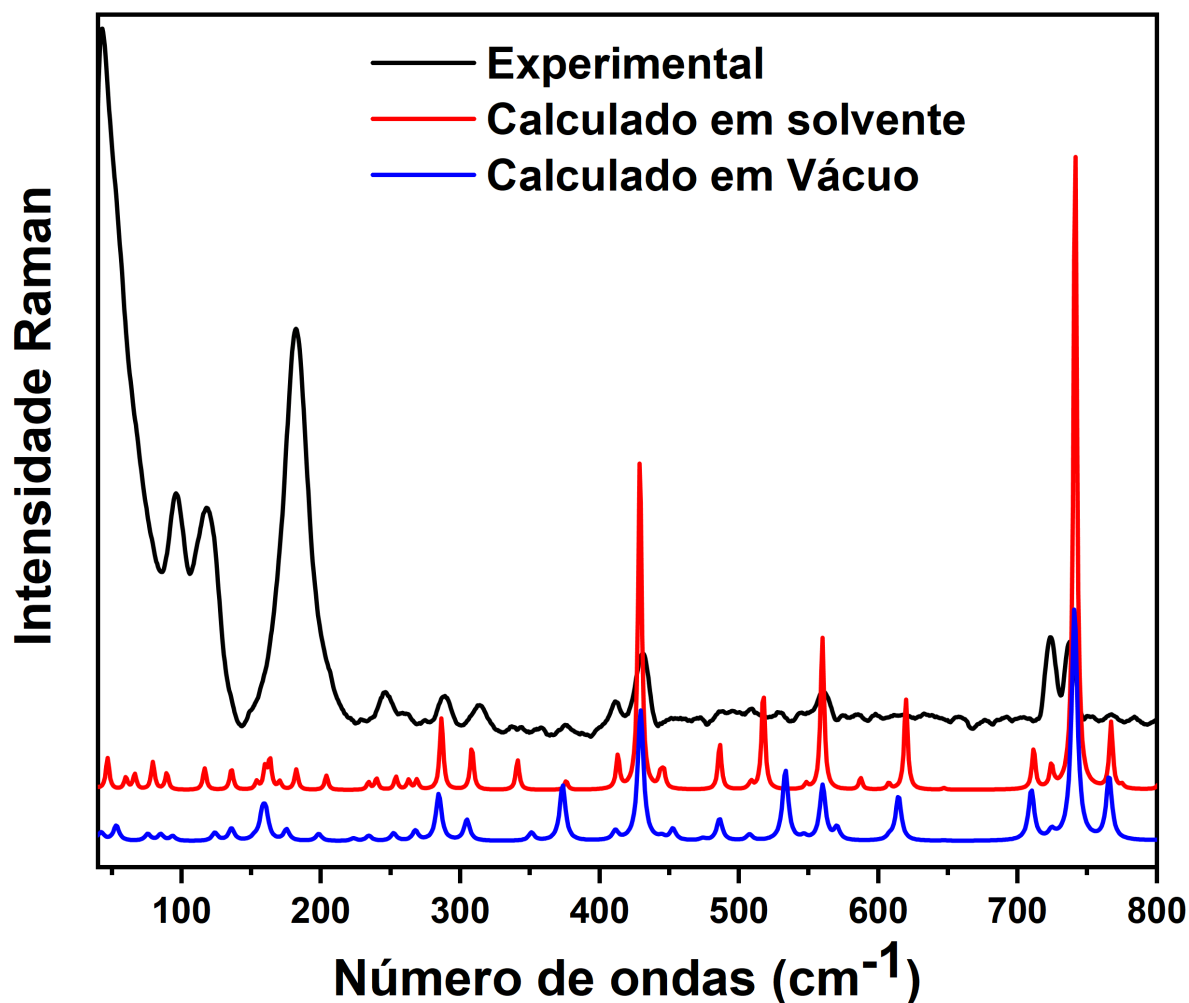


Figura 37 - Espectros Raman teórico e experimental do cristal FPCu na faixa espectral de 40 a 800 cm^{-1} .

A Tabela 7 abaixo apresenta as atribuições de bandas referentes aos espectros teórico (ω_{calc}) e experimental do FT-IR (ω_{IR}) e Raman (ω_{RAMAN}) na região de 40 a 800 cm^{-1} .

Tabela 7 - Atribuições dos modos vibracionais FT-IR e Raman para o cristal FPCu na faixa espectral de 40 a 800 cm^{-1} .

$\omega_{\text{calc}} (\text{cm}^{-1})$	$\omega_{\text{IR}} (\text{cm}^{-1})$	$\omega_{\text{RAMAN}} (\text{cm}^{-1})$	Atribuições com VMARD (%)
750	778	766	$\tau(\text{pro}_{\text{anel}})$ (29) + $\omega(\text{O6C39O7})$ (10)
725	735	739	$\omega(\text{fen}_{\text{anel}})$ (69)
711	725	723	$\omega_f(\text{fen}_{\text{anel}})$ (38)
696	672	704	$\omega(\text{pro}_{\text{anel}})$ (29) + $\rho(\text{O6C39O7})$ (9)
633	649	691	$\omega(\text{fen}_{\text{anel}})$ (40)
559	553	560	$\omega_f(\text{fen}_{\text{anel}})$ (28)
497	500	497	$\omega(\text{fen}_{\text{anel}})$ (42)
475	469	470	$\omega(\text{fen}_{\text{anel}})$ (22)
436	448	443	$\tau(\text{pro}_{\text{anel}})$ (29)
420	429	431	$\delta(\text{phen}_{\text{ring}})$ (74)
411	412	411	$\omega(\text{H41O40H42})$ + $\tau(\text{phen}_{\text{ring}})$ (48)
376	399	375	$\omega_f(\text{H41O40H42})$ (36)
341	-	343	$\delta(\text{pro}_{\text{ring}})$ + $\delta(\text{Cu1N406})$

306	-	315	$\delta(\text{pro}_{\text{anel}}) + \delta(\text{fen}_{\text{anel}}) + \delta(\text{Cu1N4O6})(11) + \delta(\text{Cu1N2N3})(10)$
285	-	288	$\omega(\text{pro}_{\text{ring}}) + \omega(\text{phen}_{\text{ring}}) + \omega(\text{H41O40H42})$
262	-	262	$\omega(\text{H41O40H42})(23) + \tau(\text{pro}_{\text{anel}})(9)$
252	-	246	$\tau(\text{phen}_{\text{ring}})(53)$
183	-	182	$\omega_f(\text{H41O40H42}) (30)$
117	-	117	Modos de rede
89	-	95	
45	-	42	

*Espectro teóricos (ω_{calc}) / experimental FT-IR (ω_{IR}) / experimental RAMAN (ω_{RAMAN})

Números de onda foram calculados pelo método DFT, Funcional PBE1PBE, conjuntos de funções de base 6-311++G(d,p) para os átomos C, N, O, H e Pseudopotencial SDD para o átomo de Cu.

São apresentados somente os valores de porcentagens VMARD acima de 9%.

As atribuições sem VMARD foram atribuídos visualmente.

Notação dos modos: ν – Estiramento; ν_s – Estiramento simétrico; ν_a – Estiramento antissimétrico;

ρ – Rotação; δ – Deformação; γ – scissoring; ω – Balanço em fase; ω_f – Balanço fora de fase; τ – Torção.

4.5 Análise térmica

O cristal de cobre, 1,10-Fenantrolina e Prolina foi caracterizada por TG-DTA com temperatura entre 28 a 900°C, massa de 3,28 mg e análise DSC com temperatura entre 26 e 350 °C. A análise térmica diferencial e sua respectiva decomposição, para melhor entendimento, foi dividido em três regiões conforme demonstrado na Figura 38 abaixo.

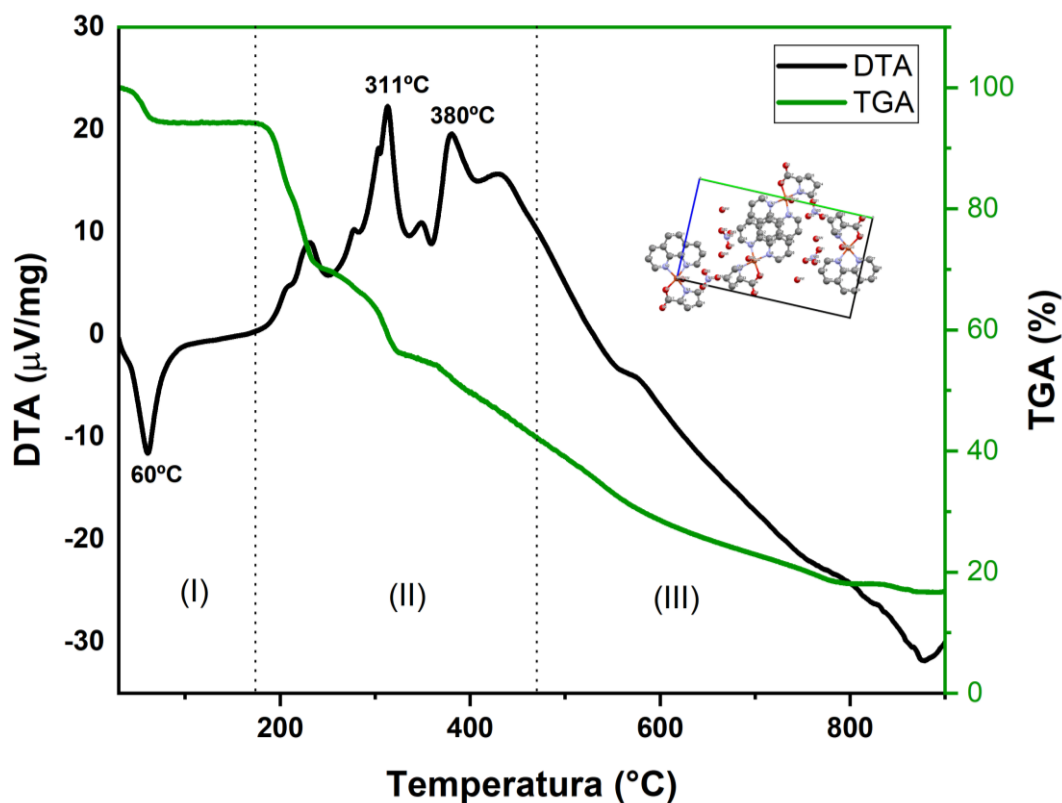


Figura 38 - Curva TG-DTA do cristal de Cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e Prolina.

Na primeira região é possível perceber um evento endotérmico entre 35 e 103 °C no gráfico DTA, com máxima em 60°C, de acordo com a curva TG essa se refere a perda de água livre do composto, uma vez que corresponde a perda de 0,19 mg ou 5,8% do composto, o que representa 20,81 g/mol. Essa associação a água livre se dar devido existir no complexo apenas uma molécula de água livre com valor de 18,01 g/mol. Esses dados estão de acordo com [119] e [120] no qual foi sintetizado complexos envolvendo cobre e prolina e a região de perda da água livre para ambos os estudos estão relacionados a temperatura entre 60 e 90°C.

Na segunda região compreendida entre 175°C a 468°C, existem dois eventos exotérmicos destacados em 311°C e 380°C de acordo com a curva TG. Nesse intervalo há uma perda de massa correspondente a 2,01 mg ou 61,4% do complexo. Essa perda representa 218,47 g/mol. Essa decomposição pode estar relacionada a saída dos compostos orgânicos [119;121-122].

Para ambos os trabalhos [119;121-123] existem eventos exotérmicos na faixa entre 200 e 400 °C que estão associados a perda de, inicialmente, grupos amina, seguida do início da perda da molécula de prolina na região de 311°C e da 1,10-Fenantrolina em 380°C. Esses compostos orgânicos quando estão complexados ao cobre podem se decompor de maneira parcial à medida que a temperatura vai sendo elevada.

Na região (III) com temperatura a partir de 470°C pela curva TG representa uma perda de aproximadamente 27% do material ou -0,87 mg, correspondente a 95,08 g/mol. Pela análise da segunda e terceira região é possível perceber que um total de 313,56 g/mol do complexo foi decomposto o que está relacionado a perda do restante dos compostos orgânicos [123].

Na Figura 39 é apresentado o resultado da análise térmica diferencial – DSC.

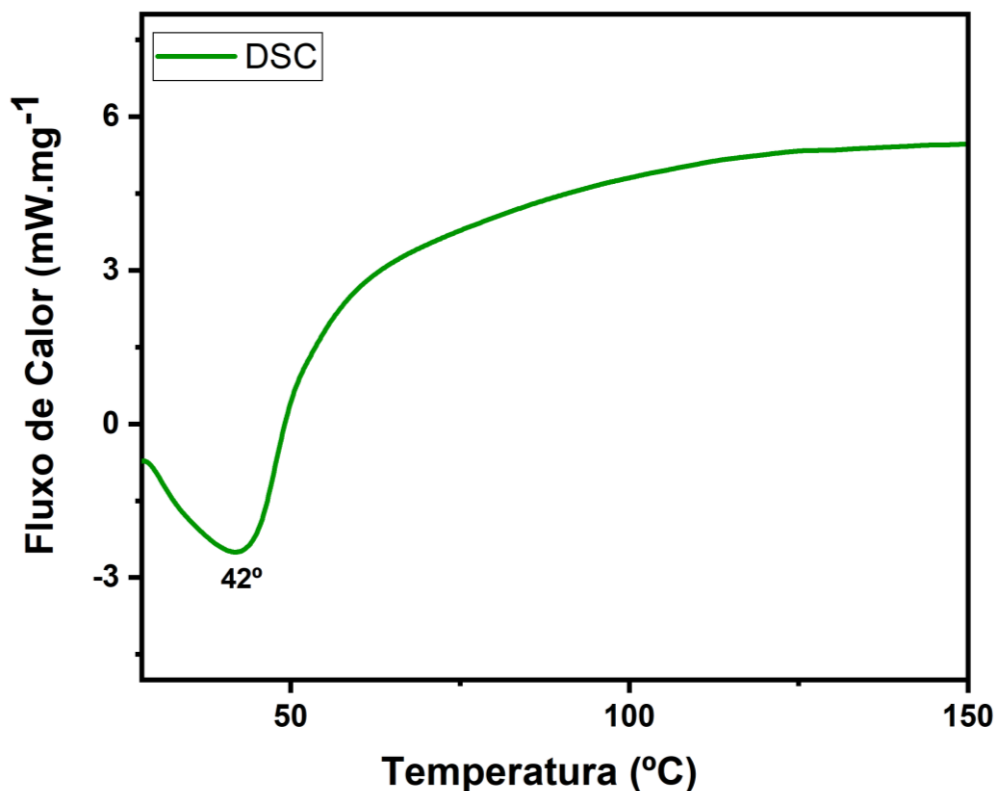


Figura 39 - Curva DSC do cristal ternário de Cobre(II) com 1,10-Fenantrolina e Prolina.

É possível perceber um evento de desidratação endotérmica na região de 42°C. De acordo com os dados apresentados, o fluxo de energia necessário para provocar a desidratação endotérmica da amostra é baixo, pressupondo que as moléculas de água estão ligadas muito fracamente ao complexo. Esse mesmo evento também foi observado [15] e corrobora com os dados de perda de massa apresentados pelo TG-DTA na primeira região. Por fim, a análise térmica diferencial demonstra que o composto tem boa estabilidade térmica sendo está superior a temperatura do corpo humano, o que favorece a aplicação do complexo FPCu como agente antitumoral.

4.6 Difração de raios X em função da temperatura

A partir da análise térmicas de DSC e TG-DTA foram constatadas perda da molécula de água livre, evidenciando transformação de fase do material. Foi realizado a medida de DRX em alta temperatura para observar essas modificações na estrutura do cristal de cobre, 1,10-Fenantrolina e prolina através dos difratogramas em temperaturas que variam entre 27 a 242°C.

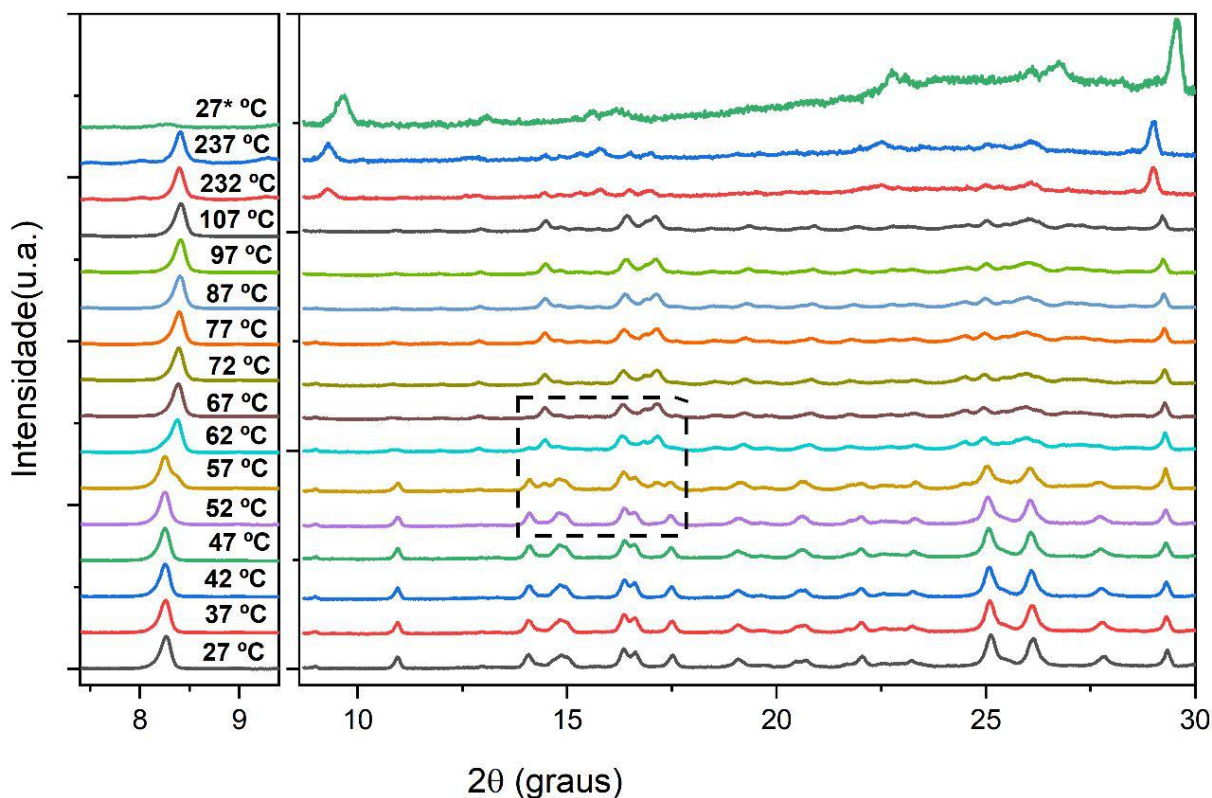


Figura 40 - Difratomogramas do cristal ternário FPCu em função da temperatura (27 a 242°C)

A Figura 40 mostra que o material possui modificações nos difratogramas somente a partir de 57°C devido à perda de água, esse resultado está de acordo com o TG/DTA.

Na faixa de temperatura entre 27 a 52°C o complexo apresenta os dados cristalográficos de acordo com o apresentado no DRX em temperatura ambiente e no refinamento pelo método de Rietveld, dentre eles o sistema cristalino monoclinico e o grupo espacial P21. A partir de 57°C, em picos em torno de 8 e 15 graus, ocorre alguns deslocamentos, alargamentos e encurtamentos dos difratogramas. Pela análise realizada nas curvas DSC e TG-DTA é nessa faixa de temperatura que ocorre a perda da água livre, o que justifica essa mudança.

Entre 67°C e 107°C o DRX em alta temperatura não apresenta modificações perceptíveis nos difratogramas. Entre 107°C e 232°C não ocorreu nenhuma modificação nos difratogramas, somente a partir de 232 °C que ocorre uma diminuição dos picos e desaparecimento de outros, o que pode representar os eventos das regiões II e III da análise TG/DTA, representando o início da perda dos materiais orgânicos. Os picos a 27°C* refere-se a medida de retorno após 24 horas, demonstrando que a transformação é de maneira irreversível.

A Figura 41 demonstra o processo de modificação dos picos à medida que a temperatura aumenta. É possível perceber um deslocamento dos picos na região $2\theta = 8,36^\circ$ em temperatura na faixa de 57°C. Essa mudança indica a transformação de fase apontada na TG-DTA. Na

mesma faixa de temperatura é possível observar na região de 2θ entre 25° e 26° desaparecimento de picos.

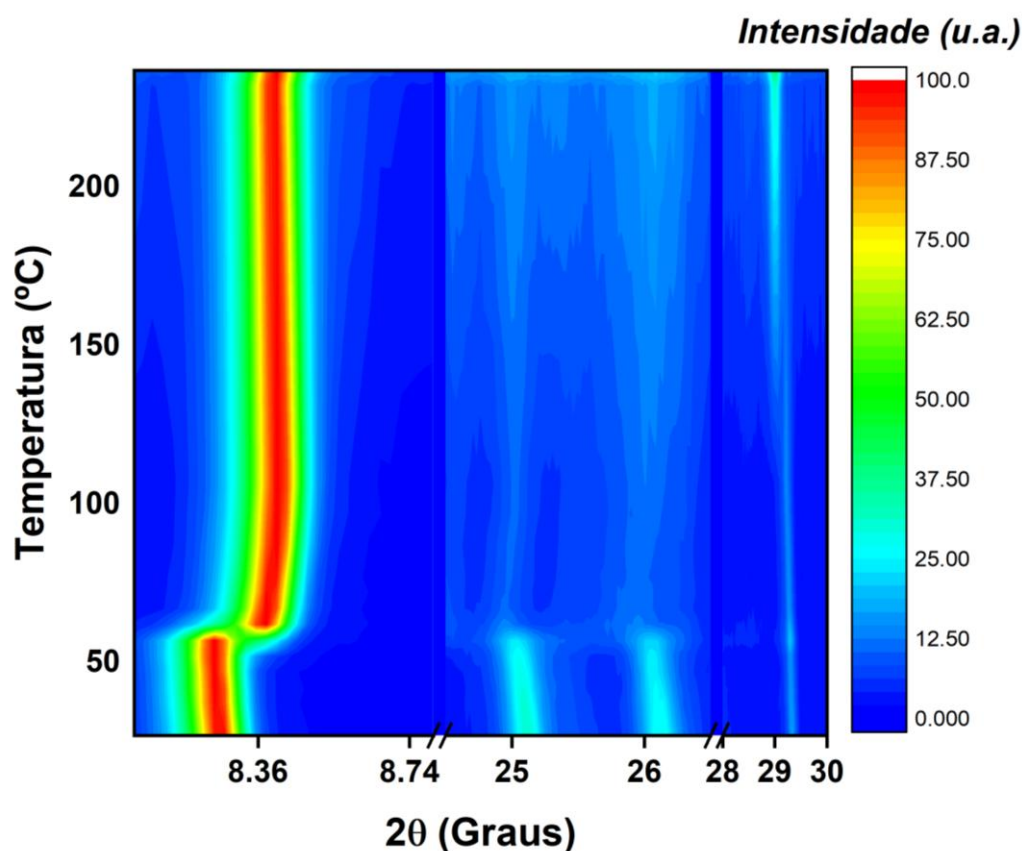


Figura 41 - Transformação de fase do complexo FPCu no intervalo angular 2θ entre 8 e 30° .

Esse padrão de modificações apresentados pelo DRX em temperatura está de acordo com os eventos de DSC/TG-DTA sobre a transformação de fase do material em função da perda de moléculas de água livre, com novos padrões cristalográficos do complexo a partir de 57°C .

Nas Figuras 39, 40 e 41 abaixo são apresentadas as modificações nos parâmetros de rede e parâmetros estruturais do composto FPCu até a transformação de fase do material.

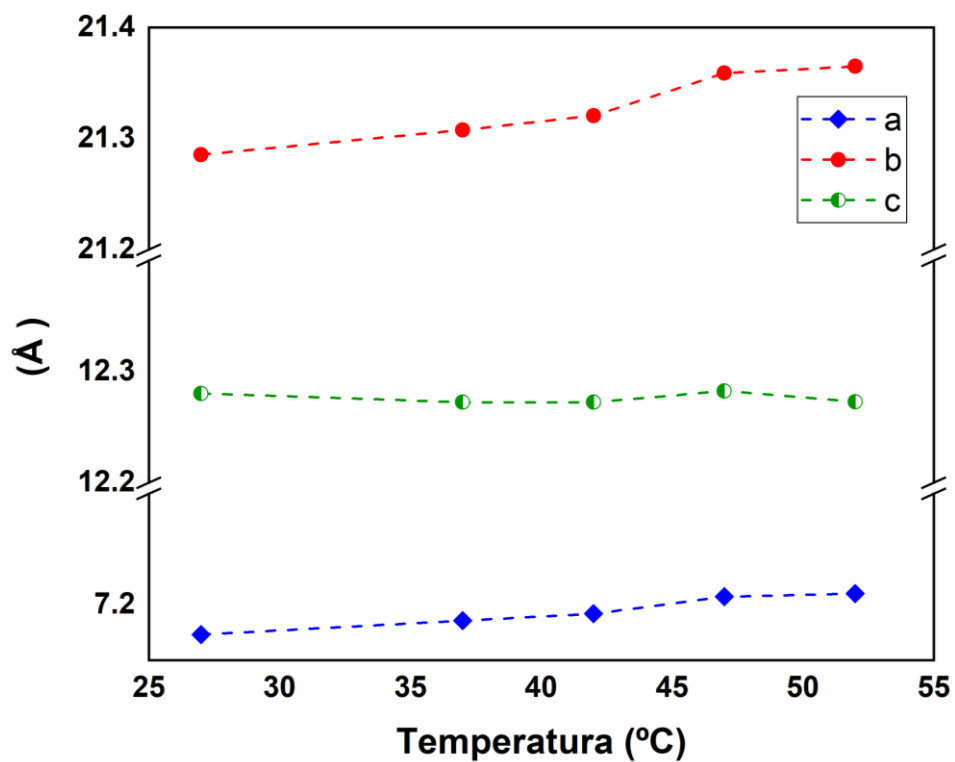


Figura 42 - Variação dos parâmetros de rede a, b e c do cristal FPCu em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld.

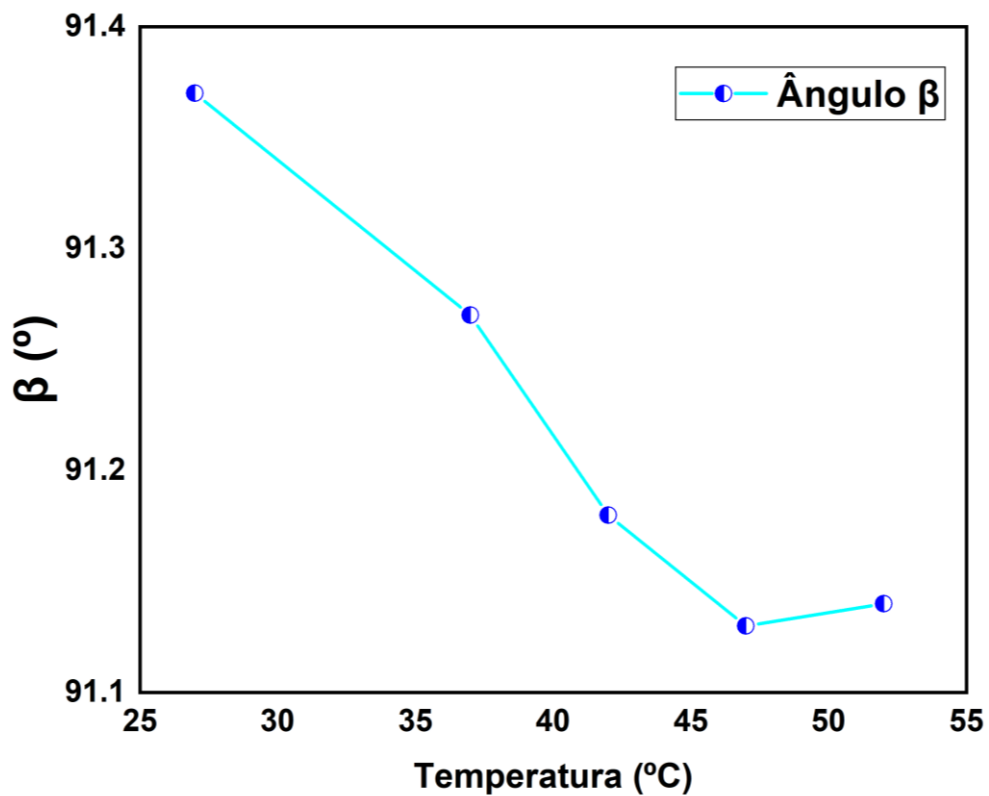


Figura 43 - Variação do ângulo β do cristal FPCu obtidos em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld

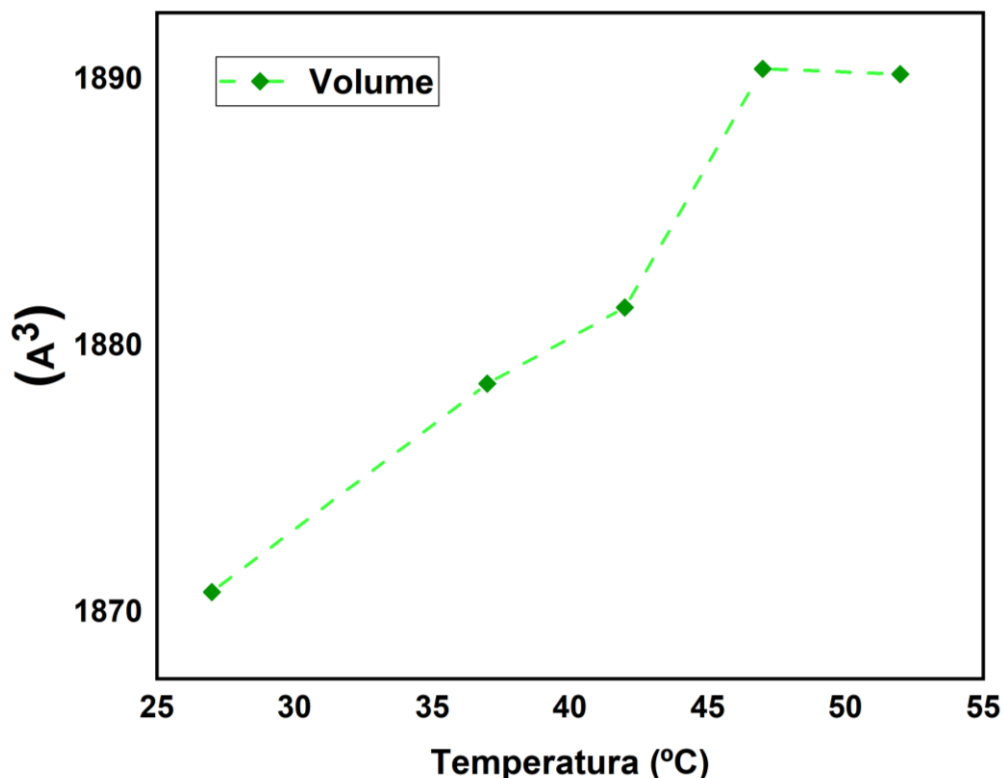


Figura 44 - Variação do volume do cristal FPCu obtidos em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld

Pelo padrão de modificação observado nas Figuras de 42 a 44 é possível observar que, no geral, os parâmetros de rede sofrem variação relativamente pequena. Nos parâmetros a e b as variações são mais destacadas, com os valores crescendo de maneira mais gradual.

Já nos parâmetros estruturais, tanto o ângulo β quanto o volume possuem modificações mais acentuadas em função da temperatura. O volume aumenta com a elevação da temperatura, isso se dar em função da dilatação térmica. Entretanto em 52°C é possível perceber uma pequena redução no volume, isso se dar pelo possível rearranjo da molécula para a nova estrutura em função da transformação de fase.

Na Figura 45 de dilatação térmica nota-se o padrão de modificação em cada eixo cristalográficos para o cristal FPCu. Dessa forma, os valores foram os seguintes: $\alpha_{[100]} = 206,426(1)(\times 10^{-6})$, $\alpha_{[010]} = 146,937(2)(\times 10^{-6})$, $\alpha_{[001]} = 26,013(0)(\times 10^{-6})$. Através dos dados pode-se afirmar que a dilatação térmica acontece de maneira diferente entre os planos cristalográficos, sendo um sistema de dilatação anisotrópico [124].

Pela análise térmica e DRX com a temperatura pode-se afirmar que o cristal de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina possui boas propriedades antitumoral, uma vez que, como já descrito, sua estabilidade térmica supera a temperatura normal do corpo humano e sua boa

variação estrutural e cristalográfica são características aceitáveis para sistemas que tem como objetivos a aplicação farmacológica [125-126].

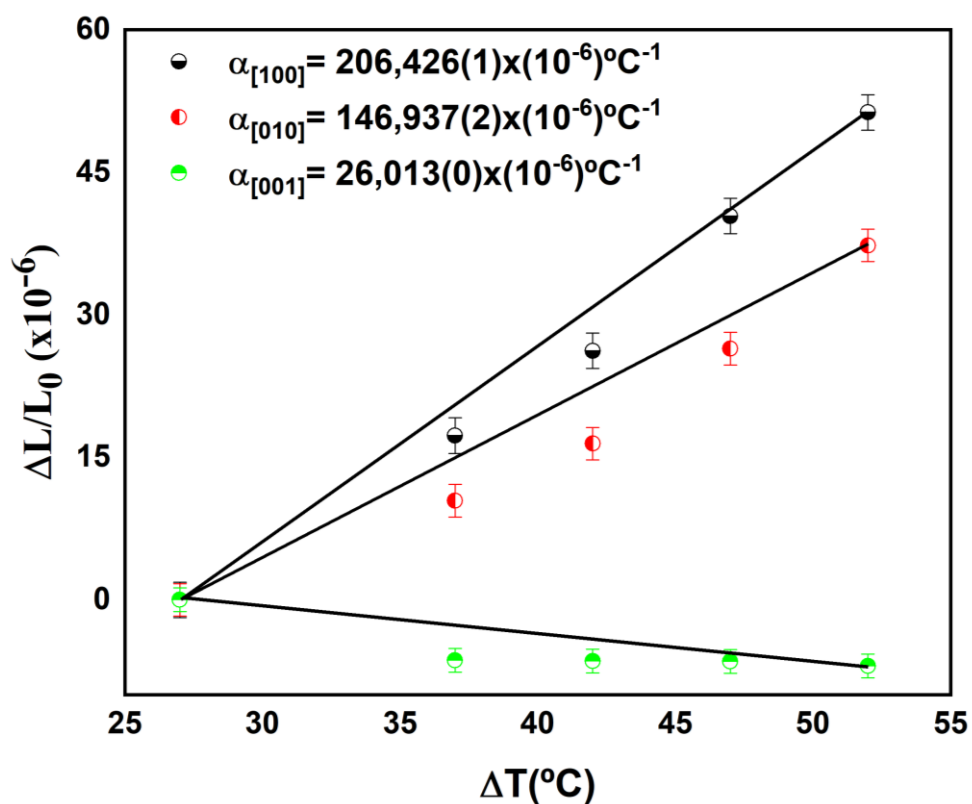


Figura 45 - Dilatação térmica do cristal FPCu obtidos em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld

Foi realizado o refinamento do complexo na temperatura de 107°C pelo método Le Bail para obter os dados cristalográficos da transformação de fase do material. A Figura 46 apresenta os difratogramas obtidos através dos dados do software DASH 4.0.0 e GSAS.

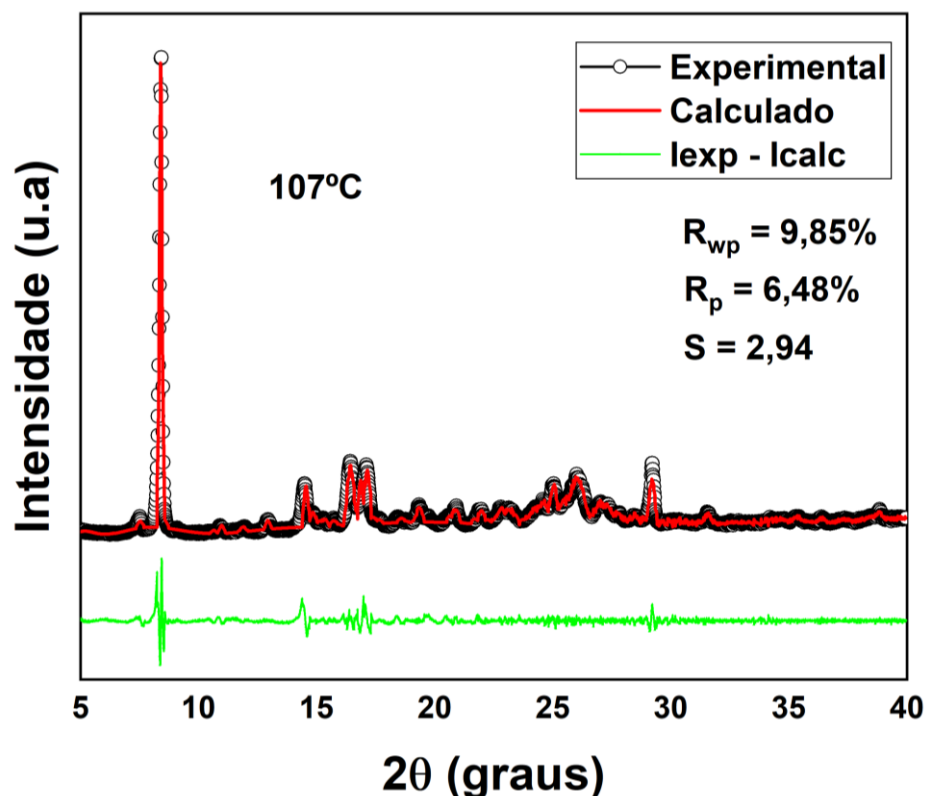


Figura 46 - Padrão de raios X em 107°C refinado pelo método Le Bail para o composto de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina após a transformação de fase.

O refinamento demonstrou ter bom nível de ajuste possuindo boa confiabilidade. O complexo mudou o sistema cristalino, saindo de um sistema monoclinico para triclinico, mudando para o grupo espacial P1. Entretanto, com o aumento da temperatura, ocorreu uma variação pequena no volume, reduzindo para $V = 1791,4(5) \text{ \AA}^3$, devido provavelmente a uma distribuição dos átomos na célula unitária fazendo um balanceamento para que o volume permaneça próximo ao original, mesmo que tenha sido utilizado uma grande variação de temperatura, os parâmetros de rede, ficaram o seguinte: $a = 12,161(2) \text{ \AA}$, $b = 17,318(5) \text{ \AA}$, $c = 14,432(4) \text{ \AA}$, $\beta = 103,90(3)^\circ$.

4.7 Testes químicos e biológicos

O testes químicos e biológicos abaixo se referem as propriedades medicinais do complexo de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina.

4.7.1 Avaliação da atividade antitumoral *in vitro*

O composto de cobre, 1,10-Fenantrolina e prolina foi submetido aos testes de citotoxicidade *in vitro* utilizando as linhagens PC3 e SNB-19. A PC3 é derivada de uma metástase óssea do adenocarcinoma da próstata de grau IV que atinge as glândulas e o tecido

epitelial da próstata [129-130], enquanto a SNB-19 é uma linhagem histológico do glioblastoma humano, um tipo de tumor cerebral maligno bastante comum de difícil prognóstico com taxa de mortalidade elevada, proliferação rápida e agressiva [131].

Na Tabela 8 abaixo são apresentados os resultados dos testes *in vitro* para o histótipo das linhagens celulares e comparados com outros complexos a base de cobre já reportados na literatura e também de drogas já aplicadas no tratamento antitumoral como a cisplatina. Os resultados são apresentados em valores de índice IC₅₀, um indicador que atesta a concentração para inibir metade do crescimento celular. Dessa forma, indica a dose necessária de determinada substância para causar 50% de inibição de um conjunto de células em função do tempo. O IC₅₀ é comumente utilizado para verificar a eficácia de medicamentos [132].

Tabela 8 - IC₅₀ do complexo FPCu para as linhagens PC3 e SNB-19 comparados com a cisplatina e complexos de cobre já reportado na literatura.

COMPLEXOS	IC ₅₀ μ M			
	PC3		SNB-19	
	Estudo	Referência	Estudo	Referência
FPCu	1,5	-	2,9	-
Cu(Phen)(ASN)	-	5,7 [128]	-	-
Cu(Phen)(MET)	-	7,4 [128]	-	-
Cisplatina	47,7	3,9 [127]	28,9	7,7 [127]

Os dados de IC₅₀ apresentados na Tabela 8 para todos os compostos foram realizados através de metodologias próximas a do estudo [133]. Os resultados demonstram que o estudo apresenta atividade antitumoral melhor quando comparado a outros complexos de cobre(II) já reportados na literatura e ainda melhor quando comparado a cisplatina.

Os dados apresentados demonstram que atividade citotóxica do complexo FPCu é superior a cisplatina corroborando com os dados apresentados no estudo computacional onde demonstrou que o índice de eletrofilicidade, indicador de atividade biológica, é superior para o complexo estudado [111]. Além disso, de acordo com DUNAEVSKY [53] e SINGH [55] a presença da prolina favorece na aplicação, porque o aminoácido possui uma cadeia lateral que se enrola facilmente ao nitrogênio na ligação peptídica de células normais, assim, à medida que células defeituosas surgem, o envelopamento da prolina no nitrogênio e consequentemente o empacotamento do DNA se reduz, provocando uma desaceleração na taxa de replicação celular. Testes *in vitro* já reportados na literatura para a prolina apontam para uma citotoxicidade maior quando ela está presente, resultando no aumento da atividade antiproliferativa na DNA topoisomerase [53;55].

Na Figura 47 abaixo apresenta a curva de dose-resposta obtida pela análise de citotoxicidade nas células cancerígenas do PC3, relacionada ao câncer de próstata, e o SNB19, glioblastoma.

A viabilidade celular avalia a proporção de células vivas e mortas utilizando um teste *in vitro* de acordo com os efeitos de determinado fármaco através de sua citotoxicidade. A análise se dar pela proliferação de um processo biológico no qual a quantidade de células aumenta de maneira muito acelerada através da divisão celular. Pelos testes de viabilidade e proliferação celular é possível monitorar a taxa de crescimento de células cancerígenas e avaliar o efeito citotóxico de determinado agente, por exemplo, complexos metálicos. Dessa forma, através do ensaio pode-se determinar o potencial farmacológico do composto [142].

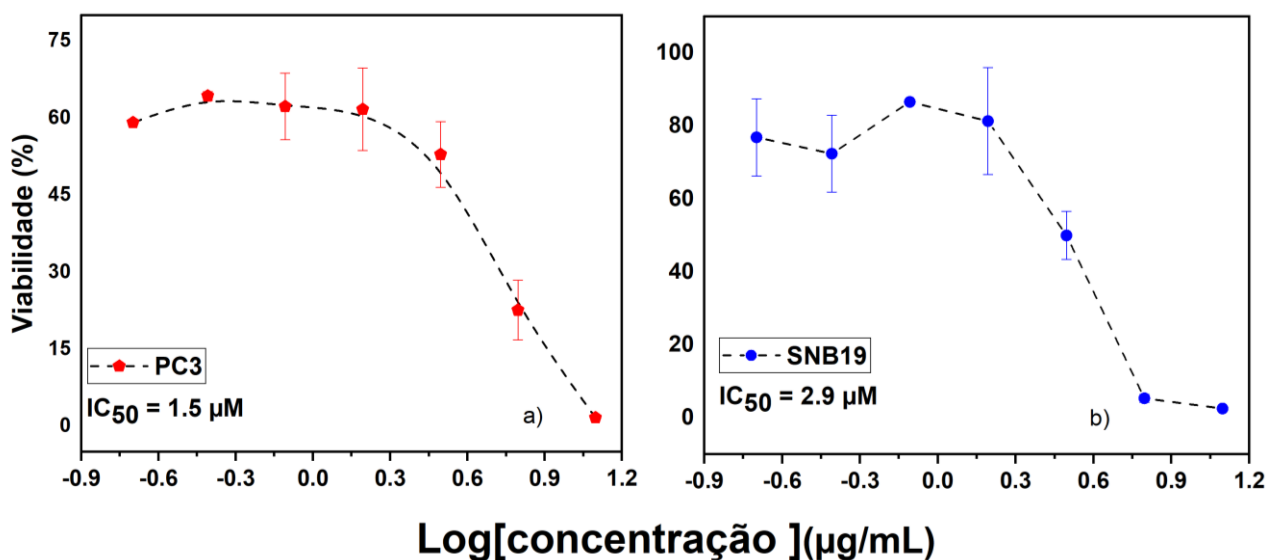


Figura 47 - Curva dose-resposta obtida pela análise de citotoxicidade do complexo FPCu em células PC3 (a) e SNB-19 (b).

É possível perceber que o complexo de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina é capaz de inibir a proliferação de células cancerosas proporcionalmente à quantidade de dose aplicada. Assim o complexo tem boa viabilidade e citotoxicidade as células de câncer PC3 e SNB19.

4.7.2 Ensaio de Solubilidade

A partir do ensaio de solubilidade é possível analisar a interação entre o complexo FPCu com a água e a respectiva solubilidade no meio. Para quantificar foi utilizado uma curva analítica conforme apresentados na Tabela 9 e Figura 48 com valor de absorbância igual a 617 nm.

Tabela 9 - Concentração das soluções padrão do cristal ternário FPCu utilizada para a construção da curva analítica (Absorbância = 617 nm).

Pontos	Absorbância (617 nm)	Concentração do cristal FPCu (mg/mL)
1	0,14	6
2	0,17	7,5
3	0,21	9
4	0,27	10,5
5	0,31	12
6	0,35	13,5
7	0,38	15
8	0,46	16,5

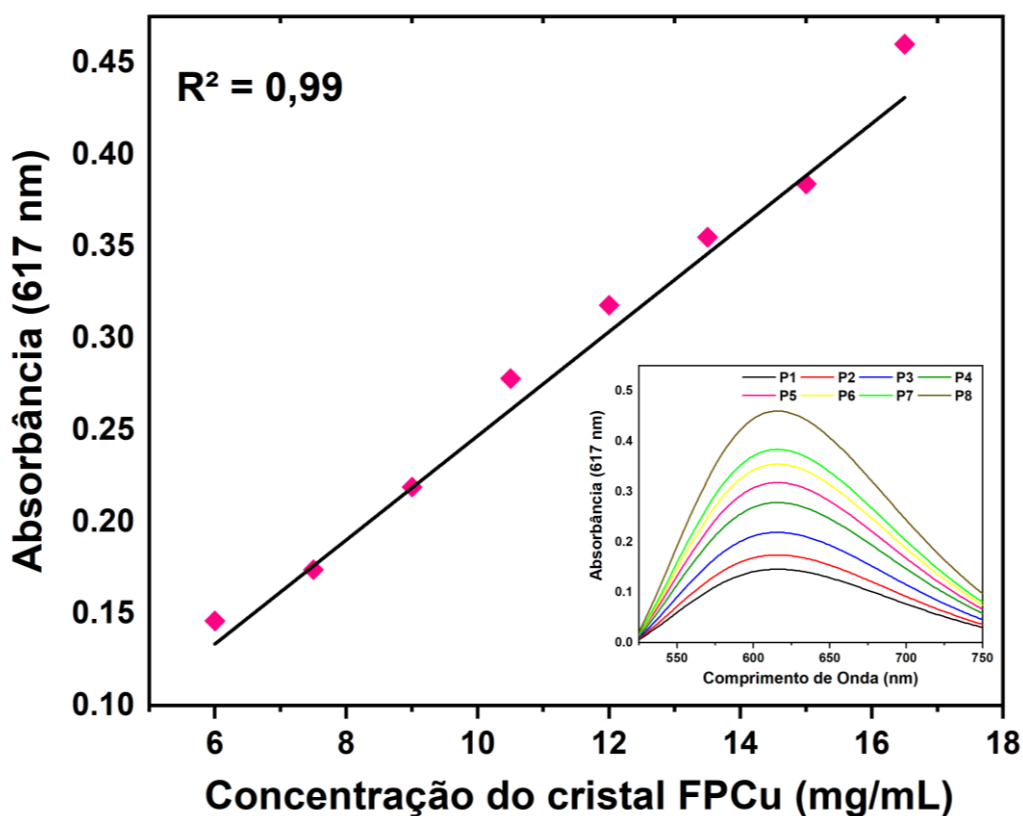


Figura 48 - Curva analítica obtida para a solubilidade do cristal FPCu em água e a respectiva concentração do material medido em absorbância em função do comprimento de onda (nm).

De acordo com os dados referentes a Tabela 9 e demonstrados na Figura 48, o coeficiente de determinação R^2 equivale a 0,99. Este fator indica que ocorre uma boa correlação linear entre as variáveis do estudo. Através da equação da reta encontrada pela curva analítica foi possível quantificar as concentrações (mg/mL) do complexo em função do tempo (min).

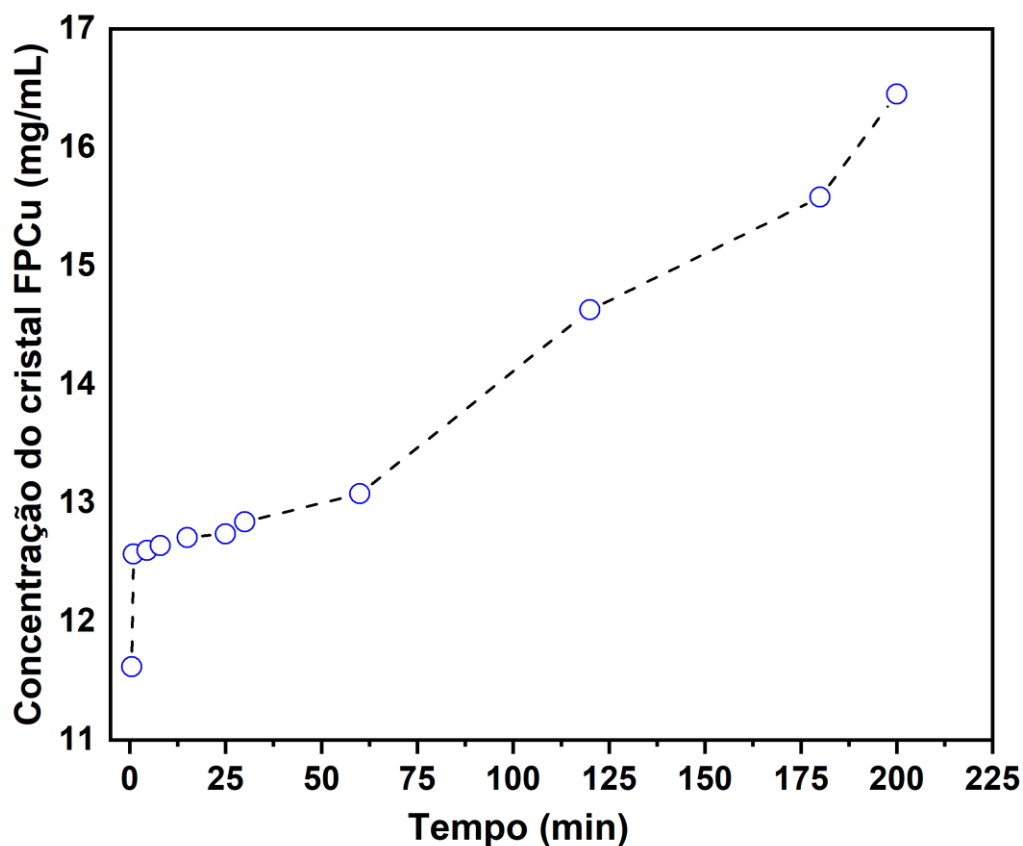


Figura 49 - Perfil de solubilidade do complexo FPCu em função do tempo(min).

De acordo com a Figura 49 o cristal de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e prolina apresenta uma solubilidade inicial de 11,62 mg/mL com um aumento gradativo na solubilidade até alcançar 16,45 mg/mL em 200 min. A partir desse perfil é possível afirmar que o complexo tem boa solubilidade no meio, com rápida dissociação à medida que o tempo de contato com a água aumenta.

Quando comparados com fármacos já comercialmente aplicados como anticancerígenos é possível perceber proximidade ou mesmo superioridade no perfil de solubilidade, uma vez que o complexo FPCu não necessita de outros solventes. Por exemplo, o cloridrato de pazopanibe (PZH) inibidor do crescimento tumoral e empregado no tratamento do carcinoma de células renais possui, segundo SODEIFIAN [148], solubilidade quando dissolvido em dióxido de carbono supercrítico (Sc-CO₂) entre 0,015 e 0,120 g/L (15 mg/mL e 120 mg/mL).

Outro fármaco anticancerígeno é o Dasatinib monohidratado (DAS), empregado como agente antineoplásico da leucemia mielóide crônica (LMC). Quando comparado a solubilidade com o complexo FPCu, ambos estão na mesma faixa, uma vez que, segundo SODEIFIAN [149], o Dasatinib monohidratado (DAS) dissolvido em dióxido de carbono supercrítico (Sc-CO₂) tem solubilidade na faixa de 0,004–0,082 g/L (4-82 mg/mL). Importante destacar que tanto o cloridrato de pazopanibe (PZH) quanto o Dasatinib monohidratado (DAS) para

aumentar a solubilidade foram dissolvidos em dióxido de carbono supercrítico (Sc-CO₂) enquanto o complexo FPCu tem alta solubilidade em água, o que facilita sua aplicação.

Tabela 10 - Concentração do complexo FPCu em função do tempo(min).

Tempo (min)	Concentração do cristal FPCu (mg/mL)
0,5	11,62
1	12,57
4,5	12,60
8	12,64
15	12,71
25	12,74
30	12,84
60	13,08
120	14,63
180	15,58
200	16,45

5 CONCLUSÕES

O cristal de cobre, 1,10-Fenantrolina e Prolina foi sintetizado pela técnica de evaporação lenta do solvente após 10 dias em um pH de aproximadamente 6,3, com coloração azul escura e formato de agulhas.

Através da técnica de difração de raios X com o refinamento Rietveld foi possível confirmar que o material cristaliza-se num sistema monoclinico de grupo espacial $P2_1$ com duas moléculas por célula unitária.

As análises de FT-IR e Raman evidenciaram a complexação do íon de cobre(II) com as moléculas de 1,10-Fenantrolina e Prolina, uma vez que, as vibrações observadas estão associadas a essas moléculas.

As medidas de análise térmica do material indicaram que sua estabilidade térmica é de 52°C, ou seja, superior à temperatura normal do corpo humano, o que favorece sua utilização como antitumoral, ocorrendo, em seguida, uma transformação de fase no material em função da desidratação.

A análise de DRX em função da temperatura confirmou os eventos indicados na análise térmica e o refinamento pelo método Le Bail confirmou a transformação de fase do material, modificando seu sistema de monoclinico para triclinico de grupo espacial $P1$.

O estudo computacional por meio da teoria do funcional da densidade foi possível obter o índice de eletrofilicidade (ω) que é um indicador importante sobre o potencial de determinado material agir como antitumoral.

A atividade antitumoral *in vitro* para as linhagens PC3 e SNB-19 os valores de IC_{50} ficaram respectivamente 1,5 e 2,9 μM . Esses valores são mais eficientes quando comparados a cisplatina e outros complexos de cobre reportados na literatura. O teste de viabilidade indicou que o complexo é capaz de inibir a proliferação de células cancerosas proporcionalmente a quantidade de dose aplicada.

O ensaio de solubilidade para o cristal FPCu mostrou boa solubilidade em água, alcançando uma solubilidade de 16,45 mg/mL em 200 min. Quando comparado com fármacos já utilizados no tratamento de câncer, o cristal demonstrou ter solubilidade adequada, além de não necessitar de outro agente para dissolução do material em meio aquoso.

Dessa forma, os resultados obtidos nesse estudo sugerem que o complexo de cobre(II), 1,10-Fenantrolina e Prolina podem vir a ser empregados no tratamento quimioterápico de células cancerígenas.

6 PERSPECTIVAS

- Realizar medidas de Espectroscopia Raman em função da temperatura;
- Desenvolver novos materiais a partir do cristal sintetizado nesse estudo;
- Apresentar os resultados desse trabalho em congressos nacionais e internacionais;

REFERÊNCIAS

- [1] Yadav, P.; Jain, J.; Sherje, A. P. Recent advances in nanocarriers-based drug delivery for cancer therapeutics: A review. *Reactive and Functional Polymers*, 165, p. 104970, 2021/08/01/ 2021.
- [2] Amit, A.M. Singh. Stimuli-responsive materials as intelligent drug delivery systems *Mater. Matters.*, 9 (2014), pp. 82-88.
- [3] A.J. Freddie Bray, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L. Siegel, Lindsey A. Torre, Global cancer statistics GLOBOCAN estimates of incidence and mortality 36 cancers in 185 countries. *Cer J. Clin.*, 68 (2018) (2018), pp. 394-424.
- [4] E. Bidram, Y. Esmaeili, H. Ranji-Burachaloo, N. Al-Zaubai, A. Zarrabi, A. Stewart, D.E. Dunstan. A concise review on cancer treatment methods and delivery systems *J. Drug Deliv Sci. Technol.*, 54 (2019), p. 101350.
- [5] S. Senapati, A.K. Mahanta, S. Kumar, P. Maiti. Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduct. Target. Ther.*, 3 (2018), pp. 1-19.
- [6] Bencini, A.; Lippolis, V. 1,10-Phenanthroline: A versatile Building block for the construction of ligands for various purposes. *Coord. Chem. Rev.* 2010, 254 (17–18), 2096–2180.
- [7] Acilan, C.; Cevatemre, B.; Adiguzel, Z.; Karakas, D.; Ulukaya, E.; Ribeiro, N.; Correia, I.; Pessoa, J. C. Synthesis, biological characterization and evaluation of molecular mechanisms of novel copper complexes as anticancer agents. *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* 2017, 1861 (2), 218–234.
- [8] Graf, N.; Lippard, S. J. Redox activation of metal-based prodrugs as a strategy for drug delivery. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2012, 64, 993–1004.
- [9] Tabti, R.; Tounsi, N.; Gaidon, C.; Bentouhami, E.; Desaubry, L. Progress in Copper Complexes as Anticancer Agents. *Med. Chem.* 2017, 7, 875–879.
- [10] E. Adams, Metabolism of proline and of hydroxyproline, *International Review of Connective Tissue Research*, Elsevier, 1970, pp. 1-91.
- [11] J.M. Phang, The regulatory functions of proline and pyrroline-5-carboxylic acid, *Current Topics in Cellular Regulation*, Elsevier, 1985, pp. 91–132.
- [12] J.M. Phang. Proline metabolism in cell regulation and cancer biology: recent advances and hypotheses.

- [13] J.M. Phang, W. Liu, O. Zabirnyk. Proline metabolism and microenvironmental stress. *Annu. Rev. Nutr.*, 30 (2010), pp. 441-463.
- [14] S.N. Dixit, J.M. Seyer, A.H. Kang. Covalent structure of collagen: amino-acid sequence of chymotryptic peptides from the carboxyl-terminal region of $\alpha 2$ -CB3 of chick-skin collagen *Eur. J. Biochem.*, 81 (3) (1977), pp. 599-607.
- [15] Venkatraman, R.; Zubkowski, J. D.; Valente, E. J. Aqua(1,10-phenanthroline) (l-prolinate)copper(II) nitrate monohydrate. *Acta Crystallographica Section C*, 55, n. 8, p. 1241-1243, 1999/08/15 1999.
- [16] Grunt, T. W.; Valent, P. Cancer – A devastating disease, but also an eye-opener and window into the deep mysteries of life and its origins. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 2022/10/02/ 2022.
- [17] Hanahan, D.; Weinberg, R. A. The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100, n. 1, p. 57-70, 2000.
- [18] Du, B.; Shim, J. S. Targeting Epithelial–Mesenchymal Transition (EMT) to Overcome Drug Resistance in Cancer. *Molecules*, v.21, n. 7, DOI: 10.3390/molecules21070965.
- [19] Olive, P. L. The Role of DNA Single- and Double-Strand Breaks in Cell Killing by Ionizing Radiation. *Radiation Research*, 150, n. 5s, p. S42-S51, 1998.
- [20] Breitkreutz, D.; Hlatky, L.; Rietman, E.; Tuszynski, J. A. Molecular signaling network complexity is correlated with cancer patient survivability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, n. 23, p. 9209-9212, 2012/06/05 2012.
- [21] MacDonald, Chemotherapeutic Drugs. *Emergencies in Pediatric Oncology*, eds K Scheinmann, AE Boyce (Springer, New York), pp. 105–120 (2012).
- [22] LE Kandalaft, GT Motz, J Busch, G Coukos, Angiogenesis and the tumor vasculature as antitumor immune modulators: The role of vascular endothelial growth factor and endothelin. *Curr Top Microbiol Immunol* 344, 129–148 (2011).
- [23] Zehra, S.; Tabassum, S.; Arjmand, F. Biochemical pathways of copper complexes: progress over the past 5 years. *Drug Discovery Today*, 26, n. 4, p. 1086-1096, 2021/04/01/ 2021.
- [24] Matson, L. M, Orbaek, A. W. *Inorganic Chemistry For Dummies*. 1nd ed. New York: John Wiley & Sons, 2013.
- [25] Lee, John David. *Química Inorgânica Não Tão Concisa*. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.
- [26] Abud, J. E.; Sartoris, R. P.; Calvo, R.; Baggio, R. μ -Acetato- μ -aqua- μ -hydroxido-bis[(1,10-phenanthroline) copper (II)] dinitrate monohydrate. *Acta Crystallogr C*, 67, n. Pt 5, p. m130-133, May 2011.

- [27] Ramukutty, S.; Ramachandran, E. Crystal growth by solvent evaporation and characterization of metronidazole. *Journal of Crystal Growth*, 351, n. 1, p. 47-50, 2012/07/15/ 2012.
- [28] Jastrzab, R.; Nowak, M.; Skrobańska, M.; Tolińska, A. et al. DNA as a target for lanthanide (III) complexes influence. *Coordination Chemistry Reviews*, 382, p. 145-159, 2019/03/01/ 2019.
- [29] F. Sanger, A.R. Coulson, A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase, *J. Mol. Biol.* 94 (1975) 441–448.
- [30] M. Garcia-Sancho, A new insight into Sanger's development of sequencing: from proteins to DNA, 1943–77, *J. Hist. Biol.* 43 (2010) 265–323.
- [31] C. Sissi, E. Marangona, A. Chemello, C.G. Noble, A. Maxwell, M. Palumbo, The effects of metal ions on the structure and stability of the DNA gyrase B protein, *J. Mol. Biol.* 353 (2005) 1152–1160.
- [32] Y. Jeon, Y. Hee Choi, Y. Jang, J. Yu, J. Goo, G. Lee, Y.K. Jeong, S. Hwan Lee, I.-S. Kim, J.-S. Kim, C. Jeong, S. Lee, S. Bae, Direct observation of DNA target searching and cleavage by CRISPR-Cas12a, *Nat. Comm.* (2018).
- [33] R.R. Sinden, C.E. Pearson, V.N. Potaman, D.W. Ussery, DNA: structure and function, *Adv. Genome Biol.* 5 (1998) 1–141.
- [34] Liu, R.-X.; Wang, C.-Y.; Wu, Y.-S.; Luo, R.-Y. et al. The copper (II) complexes of new anthrahydrazone ligands: *In vitro* and in vivo antitumor activity and structure-activity relationship. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 212, p. 111208, 2020/11/01/ 2020.
- [35] Da Silva, D. A.; De Luca, A.; Squitti, R.; Rongioletti, M. et al. Copper in tumors and the use of copper-based compounds in cancer treatment. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 226, p. 111634, 2022/01/01/ 2022.
- [36] V.C. Shanbhag, N. Gudekar, K. Jasmer, C. Papageorgiou, K. Singh, M.J. Petris. Copper metabolism as a unique vulnerability in cancer. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.*, 1868 (2) (2021).
- [37] C. Akhgarjand, K. Djafarian, H. Rezvani, E. Azargashb, M. Vafa Chemotherapy and Nutrition Article. vol. 8, no. 3 (2018), pp. 21-28.
- [38] R. Todd, S. Lippard. Inhibition of transcription by platinum antitumor compounds. *Metallomics*, 1 (2009).
- [39] Urothelial cancer: update on systemic treatment options. *Aktuelle Urol*, 48 (4) (2017), pp. 340-349.

- [40] S. Jagadeesan, V. Balasubramanian, P. Baumann, M. Neuburger, D. Häussinger, C.G. Palivan. Water-soluble Co (III) complexes of substituted phenanthrolines with cell selective anticancer activity. *Inorg. Chem.*, 52 (21) (Nov. 2013), pp. 12535-12544.
- [41] A. Guedes, F. Mello-Andrade, W. Pires. Heterobimetallic Ru (ii)/Fe (ii) complexes as potent anticancer agents against breast cancer cells, inducing apoptosis through multiple targets. *Metallomics*, 4 (2020), pp. 547-561.
- [42] V.C. Shanbhag, N. Gudekar, K. Jasmer, C. Papageorgiou, K. Singh, M.J. Petris. Copper metabolism as a unique vulnerability in cancer. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Res.*, 1868 (2) (2021).
- [43] C. Akhgarjand, K. Djafarian, H. Rezvani, E. Azargashb, M. Vafa. *Chemotherapy and Nutrition Article*. vol. 8, no. 3 (2018), pp. 21-28.
- [44] S. Jagadeesan, V. Balasubramanian, P. Baumann, M. Neuburger, D. Häussinger, C.G. Palivan. Water-soluble Co (III) complexes of substituted phenanthrolines with cell selective anticancer activity. *Inorg. Chem.*, 52 (21) (nov. 2013), pp. 12535-12544.
- [45] A. Guedes, F. Mello-Andrade, W. Pires. Heterobimetallic Ru (ii)/Fe (ii) complexes as potent anticancer agents against breast cancer cells, inducing apoptosis through multiple targets. *Metallomics*, 4 (2020), pp. 547-561.
- [46] T.Y. Han, et al. Synthesis of water-soluble copper (II) complexes: crystal structures, DNA binding, oxidative DNA cleavage, and *in vitro* anticancer studies. *Med. Chem. Res.*, 23 (5) (2014), pp. 2347-2359.
- [47] Diz, M.; Durán-Carril, M. L.; Castro, J.; Alvo, S. et al. Antitumor activity of copper (II) complexes with Schiff bases derived from N'-tosylbenzene-1,2-diamine. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 236, p. 111975, 2022/11/01/ 2022.
- [48] Nunes, P.; Correia, I.; Marques, F.; Matos, A. P. et al. Copper Complexes with 1,10-Phenanthroline Derivatives: Underlying Factors Affecting Their Cytotoxicity. *Inorganic Chemistry*, 59, n. 13, p. 9116-9134, 2020/07/06 2020.
- [49] Mahalakshmi, R.; Raman, N. A Therapeutic Journey of Mixed Ligand Complexes Containing 1,10-Phenanthroline Derivatives: A Review. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 2016.
- [50] Felder, D.; Nierengarten, J. F.; Barigelletti, F.; Ventura, B.; Armaroli, N. Highly luminescent Cu(I)-phenanthroline complexes in rigid matrix and temperature dependence of the photophysical properties. *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123 (26), 6291– 6299.

- [51] Nunes, P.; Correia, I.; Marques, F.; Matos, A. P. et al. Copper Complexes with 1,10-Phenanthroline Derivatives: Underlying Factors Affecting Their Cytotoxicity. *Inorganic Chemistry*, 59, n. 13, p. 9116-9134, 2020/07/06 2020.
- [52] Liu, L.-K.; Becker, D. F.; Tanner, J. J. Structure, function, and mechanism of proline utilization A (PutA). *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 632, p. 142-157, 2017/10/15/ 2017.
- [53] Dunaevsky, Y. E.; Tereshchenkova, V. F.; Oppert, B.; Belozersky, M. A. et al. Human proline specific peptidases: A comprehensive analysis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1864, n. 9, p. 129636, 2020/09/01/ 2020.
- [54] Chen, S.; Yang, X.; YU, M.; Wang, Z. et al. SIRT3 regulates cancer cell proliferation through deacetylation of PYCR1 in proline metabolism. *Neoplasia*, 21, n. 7, p. 665-675, 2019/07/01/ 2019.
- [55] Singh, N. K.; Kumbhar, A. A.; Pokharel, Y. R.; Yadav, P. N. Anticancer potency of copper (II) complexes of thiosemicarbazones. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 210, p. 111134, 2020/09/01/ 2020.
- [56] Shackelford, C, James F. *Introdução à ciência dos materiais para engenheiros / James F. Shackelford; tradução Daniel Vieira; revisão técnica Nilson C. Cruz. – São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2008.*
- [57] J. F. M. Da Silva, S. J. Garden, and A. C. Pinto, “The Chemistry of Isatins: A Review from 1975 to 1999,” *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 12, no. 3, pp. 273–324, 2001.
- [58] X. Li et al., “[Cu(phen)₂]²⁺ acts as electrochemical indicator and anchor to immobilize probe DNA in electrochemical DNA biosensor,” *Anal. Biochem.*, vol. 492, no. 0, pp. 56–62, 2016.
- [59] M. W., *Microscopia dos Materiais: Uma Introdução*. 2002.
- [60] P. J. Goodhew, J. Humphreys, and R. Beanland, *Electron Microscopy and Analysis*. 2001.
- [61] D. Newbury et al., *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. 2003.
- [62] B. H. Toby, “R factors in Rietveld analysis: How good is good enough?,” *Powder Diff.*, vol. 21, no. 1, pp. 67–70, 2006.
- [63] G. S. Pawley, “Unit-cell refinement from powder diffraction scans,” *J. Appl. Crystallogr.*, vol. 14, no. 6, pp. 357–361, 1981.
- [64] H.M. Rietveld, Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement, *Acta Crystallographica*. 22 (1967) 151–152. doi.org/10.1107/s0365110x67000234.

- [65] H.M. Rietveld, A profile refinement method for nuclear and magnetic structures, *Journal of Applied Crystallography*. 2 (1969) 65–71. doi.org/10.1107/s0021889869006558.
- [66] R. Young, “The Rietveld Method,” R.A. Young, Oxford University Press, Oxford. p. 312, 1993.
- [67] G. Will, *Powder diffraction: The Rietveld Method and the Two Stage Method to Determine and Refine Crystal Structures from Powder Diffraction Data*, Springer, 2006.
- [68] H. M. Rietveld, “A profile refinement method for nuclear and magnetic structures,” *J. Appl. Crystallogr.*, vol. 2, no. 2, pp. 65–71, 1969. [69] V.K. Peterson, Lattice parameter measurement using Le Bail versus structural (Rietveld) refinement: A caution for complex, low symmetry systems, *Powder Diffraction*. 20 (2005) 14–17. doi.org/10.1154/1.1810156.
- [70] P.J. Haines, *Principles of thermal analysis and calorimetry*, Royal Society of Chemistry, 2002.
- [71] R. Eisberg, R. Resnick, *Quantum Physics of Atoms, Molecules, Solids, Nuclei and Particles*, Wiley, 1985.
- [72] 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, *Journal of Inorganic Biochemistry*. 191 (2019) 40–48. doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.10.012.
- [73] D. A. Skoog and S. R. Crouch, *Principios de análisis instrumental*. 2007.
- [74] F. Kealey, *Principles and Practice of Analytical Chemistry*. 2000.
- [75] P.J. Larkin, *IR and Raman Spectroscopy - Principles and Spectral Interpretation*, Elsevier, 2011.
- [76] G. Socrates, *Infrared and Raman characteristic group frequencies*. 2004.
- [77] C. Kittel, *Introduction to Solid State Physics*, ed. 8th, John Wiley & Sons, 2005.
- [78] D. L. Pavia, G. M. Lampman, and Georg S. Kriz, “Introduction to Spectroscopy.” p. 680, 2001.
- [79] P. Brouwer, *Theory of XRF*. 2010.
- [80] D.A. Long, *The Raman effect: A unified treatment of the theory of Raman scattering b molecules*, John Wiley & Sons, 2002.
- [81] Sala, O. *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*. São Paulo: Unesp, 1996.
- [82] Freeman, S. K. *Applications of Laser Raman Spectroscopy*, 1974.

- [83] Skoog, Douglas A. *Princípios de análise instrumental*/ Douglas A Skoog, F. James Joller e Timothy A. Nieman; trad. Ignez Caracelli (et.al.). 5 ed – Porto Alegre: Bookman, 2002.
- [84] M. Ionashiro, Giolito - Fundamentos da Termogravimetria Análise Térmica Diferencial Calorimetria Exploratória Diferencial. 2004.
- [85] E. C. da Silva, M. V. R. V. de Paola, and J. do R. Matos, “Análise térmica aplicada à cosmetologia,” *Rev. Bras. Ciências Farm.*, vol. 43, no. 3, pp. 347–356, 2007.
- [86] M.E. Brown, *Introduction to thermal analysis: Techniques and applications*, ed. 2nd, Kluwer Academic Publishers, 2004.
- [87] P.J. Haines, *Principles of thermal analysis and calorimetry*, Royal Society of Chemistry, 2002.
- [88] P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous electron gas, *Physics Review*. 136 (1964) B864–B871. doi.org/doi:10.1103/PhysRev.136. B864.
- [89] D.S. Sholl, J.A. Steckel, *Density Functional Theory a practical introduction*, Wiley, 2009.
- [90] W. Kohn, L.J. Sham, Self-consistent equations including exchange and correlation effects, *Physical Review*. 140 (1965) A11133–A11138. doi.org/doi:10.1103/PhysRev.140.A1133.
- [91] C. Adamo, V. Barone, Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model, *Journal of Chemical Physics*. 110 (1999) 6158–6170. doi.org/10.1063/1.478522.
- [92] J. Morin, J.M. Pelletier, *Density Functional Theory: principles, applications and analysis*, Nova Science Publishers, 2013.
- [93] A.C. Larson, R.B. Von Dreele, *General Structure Analysis System (GSAS)*, 748 (2004).
- [94] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods* 65 (1983) 55–63, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).
- [95] M. Frisch, G. Trucks, H. Schlegel, G. Scuseria, M. Robb, J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, J.F. e D.F. GA Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, AV Marenich, J. Bloino, BG Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, HP Hratchian, JV Ortiz, AF Izmaylov, JL Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A, Petrone, T. Hender, *Gaussian 16*, (2016).
- [96] A.D. McLean, G.S. Chandler, Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, Z=11-18, *Journal of Chemical Physics*. 72 (1980) 5639–5648. doi.org/10.1063/1.438980.

- [97] T. Clark, J. Chandrasekhar, G.W. Spitznagel, P.V.R. Schleyer, Efficient diffuse function-augmented basis sets for anion calculations. III. The 3-21+G basis set for first-row elements, Li–F, *Journal of Computational Chemistry*, 4 (1983) 294–301. doi.org/10.1002/jcc.540040303.
- [98] Dolg, M. Valence correlation energies from pseudopotential calculations. *Chemical Physics Letters*, 250, n. 1, p. 75-79, 1996/02/16/ 1996.
- [99] M. Caricato, F. Ingrosso, B. Mennucci, J. Tomasi, A time-dependent polarizable continuum model: Theory and application, *The Journal of Chemical Physics*, 122 (2005). doi.org/10.1063/1.1879952.
- [100] F. Teixeira, M.N.D.S. Cordeiro, Improving Vibrational Mode Interpretation Using Bayesian Regression, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 15 (2019) 456–470. doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00439.
- [101] F. Teixeira, vibAnalysis, (2017). <https://github.com/teixeirafilipe/vibAnalysis>.
- [102] Valora, G.; Munzi, G.; Bonomo, R. P. Ternary copper(II) complexes with 1,10-phenanthroline and various aminoacidates: A spectroscopic and voltammetric study in aqueous solution. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 191, p. 40-48, 2019/02/01/ 2019.
- [103] López-Martínez, L. M.; Santacruz-Ortega, H.; Navarro, R. E.; caro-león, F. J. et al. Studies by ¹H NMR and UV-Vis spectroscopy of the molecular recognition of histamine by copper and zinc complexes of polyazamacrocyclic ligands. *Journal of Molecular Structure*, 1204, p. 127545, 2020/03/15/ 2020.
- [104] Valora, G.; Bonaccorso, C.; Cesaretti, A.; Fortuna, C. G. et al. Metal complexes with sterically demanding phenanthroline ligands: A combined spectroscopic study. *Dyes and Pigments*, 187, p. 109150, 2021/03/01/ 2021.
- [105] Xavier, T. S.; Rashid, N.; Hubert Joe, I. Vibrational spectra and DFT study of anticancer active molecule 2-(4-Bromophenyl)-1H-benzimidazole by normal coordinate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 78, n. 1, p. 319-326, 2011/01/01/ 2011.
- [106] Mihçioğur, Ö.; Özpozan, T. Molecular structure, vibrational spectroscopic analysis (IR & Raman), HOMO-LUMO and NBO analysis of anti-cancer drug sunitinib using DFT method. *Journal of Molecular Structure*, 1149, p. 27-41, 2017/12/05/ 2017.
- [107] Arivazhagan, M.; Manivel, S.; Jeyavijayan, S.; Meenakshi, R. Vibrational spectroscopic (FT-IR and FT-Raman), first-order hyperpolarizability, HOMO, LUMO, NBO, Mulliken charge analyses of 2-ethylimidazole based on Hartree–Fock and DFT calculations. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 134, p. 493-501, 2015/01/05/ 2015.

- [108] Parthasarathi, R.; Subramanian, V.; Roy, D. R.; Chattaraj, P. K. Electrophilicity index as a possible descriptor of biological activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12, n. 21, p. 5533-5543, 2004/11/01/ 2004.
- [109] Sağlam, E. G.; Bulat, E.; Zeyrek, C. T.; Dal, H. et al. Syntheses of and structural studies on some square planar dithiophosphonato Ni (II) complexes, octahedral pyridine derivatives thereof and X-ray crystallography, DFT and molecular docking studies of the latter. *Journal of Molecular Structure*, 1178, p. 112-125, 2019/02/15/ 2019.
- [110] Mishra, P. C.; Kumar, A. Molecular electrostatic potentials and fields: hydrogen bonding, recognition, reactivity and modelling. In: MURRAY, J. S. e SEN, K. (Ed.). *Theoretical and Computational Chemistry*: Elsevier, 1996. v. 3, p. 257-296.
- [111] Wang, Y.; Liu, Q.; Qiu, L.; Wang, T. et al. Molecular structure, IR spectra, and chemical reactivity of cisplatin and transplatin: DFT studies, basis set effect and solvent effect. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 150, p. 902-908, 2015/11/05/ 2015.
- [112] R.G. Parr, L. v. Szentpály, S. Liu, Electrophilicity index, *Journal of the American Chemical Society*. 1211 (1999) 1922–1924. doi.org/10.1021/ja983494x.
- [113] Berk, Ş.; Kaya, S.; Akkol, E. K.; Bardakçı, H. A comprehensive and current review on the role of flavonoids in lung cancer—Experimental and theoretical approaches. *Phytomedicine*, 98, p. 153938, 2022/04/01/ 2022.
- [114] Govindammal, M.; Prasath, M. Vibrational spectra, Hirshfeld surface analysis, molecular docking studies of (RS)-N, N-bis(2-chloroethyl)-1,3,2-oxazaphosphinan-2-amine 2 oxide by DFT approach. *Heliyon*, 6, n. 8, p. e04641, 2020/08/01/ 2020.
- [115] S.R. Database, Precomputed vibrational scaling factors, 21 (2020) 2020–2021.
- [116] Teixeira, F.; Cordeiro, M. N. D. S. Improving Vibrational Mode Interpretation. Using Bayesian Regression. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 15, n. 1, p. 456-470, 2019/01/08 2019.
- [117] De Oliveira Neto, J. G.; Filho, J. G. S.; Bittar, E. M.; Silva, L. M. et al. Structural, thermal, electronic, vibrational, magnetic, and cytotoxic properties of chloro(glycinato-N,O)(1,10 phenanthroline-N,N') copper(II) trihydrate coordination complex. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 226, p. 111658, 2022/01/01/ 2022.
- [118] Neto, J. G. O.; Da Silva Filho, J. G.; Cruz, N. S.; De Sousa, F. F. et al. Growth, structural, vibrational, DFT and thermal studies of bis(β -alanine) nickel (II) dihydrate crystals. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 141, p. 109435, 2020/06/01/ 2020.

- [119] Sathiskumar, S. Crystal growth, structure, mechanical, thermal, spectral and optical properties of organometallic of L – proline strontium bromide tetrahydrate single crystal for nonlinear optical applications. *Journal of Crystal Growth*, 526, p. 125234, 2019/11/15/ 2019.
- [120] Sgarabotto, P., Bisceglie, F., Pelosi, G., & Abdel-Rahman, L. (1999). Synthesis, X-ray crystal structures and characterization of copper (II)-2,9-bipyridyl derivatives of (4-amino) hippuric acid and of L-proline a a a. In *Polyhedron* (Vol. 18).
- [121] Wojciechowska, A.; Janczak, J.; Zierkiewicz, W.; Rytlewski, P. et al. Copper (II) complex with L-arginine – Crystal structure, DFT calculations, spectroscopic, thermal and magnetic properties. *Materials Chemistry and Physics*, 228, p. 272-284, 2019/04/15/ 2019.
- [122] Anbuselvi, D.; Jayaraman, D.; Arul Martin Mani, J.; Joseph, V. Growth and optical, thermal, mechanical and surface morphology studies of semiorganic nonlinear optical material: Dichlorobis (l-proline) zinc (II) crystal. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 127, p. 405-414, 2014/06/05/ 2014.
- [123] G. Zhong and 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.*, vol. 7, no. 3, pp. 37–41, 2014.
- [124] Callister, Willian D. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, 8ª Ed. Rio De Janeiro, 2012.
- [125] N. Jiménez-Garrido et al., “Antibacterial studies, DNA oxidative cleavage, and crystal structures of Cu(II) and Co(II) complexes with two quinolone family members, ciprofloxacin and enoxacin,” *J. Inorg. Biochem.*, vol. 99, no. 3, pp. 677–689, 2005.
- [126] A. Malandrino, R. D. Kamm, and E. Moeendarbary, “*In Vitro* Modeling of Mechanics in Cancer Metastasis,” *ACS Biomater. Sci. Eng.*, vol. 4, no. 2, pp. 294–301, 2018.
- [127] Heeba, G. H.; Hamza, A. A.; Hassanin, S. O. Induction of heme oxygenase-1 with hemin alleviates cisplatin-induced reproductive toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line. *Toxicology Letters*, 264, p. 38-50, 2016/12/15/ 2016.
- [128] Rodrigues, J. A. O.; Oliveira Neto, J. G. d.; Da Silva De Barros, A. O.; Ayala, A. P. et al. 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*, 191, p. 114807, 2020/11/15/ 2020.
- [129] M.E. Cancino-Marentes, G. Hernández-Flores, P.C. Ortiz-Lazareno, M.M. Villaseñor García, E. Orozco-Alonso, E. Sierra-Díaz, R.A. Solís-Martínez, C.C. Cruz-Gálvez, A. Bravo-Cuellar, Sensitizing the cytotoxic action of Docetaxel induced by Pentoxifylline in a PC3

prostate cancer cell line, BMC Urology. 21 (2021) 1–10. doi.org/10.1186/s12894-021-00807-6.

[130] Costa, J.; Pereira, R.; Oliveira, J.; Alves, Â. et al. Structural and molecular analysis of the cancer prostate cell line PC3: Oocyte zona pellucida glycoproteins. Tissue and Cell, 55, p. 91-106, 2018/12/01/ 2018.

[131] Nguyen, P.; Doan, P.; Murugesan, A.; Ramesh, T. et al. GPR17 signaling activation by CHBC agonist induced cell death via modulation of MAPK pathway in glioblastoma. Life Sciences, 291, p. 120307, 2022/02/15/ 2022.

[132] Maleki, M.; Golchin, A.; Alemi, F.; Younesi, S. et al. Cytotoxicity and apoptosis of nanoparticles on osteosarcoma cells using doxorubicin and methotrexate: A systematic review. European Journal of Pharmacology, 904, p. 174131, 2021/08/05/ 2021.

[133] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, J. Immunol. Methods 65 (1983) 55–63, [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4).

[134] Parr, R. G.; Yang, W. Density-Functional Theory of Atoms and Molecules. Oxford University Press; 1989.

[135] Jensen, F. Introduction to Computational Chemistry. 2^o Ed. John wiley & sons; 2017.

[136] Foresman, J.; Frish, E. Exploring chemistry with electronic structure methods. 3^a ed. Pittsburg – Penn, Gaussian Inc., 1996.

[137] Dilabio, G. A.; Otero-De-La-Roza, A. Noncovalent Interactions in DensityFunctional Theory. Reviews in Computational Chemistry. v. 29, p. 1-97, 2014. DOI: 10.1002/9781119148739.ch1

[138] Gao, H. Theoretical studies of molecular structures and properties of platinum (II) antitumor drugs. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 79, n. 3, p. 687-693, 2011/08/01/ 2011.

[139] Fallah, N.; Gholivand, K.; Yousefi, M.; Aberoomand Azar, P. Synthesis, spectroscopic characterization, anti-urease activities of a novel bisphosphoramidate, a combined experimental and computational study. Journal of Molecular Structure, 1173, p. 801-813, 2018/12/05/ 2018.

[140] Wang, Y.; Zhang, Y.; Zhu, D.; Ma, K. et al. Synthesis, structural characterization and theoretical approach of the tri(2-(2,6-dichlorophenyl)-1H-imidazo[4,5-f] [1,10] phenanthroline) cobalt (II). Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 147, p. 31-42, 2015/08/05/ 2015.

- [141] Zhurko G. A. Chemcraft - graphical program for visualization of quantum chemistry computations. Ivanovo, Russia, 2005. URL: <https://chemcraftprog.com>.
- [142] Mukherjee, P. K. Chapter 13 - Bioassay-Guided Isolation and Evaluation of Herbal Drugs. In: Mukherjee, P. K. (Ed.). Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs: Elsevier, 2019. p. 515-537.
- [143] C. B.P, "British pharmacopeia,," Br. Pharmacop. commision, vol. London, 2009.
- [144] Carvalho JO, Neto JG de O, Filho JG da S, et al. Physicochemical properties calculated using DFT method and changes of 5-methyluridine hemihydrate crystals at high temperatures. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc* 281:121594. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121594>.
- [145] Vural, H. A novel copper (II) complex containing pyrimidine-4-carboxylic acid: Synthesis, crystal structure, DFT studies, and molecular docking. *Journal of Molecular Structure*, 1265, p. 133390, 2022/10/05/ 2022.
- [146] Rahal, M.; Bouimadaghene, I.; Drissi EL Bouzaidi, R.; Bouabdallah, I. et al. Accessible approaches for vibrational zero point energy calculation of organoboron compounds. *Vibrational Spectroscopy*, 110, p. 103131, 2020/09/01/ 2020.
- [147] Fathi Azarbayjani, A.; Aliasgharlou, N.; Khoshbakht, S.; GHANBARPOUR, P. et al. Experimental Solubility and Density Functional Theory Studies of Deferasirox in Binary Solvent Mixtures: Performance of Polarizable Continuum Model and Jouyban–Acree Model. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 64, n. 6, p. 2273-2279, 2019/06/13 2019.
- [148] Sodeifian, G.; Alwi, R. S.; Razmimanesh, F.; Roshanghias, A. Solubility of pazopanib hydrochloride (PZH, anticancer drug) in supercritical CO₂: Experimental and thermodynamic modeling. *The Journal of Supercritical Fluids*, 190, p. 105759, 2022/11/01/ 2022.
- [149] Sodeifian, G.; Surya Alwi, R.; Razmimanesh, F.; Abadian, M. Solubility of Dasatinib monohydrate (anticancer drug) in supercritical CO₂: Experimental and thermodynamic modeling. *Journal of Molecular Liquids*, 346, p. 117899, 2022/01/15/ 2022.

APÊNDICE

Tabela 11 - Dados teóricos dos comprimentos e ângulos das ligações do complexo FPCu calculados com os funcionais PBE1PBE em comparação com os dados experimentais [15].

Comprimentos das ligações (Å)				Ângulos das ligações (°)			
Ligações	DFT/PBE1PBE Solvente	DFT/PBE1PBE Vácuo	Exp.	Ângulos	DFT/PBE1PBE Solvente	DFT/PBE1PBE Vácuo	Exp.
Cu1–N2	2,04(6)	2,05(0)	2,03(3)	N2–Cu1–N3	81,56(4)	81,30(1)	82,01(2)
Cu1–N3	2,01(9)	2,02(2)	2,01(9)	N2–Cu1–N4	101,16(4)	102,76(0)	100,64(2)
Cu1–N4	2,02(2)	2,02(7)	2,00(4)	N2–Cu1–O6	171,27(1)	172,35(3)	168,96(1)
Cu1–O6	1,93(5)	1,90(5)	1,91(9)	N2–Cu1–O40	90,89(7)	101,44(8)	92,93(2)
Cu1–O40	2,34(0)	2,38(1)	2,23(4)	N3–Cu1–N4	166,17(1)	162,347	169,74(2)
N2–C8	1,32(3)	1,32(3)	1,33(9)	N3–Cu1–O6	91,97(8)	91,12(6)	90,51(1)
N2–C15	1,35(3)	1,35(3)	1,35(6)	N3–Cu1–O40	90,18(1)	97,07(0)	91,55(1)
N3–C16	1,34(8)	1,34(7)	1,36(5)	N4–Cu1–O6	84,12(2)	84,78(6)	85, 59(1)
N3–C22	1,32(1)	1,32(1)	1,31(8)	N4–Cu1–O40	104,26(5)	98,89(2)	98,30(1)
N4–C28	1,48(4)	1,48(7)	1,50(6)	O6–Cu1–O40	93,37(8)	78,31(7)	95,48(1)
N4–C37	1,49(4)	1,49(8)	1,47(6)	Cu1–N2–C8	129,89(1)	129,82(7)	130,86(4)
O6–C39	1,28(7)	1,30(6)	1,26(6)	Cu1–N2–C15	111,55(7)	111,68(9)	111,94(3)
O7–C39	1,22(4)	1,20(5)	1,23(1)	C8–N2–C15	118,53(7)	118,47(5)	117,28(4)
C8–C10	1,40(0)	1,39(9)	1,39(1)	Cu1–N3–C16	112,81(1)	113,13(8)	112,12(3)
C10–C12	1,37(5)	1,37(6)	1,33(6)	Cu1–N3–C22	127,76(1)	127,22(2)	128,11(3)
C12–C14	1,40(7)	1,40(7)	1,42(7)	C16–N3–C22	119,41(7)	119,63(8)	119,83(4)
C14–C15	1,40(5)	1,40(6)	1,40(8)	Cu1–N4–C28	118,12(9)	118,11(2)	118,14(3)
C14–C24	1,43(1)	1,43(1)	1,42(1)	Cu1–N4–C37	107,79(5)	106,73(5)	108,65(3)
C15–C16	1,42(9)	1,43(0)	1,42(4)	C28–N4–C37	105,40(1)	104,66(8)	106,56(4)
C16–C17	1,40(4)	1,40(3)	1,40(1)	Cu1–O6–C39	117,03(2)	117,56(0)	116,87(3)
C17–C18	1,40(8)	1,40(9)	1,38(9)	N2–C8–C10	122,56(6)	122,66(3)	121,88(5)
C17–C26	1,43(0)	1,43(0)	1,43(6)	C8–C10–C12	119,32(2)	119,22(7)	121,32(6)
C18–C20	1,37(6)	1,37(6)	1,37(6)	C10–C12–C14	119,40(4)	119,51(8)	119,91(5)
C20–C22	1,40(1)	1,40(3)	1,38(5)	C12–C14–C15	117,08(9)	117,00(1)	115,12(4)
C24–C26	1,35(8)	1,35(8)	1,35(1)	C12–C14–C24	123,85(7)	124,00(5)	125,62(5)
C28–C31	1,51(9)	1,52(1)	1,42(1)	C15–C14–C24	119,05(4)	118,99(5)	119,34(5)
C31–C34	1,53(0)	1,53(4)	1,49(1)	N2–C15–C14	123,08(1)	123,11(4)	124,75(5)
C34–C37	1,54(3)	1,53(9)	1,54(1)	N2–C15–C16	117,19(2)	117,18(7)	117,06(4)
C37–C39	1,53(0)	1,53(7)	1,53(2)	C14–C15–C16	119,72(6)	119,69(9)	118,36(4)
				N3–C16–C15	116,83(6)	116,68(3)	116,97(4)
				N3–C16–C17	122,90(6)	122,97(4)	121,38(4)
				C15–C16–C17	120,25(8)	120,34(2)	121,70(4)
				C16–C17–C18	116,86(0)	118,82(6)	118,15(5)
				C16–C17–C26	118,91(7)	118,826	118,26(5)
				C18–C17–C26	124,22(3)	124,48(1)	123,68(5)
				C17–C18–C20	119,56(2)	119,65(6)	119,12(5)
				C18–C20–C22	119,44(1)	119,52(6)	120,22(5)
				N3–C22–C20	121,81(5)	121,51(2)	121,45(4)
				C14–C24–C26	121,10(4)	121,12(1)	122,27(5)
				C17–C26–C24	120,94(0)	121,01(5)	120,28(5)
				N4–C28–C31	103,90(7)	104,19(4)	108,61(5)
				C28–C31–C34	102,81(6)	103,61(5)	103,52(6)
				C31–C34–C37	104,68(5)	105,11(4)	103,73(6)
				N4–C37–C34	106,73(2)	106,84(8)	103,16(4)
				N4–C37–C39	110,52(1)	109,89(5)	111,97(4)
				C34–C37–C39	113,73(7)	113,50(6)	111,60(5)

	O6–C39–O7	124,63(7)	124,99(5)	125,75(4)
	O6–C39–C37	115,92(9)	114,44(9)	116,76(4)
	O7–C39–C37	119,41(1)	120,53(9)	117,67(4)

Tabela 12 - Dados cristalográficos para o complexo de Cobre com 1,10-Fenantrolina e Prolina após o refinamento pelo método de Rietveld e Le Bail.

Temperatura	Parâmetros de rede (Å)			Parâmetros estruturais	
(°C)	a	b	c	V (Å ³)	β (°)
37	7,1856(3)	21,3078(8)	12,2725(1)	1878,5(8)	91,27(6)
42	7,1920(4)	21,3206(6)	12,2724(9)	1881,4(4)	91,18(8)
47	7,2072(1)	21,3589(1)	12,2826(9)	1890,4(0)	91,13(3)
52	7,2100(8)	21,3650(1)	12,2730(4)	1890,2(0)	91,14(1)
Transformação de Fase					
107°C	12,161(2)	17,318(5)	14,432(4)	1791,4(5)	103,90(3)

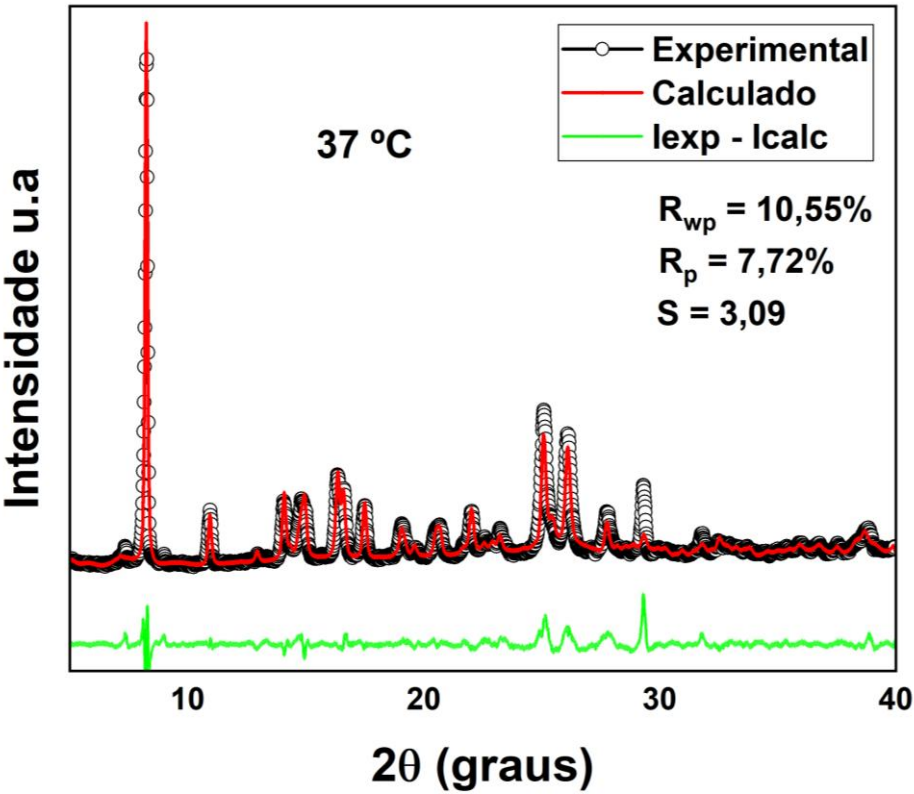


Figura 50 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre com 1,10 Fenantrolina e Prolina com variação de temperatura em 37°C.

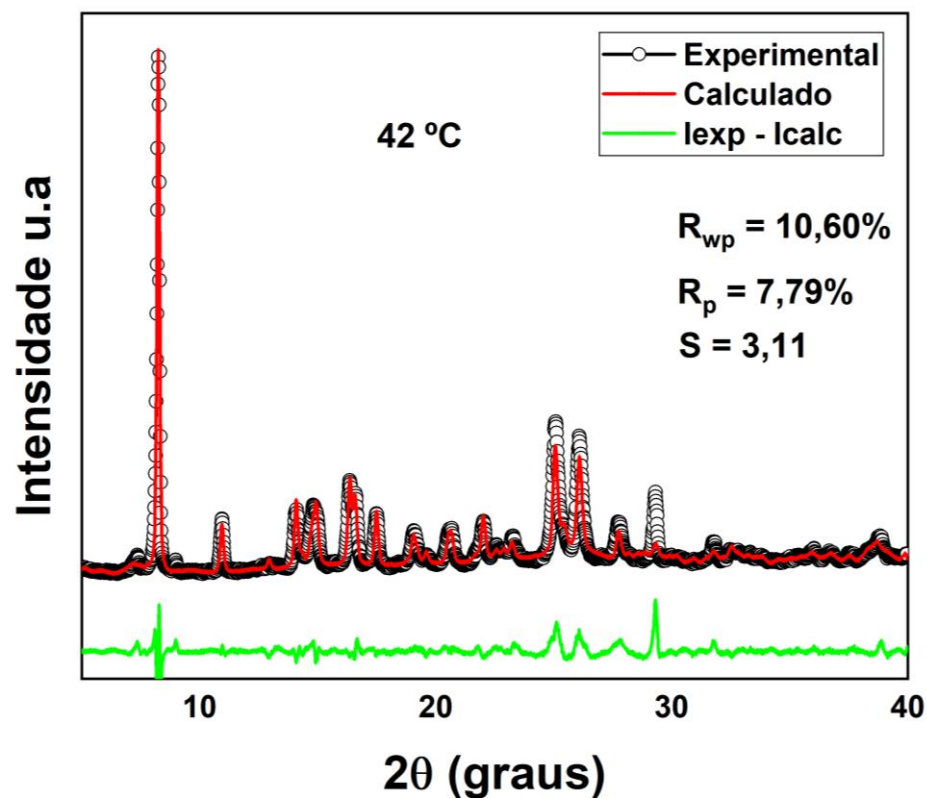


Figura 51 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre com 1,10 Fenantrolina e Prolina com variação de temperatura em 42°C.

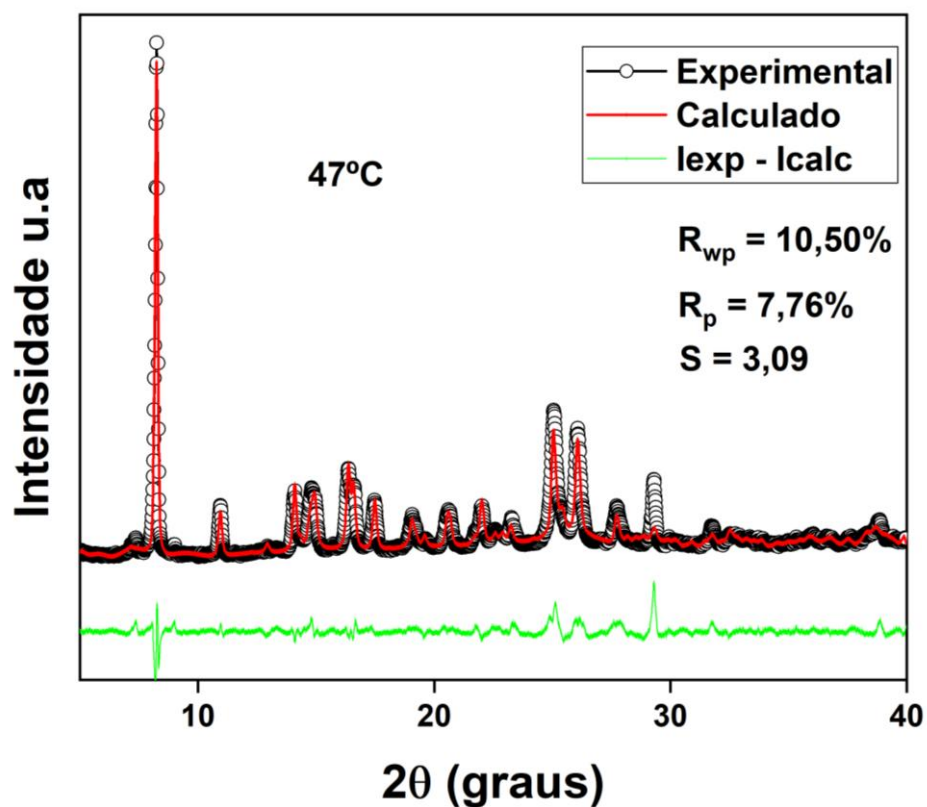


Figura 52 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre com 1,10 Fenantrolina e Prolina com variação de temperatura em 47°C.

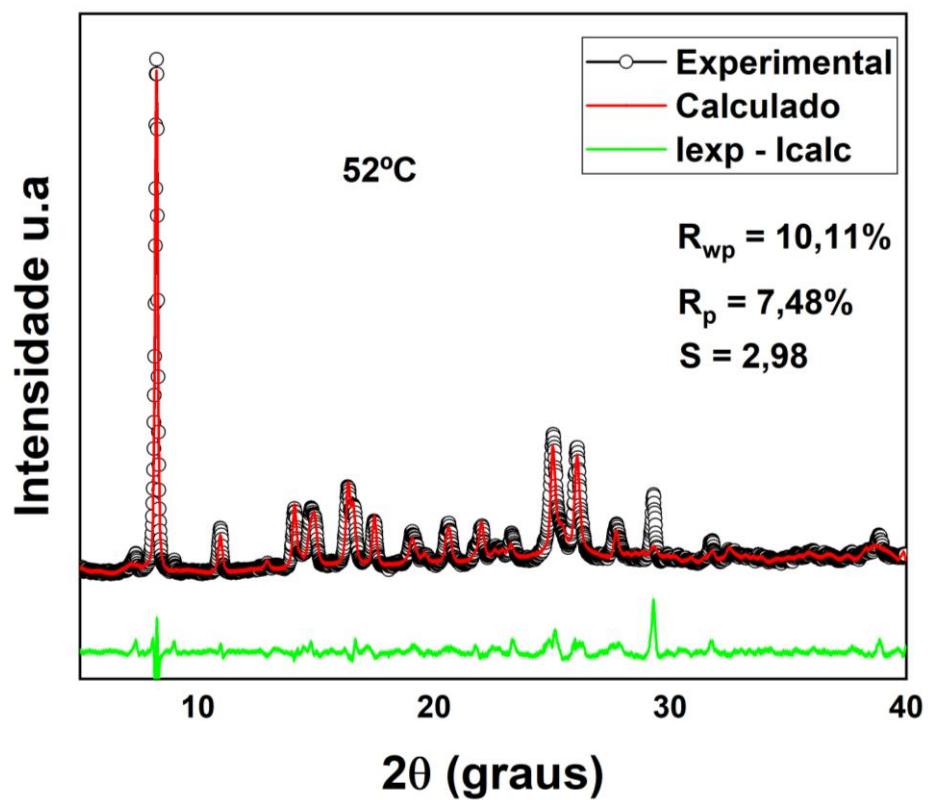


Figura 53 - Difratoograma de raios X refinado pelo método de Rietveld para o cristal de Cobre com 1,10- Fenantrolina e Prolina com variação de temperatura em 52°C.

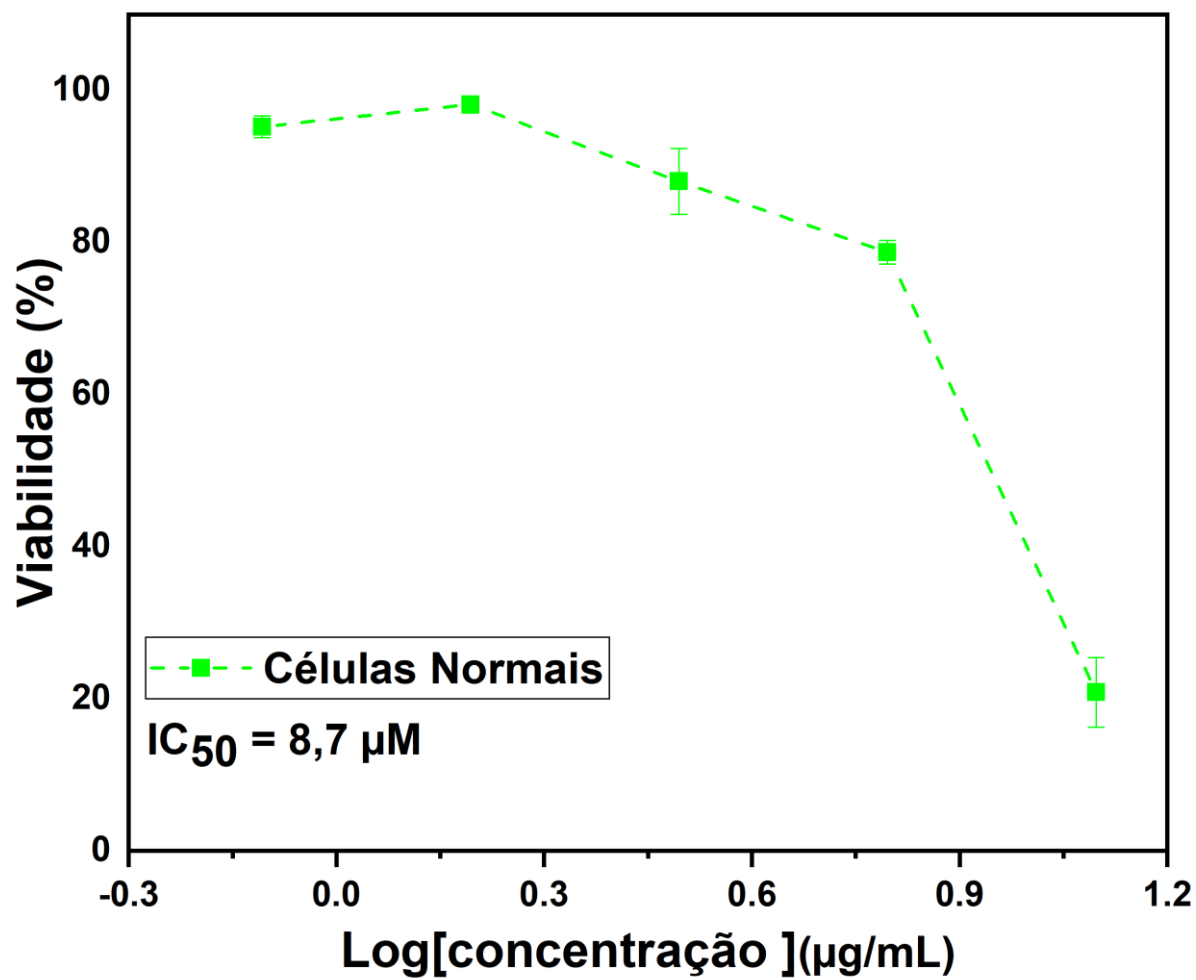


Figura 54 - Curva dose-resposta obtida pela análise de citotoxicidade do complexo FPCu em células normais