



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**“SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS  
BIOLÓGICOS ENVOLVENDO COMPLEXOS DE  
COBRE(II) CONTENDO HIDRAZIDAS E  
LIGANTES *N,N*-DOADORES”**

**Drielly Aparecida Paixão**

Uberlândia - MG

2017

**DRIELLY APARECIDA PAIXÃO**

**“SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS  
BIOLÓGICOS ENVOLVENDO COMPLEXOS DE  
COBRE(II) CONTENDO HIDRAZIDAS E  
LIGANTES N,N-DOADORES”**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Química como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Química.

Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Wendell Guerra

Co-orientadora: Prof. Dr. Silvana Guilardi

Uberlândia - MG

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

P149s Paixão, Drielly Aparecida, 1987-  
2017 Síntese, caracterização e estudos biológicos envolvendo complexos de cobre(ii) contendo hidrazidas e ligantes N,N-Doadores / Drielly Aparecida Paixão. - 2017.  
207 f. : il.

Orientador: Wendell Guerra.

Coorientadora: Silvana Guilardi.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2018.760>

Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Cobre - Teses. 3. Câncer - Tratamento - Teses. 4. Chagas, Doença de - Teses. I. Guerra, Wendell. II. Guilardi, Silvana. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

---

CDU: 54

Maria Salete de Freitas Pinheiro – CRB6/1262



**Ata da defesa de TESE DE DOUTORADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química,  
do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia  
DEFESA DE TESE DE DOUTORADO EM QUÍMICA, NÚMERO 69/PPQUI.**

**DATA: 26/07/2017**

**DISCENTE:** Drielly Aparecida Paixão

**MATRÍCULA:** 11323QMI009

**TÍTULO DO TRABALHO:** Síntese, caracterização e estudos biológicos envolvendo complexos de cobre(II) contendo hidrazidas (carbazatos) e ligantes N,N doadores.

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:** Química

**LINHA DE PESQUISA:** Química Bioinorgânica

**PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO:** Síntese, caracterização e estudos biológicos envolvendo complexo de platina(II), platina(IV), cobre(II) e paládio com tendo hidrazidas (carbazatos).

Às quinze horas e trinta minutos do dia vinte e seis de julho do ano dois mil e dezessete, no Auditório Prof. Manuel Gonzalo Hernández Terrones, Bloco 5I, Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Heveline Silva, da Universidade Federal de Minas Gerais, Priscila Pereira Silva Caldeira, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Gustavo Von Poelhsitz e Edson Nossol, da Universidade Federal de Uberlândia e Wendell Guerra, orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Regulamentar nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o(a) candidata(o). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será Síntese, caracterização e estudos biológicos envolvendo complexos de cobre(II) contendo hidrazidas e ligantes N,N doadores

Esta defesa de Tese de Doutorado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 18:45 horas e 45 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Profª Dra. Heveline Silva – UFMG

Profª Dra. Priscila Pereira Silva Caldeira –

CEFET-MG

Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz – UFU

Prof. Dr. Edson Nossol – UFU

Professor(a) Orientador(a): Wendell Guerra – IQUFU

A minha mãe pelo amor incondicional,  
pela dedicação e incentivo essenciais  
para a minha formação.

Obrigada!

## **Agradecimentos**

À Deus pela oportunidade que me foi concedida.

À minha família pelo apoio e paciência, principalmente a minha mãe por me confortar e me ajudar nos momentos de dificuldade.

Ao meu orientador Wendell Guerra, pela oportunidade, confiança, amizade, dedicação e competência profissional ao longo desses anos. À minha grande mestra, amiga e co-orientadora Silvana Guilardi, pelo apoio, dedicação, ensinamentos, incentivo e paciência.

Aos professores Marcos Pivatto (UFU), Pedro Ivo da Silva Maia (UFTM), Victor Deflon (IQSC-USP), Javier Ellena (IFSC-USP), Sérgio de Albuquerque (FCFRP-USP), Ana Maria da Costa Ferreira (USP), Fernando Pavan (UNESP), Elene Cristina Pereira Maia (UFMG) e Françoise Vasconcelos Botelho (UFU) e aos pesquisadores Zumira Aparecida Carneiro (FCFRP-USP), Ivana M. Marzano (UFMG) e Edgar Lizarazo (UFMG) pelas valiosas contribuições durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos membros da banca Carlos A. Oliveira (UFU), Gustavo Von Poelhsitz (UFU), Edson Nossol (UFU), Heveline Silva (UFMG) e Priscila P. S. Caldeira (CEFET-MG) por terem acolhido o convite para avaliar esse trabalho e por suas valiosas sugestões e contribuições.

Aos colegas do Laboratório de Síntese Inorgânica (LABSIN), Laboratório de Cristalografia e Química Computacional (LCQC) e do Laboratório de Filmes Poliméricos (LAFIP) pelo apoio e companheirismo. Um agradecimento especial para a Leticia, Patrícia e Ana Cristina pelo carinho, amizade e paciência ao longo desses anos.

Aos meus amigos pelos momentos de descontração, que fizeram desta etapa um momento inesquecível. Ao meu namorado Jonathan pelo amor, carinho, dedicação e amizade.

À Rede Mineira de Química e ao Grupo de Pesquisa em Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT).

À Mayta, secretária da Pós-Graduação, pelo auxílio em todos os momentos necessários.

À FAPEMIG pela concessão da bolsa e suporte financeiro no decorrer deste trabalho.

Enfim a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Tudo é loucura ou sonho no começo.  
Nada do que o homem fez  
no mundo teve início de outra maneira,  
mas já tantos sonhos se realizaram que  
não temos o direito de duvidar de  
nenhum” - Monteiro Lobato*

## Resumo

PAIXÃO, D. A. **Síntese, caracterização e estudos biológicos envolvendo complexos de cobre(II) contendo hidrazidas e ligantes *N,N*-doadores**. 2017. 207 f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

O câncer e a doença de chagas são enfermidades que acometem a população. Os efeitos colaterais indesejáveis causados pelo uso dos quimioterápicos, associados à capacidade das células tumorais de desenvolverem resistência intrínseca ou adquirida aos medicamentos disponíveis no mercado, impulsionam a busca por novos fármacos que sejam mais ativos e seletivos e, conseqüentemente menos agressivos ao organismo. No que se refere ao tratamento da doença de chagas, apenas os fármacos nifurtimox e benzonidazol estão disponíveis no mercado. Com a baixa quantidade e efetividade desses fármacos, fica evidente que a busca por novos agentes anti-*Trypanosoma cruzi* é necessária para aumentar o arsenal de drogas atualmente disponíveis para tratar essa doença. Assim, diversas pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de obter novos agentes antitumorais e tripanocidas que possuam um potencial farmacológico mais satisfatório do que os medicamentos disponíveis na clínica médica. O presente trabalho descreve a síntese de vinte novos complexos ternários de cobre(II) com hidrazidas (4-fluoro-fenoxiacético-hidrazida (4-FH), 4-nitro-benzil-hidrazida (4-NH), benzil-hidrazida (BH), 2-cloro-benzil-hidrazida (2-CH), 4-cloro-benzil-hidrazida (4-CH), 2-metóxi-benzil-hidrazida (2-MH) ou 4-metóxi-benzil-hidrazida (4-MH)) e ligantes *N,N*-doadores (1,10-fenantrolina (phen), 2,2'-bipiridina (bipy) ou 4,4'-dimetoxi-2,2'-bipiridina (dmb)). Os complexos foram caracterizados por análise elementar, medidas de condutividade, espectrometria de massa em alta resolução com ionização por *electrospray* (HRESIMS) e por espectroscopia de UV-Vis e IV. As estruturas cristalinas dos complexo **1** e **9** foram determinadas por difração de raios X por monocristais. Em todos os complexos, o íon cobre(II) é coordenado de modo bidentado pela hidrazida através dos átomos de nitrogênio terminal e do oxigênio da carbonila, e às bases heterocíclicas através dos seus dois átomos de nitrogênio. A labilização dos ligantes axiais em solução (ânion perclorato) resulta na produção de compostos do tipo  $[Cu(N-O)(N-N)]^{2+}$ . A atividade citotóxica dos compostos foi investigada em três linhagens tumorais (K562, MDA-MB-231 e MCF-7). No que diz respeito à linhagem celular K562, os complexos de cobre(II) com 1,10-



fenantrolina exibem expressiva atividade citotóxica e são mais ativos do que carboplatina, os ligantes livres e  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ . Considerando estes resultados, estudos adicionais foram realizados para os compostos  $\text{Cu}(4\text{-FH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2$  e  $\text{Cu}(4\text{-NH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . A análise de citometria de fluxo revelou que esses complexos induzem a morte celular por apoptose na linhagem celular MDA-MB-231 e se ligam ao DNA com valores de K de  $4,38 \times 10^4$  e  $2,62 \times 10^4$ , respectivamente. Posteriormente, foram avaliados treze complexos de cobre quanto às suas atividades tripanocidas e citotóxicas. Vários complexos foram mais ativos que os ligantes livres e o benzonidazol, um fármaco utilizado no tratamento da doença de Chagas. O índice de seletividade calculado para os complexos **9** e **20** foi maior que o recomendado para testes subsequentes, sugerindo que estes compostos são bons candidatos para estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*.

**Palavras-chave:** complexos de cobre(II), hidrazidas, bases heterocíclicas, atividade tripanocida e antitumoral.

## Abstract

This work describes the synthesis of twenty novel ternary copper(II) complexes with hydrazides (4-fluorophenoxyacetic acid hydrazide (4-FH), 4-nitrobenzoic hydrazide (4-NH), benzhydrazide (BH), 2-chlorobenzhydrazide (2-CH), 4-chlorobenzhydrazide (4-CH), 2-methoxybenzhydrazide (2-MH) or 4-methoxybenzhydrazide (4-MH)) and *N,N*-donor ligands (1,10-phenanthroline (phen), 2,2-bipyridine (bipy) or 4,4'-dimethoxy-2,2'-bipyridine (dmb)). These complexes were characterized by elemental analysis (CHN), conductivity measurements, FT-IR, UV-Vis and high-resolution electrospray ionization mass spectrometry (HRESIMS). The structures of two coordination compounds were elucidated by single crystal X-ray analysis. In all the complexes, the copper is bound in a bidentate manner to hydrazide via the terminal nitrogen and the carbonyl oxygen, and to heterocyclic bases via their two nitrogen atoms. The labilization of the axial ligands in solution (perchlorate anions) result in the generation of compounds of type  $[\text{Cu}(\text{N}-\text{O})(\text{N}-\text{N})]^{2+}$ . Regarding the clinical utility of these complexes, the cytotoxic activity of compounds was investigated in three tumor cell lines (K562, MDA-MB-231 and MCF-7). Concerning K562 cell line, the complexes with 1,10-phenanthroline exhibit high cytotoxic activity and are more active than carboplatin, free ligands and  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ . Considering the cytotoxicity results, further investigations for the compounds  $\text{Cu}(4\text{-FH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2$  and  $\text{Cu}(4\text{-NH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  were performed. Flow cytometric analysis revealed that these complexes induce apoptotic cell death in MDA-MB-231 cell line and bind to DNA with *K* values of  $4.38 \times 10^4$  and  $2.62 \times 10^4$ , respectively. Thereafter, thirteen copper complexes were evaluated for their trypanocidal and cytotoxic activities. Several complexes were more active than free ligands and benznidazole, a drug used in the treatment of Chagas disease. The selectivity index calculated for two copper complexes was higher than recommended for subsequent tests. These findings are very important and make these compounds candidates for preclinical studies *in vitro* and *in vivo*.

**Palavras-chave:** copper(II) complexes, hydrazide, heterocyclic bases, trypanocidal and antitumor activity.

## Índice de Figuras

Figura 1- Disseminação da célula tumoral e formação de tumores secundários a partir do processo de metástase.....	2
Figura 2- Taxas de incidência e mortalidade dos principais tipos de câncer.....	3
Figura 3- Compostos orgânicos e inorgânicos que são utilizados como quimioterápicos.....	5
Figura 4- Representação esquemática da entrada da cisplatina na célula.....	7
Figura 5- Representação esquemática dos adutos formados entre a cisplatina e o DNA.....	7
Figura 6- Insetos triatomíneos, com maior contribuição epidemiológica e representação esquemática do ciclo biológico do <i>T. cruzi</i> .....	10
Figura 7- Distribuição geográfica dos casos de doenças de chagas reportados entre 2010 e 2013.....	15
Figura 8- Estruturas dos fármacos nifurtimox e benzonidazol.....	16
Figura 9- Mecanismo de ação proposto para os fármacos Benzonidazol e Nifurtimox.....	16
Figura 10- Compostos em fase de estudo clínicos para o tratamento da doença de chagas.....	18
Figura 11- Compostos inorgânicos utilizados como fármacos terapêuticos ou agentes de diagnóstico.....	20
Figura 12- Compostos metálicos em fase de testes clínicos.....	21
Figura 13- Complexos de ouro(III) com potencial antitumoral.....	22
Figura 14- Complexos de paládio e platina com potencial antitumoral.....	22
Figura 15- Complexos de rutênio com potencial antitumoral.....	23
Figura 16- Complexos de platina com potencial anti- <i>Trypanosoma</i> .....	23
Figura 17- Complexos de ouro com potencial anti- <i>Trypanosoma</i> .....	24
Figura 18- Complexos de paládio com promissora atividade tripanocida.....	24
Figura 19- Complexos de rutênio com promissora atividade tripanocida.....	25
Figura 20- Complexos de cobre(II), Casiopeínas, com potencial antitumoral e tripanocida.....	28
Figura 21- Complexos ternários de cobre(II) que apresentam potencial antitumoral e tripanocida.....	29
Figura 22- Complexos de cobre(II) com norfloxacin e <i>N,N</i> -doadores que apresentaram promissora atividade anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	29
Figura 23- Complexos ternários de cobre(II) contendo hidrazidas.....	30

Esquema 1- Representação da rota de síntese do complexo <b>1</b> .....	37
Figura 24- Estrutura dos ligantes utilizados neste estudo.....	50
Figura 25- Estruturas inicialmente propostas para os complexos sintetizados.....	51
Figura 26- Representação da unidade assimétrica do complexo <b>1</b> . .....	57
Figura 27- Representação da esfera de coordenação do complexo <b>9</b> . (i) Denota a operação de simetria equivalente: $1+x, y, z+1/2$ .. .....	57
Figura 28- Representação MERCURY das interações N4–H4···O7 e N4–H4···O8 presentes no cristal do complexo <b>1</b> .....	60
Figura 29- Representação MERCURY das interações do tipo $\pi$ - $\pi$ <i>stacking</i> entre as redes presentes no cristal do complexo <b>1</b> .....	61
Figura 30 – Representação MERCURY da rede polimérica e das interações N3–H3A···O5 e N3–H3B···O4, presentes no cristal do complexo <b>9</b> , ao longo do eixo <i>c</i> .....	62
Figura 31 – Representação MERCURY das interações N4–H4···O1S, O1S–H1S···O6 e C5–H5···O8 presentes no cristal do complexo <b>9</b> .....	63
Figura 32 – Espectros de EPR para os complexos <b>1</b> , <b>2</b> e <b>3</b> no estado sólido (a) e em soluções metanólicas congeladas, 77 K (b).....	65
Figura 33 – Espectros de absorção do complexo <b>7</b> e seus respectivos ligantes, em concentrações $1 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> utilizando o solvente metanol.....	72
Figura 34 – Diagrama de desdobramento dos níveis de energia dos orbitais d, em diferentes geometrias.....	72
Figura 35 – Espectros de absorção do complexo <b>18</b> , no estado sólido e em solução metanólica ( $5,5 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> ).....	73
Figura 36 – Espectros de absorção do complexo <b>4</b> no estado sólido.....	75
Figura 37 – Espectros no infravermelho para o complexo <b>18</b> e o ligante 4-MH, na região próxima a 3300 cm <sup>-1</sup> .....	79
Figura 38 – Espectros no infravermelho para o complexo <b>18</b> e seus respectivos ligantes, na região próxima a 1600 cm <sup>-1</sup> .....	79
Figura 39 – Espectros no infravermelho para o complexo <b>1</b> , nas regiões próximas a 1100 e 620 cm <sup>-1</sup> .....	81
Figura 40 – Espectros no infravermelho para o complexo <b>9</b> nas regiões próximas a 1100 e 620 cm <sup>-1</sup> .....	81
Figura 41 – Espectro de massa do complexo <b>6</b> .....	83
Figura 42 – Espectro de massa do complexo <b>9</b> . .....	83

Figura 43 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para o complexo <b>1</b> , em diferentes intervalos de tempo.....	85
Figura 44 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para o complexo <b>9</b> , em diferentes intervalos de tempo.....	86
Figura 45 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para o complexo <b>12</b> , em diferentes intervalos de tempo.....	86
Figura 46 – Espectros de absorção na região do UV-Vis para o complexo <b>20</b> , em diferentes intervalos de tempo.....	87
Figura 47 – Representação do tipo de morte celular, após 24 horas de tratamento com os complexos <b>1</b> e <b>3</b> .....	92
Figura 48 – Espectros de absorção na região do UV-Vis de soluções contendo o complexo <b>1</b> ( $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e concentrações crescentes de DNA, variando de 0 a $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão HEPES, pH = 7,3. Requadro: $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[\text{DNA}]$ .....	94
Figura 49 – Espectros de absorção na região do UV-Vis de soluções contendo o complexo <b>3</b> ( $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e concentrações crescentes de DNA, variando de 0 a $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão HEPES, pH = 7,3. Requadro: $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[\text{DNA}]$ .....	95
Figura 50 – Espectro de dicroísmo circular de CT-DNA ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) na presença de concentrações crescentes dos complexos <b>1</b> (a) e <b>3</b> (b). A concentração dos complexos variou de 0 a $3,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .....	96

## Índice de Tabelas

Tabela 1- Informações sobre os reagentes e solventes utilizados durante a síntese e caracterização dos complexos em estudo. ....	33
Tabela 2- Dados de análise elementar (CHN) para os complexos deste trabalho.....	52
Tabela 3- Parâmetros de condutividade molar para diferentes tipos de eletrólito proposto por Geary em comparação com as faixas reportadas por Velho.....	53
Tabela 4- Valores de condutividade molar para os complexos em estudo, bem como o respectivo solvente utilizado no preparo da solução. As medidas foram realizadas a temperatura ambiente (T~25 °C).....	54
Tabela 5 - Dados cristalográficos do complexos <b>1</b> e <b>9</b> .....	56
Tabela 6- Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para os complexos <b>1</b> e <b>9</b> .....	58
Tabela 7- Interações intra e intermoleculares presentes no cristal do complexo <b>1</b> .....	60
Tabela 8- Interações intra e intermoleculares presentes no cristal do complexo <b>9</b> .....	62
Tabela 9- Parâmetros de RPE para os complexos <b>1</b> , <b>2</b> e <b>3</b> no estado sólido e em soluções metanólicas congeladas (77 K).....	64
Tabela 10- Atribuição das bandas observadas ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e valores de absortividade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) dos ligantes utilizados neste estudo. ....	67
Tabela 11- Atribuição das bandas observadas ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e valores de absortividade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) dos complexos sintetizados neste estudo.....	68
Tabela 12- Atribuições de alguns modos vibracionais, infravermelho, para o ligante e os seus respectivos complexos.....	76
Tabela 13- Considerações gerais para o espectro de infravermelho do grupo perclorato.....	80
Tabela 14 - Atribuição dos números de onda referente ao $\nu_{\text{Cl-O}}$ , na região próxima a 620 $\text{cm}^{-1}$ , para os complexos <b>1-20</b> .....	82
Tabela 15 - Valores de $m/z$ teórico e experimental obtidos para os complexos carregados observados nos EMs dos compostos <b>1-20</b> .....	84
Tabela 16- Valores de $\text{IC}_{50}$ para os complexos <b>1-5</b> , e seus respectivos ligantes.....	88
Tabela 17- Valores de $\text{IC}_{50}$ para os complexos ternários de cobre(II) contendo phen.....	90
Tabela 18- Valores de $\text{IC}_{50}$ e $\text{DL}_{50}$ para os complexos <b>6-20</b> e seus respectivos ligantes.....	97

## Abreviaturas e siglas

FDA = Administração de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos

DNA = Ácido desoxirribonucleico

IC<sub>50</sub> = concentração necessária para inibir 50% das células tumorais

$\Lambda_M$  = condutividade molar

MM = massa molar (g mol<sup>-1</sup>)

HRESIMS = Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por *electrospray*

UV-Vis = Espectroscopia no ultravioleta-visível

FTIR = Fourier transform infrared spectroscopy

IV = Infravermelho

$\nu$  = Vibração de estiramento axial ( $\nu_{\text{ass}}$  - estiramento assimétrico;  $\nu_s$  - estiramento simétrico)

$\delta$  = Vibração molecular de deformação angular simétrica no plano ("scissors")

$\epsilon$  = Coeficiente de extinção molar

DMSO = dimetilsulfóxido

DDC = 3,5-dimetoxi- $\alpha,\alpha$ -dimetilbenzil carbazato

PBS = tampão fosfato-salino

MTT = 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium.

WHO = Organização Mundial de Saúde

INCA = Instituto Nacional do câncer

BH = benzil-hidrazida

2-CH = 2-cloro-benzil-hidrazida

2-MH = 2-metóxi benzil-hidrazida

4-CH = 4-cloro benzil-hidrazida

4-MH = 4-metóxi benzil-hidrazida

4-NH = 4-nitrobenzóico-hidrazida

4-FH = 4-fluoro fenoxiacético-hidrazida

phen = 1,10-fenantrolina

dmb = 4-4'-dimetóxi-2-2'-bipiridina

bipy = 2,2-bipiridina

# Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Câncer.....	1
1.1.1. Incidência e mortalidade do câncer.....	3
1.1.2. Tratamento do câncer .....	4
1.1.3. Cisplatina.....	5
1.2. Doença de chagas (Tripanossomíase americana).....	8
1.2.1. Agente etiológico .....	9
1.2.2. Mecanismos de transmissão e ciclo evolutivo do <i>T. cruzi</i> .....	9
1.2.3. Patogênese da doença de chagas.....	12
1.2.4. Prevalência, incidência e mortalidade .....	14
1.2.5. Tratamento da Doença de Chagas.....	15
1.3. Metais na medicina.....	19
1.3.1. Complexos metálicos na clínica médica.....	19
1.3.2. Complexos metálicos promissores para o câncer e a doença chagas .....	20
1.4. O cobre como recurso na luta contra o câncer e a doença de chagas.....	25
2. OBJETIVO.....	32
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	33
3.1. Reagentes e solventes.....	33



3.2. Instrumentação.....	34
3.2.1. Análise elementar (CHN) .....	34
3.2.2. Análise condutimétrica.....	34
3.2.3. Difração de raios X.....	34
3.2.4. Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE)....	35
3.2.5. Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis e reflectância difusa.....	35
3.2.6. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	36
3.2.7. Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por <i>electrospray</i> (HRESIMS) .....	36
3.3. Síntese dos complexos.....	36
3.4. Estudos biológicos.....	45
3.4.1. Células K562, MDA-MB-231 e MCF-7.....	45
3.4.2. Determinação do tipo de morte celular.....	46
3.4.3. Interação com DNA.....	47
3.4.4. Avaliação da atividade tripanocida <i>in vitro</i> .....	47
3.4.5. Avaliação <i>in vitro</i> da citotoxicidade em células normais.....	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..	49
4.1. Análise elementar (CHN) .....	52
4.2. Análise condutimétrica.....	53
4.3. Difração de Raios X.....	54
4.4. Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE) .....	63

4.5. Espectrofotometria de absorção na região do UV-vis e reflectância difusa.....	66
4.6. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	75
4.7. Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por <i>electrospray</i> (HRESIMS) .....	82
4.8. Comportamento em solução aquosa.....	84
4.9. Atividade citotóxica .....	87
4.10. Determinação do modo de morte celular por citometria de fluxo .....	90
4.11. Interação com DNA.....	92
4.12. Atividade citotóxica e tripanocida.....	97
5. CONCLUSÃO.....	100
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
7. ANEXOS.....	126
8. PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	180

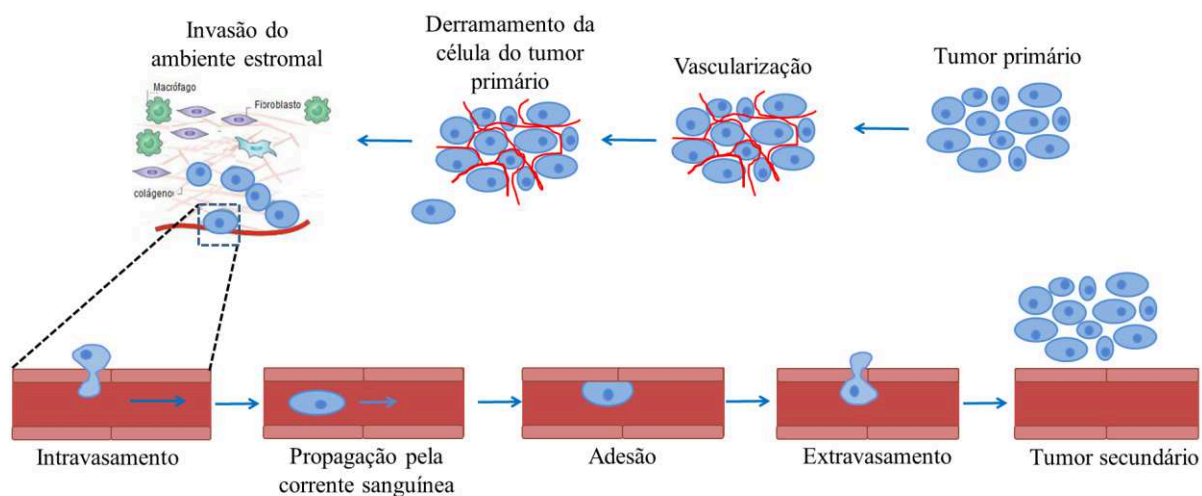
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Câncer

O câncer é um termo genérico utilizado para classificar um conjunto de mais de 200 doenças que apresentam em comum um crescimento celular anormal e descontrolado. Este comportamento de proliferação anormal é conhecido como neoplasia e pode levar a formação de tumores malignos (INCA, 2016; WHO, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2005; RAKOFF-NAHOUM, 2007; STRATTON, CAMPBELL, FUTREAL, 2009). Entende-se por tumores malignos o acúmulo de células que sofreram alterações nas funções do DNA e apresentam um crescimento acelerado, expansivo e infiltrativo, podendo recidivar após o tratamento. Em contrapartida, o acúmulo de células semelhantes ao tecido normal que possuem um crescimento lento, expansivo e localizado, é definido como tumor benigno e na maioria dos casos não volta a aparecer após a sua remoção, pois a proliferação celular é baixa e geralmente não se espalha pelo corpo, assim raramente constitui um risco à vida do paciente (BABA, CÂTOI, 2007; SUDHAKAR, 2009).

Os tumores malignos apresentam cinco estágios de desenvolvimento (0, I, II, III e IV) que classificam o grau de espalhamento das células cancerosas, sendo que o último estágio (IV) é o mais perigoso, pois é irreversível, devido ao seu elevado grau de disseminação. Neste estágio, as células cancerosas entram na corrente sanguínea ou no sistema linfático e costumam se espalhar para uma nova região do corpo, onde começam a crescer e lançar as bases para formação de tumores secundários (CHAMBERS, GROOM, MACDONALD, 2002; INCA, 2016). A Figura 1 ilustra esse processo de disseminação, que é denominado metástase, bem como suas respectivas etapas, a saber: derramamento de células do tumor primário para o sistema circulatório, sobrevivência das células no novo ambiente, adesão das células em um novo órgão, extravasamento no tecido circundante, iniciação e manutenção do crescimento e vascularização do tumor metastático (CHAMBERS, GROOM, MACDONALD, 2002; SU *et al.*, 2015).

**Figura 1:** Disseminação da célula tumoral e formação de tumores secundários a partir do processo de metástase.



Fonte: Adaptado de CHAMBERS, GROOM, MACDONALD (2002).

Como mencionado anteriormente, o câncer é um conjunto de doenças associadas às diferentes células do corpo e suas respectivas velocidades de multiplicação e capacidade inerente de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes. Ressalta-se que em alguns casos ocorre acúmulo de células tumorais que levam a formação de tumores malignos, mas em outros casos, como a leucemia, as células cancerosas acometem o sangue e órgãos hematopoiéticos e circulam por tecidos onde elas se desenvolvem e raramente formam tumores (SUDHAKAR, 2009; CHIZUKA *et al.*, 2006).

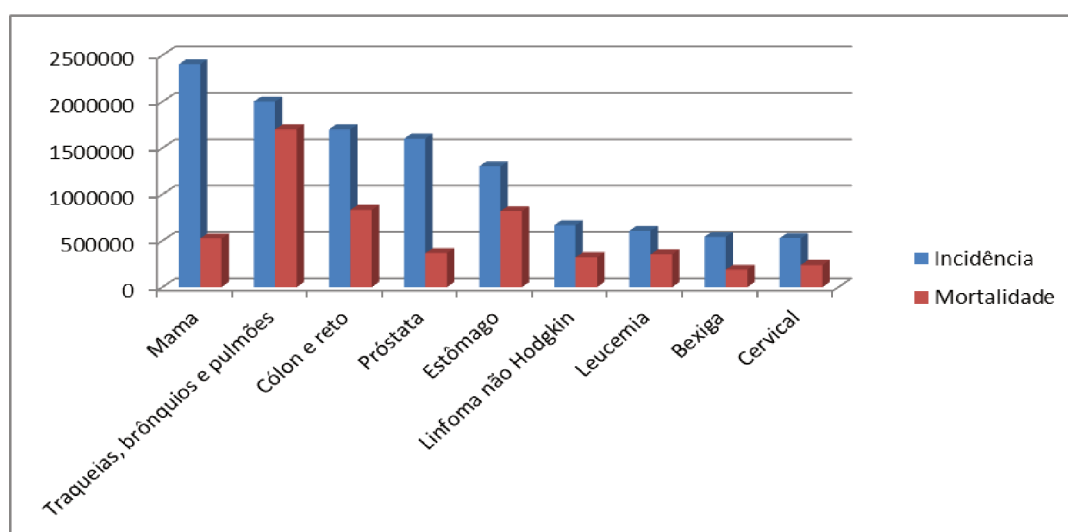
Embora o surgimento de alguns tumores, particularmente aqueles que ocorrem durante processos infecciosos, ainda seja de natureza desconhecida, existem alguns agentes já estabelecidos, bem como seus fatores de risco. Esses fatores podem ser internos, tais como, mutações genéticas hereditárias, desordem hormonal e condições imunes ou externos, como, por exemplo, o consumo de álcool, o tabagismo, alto índice de massa corporal, sedentarismo, alimentação inadequada, exposição às radiações ou agentes químicos mutagênicos (ANAND *et al.*, 2008; PARSA, 2012; WHO, 2016). Desta forma, estes fatores de risco podem atuar simultaneamente ou em seqüência para iniciar e/ou promover o crescimento das células tumorais, favorecendo o aumento das taxas de incidência desta doença (ANAND *et al.*, 2008; PARSA, 2012; WHO, 2016).

### 1.1.1. Incidência e mortalidade do câncer

O câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo e de acordo com o relatório da *Global Burden of Disease Cancer Collaboration*, que compreende o período entre 2005 e 2015, a incidência da doença aumentou em 33%, devido principalmente às taxas de envelhecimento (16%) e crescimento populacional (13%) (GBD, 2015; GBD, 2016). Em um panorama global e considerando ambos os sexos, no ano de 2015 houve aproximadamente 17,5 milhões de novos casos e 8,7 milhões de mortes. De fato, no ano de 2015, o câncer foi a segunda causa de morte no mundo, ficando atrás apenas das doenças cardiovasculares e os tipos de câncer que apresentaram maior taxa de incidência foram os cânceres de mama (2,4 milhões), traqueal, brônquico e pulmonar (2,0 milhões), colorretal (1,7 milhões), dentre outros. A Figura 2 ilustra as taxas de incidência, bem como suas respectivas taxas de mortalidade para os tipos de cânceres mais prevalentes (GBD, 2015; GBD, 2016).

É importante salientar que o número de mortes em decorrência do câncer, pode ser reduzido por intermédio da prevenção e detecção precoce, além da utilização de um tratamento adequado e eficiente (WHO, 2016).

**Figura 2:** Taxas de incidência e mortalidade dos principais tipos de câncer.



Fonte: Adaptado de GBD (2016).

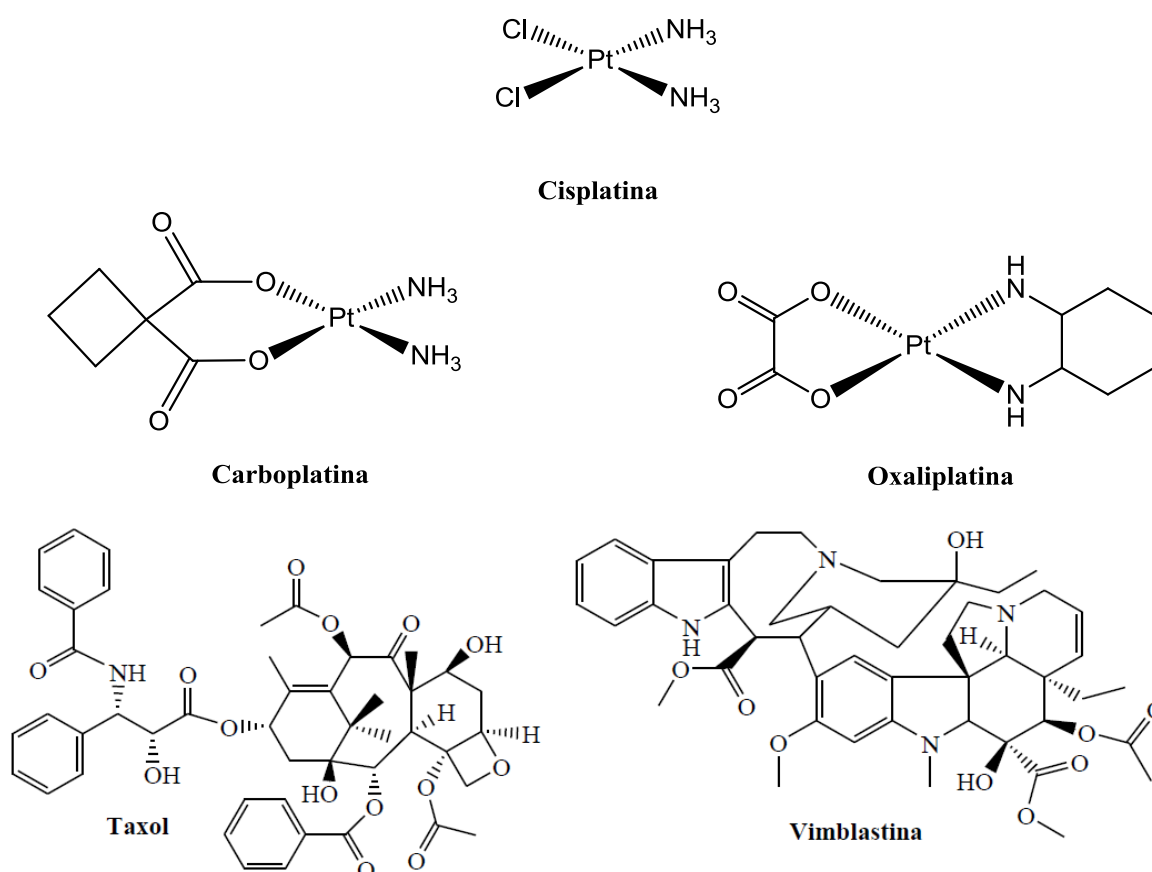
### 1.1.2. Tratamento do câncer

As formas mais comuns de tratar o câncer são a remoção cirúrgica do tumor, o emprego de radioterapia, imunoterapia ou quimioterapia (SUDHAKAR, 2009). Geralmente mais de uma forma é empregada visando garantir a cura do paciente. Dentre as intervenções mencionadas, a quimioterapia é a mais utilizada e representa o tratamento sistêmico do câncer através da administração, em intervalos regulares, de um ou mais medicamentos, que são denominados quimioterápicos ou antineoplásicos que visam a inibição, controle e/ou a destruição das células tumorais (SUDHAKAR, 2009). A administração destes quimioterápicos pode ser efetuada por via oral (na forma de comprimidos, cápsulas ou líquidos), intravenosa (injetados na corrente sanguínea), intramuscular (injetado no músculo), subcutânea (sob a pele), intracranial (injetado na espinha dorsal) ou uso tópico (INCA, 2016).

Os quimioterápicos utilizados no tratamento do câncer incluem tanto compostos orgânicos quanto inorgânicos (ALMEIDA *et al.*, 2005; NEVES, VARGAS, 2011; WARAD *et al.*, 2013; MEDICI *et al.*, 2015). A Figura 3 apresenta uma gama de fármacos empregados na quimioterapia, sendo que o mais utilizado é a *cis*-diaminodicloroplatina(II) (cisplatina). Quando introduzido na clínica médica, a eficácia deste fármaco foi evidenciada em virtude do aumento da taxa de cura dos tumores sólidos, como por exemplo, ovário e testículo que atingiram índices próximos a 90% quando detectados precocemente (HAMBLEY, 2001; DASARI, TCHOUNWOU 2014). Atualmente, a cisplatina é utilizada em aproximadamente 60% dos regimes quimioterápicos, sendo eficaz no combate de diferentes tipos de neoplasias, incluindo cabeça, pescoço, testículo, ovário, pulmão, estômago, esôfago, linfomas, osteossarcoma, melanoma, leucemia, mama, cérebro, rim e cérvix (RIOS; ANTUNES; BIANCHI, 2009; BENITE, MACHADO, BARREIRO, 2007; DASARI, TCHOUNWOU 2014; CHEFF, HALL, 2017). Além da cisplatina, dois outros complexos de platina nomeados diamino(1,1-ciclobutanodicarboxilato)platina(II) (carboplatina) e *trans*-1,2-diaminocicloexanooxaloplatina(II) (oxaliplatina) também são empregados, pois são menos nefrotóxicos permitindo o uso de doses maiores. Entretanto, quanto ao espectro de atividade, estes são um pouco menos eficientes que a cisplatina (NEVES, VARGAS, 2011; WARAD *et al.*, 2013; MEDICI *et al.*, 2015). O taxol e a vimblastina são fármacos antineoplásicos com propriedades antimetabólicas que atuam estimulando e inibindo a polimerização dos microtúbulos, respectivamente. O taxol pode ser empregado no tratamento de câncer de

mama, ovário, pulmão e sarcoma de Kaposi e a vimblastina pode ser utilizada no tratamento de linfoma de Hodgkin, leucemia linfoblástica aguda infantil, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e testículos (WEAVER, 2014; BRANDÃO *et al.*, 2010).

**Figura 3:** Compostos orgânicos e inorgânicos que são utilizados como quimioterápicos.



Fonte: A autora.

### 1.1.3. Cisplatina

Devido a sua baixa solubilidade em água ( $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$  a  $25^\circ\text{C}$ ) a cisplatina é administrada por via intravenosa. Uma vez na corrente sanguínea, a cisplatina tende a permanecer na sua forma neutra, devido à elevada concentração de íons cloreto ( $\approx 100 \text{ mmol L}^{-1}$ ) que impedem o processo de hidrólise. Para atingir o interior da célula e exercer a sua atividade antitumoral, a molécula atravessa a membrana plasmática por difusão passiva ou transporte ativo, que é mediado pelo transportador de cobre (Ctr1), como mostra a Figura 4

(NEVES, VARGAS, 2011; DASARI, TCHOUNWOU 2014). Uma vez dentro da célula, onde a concentração de íons cloreto é menor ( $4\text{--}20\text{ mmol L}^{-1}$ ), a cisplatina sofre hidrólise. Neste caso, um ou dois íons cloretos (bom grupo abandonador) são substituídos por moléculas de água. As espécies ativas que são geradas neste processo, consistem de eletrófilos muito potentes (ver Figura 4) que podem interagir com os nucleófilos, incluindo os grupos tióis em proteínas e os átomos de nitrogênio em ácidos nucleicos. Assim os ligantes aqua presentes nas espécies ativas são substituídos pelas bases nitrogenadas do DNA, em geral guanina (G) ou adenina (A), de modo que cada átomo de Pt(II) liga-se a uma ou duas bases nitrogenadas levando a formação de adutos (cisplatina-DNA) mono e bifuncionais, respectivamente, como mostra a Figura 5 (NEVES, VARGAS, 2011; DHAR, LIPPARD, 2011; DASARI, TCHOUNWOU 2014; PRANCZK *et al.*, 2014, DILRUBA, KALAYDA, 2016).

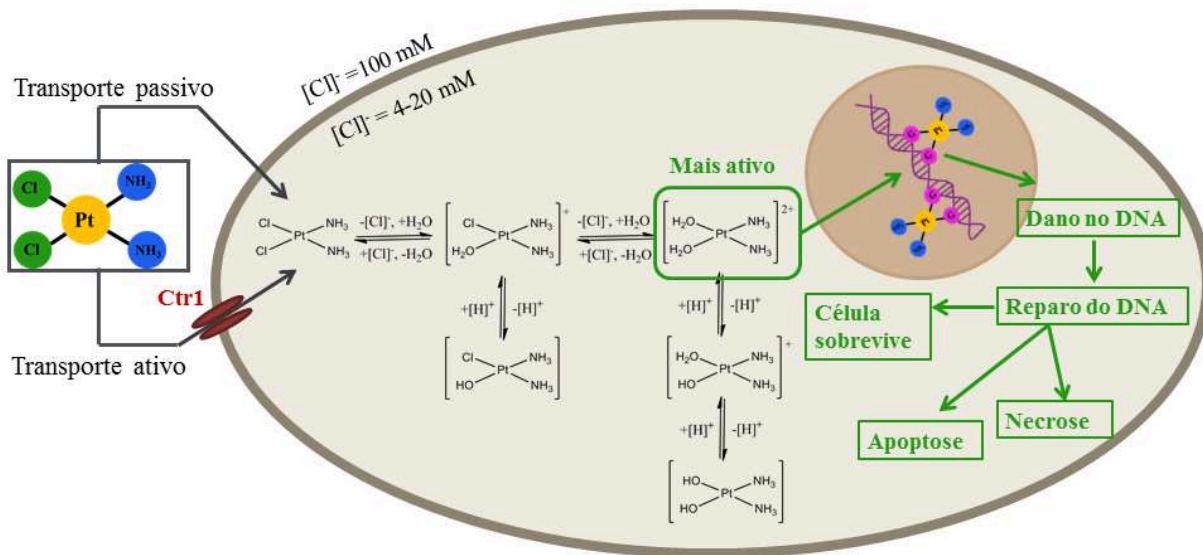
As ligações que formam estes adutos ocorrem na mesma fita do DNA (intrafita), em fitas diferentes (interfitas) ou em ligações cruzadas que envolvem o DNA e uma proteína. O aduto mais importante ocorre quando a cisplatina liga-se ao átomo de nitrogênio N7 da guanina causando distorções na hélice do DNA que são difíceis de serem reparadas, e promovendo a inibição dos processos de replicação e transcrição, e posteriormente induzido à morte celular por apoptose ou necrose (GONZALEZ *et al.*, 2001; NEVES, VARGAS, 2011; DHAR, LIPPARD, 2011; DASARI, TCHOUNWOU 2014; PRANCZK *et al.*, 2014; DILRUBA, KALAYDA, 2016). A apoptose é um tipo de morte celular programada que ocorre em resposta aos estímulos externos ou inerentes à célula, sendo caracterizada por alterações morfológicas específicas, tais como retração celular, fragmentação nuclear, perda de aderência com a matriz, condensação da cromatina e fragmentação do DNA cromossômico, além da formação de bolhas citoplasmáticas e corpos apoptóticos, sem sinais de inflamação. Em contrapartida, a necrose é um processo degradativo que ocorre após a morte celular, mediado por estímulos externos, sendo caracterizado por expansão celular, cariólise, perda da homeostasia iônica intracelular, além da formação de bolhas citoplasmática que quando se rompem geram uma resposta inflamatória (GONZALEZ *et al.*, 2001; ELMORE, 2007; SU *et al.*, 2015).

Mais especificamente, dentre os adutos formados, os mais notáveis em termos de alterações no DNA são aqueles com a ligação 1,2- intrafita, onde a platina(II) liga-se a duas bases adjacentes (G-G 90% ou A-G 10%), pois promovem lesões de difícil reparo, sendo que este aduto é o mais estável e o responsável mais provável pela citotoxicidade da cisplatina,



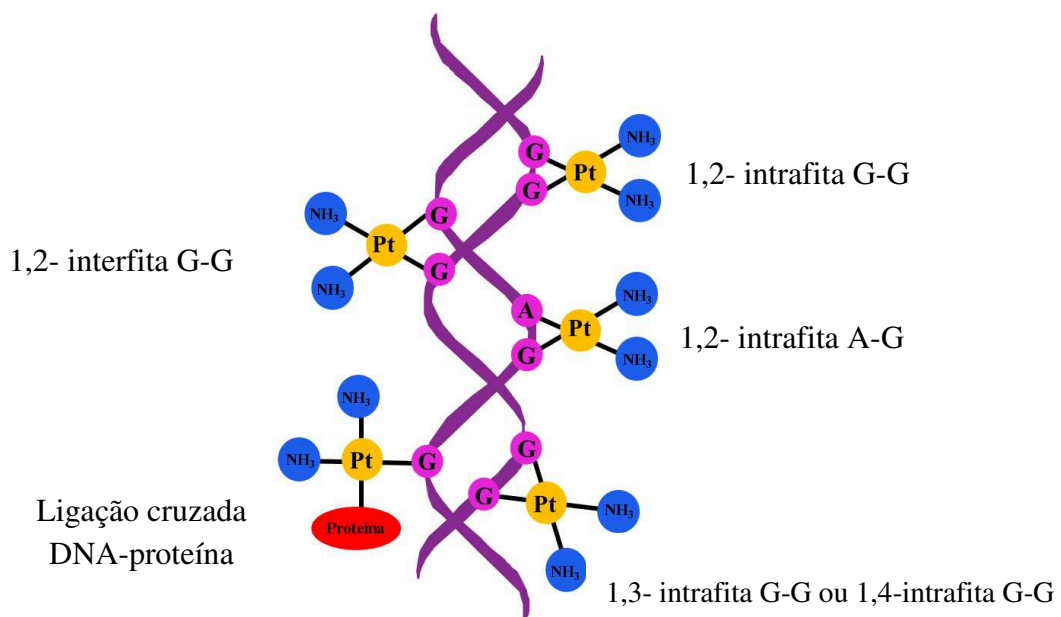
garantindo a sua aplicabilidade como um quimioterápico. (GREEN, GARDEN, ORTON, 1992; GONZALEZ *et al.*, 2001; ALBERTO, BUTERA, RUSSO, 2011; PRANCZK *et al.*, 2014; DILRUBA, KALAYDA, 2016).

**Figura 4:** Representação esquemática da entrada da cisplatina na célula.



Fonte: A autora.

**Figura 5:** Representação esquemática dos adutos formados entre a cisplatina e o DNA.



Fonte: A autora.

Os quimioterápicos de um modo geral atuam de forma não específica, ou seja, causam lesões tanto nas células tumorais quanto nas normais, acarretando diversos efeitos colaterais, como por exemplo, náuseas, vômitos, perda de cabelo e maior susceptibilidade às infecções (BARRY, SADLER, 2013; MEDICI *et al.*, 2015; CHEFF, HALL, 2017). Especificamente a cisplatina, por exemplo, apresenta danos colaterais graves, tais como aumento da pressão sanguínea, toxicidade gastrointestinal, nefrotoxicidade (redução e perda da função renal), ototoxicidade (problemas de audição), neurotoxicidade (danos no sistema nervoso) e mielossupressão (redução na atividade da medula óssea), entre outros (CHEFF, HALL, 2017). Estes efeitos indesejáveis associados à capacidade das células tumorais de desenvolverem resistência intrínseca ou adquirida a cisplatina e aos demais quimioterápicos disponíveis no mercado, impulsionam a busca por novos fármacos que sejam mais ativos e seletivos e, conseqüentemente menos agressivos ao organismo, proporcionando uma melhor qualidade de vida ao paciente (DILRUBA, KALAYDA, 2016).

## 1.2. Doença de Chagas (Tripanossomíase americana)

A Tripanossomíase Americana é uma parasitose causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*). Esta enfermidade é popularmente conhecida como doença de chagas, em homenagem ao médico e pesquisador Dr. Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas que descreveu pela primeira vez em 1909 a presença de um novo parasito flagelado do gênero *Trypanosoma*, ao qual denominou *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1911; WHO, 2016). Na época este parasito foi encontrado na corrente sanguínea de uma criança febril de dois anos e no intestino de um inseto hematófago comumente chamado de barbeiro. (CHAGAS, 1911). Após esta descoberta vários estudos foram realizados a fim de estabelecerem os aspectos referentes à morfologia e ciclo evolutivo do protozoário nos diferentes hospedeiros, bem como o método de diagnóstico, os principais reservatórios domésticos e silvestres e a patogenia desta doença (CHAGAS, 1911; LOPES, CHAPADEIRO, 1997; RASSI *et al.*, 2010; CHATELAIN, 2015; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016). As informações pertinentes, em relação a esta doença, serão descritas a seguir:

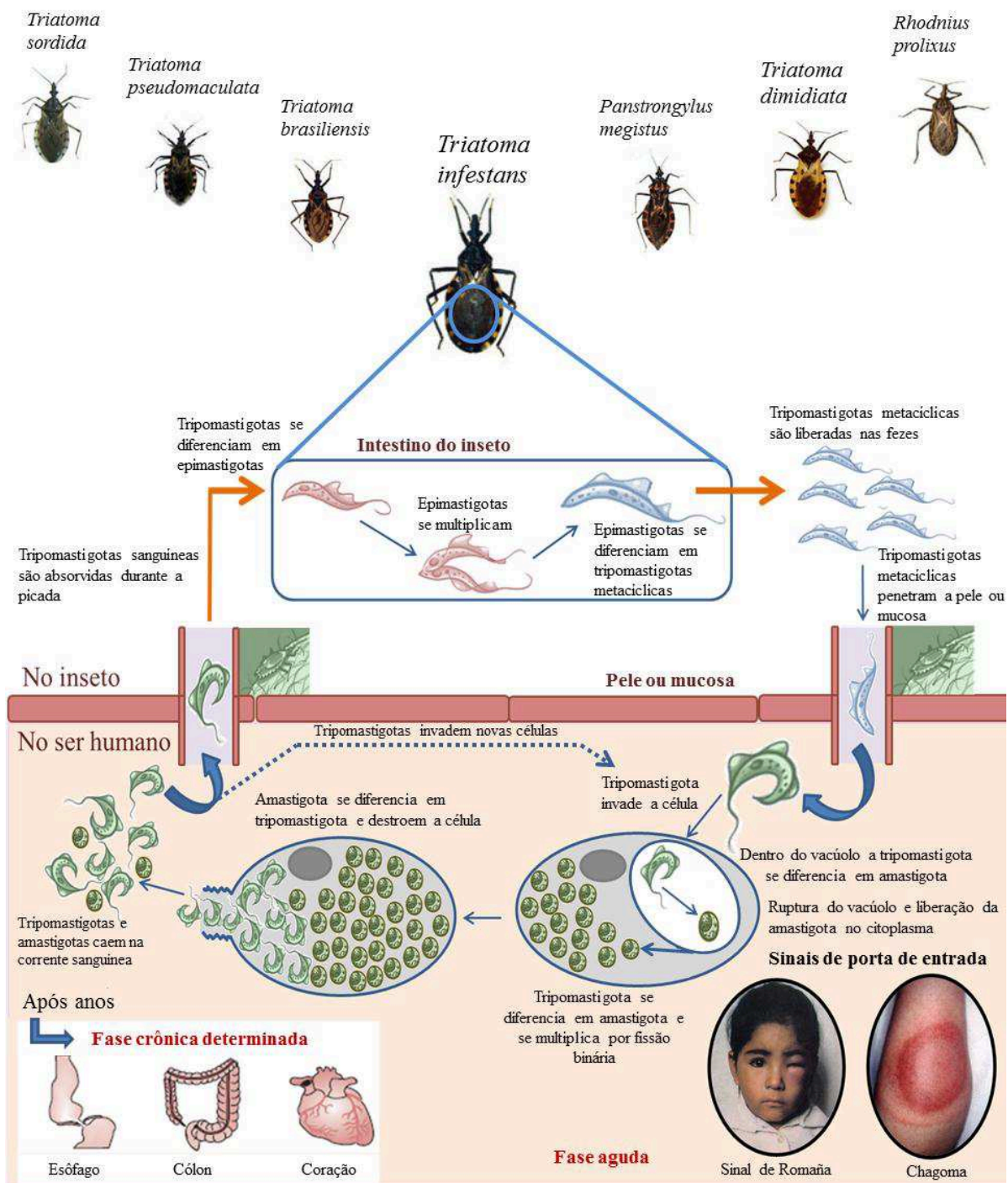
### 1.2.1. Agente etiológico

O *Trypanosoma cruzi*, agente causador da doença de chagas é um protozoário flagelado que pertence à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero Trypanosoma (ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016). Este parasito se distingue em diferentes estágios morfológicos no decorrer de seu ciclo evolutivo, sendo que as formas tripomastigota, amastigota e epimastigota são as principais (NEVES *et al.*, 2012; BELLINI *et al.*, 2012; CHATELAIN, 2015; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016). Esses diferentes estágios apresentam características morfológicas peculiares e específicas que são baseadas no formato da célula (alongada, piriforme ou arredondada), na posição relativa entre o núcleo e o cinetoplasto (anterior, lateral ou posterior) e no ponto de emergência do flagelo (NEVES *et al.*, 2012). Vale ressaltar que a forma tripomastigota se divide em duas formas infectivas que podem ser encontradas na região posterior do tubo digestivo do inseto triatomíneo (tripomastigotas metacíclicas) e na corrente sanguínea ou espaço intercelular do hospedeiro vertebrado (tripomastigotas sanguíneas) (NEVES *et al.*, 2012; VERONESI, 2015). Desta forma o protozoário *T. cruzi* pode circular indiferentemente entre hospedeiros vertebrados e invertebrados, podendo infectar diferentes espécies, inclusive humanos (NEVES *et al.*, 2012; VERONESI, 2015; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, 2016).

### 1.2.2. Mecanismos de transmissão e ciclo evolutivo do *T. cruzi*

A principal via de transmissão da doença de chagas é a vetorial, que ocorre através da picada do inseto triatomíneo hematófago (barbeiro), contaminado com o *T. cruzi*. Estes insetos pertencem à ordem Hemiptera, família Reduviidae, sendo os gêneros *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* os mais importantes (CHAGAS, 1911; BELLINI *et al.*, 2012; SOSA-ESTANI, SEGURA, 2015). Alguns insetos triatomíneos, com maior contribuição epidemiológica, podem ser observados na Figura 6, que também ilustra a forma tripomastigota sendo transmitida através da picada do inseto. Deste modo, temos um ciclo biológico do tipo heteroxênico com alternância entre uma fase de multiplicação intracelular no hospedeiro vertebrado (homem) e extracelular no inseto triatomíneo (barbeiro) (RASSI *et al.*, 2010; NEVES *et al.*, 2012; VERONESI, 2015; CHATELAIN, 2015; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

**Figura 6:** Insetos triatomíneos, com maior contribuição epidemiológica e representação esquemática do ciclo biológico do *T. cruzi*.



Fonte: Adaptado de CDC (2016) e RASSI (2010).

O hospedeiro vertebrado (humano) é contaminado através da picada do inseto infectado com as formas tripomastigotas metacíclicas do *T. cruzi*. Durante ou após o repasto

sanguíneo, o inseto defeca e urina, eliminando e depositando as formas tripomastigotas metacíclicas sobre a pele ou mucosa. Como a picada causa uma irritação local, a vítima apresenta uma tendência natural de coçar a região, gerando lesões na pele que facilitam a penetração do parasito. Se a picada for próxima dos olhos ou da boca, o parasito pode penetrar diretamente pelas mucosas. Após a penetração, as formas tripomastigotas atingem a corrente sanguínea, o que permite que estas formas do parasito possam aderir e invadir diferentes células nucleadas. Em seguida, a forma tripomastigotas é fagocitada pelo macrófago levando a formação de um vacúolo parasitóforo, local onde se diferenciam em amastigotas e posteriormente causam a ruptura da membrana do vacúolo. Uma vez dentro do citoplasma, as formas amastigotas se multiplicam por fissões binárias sucessivas e em seguida se diferenciam em tripomastigotas, antes da célula hospedeira se romper, devido ao excesso de parasitos. A lise da célula hospedeira pode ocorrer antes de completar a diferenciação de todos os parasitos, sendo possível encontrar as duas formas no meio externo. Com a ruptura da célula, as formas tripomastigotas e amastigotas caem na corrente sanguínea e podem infectar novas células de qualquer tecido ou órgão começando um novo ciclo intracelular, ou iniciando um ciclo extracelular dentro do inseto vetor através da picada (RASSI *et al.*, 2010; SERAFIM *et al.*, 2011; NEVES *et al.*, 2012; VERONESI, 2015; CHATELAIN, 2015; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

No ciclo extracelular, o hospedeiro contaminado é picado por um novo inseto triatomíneo (inicialmente não infectado) e as formas tripomastigotas sanguíneas do parasito (presentes na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado) são ingeridas pelo inseto e quando atingem o estômago se diferenciam em esferomastigotas (formas arredondadas com flagelo circundando o corpo). As esferomastigotas podem se transformar em tripomastigotas metacíclicas ou em epimastigota. Quando as formas epimastigotas alcançam o lúmen do tubo intestinal, se multiplicam por divisão binária longitudinal e, em seguida, quando atingem a porção posterior do intestino, inicia-se o processo de diferenciação em tripomastigotas metacíclicas (a forma infectiva do parasita no inseto vetor). As formas tripomastigotas metacíclicas aderem à cutícula que reveste o epitélio do reto e ampola retal do triatomíneo e são liberadas nas fezes ou urina do inseto vetor durante o repasse sanguíneo contaminando outro hospedeiro vertebrado e reiniciando o ciclo (RASSI *et al.*, 2010; SERAFIM *et al.*, 2011; NEVES *et al.*, 2012; VERONESI, 2015; CHATELAIN, 2015; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

Apesar do método de transmissão clássico da doença de chagas em humanos acontecer através da picada do inseto vetor (transmissão vetorial), existem outros mecanismos alternativos que apresentam uma menor taxa de contaminação, como transfusão sanguínea, transmissão congênita, transplante de órgãos, transmissão oral, acidentes de laboratório entre outros (VERONESI, 2015; CHATELAIN, 2015; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016; CHATELAIN, 2017).

### 1.2.3. Patogênese da doença de chagas

Após a contaminação vetorial, o parasito passa por um período de incubação que varia de 4 a 14 dias, mas em outros mecanismos de transmissão este período pode ser prolongado por 40 dias ou mais (ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016). A transmissão vetorial produz sinais de porta de entrada que aparecem dentro de 4 a 10 dias após a picada e diferem de acordo com a região que o parasito usa para penetrar o hospedeiro humano. Quando o parasito *T. cruzi* penetra na conjuntiva (sinal de Romana) e na pele (chagoma de inoculação), como ilustrados na Figura 6. Estas manifestações locais marcam o início da fase aguda da doença de chagas e acometem cerca de 50% dos casos (CAMBRONERO-CORTINAS, 2016; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

Na fase aguda a parasitemia é elevada, ou seja, há quantidades expressivas do parasito na corrente sanguínea desempenhando um papel importante na patogênese da resposta inflamatória. Esta fase tem duração de 2 a 4 meses e pode ser assintomática (inaparente) em 95% dos casos ou sintomática (aparente) com manifestações gerais, como febre (que podem persistir por até 12 semanas), mal-estar, mialgias, astenia, anorexia, cefaleia, edema subcutâneo (generalizado ou localizado), poliadenia, hepatomegalia, esplenomegalia e às vezes, insuficiência cardíaca e perturbações neurológicas (LOPES, CHAPADEIRO, 1997; RASSI *et al.*, 2010; CAMBRONERO-CORTINAS, 2016; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016; CHATELAIN, 2017).

A fase crônica é caracterizada pela baixa parasitemia e elevados teores de anticorpos da classe IgG, mas os anticorpos tipo IgM praticamente não são detectados. Geralmente, a fase crônica se inicia por meio da forma indeterminada (latente) onde os pacientes passam por

um longo período assintomático (10 a 30 anos) e sem sinais de comprometimento circulatório (clínica, eletrocardiograma e radiografia de tórax normais) e do aparelho digestivo (avaliação clínica e radiológica normais de esôfago e cólon). Vale ressaltar que durante esse período o paciente apresenta resultados positivos nos exames sorológicos e parasitológicos. Esse quadro poderá perdurar por toda a vida da pessoa infectada ou pode evoluir para uma fase crônica sintomática após muitos anos do curso da infecção (LOPES, CHAPADEIRO, 1997; RASSI *et al.*, 2010; CAMBRONERO-CORTINAS, 2016; CHATELAIN, 2017).

A fase crônica sintomática (formas determinadas) evolui insidiosamente a partir da forma indeterminada, apresentando sintomas relacionados com o sistema cardiocirculatório (forma cardíaca), digestivo (forma digestiva), ou ambos (forma cardiodigestiva ou mista). Nesta fase, cerca de 5 a 10% dos pacientes evoluem para as formas graves e progressivas da forma cardíaca causando a morte súbita (LOPES, CHAPADEIRO, 1997; RASSI *et al.*, 2010; COURA, BORGES-PEREIRA, 2011; CAMBRONERO-CORTINAS, 2016; CHATELAIN, 2017).

A forma cardíaca é a forma mais grave e frequente da fase crônica sintomática atingindo cerca de 10 a 30% dos pacientes, sendo a maior responsável pelas taxas de morbidade e mortalidade na fase crônica da doença. Nesta etapa, a principal mudança morfológica tem como fundamento a miocardite crônica progressiva e fibrosante, que provoca uma grande variedade de perturbações e/ou deficiências na formação e propagação dos estímulos de contração cardíaca. Quando os mecanismos de compensação cardíaca não conseguem superar estas deficiências, manifesta-se um quadro de insuficiência cardíaca congestiva, que é decorrente da diminuição da massa muscular em função da degeneração das fibras e fascículos e sua posterior substituição por áreas de fibrose (lesões cardíacas). Estas lesões levam a uma série de complicações como a perda da função contrátil, cardiomiopatia, insuficiência cardíaca, arritmias, cardiomegalia dentre outros (LOPES, CHAPADEIRO, 1997; RASSI *et al.*, 2010; COURA, BORGES-PEREIRA, 2011; CAMBRONERO-CORTINAS, 2016).

A forma digestiva afeta 15-20% dos pacientes crônicos e é caracterizada por alterações morfológicas e funcionais do trato digestivo, como por exemplo, mudanças na secreção, absorção, motilidade e dilatação das vísceras (megas). Esses distúrbios afetam especialmente

o esôfago (esofagopatia chagásica) e o colo (colopatia chagásica), os quais podem ser acometidos ou não pelos megas (megaesôfago e megacólon, respectivamente). A forma cardiodigestiva (mista) apresenta simultaneamente complicações relacionadas com as formas cardíacas e digestivas (LOPES, CHAPADEIRO, 1997; RASSI *et al.*, 2010; COURA, BORGES-PEREIRA, 2011; STANAWAY, ROTH, 2015; CHATELAIN, 2017).

#### 1.2.4. Prevalência, incidência e mortalidade

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a doença de chagas faz parte de um grupo de 18 enfermidades que são classificadas como doenças tropicais negligenciadas (DTNs) e afetam especialmente as populações vulneráveis e financeiramente desfavorecidas da África, Ásia e América Latina. Estas enfermidades representam um problema global de saúde pública, sendo um reflexo da falta de políticas públicas e investimentos em pesquisas para aprimorar e/ou desenvolver um tratamento eficiente (WHO, 2016).

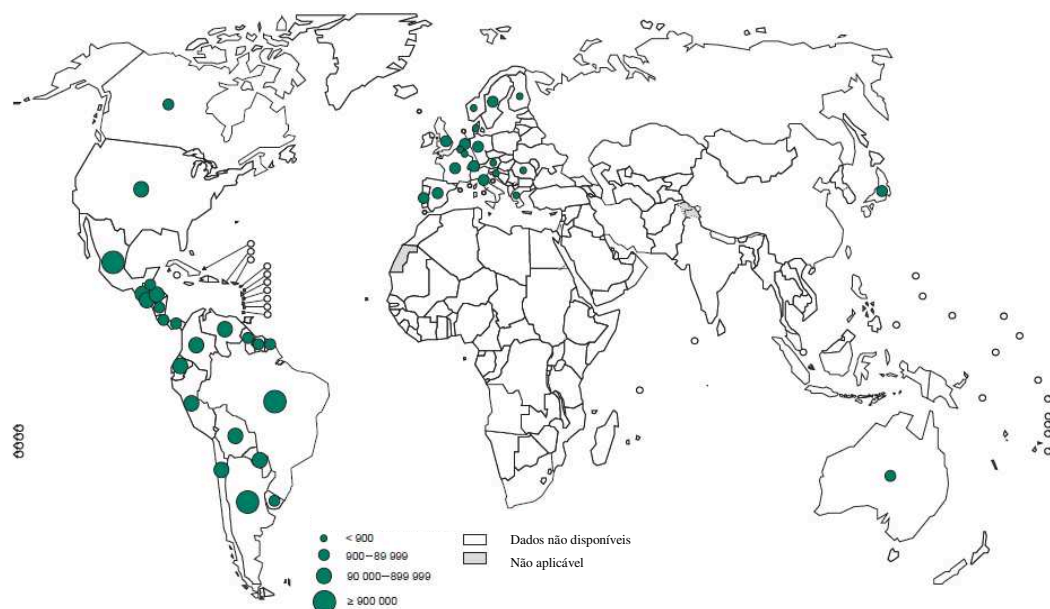
De acordo com a OMS estima-se que aproximadamente 7 milhões de pessoas em todo o mundo estão infectadas com o parasito *T. cruzi* e mais de 25 milhões de pessoas vivem em áreas de risco. Esta enfermidade continua sendo um dos maiores problemas de saúde pública na América Latina, causando mais de 7.000 mil mortes por ano, bem como elevadas taxas de morbidade e invalidez ao longo da vida do paciente chagásico. A maioria dos casos de infecção são reportados em regiões endêmicas da América Latina como, por exemplo, Argentina, Brasil e México, mas também são registrados casos em regiões não endêmicas, tais como Austrália, Canadá, Espanha, Estados Unidos e partes da Europa, como resultado do processo de globalização (WHO, 2015; STANAWAY, ROTH, 2015; CAMBRONERO-CORTINAS, 2016). A Figura 7 exibe a distribuição geográfica dos casos de doenças de chagas que foram reportados entre 2010 e 2013.

Embora esta enfermidade tenha se alastrado para outras regiões do mundo, ela ainda recebe pouca atenção. Assim, desde a década de 1970, apenas duas drogas foram disponibilizadas para o tratamento etiológico da doença de Chagas: 3-metil-4-(5'-nitrofurfurilidenoamino)tetra-hidro-4H-1,4-tiazina-1,1-dióxido (Nifurtimox) e o N-benzyl-2-



nitroimidazol acetamida (Benzonidazol) (BERN, 2016; CAMBRONERO-CORTINAS, 2016).

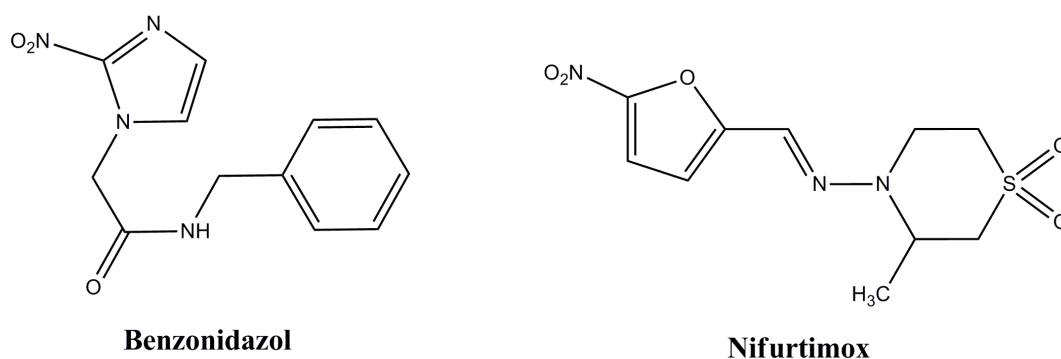
**Figura 7:** Distribuição geográfica dos casos de doenças de chagas reportados entre 2010 e 2013.



Fonte: WHO (2015).

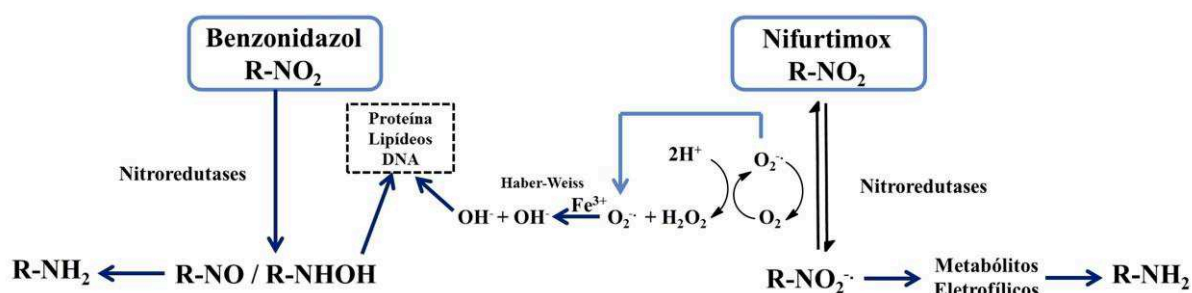
### 1.2.5. Tratamento da Doença de Chagas

No que se refere ao tratamento desta doença, apenas os fármacos nifurtimox (Lampit<sup>®</sup>, da Bayer) e benzonidazol (Rochagan<sup>®</sup>, da Roche) estão disponíveis, Figura 8. Estes dois fármacos, que não foram aprovados pelo FDA (*Food and Drug Administration*), são facilmente absorvidos pelo trato gastrointestinal do paciente e quando utilizados na fase aguda da doença de chagas, ambos apresentam uma taxa de cura parasitológica, contra todas as formas do parasita, que varia entre 60 e 80%. Contudo, ambos possuem eficácia limitada quando o enfermo encontra-se na fase crônica da doença, na qual as chances de cura são inferiores a 20% (DIAS *et al.*, 2009; BERN, 2016; CAMBRONERO-CORTINAS, 2016). Além disso, a eficácia destes fármacos é diretamente afetada pela idade, pelo tempo de duração do tratamento e a distribuição geográfica dos pacientes, devido à susceptibilidade das diferentes cepas do *T. cruzi* (SÁNCHEZ-SANCHO *et al.*, 2010).

**Figura 8:** Estruturas dos fármacos nifurtimox e benzonidazol.

Fonte: A autora.

A aplicabilidade farmacológica do nifurtimox e do benzonidazol é proveniente da formação de radicais livres e/ou metabólitos eletrofílicos, como mostra a Figura 9. Estes radicais são formados devido à redução do grupo nitro ( $\text{NO}_2$ ) a amino ( $\text{NH}_2$ ) através da ação de enzimas nitroreduzases. Inicialmente é formado o intermediário nitro radicalar ( $\text{R-NO}_2^{\cdot-}$ ) e em seguida a hidroxilamina ( $\text{R-NHOH}$ ) através da reação catalisada pelo NADPH citocromo P450 redutase.

**Figura 9:** Mecanismo de ação proposto para os fármacos Benzonidazol e Nifurtimox.

Fonte: Adaptado de DIAS (2009).

No caso do benzonidazol, o radical nitro é o responsável por seu efeito tripanocida, pois esta espécie é capaz de formar ligações covalentes com as macromoléculas do parasito, tais como DNA e citocromo P450. Já no caso do nifurtimox, os radicais que são produzidos reduzem o oxigênio molecular ( $\text{O}_2$ ) levando a formação do íon superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) que através do ciclo redox regeneram o grupo nitro. Em seguida o íon superóxido é captado pela enzima superóxido dismutase resultando na produção do peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) que

posteriormente se transforma no radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ) através da reação de Haber-Weiss. Este radical hidroxila é a espécie responsável pelo efeito tripanocida do nifurtimox, uma vez que por mecanismos complexos inibe a síntese do ácido pirúvico e interrompe o metabolismo de carboidrato do parasito, causando danos em sua estrutura (DIAS *et al.*, 2009; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016). Assim como estes fármacos, alguns complexos metálicos, dentre eles os de cobre, quando submetidos à presença de oxigênio ou peróxido de hidrogênio também são capazes de promover a formação de radicais livres via reação de Haber-Weiss, gerando espécies reativas de oxigênio que têm potencialidade para degradarem o anel ribose do DNA (JUNGWIRTH *et al.*, 2011).

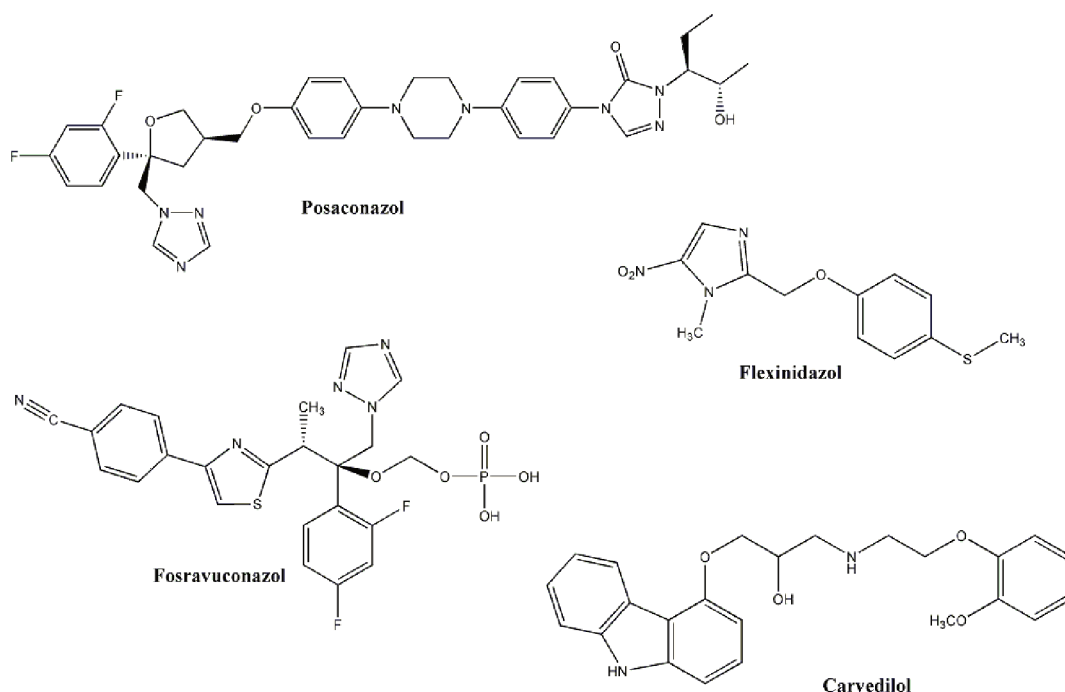
Os metabólitos (eletrofílicos) que são formados durante os mecanismos de ação dos fármacos benzonidazol e nifurtimox são altamente reativos e de baixa especificidade, sendo capazes de afetar também alguns sistemas do paciente, contribuindo para o surgimento de diversos efeitos colaterais que levam à interrupção do tratamento em 20,0 – 30,0% dos casos. Os efeitos mais comuns observados em 30 – 70% dos pacientes durante o tratamento com nifurtimox são as manifestações gastrointestinais, tais como, dores abdominais, náuseas, vômitos e anorexia que induz a perda de peso. Já os efeitos mais comuns observados durante o tratamento com benzonidazol são as dermatites com erupção cutânea (ocorre preferencialmente entre o 7º e 10º dia de tratamento), polineuropatia periférica, angiodemas e depressão da medula óssea (DIAS *et al.*, 2009; BERN, 2016).

Considerando a gravidade da situação, a baixa quantidade e efetividade dos fármacos disponíveis, fica evidente que a busca por novos agentes anti-*Trypanosoma cruzi* é necessária para aumentar o arsenal de drogas atualmente disponíveis para tratar a doença de chagas (DIAS *et al.*, 2009; COURA, BORGES-PEREIRA, 2011; BERN, 2016; CHATELAIN, 2017). Assim, diversas pesquisas estão sendo realizadas com o intuito de obter novos agentes tripanocidas que possuam um potencial farmacológico mais satisfatório do que o benzonidazol e o nifurtimox, ou seja, que apresentem maior eficácia na fase crônica da doença, menor toxicidade e maior seletividade, além de serem ativos contra as cepas mais resistentes (DIAS *et al.*, 2009; URBINA, 2010; CERECETTO, GONZÁLEZ, 2010; COURA, BORGES-PEREIRA, 2011; URBINA, 2015; BERN, 2016; CHATELAIN, 2017; CHATELAIN, 2017; FIELD *et al.*, 2017).

Desde a elucidação do genoma e o conhecimento do metabolismo do *T. cruzi*, várias pesquisas estão sendo conduzidas com o intuito de identificar alvos específicos em vias metabólicas que são importantes para o parasito, como por exemplo, a inibição das enzimas da via glicolítica (MELOS, ENCHERRAVIA, 2012), inibidores da biossíntese de ergosterol (URBINA, 2010; BERN, 2016) e inibidores da cisteíno-protease cruzipaina (DU *et al.*, 2002). Por exemplo, a Figura 10 ilustra os compostos posaconazol e o fosravuconazol (também conhecido como E1224; um pró-fármaco de ravuconazol) que estão em fase II de testes clínicos, devido ao seu potencial em inibir a biossíntese de ergosterol (URBINA, 2010; BERN, 2016). Entretanto, os resultados clínicos evidenciaram que apesar do posaconazol apresentar perfil favorável de segurança e toxicidade, ele falhou em induzir cura parasitológica em cerca de 90% dos pacientes tratados (MOLINA *et al.*, 2014).

A Figura 10 também ilustra outros dois compostos em ensaios clínicos que são o flexinidazol (fase II- NCT02498782) e o carvedilol (fase IV- NTC01557140), avaliados na forma crônica indeterminada e na cardiomiopatia chagásica, respectivamente (FIELD *et al.*, 2017; BOTONI, 2007).

**Figura 10:** Compostos em fase de estudo clínicos para o tratamento da doença de chagas.



Fonte: A autora.

### 1.3. Metais na medicina

#### 1.3.1. Complexos metálicos na clínica médica

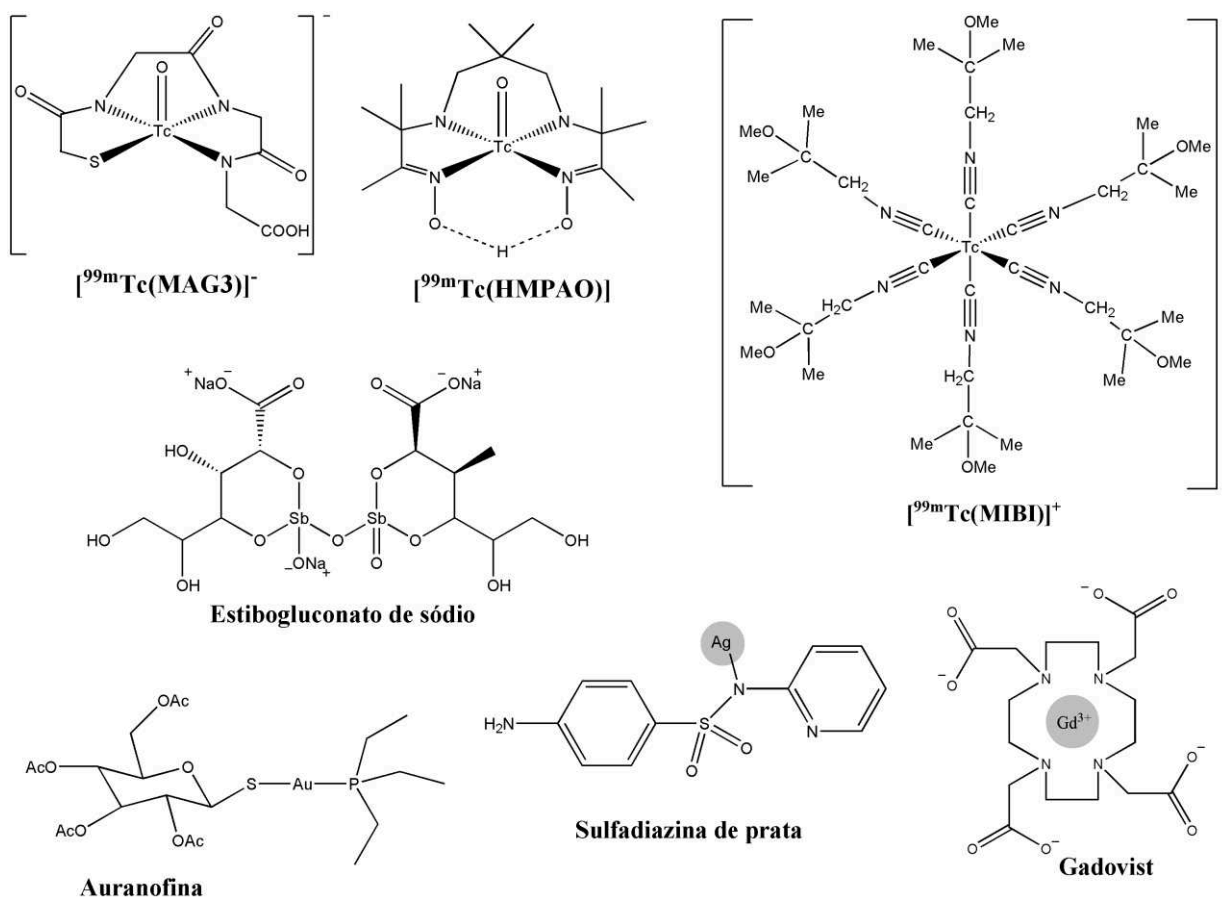
No organismo humano, existem íons metálicos que são essenciais ao seu funcionamento, tais como  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$  que desempenham funções importantes em muitos processos biológicos. Como exemplo, o ferro presente na hemoglobina é parte fundamental para o transporte de oxigênio. Além disso, o uso de íons metálicos e seus compostos na clínica médica é agora bem estabelecido e podemos citar os complexos de ouro, platina, ferro, antimônio e prata que são utilizados no tratamento da artrite reumatoide, câncer, hipertensão, leishmaniose e infecções da pele devido a queimaduras, respectivamente (BERALDO, 2005; BENITE, MACHADO, BARREIRO, 2007).

Além destes, os compostos de bismuto funcionam como antiácido, antidiarreico, antiulceroso e na erradicação do *Helicobacter pylori*, e o carbonato de lantânio atua no controle da hiperfosfatemia em pacientes com doença renal crônica. Ressalta-se também que os compostos inorgânicos são empregados na clínica médica como agentes de diagnóstico e imagem, como por exemplo, os complexos de gadolínio e manganês que são utilizados como agentes de contraste em ressonância magnética e os compostos de bário e iodo usados na obtenção de imagens de raios X, além disso, tem-se os radiofármacos para diagnóstico ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) e terapia ( $^{186}\text{Re}$ ) na medicina nuclear. A Figura 11 ilustra alguns compostos inorgânicos utilizados como fármacos terapêuticos ou agentes de diagnóstico.

Considerando o grande potencial farmacológico dos compostos de coordenação, há uma grande variedade de pesquisas sendo conduzidas ou que já foram concluídas, dentre as quais se destacam os complexos de platina, paládio, rutênio, rênio, cobalto, zinco, vanádio, gálio e cobre (ORVIG, ABRAMS, 1999; FARREL, 2002; BERGAMO, 2002; THOMSON, ORVIG, 2003; ZANG, LIPPARD, 2003; FONTES, CÉSAR, BERALDO, 2005; DEMICHELE, FRÉZARD, 2005; FRICKER, 2006; FRICKER, 2007; GAROUI, HADJIKAKOU, HADJILIADIS, 2009; RODRIGUES, RUGGIERO, GUERRA, 2009; CHE, SIU, 2010; BERGAMO, 2012; NEVES, VARGAS, 2011; CHITAMBAR, 2012; BARRY,

SADLER, 2013; WARAD *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2014; MEDICI *et al.*, 2015; DILRRUBA, KALAYDA, 2016; CHEFF, HALL, 2017).

**Figura 11:** Complexos utilizados como fármacos terapêuticos ou agentes de diagnóstico.



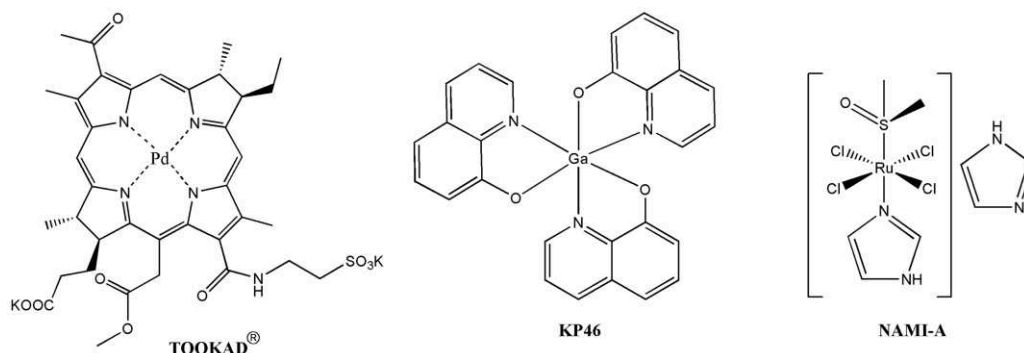
Fonte: A autora

### 1.3.2. Complexos metálicos promissores para o câncer e a doença chagas

Aqui pretende-se relatar alguns compostos promissores para serem utilizados contra o câncer e a doença de chagas. Com relação aos novos fármacos, é desejável que apresentem maior eficácia, menor toxicidade, além de serem ativos frente às células ou cepas resistentes. Ressalta-se também que em alguns casos há uma necessidade de repor o arsenal de drogas que foi perdido. Neste sentido, vários complexos com diferentes centros metálicos estão em fase

de testes clínicos como, por exemplo, os complexos de paládio [TOOKAD<sup>®</sup> solúvel], gálio [KP46] e rutênio [NAMI-A], ilustrados na Figura 12.

**Figura 12:** Compostos metálicos em fase de testes clínicos.



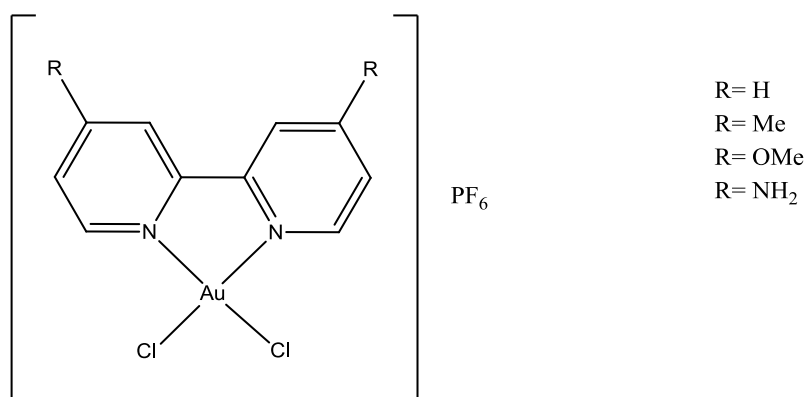
Fonte: A autora.

O complexo de paládio (TOOKAD<sup>®</sup> solúvel) progrediu para a fase III de ensaios clínicos, visando o tratamento fotodinâmico do câncer de próstata (AZZOUZI *et al.*, 2015). Já o complexo de gálio (KP46), apresenta formulação oral e está na fase I/II para o tratamento de tumores sólidos (renal, ovário, estômago e glândula parótida) não apresentando até o momento efeito colateral grave (CHITAMBAR, 2012; DABROWIAK, 2017). O NAMI-A foi o primeiro complexo de rutênio a participar de ensaios clínicos e completou fase II demonstrando eficácia em inibir o processo metastático (BERGAMO, 2002; BERGAMO, 2012; IRACE *et al.*, 2017).

A Figura 13 ilustra complexos de ouro(III) contendo ligantes *N,N*-doadores derivados da 2,2-bipiridina, que foram sintetizados e avaliados contra células tumorais de câncer de ovário (A2780) e sua linhagem resistente a cisplatina (A2780cisR). Os resultados obtidos mostraram valores de IC<sub>50</sub> bons a moderados, sendo que o complexo com o substituinte metil foi o mais ativo na linhagem resistente e a ausência de resistência cruzada sugere que o mecanismo de ação e captação não ocorre através do DNA (CASINI *et al.*, 2010).

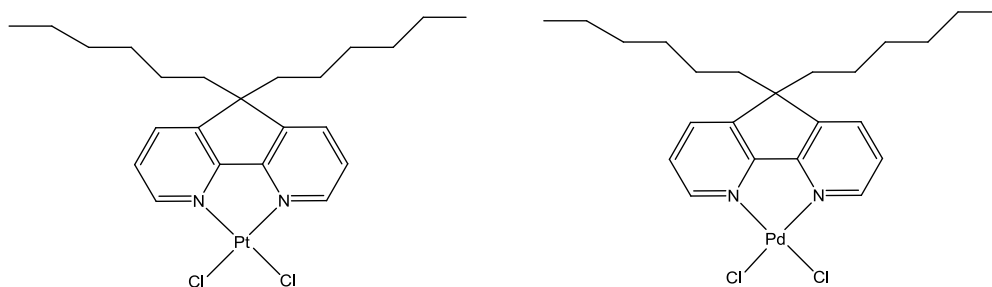
A atividade antitumoral *in vivo* dos complexos ilustrados na Figura 14 foi avaliada contra células de carcinoma Hep3B e os estudos mostraram uma inibição significativa do crescimento tumoral, sendo que a diminuição do tumor pelo complexo de platina e paládio foi cerca de 9 e 3 vezes mais eficiente que o grupo de controle (WHANG *et al.*, 2016)

**Figura 13:** Complexos de ouro(III) com potencial antitumoral.



Fonte: A autora.

**Figura 14:** Complexos de paládio e platina com potencial antitumoral



Fonte: A autora

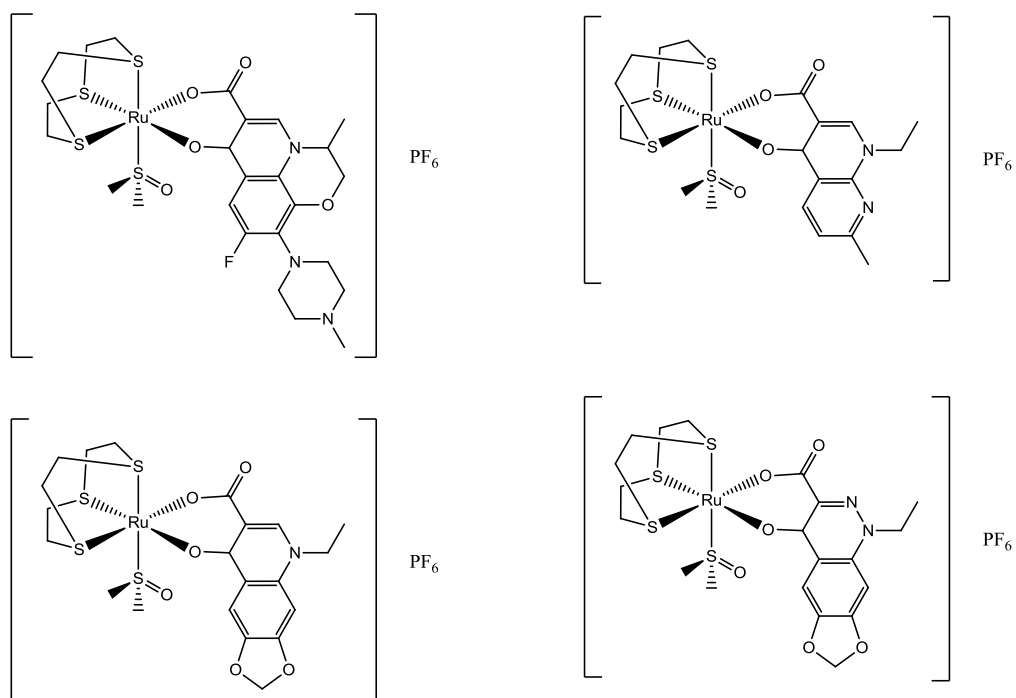
Estudos envolvendo o mecanismo de interação com o DNA foram realizados para os complexos de Rutênio exibidos na Figura 15, e os dados obtidos sugerem que esse mecanismo ocorre via intercalação, além de possíveis interações eletrostáticas em alguns casos. Estes complexos também foram efetivos na inibição de duas proteases (catepsinas B e S) que estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento e progressão do câncer, além disso, estes compostos apresentaram atividade citotóxica moderada em células tumorais (HeLa) (KLJUN *et al.*, 2013).

Complexos de platina(II) contendo derivados de tiosemicarbazona (Figura 16) foram avaliados contra as formas epimastigota e tripomastigota do *T. cruzi* e os dados obtidos revelam que estes compostos apresentaram atividade similar ou superior aos fármacos



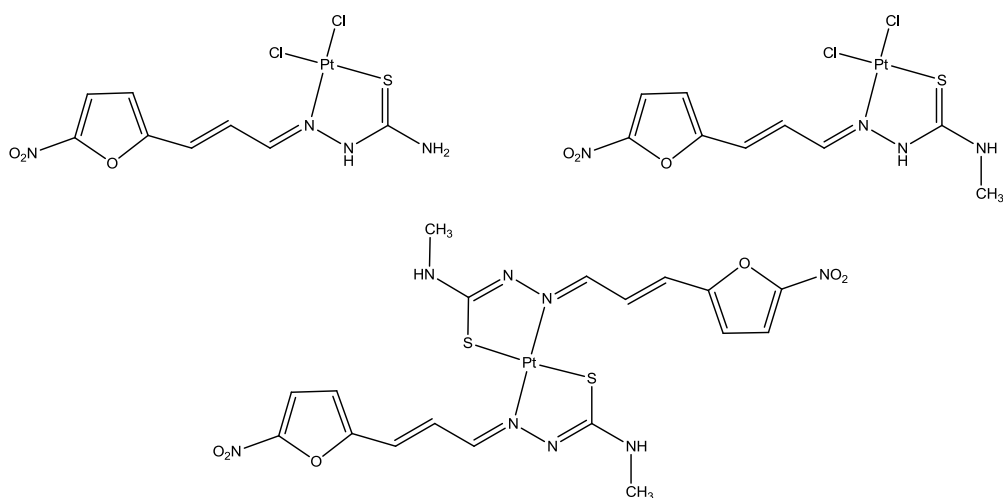
benzonidazol e nifurtimox (VIEITES *et al.*, 2009). Desta forma, os complexos de paládio análogos também exibiram resultados promissores (OTERO *et al.*, 2006).

**Figura 15:** Complexos de rutênio com potencial antitumoral.



Fonte: A autora.

**Figura 16:** Complexos de platina com potencial anti-*Trypanosoma*.

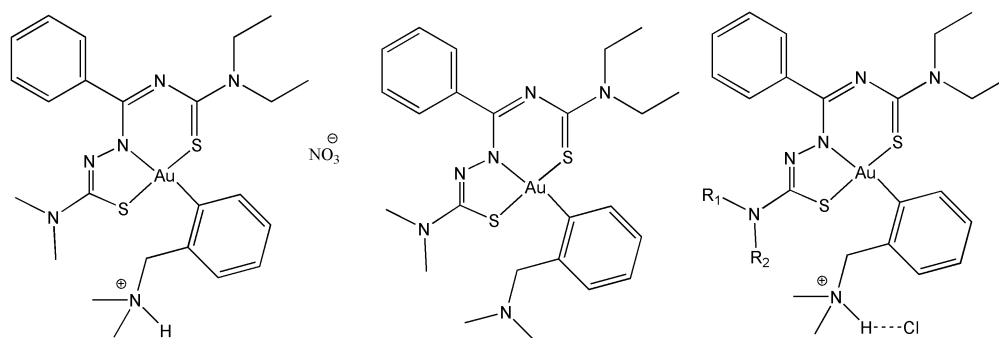


Fonte: A autora.

Outro exemplo bem relevante são os complexos de ouro da Figura 17, que foram avaliados *in vitro* contra a forma amastigota do *T. cruzi*, e exibiram resultados interessantes, sendo um candidato promissor para outros estudos (MAIA *et al.*, 2017).

A atividade tripanocida dos complexos de paládio ilustrados na Figura 18 foi avaliada contra as formas epimastigota e amastigota do *T. cruzi* e os estudos *in vitro* mostraram que estes compostos foram mais ativos do que benzonidazol na forma intracelular e exibiram um índice de seletividade maior do que 10, indicando que os mesmos são candidatos promissores para estudos *in vivo* (VELÁSQUEZ *et al.*, 2016).

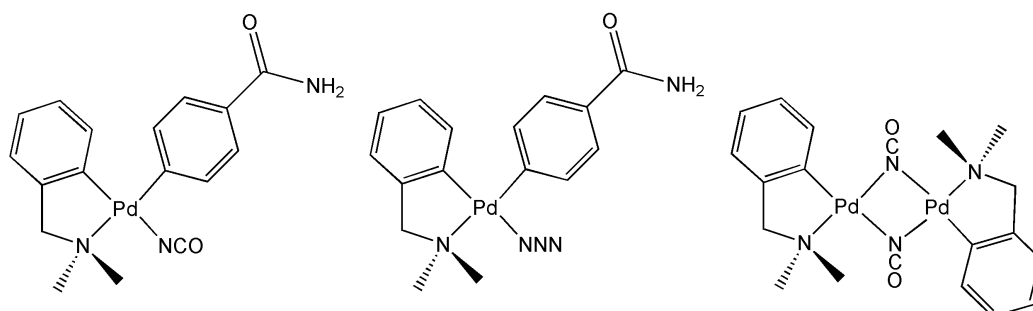
**Figura 17:** Complexos de ouro com potencial anti-*Trypanosoma*.



$R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{C}_2\text{H}_6$ ;  $R^1 = R^2 = (\text{CH}_2)_5$ ;  $R^1 = R^2 = (\text{CH}_2)_6$ ;  $R^1 = R^2 = \text{CH}_3$ ;  $R^1 = R^2 = n\text{-propil}$ .

Fonte: A autora.

**Figura 18:** Complexos de paládio com promissora atividade tripanocida.

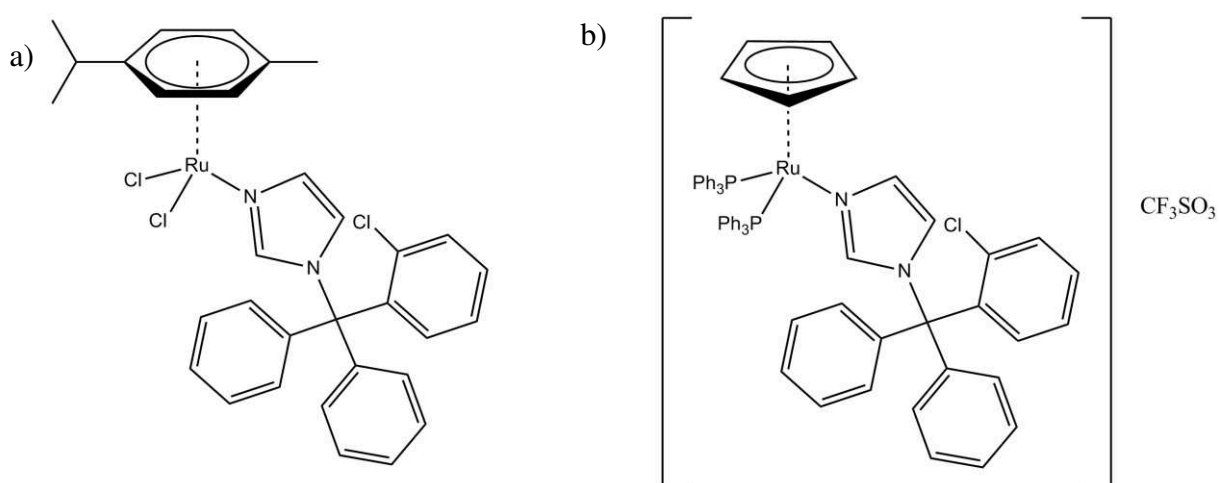


Fonte: A autora

O ligante clotrimazol apresenta atividade inibidora da enzima citocromo P450 e quando complexado com rutênio(II), como mostra a Figura 19, apresenta resultado tripanocida bastante promissor. O complexo (a) foi avaliado contra a forma epimastigota do *T.*

*cruzi* e os estudos *in vitro* mostraram que este composto apresenta elevada atividade tripanocida, sendo 58 vezes mais ativo do que o ligante clotrimazol (MARTÍNEZ *et al.*, 2012). O complexo (b) foi avaliado contra a forma epimastigota do *T. cruzi* e apresentou valor de IC<sub>50</sub> igual a 0,25  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo cerca de seis vezes mais ativo do que o ligante clotrimazol. Além disso, o complexo (b) apresentou um índice de seletividade igual a 31 e uma atividade tripanocida cerca de trinta vezes maior do que o fármaco de referência nifurtimox (ARCE *et al.*, 2015).

**Figura 19:** Complexos de rutênio com promissora atividade tripanocida.



Fonte: A autora.

#### 1.4. O cobre como recurso na luta contra o câncer e a doença de chagas

O cobre é um micronutriente essencial para todos os organismos aeróbios, sendo vastamente empregado como um cofator catalítico ou como um componente estrutural de proteínas, além de possuir a homeostase fortemente regulada e estar envolvido em várias funções biológicas, tais como o metabolismo de energia, transporte de oxigênio, atividade enzimática, sinalização celular e síntese do DNA (SANTINI *et al.*, 2014; LOPES *et al.*, 2013 e TISATO *et al.*, 2010). O cobre é o terceiro elemento de transição mais abundante no corpo humano e por ser um metal endógeno essencial, é um bom candidato para a síntese de compostos de coordenação, assim quando combinado com outros elementos e/ou compostos

orgânicos, apresenta três estados de oxidação (1+, 2+ e 3+), sendo que o mais comum é o 2+ (TISATO *et al.*, 2010).

O íon cobre(II) apresenta configuração eletrônica  $[\text{Ar}]3d^9$ , com um elétron desemparelhado que permite transições eletrônicas internas  $d-d$ . Os complexos de cobre(II) são paramagnéticos e normalmente coloridos, azuis ou verdes, em função destas transições. A camada  $d$  incompleta possibilita a hibridização e, por isso, os complexos de cobre(II) apresentam geometrias bastante variadas. O número de coordenação do cobre(II) varia entre 4 e 8, sendo que os mais predominantes são 4 (quadrado planar), 5 (bipirâmide trigonal ou pirâmide de base quadrada) e 6 (octaédrica distorcida ou tetragonal) (SANTINI *et al.*, 2014).

Os complexos metálicos com geometria octaédrica de íons  $d^9$  e  $d^4$  (spin alto) são frequentemente distorcidos, de modo que o comprimento das duas ligações axiais podem ser mais curtas (octaedro comprimido) ou mais longas (octaedro alongado), do que aquelas encontradas no plano equatorial. Este comportamento é conhecido como distorções de Jahn-Teller ou tetragonais e são acompanhadas de uma variação na simetria ( $O_h$  para  $D_{4h}$ ) e de um desdobramento dos conjuntos de orbitais  $t_{2g}$  (menor energia) e  $e_g$  (maior energia). Quando as ligações axiais estão alongadas os orbitais  $d$  que possuem componente no eixo  $z$  são estabilizados, enquanto os demais são desestabilizados. Devido ao efeito Jahn-Teller, os complexos de cobre(II) com número de coordenação 6, são apreciavelmente distorcidos, provocando o aparecimento de mais de uma banda de absorção que se sobrepõem, gerando uma banda  $d-d$  assimétrica. Os sais metálicos de  $\text{Cu}^{2+}$  são extremamente versáteis, apresentando elevada reatividade, alta disponibilidade, baixo custo e alta solubilidade, além de serem facilmente manipulados (SILVA *et al.*, 2011; SILVA, 2009).

Considerando as propriedades físico-químicas e biológicas do metal, vários complexos de cobre(II) têm sido delineados com o intuito de avaliar seu potencial biológico e propor novos fármacos para diversas enfermidades (CODITA *et al.*, 2010; GRASS, RENSING, SOLIOZ, 2011; LI *et al.*, 2011; TIAN, 2012; PRAMANIK *et al.*, 2012; CHATTERJEE *et al.*, 2012; TABASSUM *et al.*, 2012; MARTINS *et al.*, 2012; SOUSA *et al.*, 2012; THEKKAE PADIL, CERNIK, 2013; USMAN *et al.*, 2013; BAGCHI *et al.*, 2013; OUYANG *et al.*, 2013; STAROSTA *et al.*, 2013; CHUDZIK *et al.*, 2013; PATEL *et al.*, 2013; GZIUT *et al.*, 2013; BARRY, SADLER, 2013; LOPES *et al.*, 2013; BARRY, SADLER, 2014; WARAD *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2014; FERNANDES *et al.*, 2014; KHARADI, 2014; GIANNOUSI *et*

*al.*, 2014; MEDICI *et al.*, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2015; DILRRUBA, KALAYDA, 2016; CHEFF, HALL, 2017).

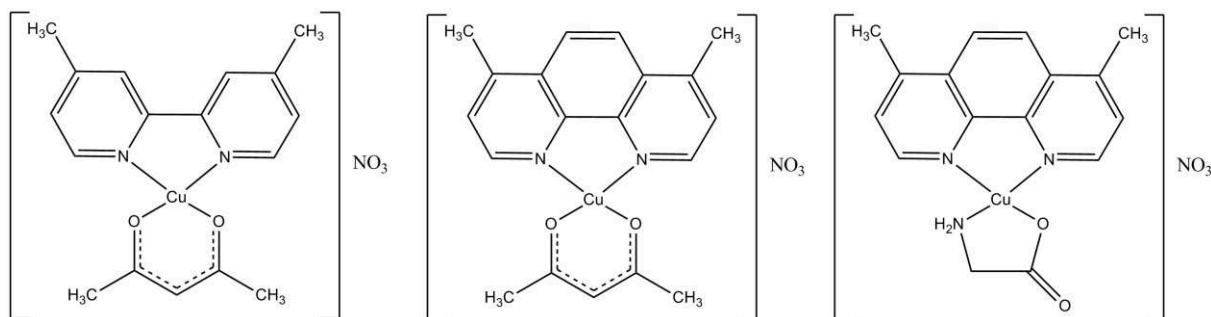
Mais especificamente, a possível aplicação de complexos de cobre como quimioterápicos é tema de grande interesse, principalmente os complexos de cobre contendo ligantes *N,N*-doadores que são reconhecidos como nucleases sintéticas que facilitam o processo de intercalação ao DNA (CHEN, SIGMAN, 1986; GALLAGHER *et al.*, 1996). Por exemplo, o complexo  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  é capaz de clivar o DNA, uma vez que sua espécie reduzida liga-se a porção do sulco menor do DNA e quando combinado com o oxigênio molecular induz a cisão da cadeia por oxidação do esqueleto ribose, inibindo o crescimento das células tumorais (ZHANG *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2011). Estudos demonstraram que a presença do ligante 1,10-fenantrolina nos complexos metálicos, pode aumentar a taxa de entrada do mesmo nas células tumorais e induzir o processo de apoptose através da inibição da atividade do proteassoma, assim os complexos ternários contendo 1,10-fenantrolina podem ser bons agentes antitumorais, além de atuarem no sistema de clivagem do DNA (ZHANG *et al.*, 2012). Nesse aspecto, um grande número de complexos de cobre foram sintetizados e avaliados perante o seu potencial antitumoral, sendo que muitos destes complexos têm demonstrado resultados promissores na inibição do crescimento das células tumorais (RUÍZ *et al.*, 2007; GARCÍA-GIMÉNEZ *et al.*, 2009; PATRA *et al.*, 2009; MARZANO *et al.*, 2009; TISATO *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2011; BORTOLOTTO *et al.*, 2011; SERMENT-GUERREIRO *et al.*, 2011; SANTINI *et al.*, 2014; IGLESIAS *et al.*, 2014; CORREIA *et al.*, 2015; KIRAN *et al.*, 2015; MA *et al.*, 2015; GURUMOORTHY *et al.*, 2015; ABDOLMALEKI *et al.*, 2016; CASTILLO *et al.*, 2016).

Por exemplo, complexos de cobre(II) com derivados de terpiridina apresentaram baixa toxicidade em células normais e boa atividade citotóxica contra células tumorais de adenocarcinomas de pulmão e câncer de mama (RAJALAKSHMI *et al.*, 2011; MANIKANDAMATHAVAN *et al.*, 2012; RAJALAKSHMI *et al.*, 2012).

Uma classe promissora são as Casiopeínas<sup>®</sup>, que são uma mistura de complexos ternários de cobre(II) contendo ligantes *N,N*-doadores (1,10-fenantrolina, 2,2-bipiridina e seus derivados) e ligantes do tipo *N,O*- ou *O,O*-doadores, tais como aminoácidos, peptídeos, acetilacetonato ou salicilaldeidato (BRAVO-GÓMEZ *et al.*, 2013). Estes complexos exibem atividade citostática, citotóxica e anti-neoplásicas com resultados promissores para a

aplicação como drogas antitumorais (RUIZ-AZUARA, BRAVO-GÓMEZ, 2010; KACHADOURIAN *et al.*, 2010). A Figura 20 ilustra uma série de Casiopeínas<sup>®</sup> que foram avaliadas *in vitro* e *in vivo* e apresentaram resultados antitumorais promissores. Os resultados confirmaram que as Casiopeínas clivam o DNA, por um mecanismo de radicais livres e também produzem fortes mudanças na estrutura protéica da tubulina, integrina e fibronectina (BECCO, 2012). Além disso, como os fármacos antitumorais interagem de forma eficiente com o DNA, as Casiopeínas<sup>®</sup> também exibem atividade tripanocida (*in vitro*) com valores de IC<sub>50</sub> similares ao Nifurtimox (BECCO, 2012).

**Figura 20:** Complexos de cobre(II), Casiopeínas, com potencial antitumoral e tripanocida.



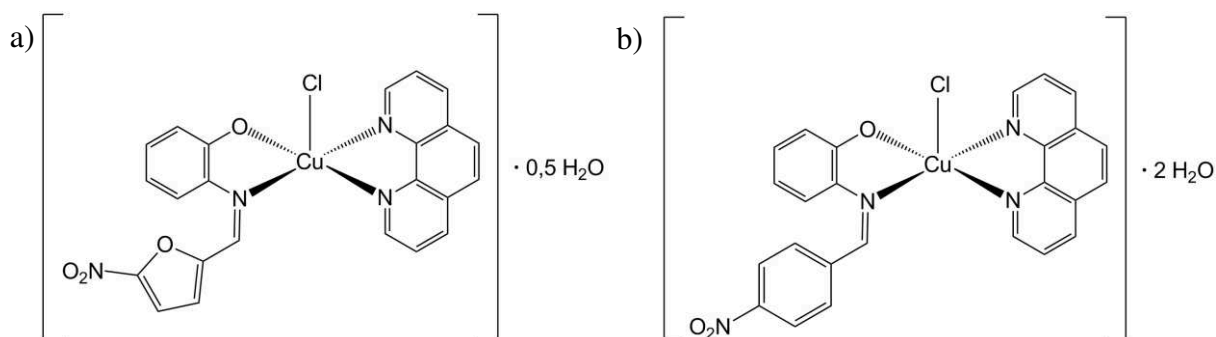
Fonte: A autora.

Os complexos de cobre(II) contendo 1,10-fenantrolina (phen) e derivados nitroaromáticos de bases Schiff, ilustrados na Figura 21, foram avaliados contra sete linhagens de células tumorais U251 (melanoma), MCF7 (câncer de mama), NCI / ADR-RES (câncer de ovário resistente), 786-0 (rim), NCI-H460 (pulmão), PC-3 (próstata), HT29 (colorretal) e uma linhagem celular normal (HaCaT). Os resultados mostraram que ambos complexos apresentaram atividade citostática em todas as linhagens, como também atividade citotóxica em alguns casos. Além disso, os complexos foram mais ativos do que suas respectivas bases Schiff, com valores de IC<sub>50</sub> variando entre 0,2 e 1,9  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Embora esses valores sejam superiores ao fármaco de referência (doxorubicina), os ensaios realizados na célula normal mostraram que estes complexos são mais seletivos na maioria das linhagens, indicando que estes compostos são promissores agentes antitumorais e bons candidatos para estudos *in vivo* (MARTINS, 2017). Adicionalmente, a atividade tripanocida destes compostos foi avaliada, porém apenas o complexo (a) apresentou resultados promissores, com valor de IC<sub>50</sub> igual a 0,94  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo mais ativo do que benzonidazol e seus respectivos ligantes

livres, mais especificamente cerca de treze vezes mais ativos do que o benzonidazol e a sua respectiva base Schiff.

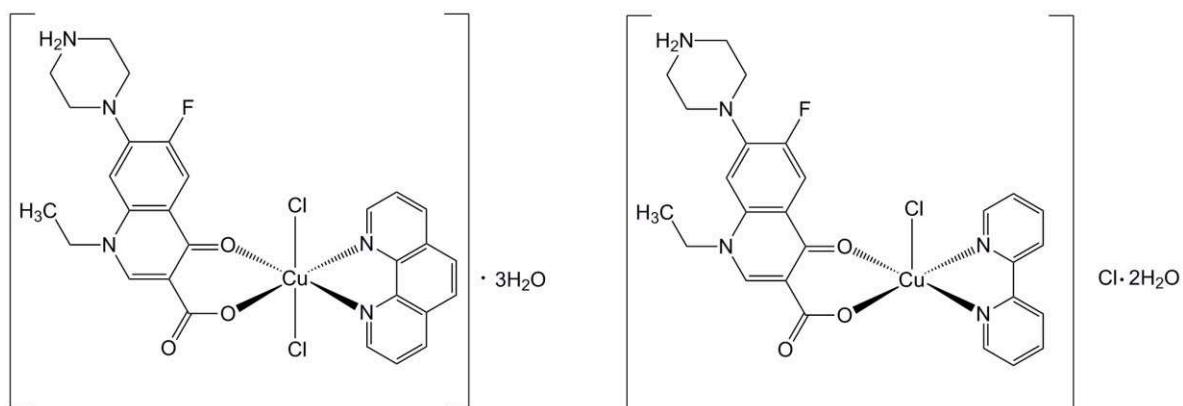
A Figura 22 ilustra outros exemplos bem interessantes, que são os complexos de cobre(II) com norfloxacina e 1,10-fenantrolina ou 2,2-bipiridina, que apresentaram um bom índice de seletividade e atividade tripanocida semelhante ou superior ao benzonidazol (MARTINS *et al.*, 2016).

**Figura 21:** Complexos ternários de cobre(II) que apresentam potencial antitumoral e tripanocida.



Fonte: A autora.

**Figura 22:** Complexos de cobre(II) com norfloxacina e *N,N*-doadores que apresentaram promissora atividade anti-*Trypanosoma cruzi*.



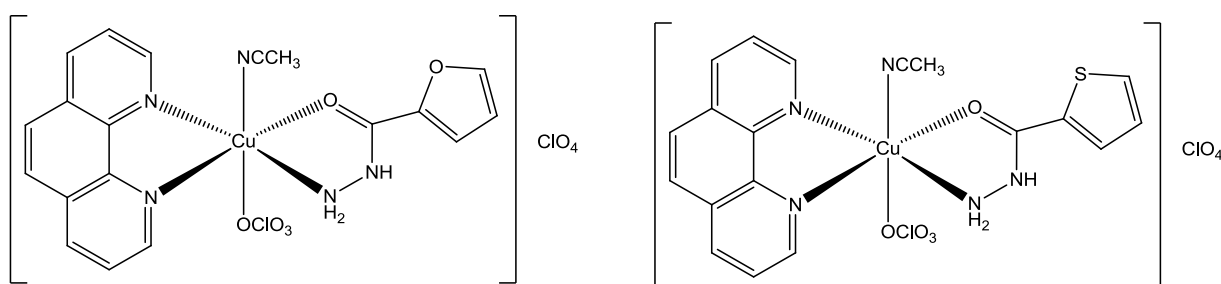
Fonte: A autora.

De fato, os complexos ternários de cobre contendo 1,10-fenantrolina ou derivados têm sido amplamente investigados como agentes quimioterápicos, variando-se o segundo ligante

na tentativa de aperfeiçoar a sua atividade e reduzir a sua toxicidade. Neste aspecto, as hidrazidas (R-CO-NH-NH<sub>2</sub>) representam uma boa opção como segundo ligante, devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas, incluindo antimicobacteriana, antifúngica, antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatória, tripanocida e antitumoral, dentre outras (ROLLAS, KÜÇÜKGÜZEL, 2007; NARANG, *et al.*, 2012; BINGUL, 2016).

Assim, complexos ternários de Cu(II) contendo hidrazidas e 1,10-fenantrolina, ilustrados na Figura 23, foram avaliados contra uma linhagem celular tumoral de leucemia mielóide crônica (K562). Os resultados mostraram que estes complexos são ativos, com valores de IC<sub>50</sub> variando entre 1,5 e 4,2 µmol L<sup>-1</sup>, dependendo do período de incubação (SILVA *et al.*, 2014). Estes complexos são capazes de entrar nas células e inibir crescimento celular de forma dependente da concentração, com uma atividade superior aos seus respectivos ligantes livres. A substituição da hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico (Shyd) pela hidrazida do ácido 2-furóico (Ohyd) aumenta a atividade, mas a substituição da phen pela bipy diminui os valores de IC<sub>50</sub>, evidenciando a potencialidade dos complexos ternários de cobre com phen (SILVA *et al.*, 2014). Estudos envolvendo DNA também foram realizados, a fim de correlacionar com os dados de atividade citotóxica, e os resultados mostraram simultaneamente a indução do efeito hipocrômico com leve deslocamento batocrômico indicando que ocorre a interação com o DNA (SILVA *et al.*, 2014). Além disso, foi relatado um aumento na atividade de clivagem do DNA, quando estes complexos são expostos à luz UV, sugerindo que ambos têm um grande potencial farmacológico (SILVA *et al.*, 2014).

**Figura 23:** Complexos ternários de cobre(II) contendo hidrazidas.



Fonte: A autora



Considerando a atividade antitumoral de complexos de cobre e os estudos envolvendo hidrazidas, acreditamos que a associação entre a síntese e a avaliação biológica de novos compostos pode conduzir à descoberta de potenciais fármacos e neste aspecto, as hidrazidas são bastante interessantes para serem utilizadas como ligantes na obtenção de metalofármacos. Hidrazidas ( $R-CO-NH-NH_2$ ) e derivados têm despertado grande interesse, pois apresentam uma ampla variedade de propriedades biológicas, incluindo antimicobacteriana, antifúngica, antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatória, tripanocida e antitumoral, dentre outras (ROLLAS, KÜÇÜKGÜZEL, 2007; NARANG, *et al.*, 2012; BINGUL, 2016). Estudos publicados pelo nosso grupo de pesquisa relataram que os complexos metálicos contendo hidrazidas apresentam um potencial antitumoral, sendo que os ensaios conduzidos *in vitro* mostraram que os mesmos são mais ativos que os fármacos empregados na clínica médica para o tratamento do câncer (FONTES *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2015).

Curiosamente, parece haver uma correlação entre as atividades antitumoral e anti-*trypanosoma*, uma vez que as vias metabólicas destes parasitas cinetoplastídeos são supostamente semelhantes às aquelas presentes em células tumorais, além disso, sabe-se que os compostos que interagem eficientemente com o DNA podem ser ativos contra *Trypanosoma cruzi* (BECCO *et al.*, 2012; GAMBINO, 2011; FARRELL, WILLIAMSON, MCLAREN, 1984; KINNAMON, STECK, RANE, 1979). Apesar de alguns complexos de cobre apresentarem resultados tripanocida promissores, ainda existem poucos relatos na literatura e até onde sabemos a atividade anti-*trypanosoma* de complexos de cobre com hidrazidas ainda não foi investigada. Assim, na tentativa de ampliar o potencial farmacológico dos complexos contendo hidrazidas e *N,N*-doadores, este trabalho relata a síntese, caracterização e avaliação biológica de complexos ternários de cobre(II).

## 2. OBJETIVO

### 2.1. Objetivo geral

Tendo em vista o potencial farmacológico de complexos de cobre(II) com hidrazidas e bases heterocíclicas, este trabalho tem como finalidade, sintetizar, caracterizar e avaliar o potencial antitumoral e anti-chagásico de novos complexos ternários de cobre(II).

### 2.2. Objetivos específicos

- i) Sintetizar novos complexos ternários de cobre(II) contendo hidrazidas e ligantes *N,N*-doadores.
- ii) Caracterizar os complexos sintetizados por análise elementar, medidas de condutividade, difração de raios X por monocristal, espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE), espectrometria de massas em alta resolução com ionização por *electrospray* (HRESIMS), espectroscopia de UV-Vis e infravermelho.
- iii) Avaliar a estabilidade, por espectroscopia de UV-Vis, de alguns complexos selecionados.
- iv) Determinar os valores de  $IC_{50}$  destes complexos e de seus respectivos ligantes, em células tumorais.
- v) Determinar o mecanismo de morte celular e realizar estudos de interação com o DNA, para alguns compostos selecionados.
- vi) Avaliar a atividade tripanocida destes complexos, bem como a de seus respectivos ligantes.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. Reagentes e solventes

Os sais metálicos e ligantes empregados neste trabalho foram obtidos comercialmente (Sigma-Aldrich) e utilizados como adquiridos. Os solventes foram obtidos comercialmente, com grau de pureza analítico, de procedência Sigma-Aldrich/Vetec e foram utilizados sem tratamento prévio. A Tabela 1 apresenta informações sobre os reagentes e solventes utilizados neste trabalho.

**Tabela 1:** Informações sobre os reagentes e solventes utilizados durante a síntese e caracterização dos complexos em estudo.

Nome do reagente ou solvente	Fórmula Molecular	Massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ )	Procedência
Perclorato de cobre(II) hexaidratado	$\text{CuO}_8\text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	370,53	Sigma-Aldrich
1,10-fenantrolina monohidratada (phen)	$\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	198,24	Sigma-Aldrich
2,2'-bipiridina (bipy)	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$	156,19	Sigma-Aldrich
4-4'-dimetóxi-2,2'-bipiridina (dmb)	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	216,24	Sigma-Aldrich
benzil-hidrazida (BH)	$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}$	136,15	Sigma-Aldrich
2-cloro-benzil-hidrazida (2-CH)	$\text{C}_7\text{H}_7\text{ClN}_2\text{O}$	170,60	Sigma-Aldrich
2-metóxi-benzil-hidrazida (2-MH)	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$	166,18	Sigma-Aldrich
4-cloro-benzil-hidrazida (4-CH)	$\text{C}_7\text{H}_7\text{ClN}_2\text{O}$	170,60	Sigma-Aldrich
4-metóxi-benzil-hidrazida (4-MH)	$\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$	166,18	Sigma-Aldrich
4-nitro-benzil-hidrazida (4-NH)	$\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_3$	181,15	Sigma-Aldrich
4-fluoro-fenóxiacético-hidrazida (4-FH)	$\text{C}_8\text{H}_9\text{FN}_2\text{O}_2$	184,17	Sigma-Aldrich
Metanol	$\text{CH}_3\text{OH}$	32,04	Sigma-Aldrich/Vetec
Acetonitrila	$\text{CH}_3\text{CN}$	41,05	Sigma-Aldrich/Vetec
Dimetilsulfóxido	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$	78,13	Sigma-Aldrich/Vetec
Éter etílico	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	74,12	Sigma-Aldrich/Vetec

## 3.2. Instrumentação

### 3.2.1. Análise elementar (CHN)

A análise quantitativa dos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio foi realizada no laboratório Multiusuário do IQ-UFU utilizando um analisador elementar CHNS/O, modelo 2400 (serie 2) da Perkin-Elmer.

### 3.2.2. Análise condutimétrica

As medidas de condutividade molar dos complexos foram efetuadas à temperatura ambiente, utilizando-se um condutivímetro modelo Tec-4MP da Tecnal com constante de célula de  $1,03 \text{ cm}^{-1}$ . As medidas foram realizadas em soluções de concentração  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  previamente preparadas em metanol ou acetonitrila de grau espectroscópico (Sigma-Aldrich). A condutividade dos solventes foi de  $2,13 \mu\text{S cm}^{-1}$  para o metanol e  $4,08 \mu\text{S cm}^{-1}$  para a acetonitrila.

### 3.2.3. Difração de raios X

A coleta de dados dos feixes de raios X difratados, para os complexos **1** e **9**, foi realizada a temperatura ambiente (296 K) usando a radiação  $\text{MoK}\alpha$  ( $\lambda = 0,71073\text{\AA}$ ) em um difratômetro Bruker APEX II Duo, instalado no Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, em colaboração com o Prof. Dr. Victor M. Deflon e o Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia do Instituto de Ciências Naturais, Exatas e Educação da Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Procedimentos padronizados foram aplicados para a redução dos dados e correção por absorção. As estruturas foram resolvidas utilizando Métodos Diretos com o programa SHELXS-97 (SHELDRICK, 1997). Após a resolução estrutural, obteve-se o mapa de densidade eletrônica com a posição dos átomos não hidrogenóides dos compostos em estudo. Os modelos foram refinados pelo método dos Mínimos Quadrados, usando matriz completa, através do programa SHELXL-2014 (SHELDRICK, 2014). No complexo **1** foi observado durante o refinamento a presença de desordem ocupacional dos átomos de oxigênio dos grupos percloratos, cujas coordenadas atômicas foram refinadas em duas posições diferentes. Os átomos de hidrogênio foram posicionados estereoquimicamente de acordo com modelo rígido e foram refinados isotropicamente com um parâmetro térmico 20% maior do que o parâmetro de deslocamento

isotrópico equivalente do átomo ao qual estão ligados. Esta porcentagem foi marcada como 50% para os átomos de hidrogênio dos grupos metil e hidroxila. Os demais átomos foram refinados anisotropicamente. O programa MERCURY 2.4 (MACRAE *et al.*, 2006) foi utilizado para análise e elaboração das representações gráficas das estruturas. A representação MERCURY é uma visualização alternativa do empacotamento cristalino que permite a identificação e representação das interações intermoleculares e contados próximos.

#### 3.2.4. Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE)

Os espectros de RPE foram registrados no espectrômetro da Bruker, modelo EMX, operando na banda X ( $\nu = 9,50$  GHz) com potência de 20 mW e modulação de frequência de 100 kHz a baixa temperatura (77K). As medidas foram feitas no estado sólido e em soluções metanólicas congeladas em tubos de quartzo da marca Wilmad. DPPH ( $\alpha, \alpha'$ -difênil- $\beta$ -picrilhidrazil;  $g = 2,0036$ ) foi usado como calibrador de frequência para todas as amostras. Estas análises foram realizadas no Instituto de Química da Universidade de São Paulo, em parceria com a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ana Maria da Costa Ferreira.

#### 3.2.5. Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis e reflectância difusa

Os espectros de absorbância na região do UV-Vis e reflectância difusa foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro Shimadzu UV-2501 PC. As análises no estado sólido foram realizadas utilizando o acessório de reflectância difusa e o sulfato de bário como referência. Os espectros em solução foram realizados em concentrações  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e por volta de  $1 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. O comportamento em solução aquosa, para alguns complexos selecionados, foi avaliado utilizando o solvente DMSO e uma solução tampão fosfato de sódio 0,10 mol L<sup>-1</sup> (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,061 mol L<sup>-1</sup>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,039 mol L<sup>-1</sup>) pH 7,3. As amostras foram preparadas utilizando uma mistura de tampão fosfato / DMSO 0,1% e os espectros foram registrados em diferentes intervalos de tempo até 6 ou 24 horas.

### 3.2.6. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros vibracionais no infravermelho para os complexos e ligantes livres foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro FT-IR Frontier Single Range – MIR da Perkin-Elmer. As análises das amostras foram realizadas no estado sólido, utilizando o acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de diamante, na região compreendida entre 4000 e 220  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.2.7. Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por *electrospray* (HRESIMS)

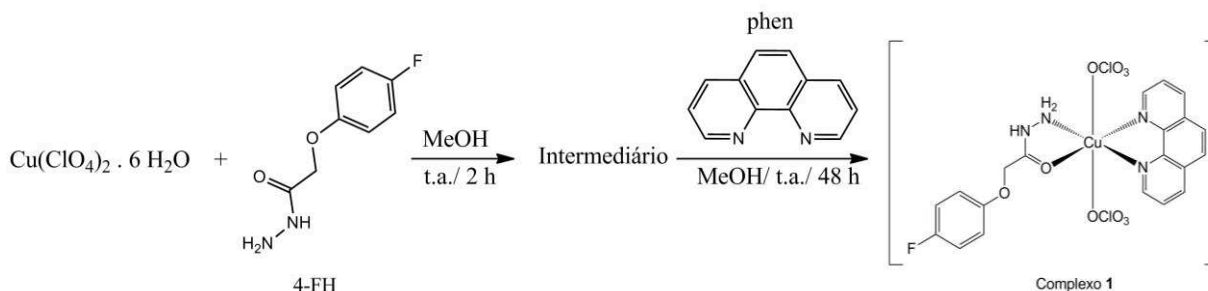
Os espectros de massas (EM) foram obtidos utilizando um espectrômetro de massas de alta resolução micrOTOF-Q II (Bruker Daltonics), com ionização por *electrospray* (ESI), em colaboração com o Prof. Dr. Norberto Peporine Lopes (Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP) e o Prof. Dr. Marcos Pivatto (IQ-UFU). As amostras foram solubilizadas em metanol/água (9:1 ou 7:3, v/v) e introduzidas utilizando seringa (100  $\mu\text{L}$ ), adaptada a uma bomba de infusão direta com fluxo de 5  $\mu\text{L min}^{-1}$ . Os dados foram adquiridos no modo positivo. Os valores teóricos para os complexos carregados foram calculados utilizando o software ChemDraw Ultra 12.0.

## 3.3. Síntese dos complexos

Os complexos ternários de cobre(II) foram preparados em duas etapas. Na primeira etapa o perclorato de cobre(II) hexaidratado ou  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,125 mmol, 0,0463g) foi dissolvido em 2 mL de metanol, sob agitação. Posteriormente, adicionou-se a esta solução 0,125 mmol da respectiva hidrazida, previamente dissolvidos em uma quantidade mínima de metanol. A mistura foi mantida à temperatura ambiente e sob agitação constante por duas horas. Na segunda etapa foi adicionado *in situ* (gota a gota) 2 mL de uma solução metanólica do ligante *N,N*-doador (0,125 mmol) e a mistura foi mantida à temperatura ambiente e sob agitação constante por dois dias. Após 48 horas, observou-se a formação de sólidos azuis que foram isolados, lavados com metanol e éter etílico e secos sob pressão reduzida. Os ligantes 4-NH (hidrazida) e dmb (*N,N*-doador) foram suspensos em 3 mL de

metanol e posteriormente adicionados. O esquema 1 ilustra a representação da rota de síntese do complexo **1**.

**Esquema 1:** Representação da rota de síntese do complexo **1**.



Complexo **1** ou  $\text{Cu}(4\text{-FH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2$

M.M.:  $626,82 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 75%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para  $(\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{CuFN}_4\text{O}_{10})$ : C, 38,32; H, 2,73; N, 8,94%; Encontrado: C, 38,68; H, 2,77; N, 8,90%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 426,0555  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{CuFN}_4\text{O}_2]^+$ , 426,0548 ( $\Delta$  1,6 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3258, 3201, 3166, 3125, 3089, 3070, 3023, 2972, 2953, 2916, 2899, 2850, 1741, 1656, 1592, 1544, 1530, 1511, 1432, 1370, 1323, 1293, 1254, 1223, 1159, 1140, 1100, 1087, 1038, 1006, 967, 925, 875, 851, 827, 795, 781, 745, 715, 653, 611, 581, 553, 505, 467, 439, 413, 369, 343, 307, 271, 245, 223. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 293 ( $1,1 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 272 ( $3,5 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 220 ( $3,7 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 640 ( $2,9 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 610 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (metanol) =  $188,45 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . Parâmetros de RPE (solução congelada de metanol):  $g_{\perp}$  2,063;  $g_{\parallel}$  2,255;  $A_{\parallel}$   $185 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ .

Complexo **2** ou  $\text{Cu}(4\text{-FH})(\text{dmb})(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

M.M.:  $680,86 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 51%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para  $(\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{CuFN}_4\text{O}_{13})$ : C, 35,28; H, 3,40; N, 8,23%. Encontrado: C, 34,85; H, 3,56; N, 7,81%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 462,0760  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{CuFN}_4\text{O}_4]^+$ , 462,0759 ( $\Delta$  0,2 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3600, 3525, 3245, 3206, 3129, 3095, 3075, 3000, 2948, 2849, 1668, 1610, 1553, 1506, 1472, 1444, 1423, 1370, 1338,

1321, 1287, 1265, 1242, 1227, 1216, 1066, 1045, 1026, 1009, 969, 920, 885, 858, 831, 777, 741, 624, 581, 564, 515, 477, 435, 411, 356, 275, 232. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 299 ( $1,4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 286 ( $1,7 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 277 ( $1,8 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 229 ( $6,4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 635 ( $2,6 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 607 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (metanol) =  $176,01 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . Parâmetros de RPE (solução congelada de metanol):  $g_{\perp}$  2,058;  $g_{\parallel}$  2,244;  $A_{\parallel}$   $188 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ .

#### Complexo 3 ou Cu(4-NH)(phen)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•H<sub>2</sub>O

M.M.:  $641,81 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 54%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para (C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>12</sub>): C, 35,56; H, 2,67; N, 10,91%. Encontrado: C, 35,95; H, 2,68; N, 10,92%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 423,0399 [M – 2ClO<sub>4</sub> – H]<sup>+</sup> (calculado para [C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 423,0387 ( $\Delta$  2,8 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3506, 3463, 3233, 3167, 3092, 3066, 3009, 2908, 1653, 1616, 1607, 1575, 1523, 1489, 1431, 1375, 1348, 1321, 1238, 1226, 1159, 1130, 1099, 1085, 1049, 1010, 980, 927, 908, 875, 869, 853, 738, 723, 705, 650, 615, 586, 489, 458, 434, 374, 312, 292, 250. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 293 ( $2,2 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 272 ( $5,6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 224 ( $4,8 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 632 ( $3,5 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 608 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (metanol) =  $168,19 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . Parâmetros de RPE (solução congelada de metanol):  $g_{\perp}$  2,062;  $g_{\parallel}$  2,254;  $A_{\parallel}$   $183 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$

#### Complexo 4 ou Cu(4-NH)(bipy)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•H<sub>2</sub>O

M.M.:  $617,79 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 60%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para (C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>12</sub>): C, 33,05; H, 2,77; N, 11,34%. Encontrado: C, 32,72; H, 2,36; N, 10,96%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 399,0393 [M – 2ClO<sub>4</sub> – H]<sup>+</sup> (calculado para [C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 399,0387 ( $\Delta$  1,5 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3531, 3468, 3231, 3164, 3121, 3086, 3038, 2897, 2863, 1653, 1619, 1612, 1603, 1572, 1522, 1497, 1474, 1450, 1346, 1323, 1247, 1226, 1177, 1129, 1110, 1083, 1053, 1035, 1012, 970, 932, 906, 863, 851, 827, 781, 765, 730, 716, 665, 648, 617, 587, 411, 369, 343, 297, 280, 255, 226. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 310 ( $2,4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 298 ( $2,7 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 249 ( $3,0 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 625 ( $1,3 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 605 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (metanol) =  $191,75 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .



Complexo **5** ou  $\text{Cu}(4\text{-NH})(\text{dmb})(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 

M.M.:  $677,84 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 73%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para  $(\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{CuN}_5\text{O}_{14})$ : C, 33,67; H, 3,12; N, 10,33%. Encontrado: C, 33,40; H, 2,97; N, 10,00%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 459,0606  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{CuN}_5\text{O}_5]^+$ , 459,0598 ( $\Delta$  1,7 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3600, 3520, 3243, 3178, 3128, 3082, 2998, 2963, 2898, 1653, 1608, 1570, 1557, 1525, 1495, 1472, 1441, 1417, 1344, 1321, 1285, 1255, 1227, 1122, 1087, 1061, 1040, 1013, 972, 930, 906, 871, 848, 839, 711, 655, 610, 586, 534, 482, 467, 428, 370, 348, 291, 244. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 299 ( $2,7 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 287 ( $3,2 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 229 ( $8,4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 622 ( $7,1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 604 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (metanol) =  $214,60 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

Complexo **6** ou  $\text{Cu}(\text{BH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 

M.M.:  $596,82 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 32%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para  $(\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{CuN}_4\text{O}_{10})$ : C, 38,24; H, 3,04; N, 9,39%. Encontrado: C, 38,33; H, 3,08; N, 9,34%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 378,0535  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{CuN}_4\text{O}]^+$ , 378,0536 ( $\Delta$  - 0,26 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3573, 3495, 3242, 3155, 3076, 2978, 2891, 1646, 1603, 1553, 1522, 1490, 1433, 1367, 1349, 1320, 1222, 1145, 1088, 1062, 1022, 998, 930, 904, 877, 848, 799, 744, 720, 704, 692, 654, 623, 581, 489, 434, 350, 310, 278, 261, 237. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 292 ( $9,0 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 271 ( $2,9 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 223 ( $3,7 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 606 ( $3,8 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 593 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (metanol) =  $147,97 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

Complexo **7** ou  $\text{Cu}(\text{BH})(\text{bipy})(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 

M.M.:  $572,80 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 50%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para  $(\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{CuN}_4\text{O}_{10})$ : C, 35,65; H, 3,17; N, 9,78%. Encontrado: C, 35,43; H, 3,34; N, 9,53%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 354,0534  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{CuN}_4\text{O}]^+$ , 354,0536 ( $\Delta$  - 0,56 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3577, 3255, 3208, 3175, 3125, 3079, 2986, 2886, 1645, 1605, 1555, 1502, 1490, 1477, 1447, 1357, 1322, 1251, 1214, 1189, 1177, 1164, 1126, 1088, 1053, 1034, 1022, 999, 980, 930, 903, 894, 802, 769, 727, 702, 691, 666, 648, 613, 575, 463, 441, 411, 376, 302, 269, 259, 254, 245. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 310 ( $8,7 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 299 ( $9,7 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 238 ( $1,6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ),

622 ( $2,6 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 592 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_M$  (metanol) =  $154,05 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

#### Complexo **8** ou $\text{Cu}(\text{BH})(\text{dmb})(\text{ClO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

M.M.:  $650,86 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 40%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para ( $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{CuN}_4\text{O}_{13}$ ): C, 35,06; H, 3,72; N, 8,61%. Encontrado: C, 35,39; H, 4,03; N, 8,55%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 414,0752 [ $\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}$ ]<sup>+</sup> (calculado para [ $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{CuN}_4\text{O}_3$ ]<sup>+</sup>, 414,0748 ( $\Delta$  0,96 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3560, 3230, 3194, 3130, 3083, 3041, 2950, 2889, 1653, 1609, 1557, 1496, 1469, 1438, 1417, 1339, 1316, 1285, 1272, 1256, 1225, 1194, 1151, 1066, 1043, 1026, 932, 918, 908, 886, 872, 844, 834, 797, 742, 704, 692, 621, 590, 577, 534, 475, 444, 428, 392, 279, 242, 232. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 299 ( $9,2 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 287 ( $1,0 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 277 ( $1,1 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 229 ( $5,8 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 623 ( $4,0 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 612 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_M$  (metanol) =  $158,26 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

#### Complexo **9** ou $\text{Cu}(2\text{-CH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2$

M.M.:  $613,25 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 21%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para ( $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{Cl}_3\text{CuN}_4\text{O}_9$ ): C, 37,21; H, 2,47; N, 9,14%. Encontrado: C, 37,48; H, 3,05; N, 8,59%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 412,0148 [ $\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}$ ]<sup>+</sup> (calculado para [ $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{ClCuN}_4\text{O}$ ]<sup>+</sup>, 412,0147 ( $\Delta$  0,24 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3625, 3578, 3546, 3374, 3246, 3173, 3104, 3073, 2964, 2857, 1653, 1609, 1589, 1577, 1549, 1521, 1497, 1467, 1431, 1415, 1366, 1343, 1319, 1264, 1214, 1152, 1115, 1092, 1069, 1045, 1033, 1003, 960, 932, 905, 877, 855, 844, 789, 745, 734, 720, 691, 654, 620, 602, 584, 511, 488, 462, 435, 373, 356, 311, 304, 275, 260, 248, 243, 231. UV-Vis (acetonitrila),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 295 ( $1,7 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 272 ( $4,4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 224 ( $6,6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 645 ( $2,8 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 622 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_M$  (acetonitrila) =  $298,86 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

#### Complexo **10** ou $\text{Cu}(2\text{-CH})(\text{bipy})(\text{ClO}_4)_2$

M.M.:  $589,23 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 24%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para ( $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{Cl}_3\text{CuN}_4\text{O}_9$ ): C, 34,65; H, 2,57; N, 9,51%. Encontrado: C, 34,79; H, 2,43; N, 9,44%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 388,0150 [ $\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}$ ]<sup>+</sup> (calculado para

$[\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClCuN}_4\text{O}]^+$ , 388,0147 ( $\Delta$  0,77 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3576, 3505, 3335, 3219, 3125, 3091, 2980, 1651, 1605, 1586, 1550, 1530, 1502, 1477, 1465, 1448, 1321, 1249, 1181, 1162, 1135, 1112, 1059, 1019, 978, 967, 929, 903, 891, 788, 767, 744, 728, 670, 650, 620, 583, 483, 465, 433, 410, 376, 358, 308, 285, 271, 255, 244. UV-Vis (acetonitrila),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 309 ( $7,8 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 297 ( $9,4 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 236 ( $1,9 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 196 ( $7,1 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 626 ( $3,1 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 586 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (acetonitrila) =  $313,26 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

#### Complexo **11** ou $\text{Cu}(2\text{-CH})(\text{dmb})(\text{ClO}_4)_2$

M.M.:  $649,28 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 45%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para  $(\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{Cl}_3\text{CuN}_4\text{O}_{11})$ : C, 35,15; H, 2,95; N, 8,63%. Encontrado: C, 34,72; H, 3,10; N, 8,32%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 448,0356  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClCuN}_4\text{O}_3]^+$ , 448,0358 ( $\Delta$  - 0,44 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3576, 3502, 3335, 3222, 3127, 3086, 3049, 2988, 2947, 2841, 1654, 1614, 1585, 1553, 1538, 1496, 1470, 1439, 1415, 1342, 1318, 1287, 1263, 1230, 1136, 1120, 1064, 1044, 1023, 999, 967, 930, 916, 904, 881, 841, 832, 790, 748, 732, 620, 588, 578, 533, 486, 472, 428, 416, 375, 363, 304, 278, 256. UV-Vis (acetonitrila),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 317 ( $6,0 \times 10^2 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 298 ( $6,1 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 286 ( $7,1 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 276 ( $7,8 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 228 ( $4,7 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 625 ( $3,1 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 613 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (acetonitrila) =  $310,55 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

#### Complexo **12** ou $\text{Cu}(4\text{-CH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

M.M.:  $631,26 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 55%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para  $(\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{Cl}_3\text{CuN}_4\text{O}_{10})$ : C, 36,15; H, 2,71; N, 8,88%. Encontrado: C, 35,90; H, 2,60; N, 8,59%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 412,0148  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{ClCuN}_4\text{O}]^+$ , 412,0147 ( $\Delta$  0,24 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3527, 3481, 3241, 3167, 3094, 3072, 3004, 2908, 1646, 1599, 1558, 1525, 1486, 1430, 1366, 1345, 1234, 1189, 1149, 1129, 1090, 1042, 1009, 995, 977, 970, 926, 904, 877, 853, 839, 823, 783, 753, 742, 720, 650, 618, 593, 491, 477, 453, 434, 410, 385, 348, 313, 288, 254, 242. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 294 ( $1,0 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 271 ( $3,0 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 227 ( $4,2 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 633 ( $3,3 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 605 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (metanol) =  $162,19 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

Complexo **13** ou Cu(4-CH)(bipy)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•H<sub>2</sub>O

M.M.: 607,24 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 34%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para (C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>3</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>10</sub>): C, 33,62; H, 2,82; N, 9,23%. Encontrado: C, 33,63; H, 2,72; N, 9,25%. (+)-HRESIMS (metanol), *m/z*: 388,0148 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calculado para [C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>ClCuN<sub>4</sub>O]<sup>+</sup>, 388,0147 (Δ 0,25 ppm)). IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>): 3544, 3494, 3241, 3164, 3117, 3084, 2894, 1644, 1602, 1555, 1498, 1487, 1476, 1446, 1359, 1321, 1249, 1226, 1177, 1141, 1124, 1109, 1092, 1052, 1033, 1011, 975, 927, 904, 846, 821, 774, 747, 727, 667, 649, 644, 618, 603, 479, 411, 342, 311, 291, 280, 254, 247, 243. UV-Vis (metanol), λ<sub>máx</sub> (ε) = 310 (1,9 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 300 (1,9 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 243 (4,0 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 616 (4,1 × 10<sup>1</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 595 (estado sólido) nm. Condutividade molar, Λ<sub>M</sub> (metanol) = 181,86 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>.

Complexo **14** ou Cu(4-CH)(dmb)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•H<sub>2</sub>O

M.M.: 667,29 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 31%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para (C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>3</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>12</sub>): C, 34,20; H, 3,17; N, 8,40%. Encontrado: C, 34,46; H, 3,25; N, 8,25%. (+)-HRESIMS (metanol), *m/z*: 448,0357 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calculado para [C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>ClCuN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 448,0358 (Δ - 0,22 ppm)). IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>): 3619, 3542, 3228, 3195, 3130, 3086, 3049, 2987, 2944, 2889, 2841, 1654, 1613, 1595, 1554, 1496, 1487, 1472, 1439, 1416, 1339, 1318, 1287, 1262, 1230, 1191, 1148, 1067, 1043, 1023, 1013, 918, 901, 850, 830, 746, 623, 590, 582, 533, 429, 416, 307, 287, 266, 257. UV-Vis (metanol), λ<sub>máx</sub> (ε) = 299 (9,5 × 10<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 286 (1,1 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 276 (1,2 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 229 (5,7 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 640 (2,3 × 10<sup>1</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 607 (estado sólido) nm. Condutividade molar, Λ<sub>M</sub> (metanol) = 164,30 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>.

Complexo **15** ou Cu(2-MH)(phen)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•H<sub>2</sub>O

M.M.: 626,84 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 76%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para (C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>Cl<sub>2</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>11</sub>): C, 38,32; H, 3,22; N, 8,94%. Encontrado: C, 38,18; H, 2,86; N, 8,71%. (+)-HRESIMS (metanol), *m/z*: 408,0641 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calculado para [C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 408,0642 (Δ - 0,24 ppm)). IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>): 3595, 3473, 3248, 3195, 3153, 3104, 3079, 2953, 1633, 1584, 1527, 1480, 1468, 1433, 1315, 1297, 1246, 1218, 1179, 1166, 1147, 1092, 1054, 1030, 1007, 972, 966, 927, 905, 876, 844, 794, 764, 745, 717, 672,

653, 618, 603, 559, 531, 510, 453, 437, 382, 312, 290, 252, 246. UV-Vis (acetonitrila),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 294 ( $9,8 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 269 ( $2,6 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 225 ( $4,5 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 626 ( $4,3 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 575 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (acetonitrila) =  $300,35 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

#### Complexo **16** ou $\text{Cu}(2\text{-MH})(\text{bipy})(\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

M.M.:  $602,82 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 55%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para ( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{CuN}_4\text{O}_{11}$ ): C, 35,86; H, 3,34; N, 9,29%. Encontrado: C, 35,98; H, 3,52; N, 9,18%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 384,0642  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{CuN}_4\text{O}_2]^+$ , 384,0642 ( $\Delta$  0,00 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3505, 3435, 3258, 3208, 3185, 3158, 3091, 3073, 1653, 1604, 1590, 1552, 1533, 1501, 1482, 1449, 1320, 1310, 1251, 1217, 1179, 1162, 1112, 1077, 1055, 1035, 1010, 976, 959, 931, 906, 774, 749, 729, 674, 665, 617, 608, 561, 525, 508, 458, 441, 416, 368, 306, 287, 256, 245. UV-Vis (acetonitrila),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 309 ( $1,9 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 297 ( $2,1 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 233 ( $3,0 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 622 ( $3,2 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 610 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (acetonitrila) =  $187,20 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

#### Complexo **17** ou $\text{Cu}(2\text{-MH})(\text{dmb})(\text{ClO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

M.M.:  $680,89 \text{ g mol}^{-1}$ . Rendimento: 77%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para ( $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{Cl}_2\text{CuN}_4\text{O}_{14}$ ): C, 35,28; H, 3,85; N, 8,23%. Encontrado: C, 35,16; H, 3,78; N, 8,18%. (+)-HRESIMS (metanol),  $m/z$ : 444,0854  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$  (calculado para  $[\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{CuN}_4\text{O}_4]^+$ , 444,0853 ( $\Delta$  0,22 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 3619, 3547, 3341, 3234, 3123, 3092, 2998, 2953, 2844, 1652, 1607, 1590, 1555, 1524, 1498, 1485, 1469, 1436, 1417, 1347, 1286, 1248, 1224, 1183, 1166, 1068, 1040, 1010, 930, 908, 872, 840, 831, 796, 767, 738, 673, 619, 599, 577, 558, 534, 513, 482, 442, 430, 372, 346, 321, 280. UV-Vis (acetonitrila),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 298 ( $1,0 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 287 ( $1,1 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 278 ( $1,1 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 228 ( $5,5 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 615 ( $5,1 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ), 574 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (acetonitrila) =  $308,30 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

Complexo **18** ou Cu(4-MH)(phen)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O

M.M.: 644,86 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 68%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para (C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>12</sub>): C, 37,25; H, 3,44; N, 8,69%. Encontrado: C, 37,28; H, 3,34; N, 8,57%. (+)-HRESIMS (metanol), *m/z*: 408,0643 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calculado para [C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 408,0642 (Δ 0,24 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3578, 3516, 3246, 3200, 3169, 3092, 3076, 3041, 2980, 2906, 2868, 2848, 1647, 1607, 1551, 1523, 1508, 1431, 1366, 1345, 1326, 1311, 1265, 1240, 1185, 1151, 1117, 1092, 1058, 1018, 957, 932, 907, 876, 853, 842, 811, 757, 743, 721, 687, 656, 642, 625, 611, 574, 501, 473, 436, 368, 349, 330, 306, 284, 258, 247. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 293 (8,5 × 10<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 272 (3,2 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 266 (3,3 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 230 (3,0 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 225 (3,3 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 626 (3,9 × 10<sup>1</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 588 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_M$  (metanol) = 174,00 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>.

Complexo **19** ou Cu(4-MH)(bipy)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>

M.M.: 584,81 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 56%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>10</sub>): C, 36,97; H, 3,10; N, 9,58%. Encontrado: C, 36,62; H, 3,42; N, 9,28%. (+)-HRESIMS (metanol), *m/z*: 384,0648 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calculado para [C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 384,0648 (Δ 0,00 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3607, 3542, 3517, 3233, 3203, 3156, 3117, 3087, 3069, 3040, 2960, 2930, 2900, 2844, 1652, 1638, 1614, 1603, 1592, 1549, 1505, 1476, 1447, 1357, 1322, 1267, 1247, 1217, 1179, 1118, 1059, 1034, 1019, 971, 932, 905, 841, 773, 758, 727, 686, 666, 650, 619, 582, 517, 490, 468, 446, 415, 372, 353, 330, 290. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}}$  ( $\epsilon$ ) = 309 (8,7 × 10<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 299 (1,1 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 250 (1,8 × 10<sup>4</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 610 (5,2 × 10<sup>1</sup> mol<sup>-1</sup> L cm<sup>-1</sup>), 622 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_M$  (metanol) = 172,32 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>.

Complexo **20** ou Cu(4-MH)(dmb)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O

M.M.: 680,89 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 75%. Cor: Azul. Dados de análise elementar calculado para (C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>14</sub>): C, 35,28; H, 3,85; N, 8,23%. Encontrado: C, 35,41; H, 3,87; N, 8,21%. (+)-HRESIMS (metanol), *m/z*: 444,0851 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calculado para [C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>CuN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 444,0853 (Δ - 0,45 ppm)). IR (ATR)  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 3604, 3541, 3246, 3199, 3160, 3126, 3106, 3088, 3043, 3005, 2969, 2916, 2846, 1651, 1606, 1564, 1545, 1507, 1496,

1471, 1437, 1422, 1348, 1312, 1287, 1259, 1228, 1196, 1149, 1070, 1042, 1027, 975, 921, 880, 867, 843, 798, 760, 740, 645, 625, 619, 574, 534, 433, 415, 371, 277, 250. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{máx}} (\epsilon) = 299 (5,3 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1})$ ,  $286 (7,0 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1})$ ,  $268 (8,4 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1})$ ,  $220 (1,8 \times 10^5 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1})$ ,  $616 (4,1 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1})$ , 583 (estado sólido) nm. Condutividade molar,  $\Lambda_{\text{M}}$  (metanol) =  $156,88 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ .

### 3.4. Estudos biológicos

#### 3.4.1. Células K562, MDA-MB-231 e MCF-7

Os testes para a célula K562 foram realizados no Departamento de Química da UFMG, em colaboração com a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Elene Cristina Pereira Maia. A atividade citotóxica ( $\text{IC}_{50}$ ) foi realizada frente a uma linhagem celular K562, que foi adquirida em um Banco de Células do Rio de Janeiro (número CR083 do acervo do BCRJ). Para realizar este teste as células foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Sigma Chemical Co.) suplementado com 10% de soro fetal bovino (CULTILAB, São Paulo, Brasil) a  $37^\circ\text{C}$  em atmosfera umidificada contendo 5% de  $\text{CO}_2$ . As culturas cresceram exponencialmente de  $10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  para cerca de  $8 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  em três dias. A viabilidade celular foi verificada por exclusão, utilizando corante azul de tripan (que cora somente as células mortas), e o número de células viáveis foram determinadas em um contador de partículas (modelo 22, série AK32252 da BECKMAN COULTER). Para o estudo citotóxico,  $1 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  foram incubadas por 72h na ausência e presença de diferentes concentrações dos compostos testados (complexos e ligantes livres). A sensibilidade para os compostos foi avaliada pela concentração necessária para inibir o crescimento celular em 50%, ( $\text{IC}_{50}$ ). Soluções estoque foram preparadas em DMSO e diluídas com o intuito de obter a concentração ideal para ser utilizada nos ensaios citotóxicos. A concentração final de DMSO nos experimentos foi inferior a 0,5% e foi verificado que nessas condições o solvente não tem nenhum efeito sobre a viabilidade ou o crescimento celular.

Os testes para célula MDA-MB-231 e MCF-7 foram realizados no Instituto de Genética e Bioquímica da UFU, em colaboração com a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Françoise Vasconcelos Botelho. A atividade citotóxica ( $\text{IC}_{50}$ ) foi realizada da seguinte forma: células MDA-MB-231 (câncer de mama) e MCF-7 (câncer de mama) que foram adquiridas em um Banco de

Células do Rio de Janeiro. Para realizar o teste as células de MDA-MB-231 e MCF-7 foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, 100 unidades  $\text{mL}^{-1}$  de penicilina, 100  $\text{mg mL}^{-1}$  de estreptomicina, a 37 °C e  $\text{pH}=7,4$  com atmosfera umidificada contendo 5% de  $\text{CO}_2$  até atingir 80% de confluência para realizar os ensaios. O descolamento das células para efetuar a subcultura ou plaqueamento foi realizado utilizando uma solução de tripsina:EDTA para células MCF-7 e uma solução de EDTA para células MDA-MB-231, durante 5 minutos. Em seguida, a tripsina foi inativada aplicando-se o meio de cultura e as células foram lavadas três vezes com este meio de cultivo. A determinação do número de células viáveis foi efetuada em uma câmara de Neubauer. Para o estudo citotóxico,  $5 \times 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$  foram incubadas por 36 h na ausência e presença de diferentes concentrações dos compostos testados (complexos e ligantes livres). A sensibilidade para os compostos foi avaliada pela concentração necessária para inibir o crescimento celular em 50%, ( $\text{IC}_{50}$ ). Soluções estoque dos compostos em estudo foram preparadas em DMSO.

#### 3.4.2. Determinação do tipo de morte celular

Os testes para determinação do tipo de morte celular foram realizados no Instituto de Genética e Bioquímica da UFU, em colaboração com a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Françoise Vasconcelos Botelho. Para o ensaio de morte celular foi utilizado o kit Annexin V/Dead Cell (Thermo Fisher scientific) que contém o corante Isotiocianato de fluoresceína (FITC) conjugado com a Anexina-V que é capaz de detectar a fosfatidilserina na membrana externa de células apoptóticas e um corante 7-AAD que proporciona informação sobre a integridade da membrana ou da morte celular. O corante 7-AAD é excluído de células vivas saudáveis, bem como células apoptóticas precoces. Para realizar este teste as células MDA-MB-231 foram semeadas em uma placa de cultura de 24 poços com uma densidade de  $3 \times 10^5$  células/poço e foram cultivadas durante a noite em meio RPMI suplementado com 5% de soro fetal bovino. No dia seguinte, as células foram incubadas na presença de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  dos complexos **1** e **3**. Após 24 horas de tratamento com os complexos de cobre(II), as células MDA-MB-231 foram colhidas pelo processo de tripsinização e em seguida foram acrescentados os marcadores presentes no kit Annexin V/Dead Cell. As células foram então incubadas no escuro e em temperatura ambiente durante 15 min, e posteriormente foi feito à aquisição dos dados em um citômetro de fluxo (FACSCallibur, BD Biosciences).



### 3.4.3. Interação com DNA

Os ensaios para determinar o tipo de interação dos complexos com o DNA foram realizados por espectroscopia na região do UV-Vis e por dicroísmo circular. As amostras foram preparadas em tampão HEPES, pH = 7,3 e  $I = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Para realizar estes estudos, uma solução de DNA de timo de vitelo (CT-ADN) foi preparada em tampão Hepes e a sua concentração foi determinada através dos dados de absorbância obtidos no espectro de UV-Vis, pois a absorvidade molar para o CT-DNA é  $6600 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$  em 260 nm (RAHBAN *et al.*, 2010). Os cálculos foram feitos através da lei de Lambert-Beer. Os espectros de absorbância na região do UV-Vis foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro Cary100 Varian. As soluções dos complexos foram preparadas na concentração  $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e a concentração de DNA adicionada a estas soluções variou de 0 a  $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Os espectros de dicroísmo circular (CD) foram obtidos utilizando-se um espectropolarímetro Jasco J-815. As soluções de DNA foram preparadas na concentração  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e a concentração dos complexos adicionados a esta solução variou de 0 a  $3,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

### 3.4.4. Avaliação da atividade tripanocida *in vitro*

Os testes para atividade tripanocida foram realizados no Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em colaboração com a pesquisadora Dr<sup>a</sup>. Zumira A. Carneiro e o Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque. A atividade tripanocida *in vitro* dos compostos em estudo foi avaliada contra a forma amastigota da estirpe infecciosa CL Brener (BUCKNER *et al.*, 1996). Resumidamente, as células L929 ( $2,5 \times 10^4$  células  $\text{mL}^{-1}$ ) foram ressuscitadas em meio RPMI sem vermelho de fenol, suplementado com 5% de soro fetal bovino e posteriormente foram semeadas em placas de 96 poços. Após 3 horas, as células foram infectadas com  $5,0 \times 10^5$  tripomastigotas da estirpe CL Brener do *T. cruzi*, expressando de forma estável o gene da  $\beta$ -galactosidase da *Escherichia coli* (clone B5 da estirpe CL Brener), e em seguida foram incubadas por 48 horas. Após 48 horas de infecção, as placas foram lavadas sucessivamente para retirar a forma tripomastigota do *T. cruzi* presente no sobrenadante, assim permaneceram apenas as células contendo a forma amastigota (forma intracelular do parasito). As células infectadas com as formas intracelulares do parasito

(amastigota) foram incubadas com os compostos testados, em concentrações seriadas variando de  $500 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $3,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ . O benzonidazol foi utilizado como controle positivo e os meios de cultura como controle negativo. Após 72 horas, adicionou-se  $50 \mu\text{L}$  de PBS (solução salina tamponada com fosfato) contendo 0,3% de Triton X-100, para lise das células e  $400 \mu\text{mol L}^{-1}$  de CPRG (do inglês Chlorophenol Red- $\beta$ -D-galactoside), como substrato para a  $\beta$ -galactosidase. As placas foram incubadas a  $37^\circ\text{C}$  durante 6 h e absorbância foi lida em 570 nm. Quanto maior a quantidade de parasitos nos poços de cultura, maior será a conversão da CPRG pela  $\beta$ -galactosidase e, conseqüentemente, maior a absorbância no espectrofotômetro.

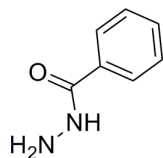
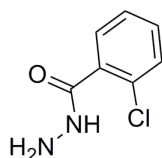
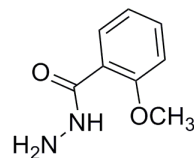
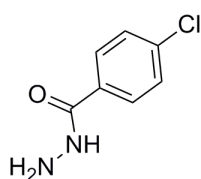
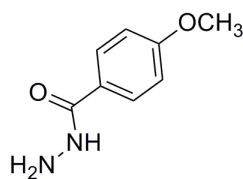
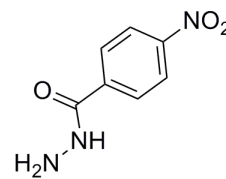
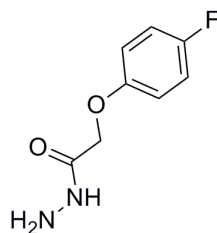
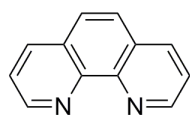
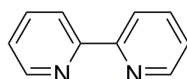
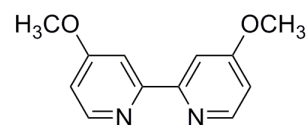
#### 3.4.5. Avaliação *in vitro* da citotoxicidade em células normais

Os estudos de citotoxicidade em células normais foram realizados no Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Universidade de São Paulo, em colaboração com a pesquisadora Dr<sup>a</sup>. Zumira A. Carneiro e o Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque. A dosagem letal necessária pra matar 50% das células ( $DL_{50}$ ) foi realizada perante a linhagem de células normais de fibroblastos L929. A viabilidade das células L929 (fibroblastos) foi avaliada utilizando o ensaio colorimétrico clássico [3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difenil tetrazólio brometo] (MTT) (MOSMANN,1993). Para o estudo citotóxico,  $2,5 \times 10^4$  células foram incubadas durante 24 horas em placas de 96 poços. Após este período, o benzonidazol ou os compostos em estudo foram adicionados em concentrações variando de 500 a  $3,95 \mu\text{mol L}^{-1}$  (diluição em série), com um volume final de  $200 \mu\text{L}$ . As soluções foram previamente preparadas em 0,5% de DMSO (v/v). As células foram incubadas a  $37^\circ\text{C}$  durante 72 horas. Após o período de incubação com os ligantes e os seus respectivos complexos, o meio de cultura foi removido e adicionou-se  $50 \mu\text{L}$  do corante MTT ( $5,0 \text{ mg/mL}$ ) previamente diluído em solução salina tamponada com fosfato (PBS). O corante MTT forma um precipitado azul-violeta (formazan) que foi então dissolvido em  $50 \mu\text{L}$  de DMSO e posteriormente foi realizada a leitura de absorbância em 570 nm utilizando um leitor de microplacas. A viabilidade celular foi expressa como a percentagem dos valores de absorção em células tratadas comparados com as células não tratadas (controle).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

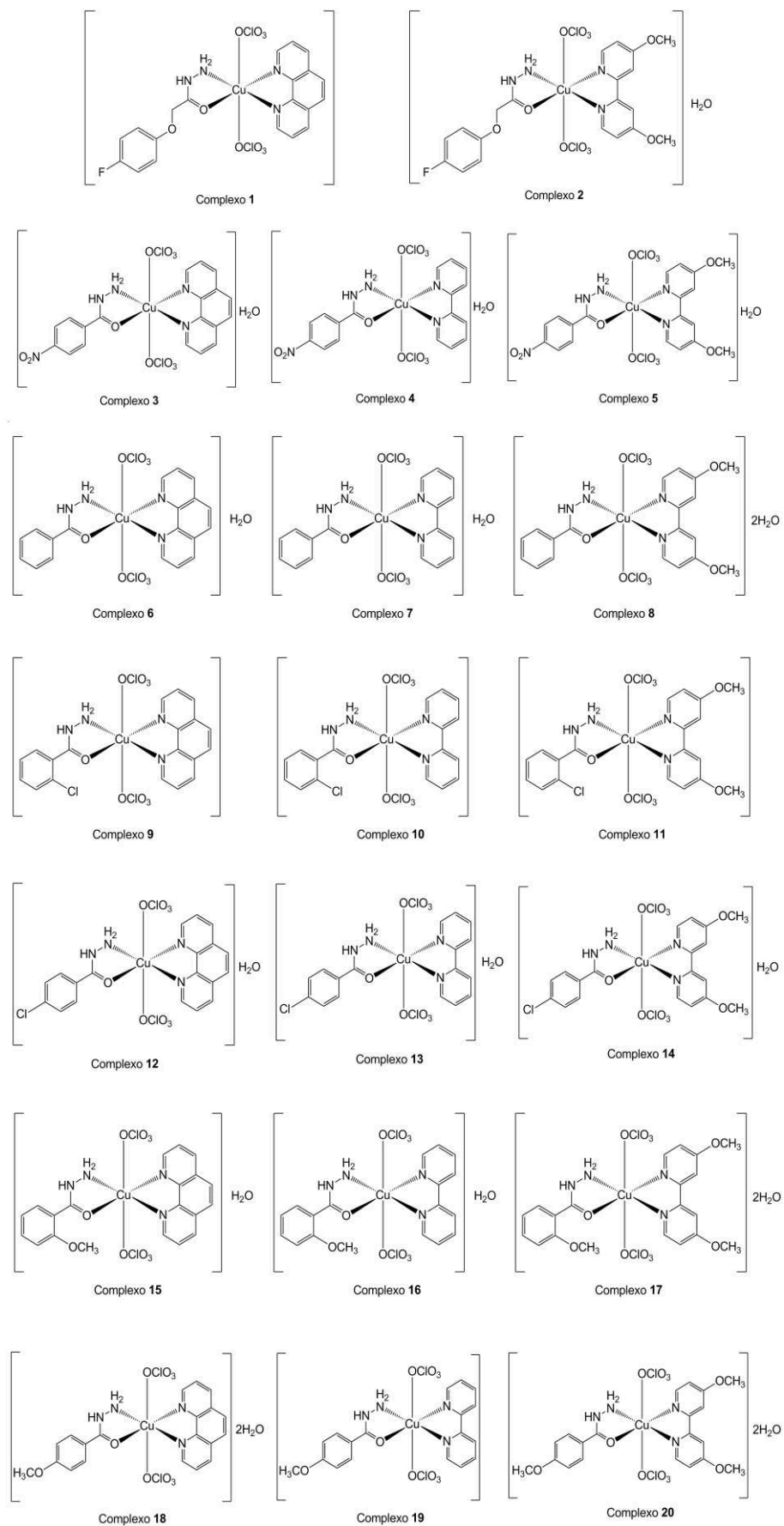
Neste trabalho foram sintetizados vinte complexos ternários de cobre(II) utilizando duas classes de ligantes, hidrazidas e bases heterocíclicas. As siglas N-O e N-N representam estas duas classes de ligantes, respectivamente. A Figura 24 ilustra os ligantes utilizados, bem como os seus respectivos códigos. Estas classes de ligantes foram cuidadosamente selecionadas devido ao seu potencial biológico. As hidrazidas apresentam um amplo espectro de atividades biológicas e estudos envolvendo complexos, mostraram que a coordenação ao centro metálico aumenta a atividade antitumoral desta classe de ligantes (SILVA *et al.* 2014; MOHANRAJ *et al.* 2016). As bases heterocíclicas pertencem a uma família de intercaladores clássicos, transferindo a seus complexos este mesmo comportamento. Os metalointercaladores têm despertado grande interesse na clínica médica, uma vez que o mecanismo de ação destes complexos é diferente daquele observado para a cisplatina e seus análogos (BARRA, NETTO, 2015). Deste modo os metalointercaladores representam uma boa opção para os casos de resistência celular aos complexos tradicionais. É importante salientar que as hidrazidas (2-CH, 4-CH, 2-MH e 4-MH) utilizadas neste estudo, diferem em relação à posição dos grupos substituintes cloro ou metóxi que alternam entre as posições orto e para do anel benzênico, sendo então possível avaliar os efeitos causados pela mudança do substituinte na atividade tripanocida.

Os complexos foram sintetizados a partir do precursor  $\text{CuClO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Após a adição dos respectivos ligantes e agitação por 48 horas, sólidos amorfos foram isolados e devidamente secos sob pressão reduzida durante 4-7 dias. Os rendimentos variaram entre 21 e 77%. Os compostos de cobre(II) são de cor azul, estáveis ao ar, à luz e solúveis em solventes orgânicos como metanol, acetonitrila e dimetilsulfóxido. Os complexos foram caracterizados por análise elementar, medidas de condutividade, espectrometria de massas em alta resolução com ionização por *electrospray* e por técnicas espectroscópicas, UV-Vis e infravermelho. Além disso, a estrutura cristalina dos compostos **1** e **9** foi determinada por difração de raios X e os complexos **1**, **2** e **3** também foram caracterizados por espectroscopia de ressonância paramagnética. A figura 25 ilustra as estruturas inicialmente propostas para os complexos sintetizados.

**Figura 24:** Estrutura dos ligantes utilizados neste estudo.**Hidrazidas**Benzil-hidrazida  
(BH)2-cloro-benzil-hidrazida  
(2-CH)2-metóxi-benzil-hidrazida  
(2-MH)4-cloro-benzil-hidrazida  
(4-CH)4-metóxi-benzil-hidrazida  
(4-MH)4-nitro-benzil-hidrazida  
(4-NH)4-fluoro-fenóxiacetico-hidrazida  
(4-FH)**Bases heterocíclicas**1,10-fenantrolina  
(phen)2,2'-bipiridina  
(bipy)4,4'-dimetóxi-2,2'-bipiridina  
(dmb)

Fonte: A autora.

**Figura 25:** Estruturas inicialmente propostas para os complexos sintetizados.



## 4.1. Análise elementar (CHN)

Os dados de análise elementar (CHN) obtidos para os complexos sintetizados, ilustrados na Tabela 2, corroboram com as formulações propostas (ver seção experimental) e refletem o grau de pureza dos sólidos isolados.

**Tabela 2:** Dados de análise elementar (CHN) para os complexos deste trabalho.

Complexo	%C <sub>teór.</sub>	%C <sub>exp.</sub>	%H <sub>teór.</sub>	%H <sub>exp.</sub>	%N <sub>teór.</sub>	%N <sub>exp.</sub>
<b>1</b> ou Cu(4-FH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	38,32	38,68	2,73	2,77	8,94	8,90
<b>2</b> ou Cu(4-FH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	35,28	34,85	3,40	3,56	8,23	7,81
<b>3</b> ou Cu(4-NH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	35,56	35,95	2,67	2,68	10,91	10,92
<b>4</b> ou Cu(4-NH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	33,05	32,72	2,77	2,36	11,34	10,96
<b>5</b> ou Cu(4-NH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	33,67	33,40	3,12	2,97	10,33	10,00
<b>6</b> ou Cu(BH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	38,24	38,33	3,04	3,08	9,39	9,34
<b>7</b> ou Cu(BH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	35,65	35,43	3,17	3,34	9,78	9,53
<b>8</b> ou Cu(BH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	35,06	35,39	3,72	4,03	8,61	8,55
<b>9</b> ou Cu(2-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	37,21	37,48	2,47	3,05	9,14	8,59
<b>10</b> ou Cu(2-CH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	34,65	34,79	2,57	2,43	9,51	9,44
<b>11</b> ou Cu(2-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	35,15	34,72	2,95	3,10	8,63	8,32
<b>12</b> ou Cu(4-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	36,15	35,90	2,71	2,60	8,88	8,59
<b>13</b> ou Cu(4-CH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	33,62	33,63	2,82	2,72	9,23	9,25
<b>14</b> ou Cu(4-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	34,20	34,46	3,17	3,25	8,40	8,25
<b>15</b> ou Cu(2-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	38,32	38,18	3,22	2,86	8,94	8,71
<b>16</b> ou Cu(2-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	35,86	35,98	3,34	3,52	9,29	9,18
<b>17</b> ou Cu(2-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	35,28	35,16	3,85	3,78	8,23	8,18
<b>18</b> ou Cu(4-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	37,25	37,28	3,44	3,34	8,69	8,57
<b>19</b> ou Cu(4-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	36,97	36,62	3,10	3,42	9,58	9,28
<b>20</b> ou Cu(4-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	35,28	35,41	3,85	3,87	8,23	8,21

Fonte: Dados da pesquisa.

#### 4.2. Análise condutimétrica

Medidas de condutividade molar dos complexos foram realizadas a temperatura ambiente ( $T \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) logo após o preparo das soluções ( $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ), utilizando metanol ou acetonitrila como solventes. Para classificar o tipo de eletrólito formado (em solução), os resultados obtidos neste trabalho foram comparados com os valores reportados na literatura (GEARY, 1971; VELHO, 2006) de acordo com a Tabela 3.

Os valores de condutividade molar obtidos para os complexos em estudo estão compreendidos entre 147,97 e 214,60  $\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$  para soluções metanólicas e entre 187,20 e 310,55  $\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$  para soluções preparadas utilizando acetonitrila (Tabela 4). Assim, comparando os resultados obtidos (Tabela 4) com os dados reportados na literatura (Tabela 3), é possível classificar os complexos analisados como eletrólitos do tipo 2:1. Estes dados indicam que em solução ocorre a labilização dos ânions percloratos, que leva a formação de complexos do tipo  $[\text{Cu}(\text{N}-\text{O})(\text{N}-\text{N})]^{2+}$ , como observado em compostos correlatos (SILVA *et al.* 2014; ALMEIDA *et al.*, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2016).

**Tabela 3:** Parâmetros de condutividade molar para diferentes tipos de eletrólito proposto por Geary em comparação com as faixas reportadas por Velho.

Solvente	Eletrólito	Faixa proposta por Geary ( $\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ )	Faixa proposta por Velho ( $\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ )
Metanol	1:1	80–115	62–123
Metanol	2:1	160–220	87–204
Metanol	3:1	290–350	260–300
Acetonitrila	1:1	100–160	57–204
Acetonitrila	2:1	220–300	162–345
Acetonitrila	3:1	340–420	330–518

Fonte: GEARY (1971) e VELHO (2006).

**Tabela 4:** Valores de condutividade molar para os complexos em estudo, bem como o respectivo solvente utilizado no preparo da solução. As medidas foram realizadas a temperatura ambiente ( $T \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

Complexo	$\Lambda_M$ ( $\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ )	Solvente
<b>1</b> ou Cu(4-FH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	188,45	Metanol
<b>2</b> ou Cu(4-FH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	176,01	Metanol
<b>3</b> ou Cu(4-NH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	168,19	Metanol
<b>4</b> ou Cu(4-NH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	191,75	Metanol
<b>5</b> ou Cu(4-NH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	214,60	Metanol
<b>6</b> ou Cu(BH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	147,97	Metanol
<b>7</b> ou Cu(BH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	154,05	Metanol
<b>8</b> ou Cu(BH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	158,26	Metanol
<b>9</b> ou Cu(2-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	298,86	Acetonitrila
<b>10</b> ou Cu(2-CH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	313,26	Acetonitrila
<b>11</b> ou Cu(2-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	310,55	Acetonitrila
<b>12</b> ou Cu(4-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	162,19	Metanol
<b>13</b> ou Cu(4-CH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	181,86	Metanol
<b>14</b> ou Cu(4-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	164,30	Metanol
<b>15</b> ou Cu(2-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	300,35	Acetonitrila
<b>16</b> ou Cu(2-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	187,20	Acetonitrila
<b>17</b> ou Cu(2-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	308,30	Acetonitrila
<b>18</b> ou Cu(4-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	174,00	Metanol
<b>19</b> ou Cu(4-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	172,32	Metanol
<b>20</b> ou Cu(4-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	156,88	Metanol

Fonte: Dados da pesquisa.

### 4.3. Difração de Raios X

Monocristais de tamanhos adequados à técnica de difração de raios X foram obtidos a partir da recristalização dos sólidos dos complexos **1** e **9**, sintetizados conforme descrito na



seção experimental deste trabalho. O complexo **1** foi recristalizado em uma mistura de metanol/tolueno na proporção 1:1(v/v) e o complexo **9** apenas em metanol. Após a evaporação lenta destes solventes, à temperatura ambiente, os cristais formados foram recolhidos, lavados com água e secos sob pressão reduzida.

A estrutura cristalina foi resolvida com um índice de discordância (*R*) entre o modelo proposto e os dados experimentais de 4,01% (complexo **1**) e 5,03% (complexo **9**). A análise dos dados de raios X demonstrou que os complexos **1** e **9** cristalizam no grupo espacial  $P2_1/c$  do sistema monoclinico. Os dados cristalográficos para estes complexos são reportados na Tabela 5.

A unidade assimétrica do complexo **1**, ilustrada na Figura 26, apresenta um íon Cu(II), dois ligantes bidentados (phen e 4-FH) e dois íons percloratos, em concordância com a formulação proposta na seção experimental. A unidade assimétrica do complexo **9**, ilustrada na Figura 27, contém um íon Cu(II), dois ligantes bidentados (phen e 2-CH), dois íons percloratos e uma molécula de metanol, e difere da formulação proposta na seção experimental devido a presença do solvente na rede cristalina.

Os complexos **1** e **9** apresentam geometria octaédrica distorcida em torno do íon Cu(II). O plano basal é ocupado por dois ligantes coordenados de modo bidentado, sendo dois átomos de nitrogênio da phen (N1 e N2) e dois átomos (O1 e N3) das respectivas hidrazidas 4-FH e 2-CH.

No complexo **1** as posições axiais são ocupadas por dois átomos de oxigênio (O2 e O6) fracamente ligados, que pertencem a dois percloratos distintos. Os átomos de oxigênio destes íons estão desordenados em duas posições, sendo 54,7% para os átomos com maior fator de ocupação e 45,3% para as espécies com menor ocupação.

No complexo **9** as ligações Cu-O<sub>axial</sub> são fracas e os átomos de oxigênio pertencem a íons percloratos (Cl1) relacionados por simetria [Cu-O2 e Cu-O3i (código de simetria: (i) 1 + x, y, Z + 1/2)]. Neste caso, o outro íon perclorato (Cl2) da unidade assimétrica e a molécula de metanol não interagem com o metal, como ilustrado na Figura 27.

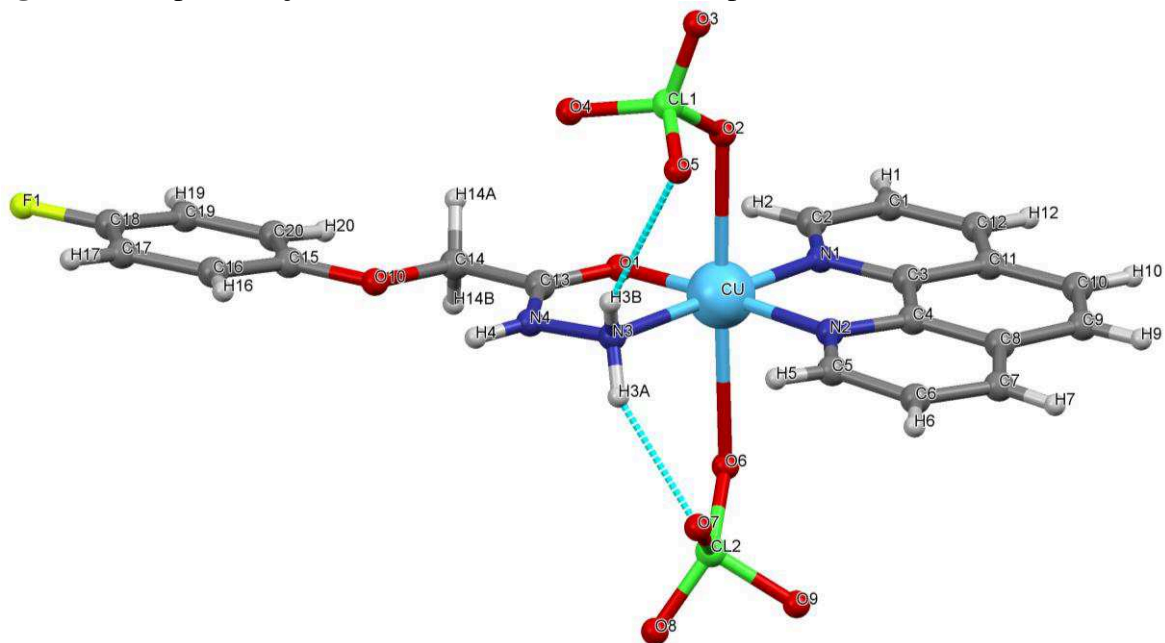
**Tabela 5:** Dados cristalográficos dos complexos **1** e **9**.

Fórmula	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> CuFN <sub>4</sub> O <sub>10</sub>	{[C <sub>20</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> CuN <sub>4</sub> O <sub>5</sub> ]ClO <sub>4</sub> CH <sub>4</sub> O} <sub>n</sub>
Massa Molar (g mol <sup>-1</sup> )	626,82	645,28
Temperatura de coleta (K)	296(2)	296(2)
Sistema Cristalino	Monoclínico	Monoclínico
Grupo Espacial	P2 <sub>1</sub> /c (n° 14)	P2 <sub>1</sub> /c (n° 14)
Parâmetros da cela unitária (Å, °)	<i>a</i> = 18,6542 (6) <i>b</i> = 13,7070 (4) <i>c</i> = 9,2529 (2) <i>β</i> = 96,4240 (10)	<i>a</i> = 13,4187(3) Å <i>b</i> = 14,2830(4) Å <i>c</i> = 13,8928(3) Å <i>β</i> = 109,0290(10)°
Volume da cela (Å <sup>3</sup> )	2351,05 (13)	2517,18(11)
Z	4	4
Densidade Calculada (mg m <sup>-3</sup> )	1,771	1,703
Coeficiente de absorção (mm <sup>-1</sup> )	1,230	1,249
F(000)	1268	1308
Tamanho do cristal (mm <sup>3</sup> )	0,80 × 0,12 × 0,09	0,58 × 0,29 × 0,19
Intervalo de <i>hkl</i>	<i>h</i> = -23 ⇒ 23 <i>k</i> = -17 ⇒ 17 <i>l</i> = -11 ⇒ 11	<i>h</i> = -16 ⇒ 16 <i>k</i> = -17 ⇒ 16 <i>l</i> = -16 ⇒ 16
Reflexões coletadas	42766	17205
Reflexões únicas; R <sub>int</sub>	4816; 0,0274	4589; 0,0187
Reflexões observadas [I>2σ(I)]	4816	4589
Parâmetros Refinados	381	339
S	1,043	1,156
R[I>2σ(I)]; <i>wR</i>	R = 0,0401; <i>wR</i> = 0,1082	R = 0,0503; <i>wR</i> = 0,1276
R (todos os dados); <i>wR</i>	R = 0,0473; <i>wR</i> = 0,1138	R = 0,0535; <i>wR</i> = 0,1293
Δρ <sub>máx</sub> ; Δρ <sub>min</sub> (e Å <sup>-3</sup> )	0,687 ; -0,547	1,260 ; -0,766

$$R_{\text{int}} = \frac{\sum |F_{\text{(obs)}}^2 - \langle F_{\text{(obs)}}^2 \rangle|}{\sum F_{\text{(obs)}}^2}$$

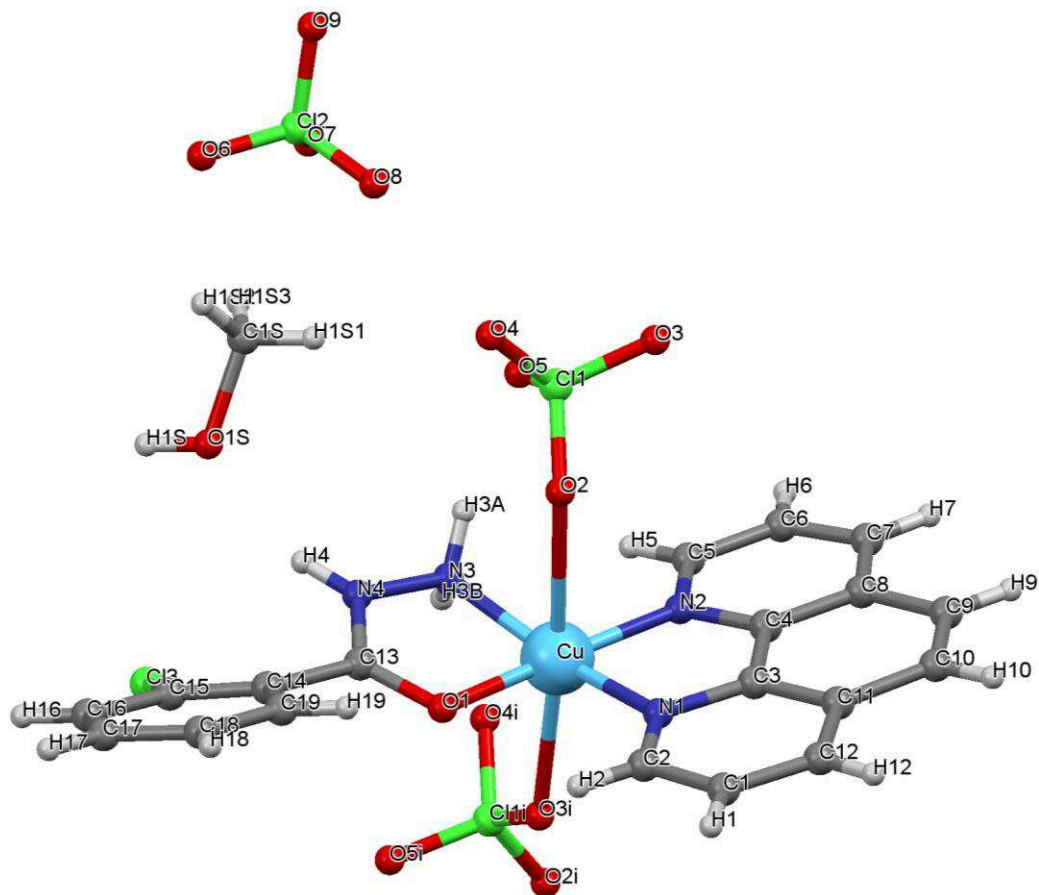
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 26:** Representação da unidade assimétrica do complexo 1.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 27:** Representação da esfera de coordenação do complexo 9. (i) Denota a operação de simetria equivalente:  $1+x, y, z+1/2$ .



Fonte: Dados da pesquisa.

Os parâmetros geométricos estão dentro dos valores esperados para esta classe de compostos (ALLEN *et al.*, 1987) e concordam com os observados para estruturas similares descritas na literatura (SILVA *et al.*, 2014; KAABI *et al.*, 2010; PIVETA *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2012; ALBADA *et al.*, 2007; MOHANRAJ *et al.*, 2016). Os comprimentos e ângulos de ligação relevantes para a esfera de coordenação do íon cobre(II) são apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6:** Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para os complexos **1** e **9**.

Complexo	<b>1</b>	<b>9</b>
<i>Comprimentos de ligação</i>		
Cu–O1	1,970(2)	1,937(3)
Cu–N1	1,976(2)	1,979(3)
Cu–N2	1,994(2)	1,982(3)
Cu–N3	2,025(2)	2,011(3)
Cu–O2	2,489(7)	2,665(3)
Cu–O6	2,601(7)	----
Cu–O3 <sup>i</sup>	----	2,524(3)
<i>Ângulos de ligação</i>		
N1–Cu–N2	83,23(9)	83,61(13)
O1–Cu–N3	82,49(8)	82,20(12)
N3–Cu–N1	174,52(9)	165,87(14)
O1–Cu–N2	173,20(9)	176,94(12)
O1–Cu–N1	93,04(8)	93,39(12)
N3–Cu–N2	100,89(9)	100,57(13)

Fonte: Dados da pesquisa.

Nos dois complexos, os comprimentos referentes às ligações Cu–O<sub>axial</sub>, variam de 2,4 a 2,8 Å. Estes valores são consideravelmente mais longos do que a distância Cu–O1 [1,970 (2) para **1** e 1,937(3) Å para **9**] no plano basal, devido ao efeito Jahn-Teller (JAHN, TELLER, 1937; HALCROW, 2013) e concordam com os dados reportados para complexos correlatos (SILVA *et al.*, 2014; PIVETA *et al.*, 2014). As distâncias Cu–N1 e Cu–N2 [1,976 (2) e 1,994 (2) Å para **1** e 1,979(3) (19) e 1,982(3) Å para **9**, respectivamente] são menores do que Cu–N3 (2,025 (2) Å para **1** e 2,011(3) Å para **9**) e estão dentro dos valores encontrados para

compostos similares (SILVA *et al.*, 2014; KAABI *et al.*, 2010; PIVETA *et al.*, 2014; ZHANG *et al.*, 2012; ALBADA *et al.*, 2007; MOHANRAJ *et al.*, 2016).

A geometria basal é consideravelmente distorcida do plano quadrado perfeito devido ao caráter bidentado dos ligantes phen e hidrazidas. Os ângulos N1–Cu–N2 são de 83,23(9) e 83,61(13)° e O1–Cu–N3 são de 82,49(8) e 82,20(12)° para os complexos **1** e **9**, respectivamente. Os ângulos trans (N1–Cu–N3 e O1–Cu–N2) são de 174,52 (9) e 173,20 (9)° para o complexo **1** e de 165,97(14) e 176,94(12)° para o complexo **9**.

A quelação bidentada do ligante phen e hidrazidas (4-FH e 2-CH) ao centro metálico leva à formação de dois anéis planares de cinco membros (Cu/N1/C3/C4/N2 e Cu/O1/C13/N4/N3) com raiz quadrada do desvio quadrático médio (r.m.s) do melhor plano traçado por todos os átomos, exceto os hidrogênios, de 0,0154 e 0,0124 Å para o complexo **1** e de 0,0163 e 0,0127 Å para o complexo **9**. O ângulo entre os planos traçados por esses anéis é de 7,27 (13)° para o complexo **1** e 18,91(9)° para o complexo **9**. No ligante 2-CH, o ângulo entre o anel quelante e o anel fenil é de 34,3 (1)°. Em ambos complexos, o ligante phen é aproximadamente planar com r.m.s. de 0,0251Å (complexo **1**) e 0,0165 Å (complexo **9**), sendo que o átomo de Cu encontra-se a 0,050 Å (complexo **1**) e 0,203 (3) Å (complexo **9**) acima deste plano.

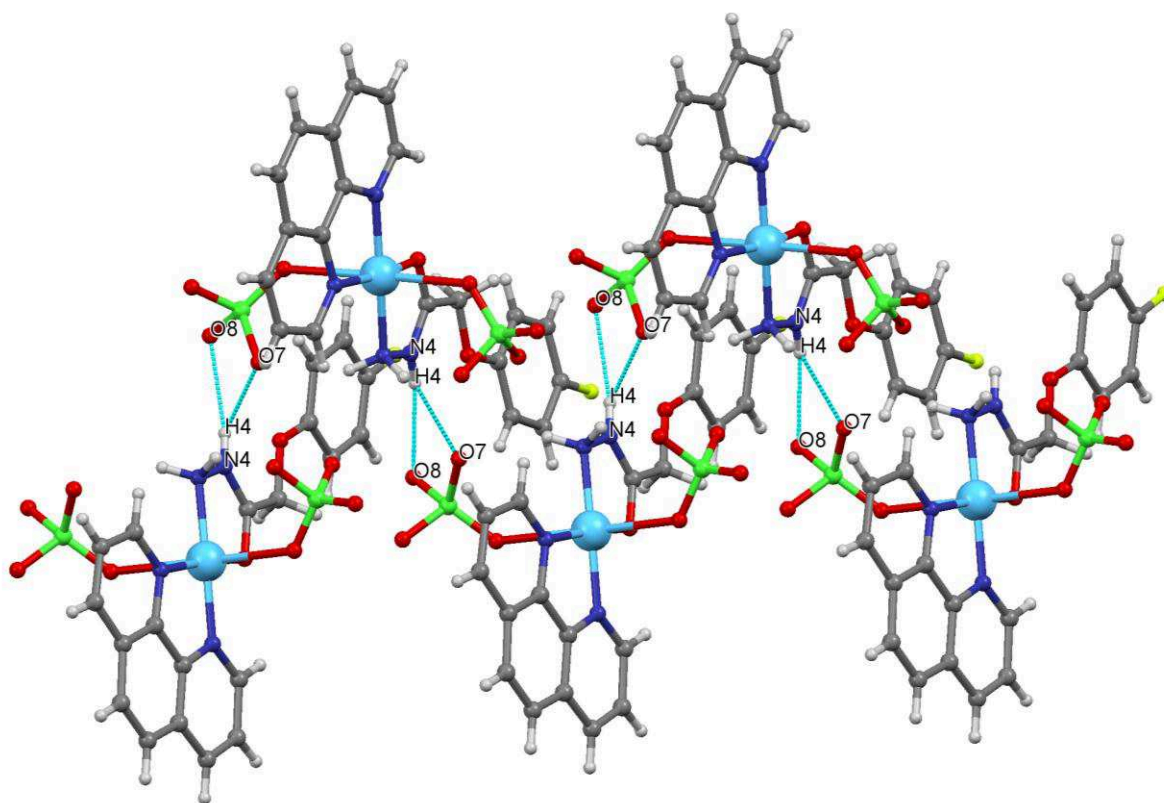
Analisando o empacotamento cristalino do complexo **1** foi possível constatar a existência de ligações de hidrogênio clássicas do tipo N–H...O e interações do tipo  $\pi$ – $\pi$  *stacking*, que são contatos hidrofóbicos que ocorrem entre a nuvem eletrônica de dois anéis. Também foram observadas interações intramoleculares do tipo N–H...O, envolvendo os átomos doadores do ligante 4-FH e os átomos de oxigênio aceptores do perclorato (N3...O7 = 2,987(8) Å e N3...O5 = 3,164(12) Å) como mostra a Tabela 7. O átomo de nitrogênio N4 do ligante 4-FH participa de duas ligações de hidrogênio clássicas do tipo N–H...O, envolvendo os átomos de oxigênio O7 e O8 dos grupos perclorato, resultando em cadeias que se estendem ao longo da direção [001] como ilustra a Figura 28 e a Tabela 7. Estas cadeias são conectadas em um arranjo tridimensional, Figura 29, através de interações do tipo  $\pi$ – $\pi$  com distância centróide-centróide (Cg1–Cg2) de 3,770 (1) Å, sendo Cg1 a nuvem eletrônica gerada pelo anel N1/C3/C11/C12/C1/C2 e Cg2 a nuvem gerada pelo anel C3/C4/C8/C9/C10/C11.

**Tabela 7:** Interações intra e intermoleculares presentes no cristal do complexo **1**.

Interação D–H···A	Distância (D–H) (Å)	Distância (H···A) (Å)	Distância (D···A) (Å)	Ângulo (DHA) (°)
N4–H4···O7 <sup>ii</sup>	0,86	2,38	2,846(7)	114,3
N4–H4···O8 <sup>ii</sup>	0,86	2,38	3,212(11)	163,7
N3–H3a···O7	0,89	2,18	2,987(8)	150,2
N3–H3b···O5	0,89	2,40	3,164(12)	143,8

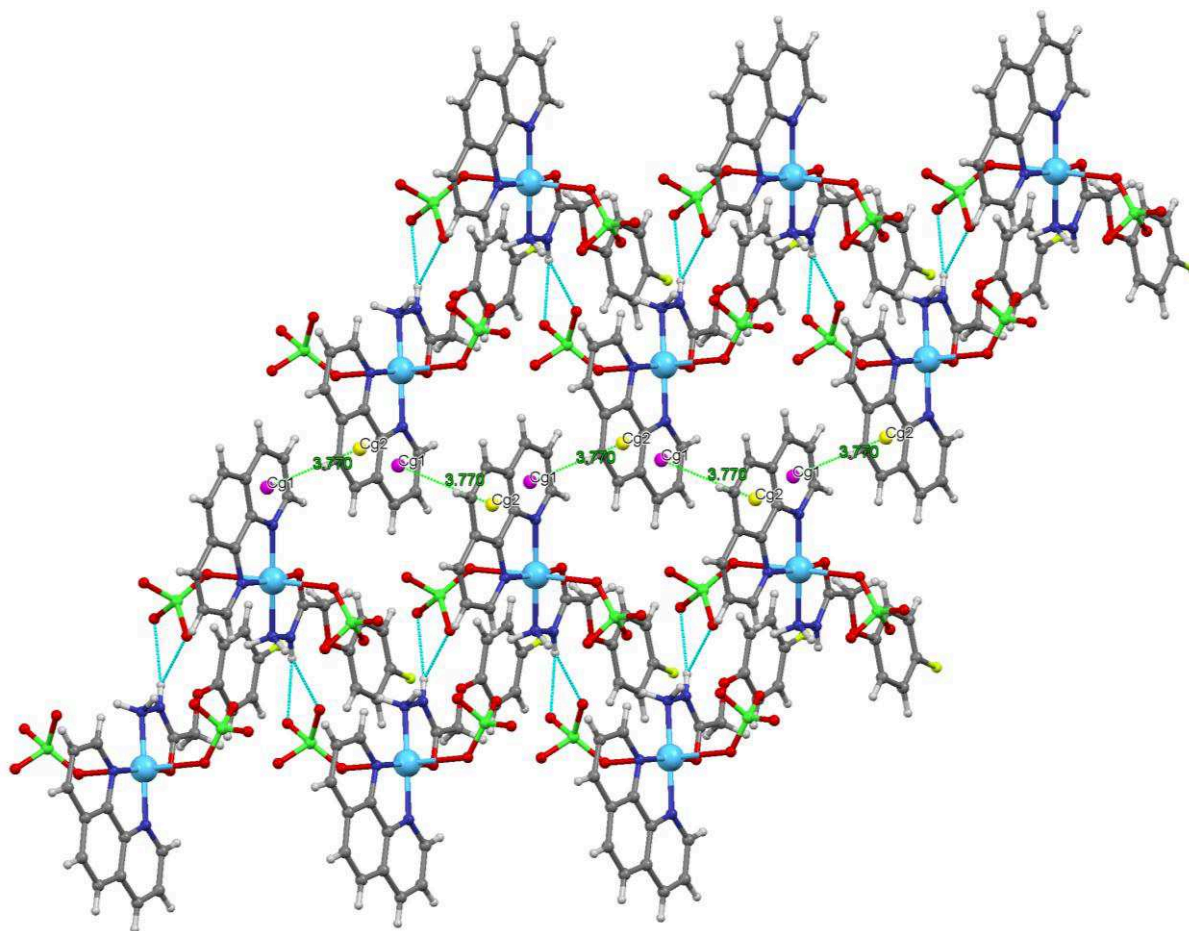
<sup>ii</sup> = x, -y+1/2, z-1/2

Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 28:** Representação MERCURY das interações N4–H4···O7 e N4–H4···O8 presentes no cristal do complexo **1**.

Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 29:** Representação MERCURY das interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  *stacking* entre as redes presentes no cristal do complexo **1**.



Fonte: Dados da pesquisa.

Analisando o empacotamento cristalino do complexo **9**, observamos que o ânion perclorato (C11) exibe um modo de coordenação exobidentada, atuando simultaneamente como ligante bidentado e em ponte, no qual os átomos de oxigênio (O2 e O3i), que pertencem a íons percloratos (C11) relacionados por simetria, ligam-se a dois centros metálicos formando uma rede polimérica ao longo do eixo *c* (Figura 30). Nessa direção, também foi possível constatar a existência de duas interações N-H...O, envolvendo os átomos doadores do ligante 2-CH e os átomos de oxigênio aceptores dos íons percloratos (N3...O5 = 2,953(5) Å e N3...O4 = 2,999(5) Å) como mostra a Tabela 8 e a Figura 30. Entre as redes poliméricas, existem três interações intermoleculares envolvendo o metanol e o perclorato não coordenado. O átomo de nitrogênio N4 do ligante 2-CH, que pertence a uma rede polimérica participa de uma interação do tipo N4-H4...O1s, envolvendo o átomo de

oxigênio (O1s) da molécula de metanol. O átomo de oxigênio do solvente (O1s) também atua como átomo doador interagindo com o átomo de oxigênio (O6) do íon perclorato não coordenado, através de uma interação do tipo O1s–H1s...O6. Este ânion por sua vez participa de uma ligação de hidrogênio não clássica (C5–H5...O8), envolvendo o átomo de carbono C5 do ligante phen, que pertence à outra rede polimérica, como ilustra a Figura 31 e a Tabela 8. Também foram observadas interações intramoleculares (N–H...Cl) envolvendo os átomos de nitrogênio e cloro do ligante 2-CH, como mostra a Tabela 8.

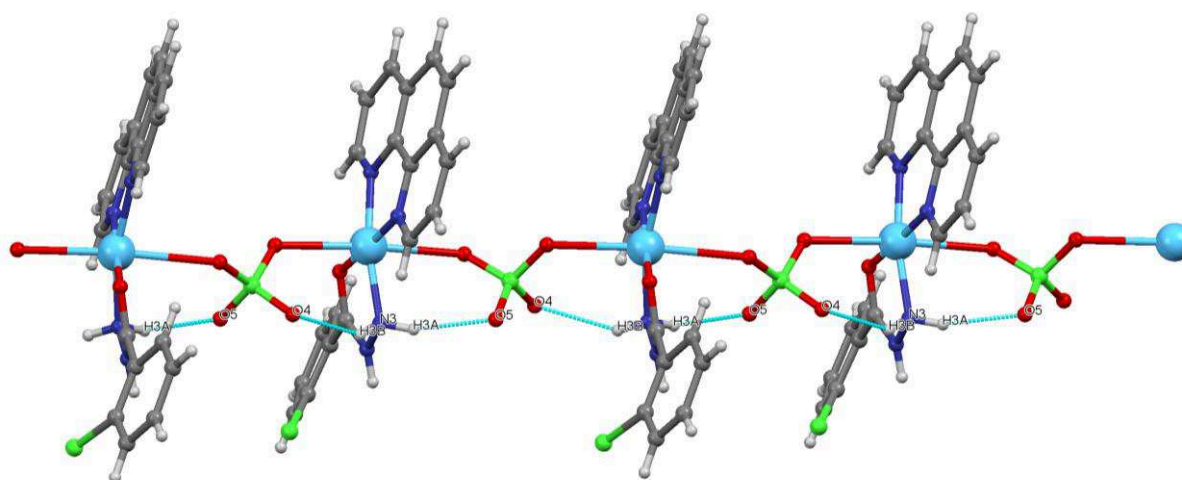
**Tabela 8:** Interações intra e intermoleculares presentes no cristal do complexo **9**.

Interação D–H...A	Distância (D–H) (Å)	Distância (H...A) (Å)	Distância (D...A) (Å)	Ângulo (DHA) (°)
O1S–H1S...O6 <sup>iii</sup>	0,82	2,21	2,854(9)	135,8
N4–H4...O1S	0,86	2,00	2,786(6)	151,8
C5–H5...O8	0,93	2,50	3,410(?)	167,0
N3–H3A...O5	0,89	2,12	2,953(5)	155,8
N3–H3B...O4 <sup>i</sup>	0,89	2,23	2,999(5)	144,5
N4–H4...Cl3	0,86	2,61	3,042(3)	112,0

i: 1+x, y, 1/2+z ; iii: -x, -1/2+y, 1/2-z.

Fonte: Dados da pesquisa.

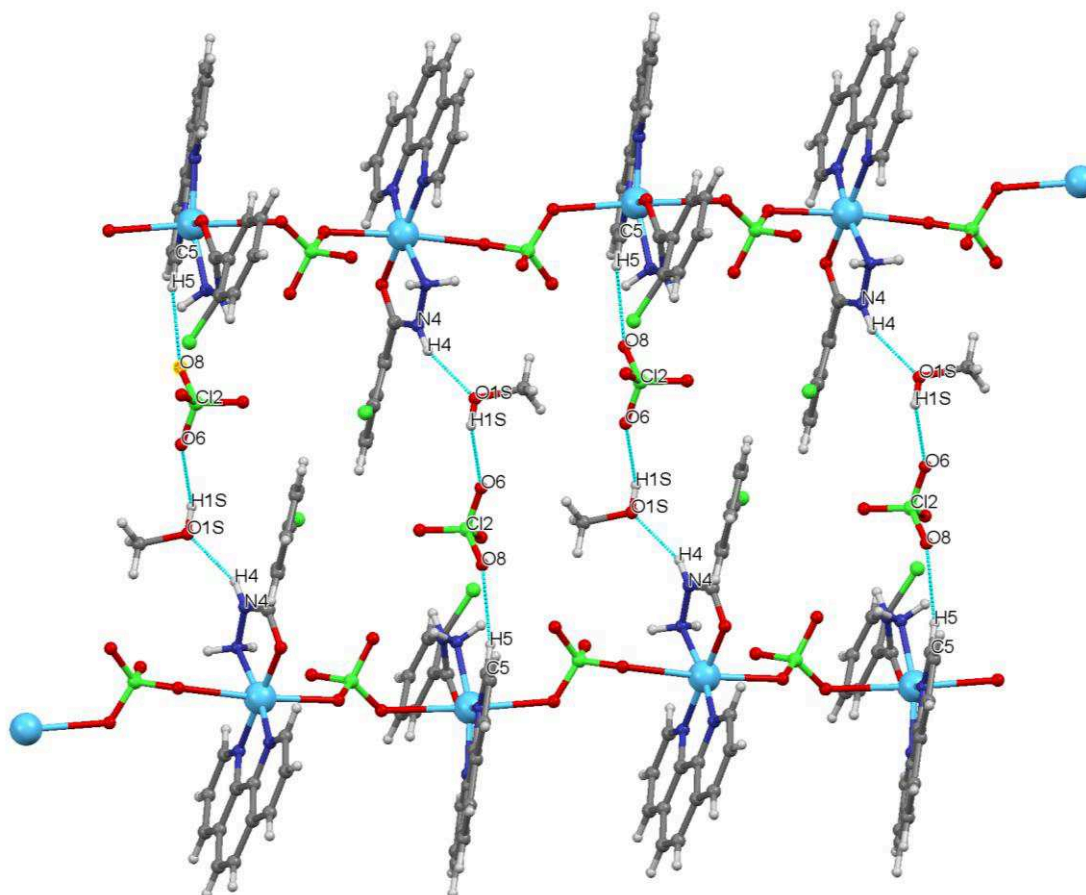
**Figura 30:** Representação MERCURY da rede polimérica e das interações N3–H3A...O5 e N3–H3B...O4, presentes no cristal do complexo **9**, ao longo do eixo *c*.



Fonte: Dados da pesquisa.



**Figura 31:** Representação MERCURY das interações N4–H4···O1S, O1S–H1S···O6 e C5–H5···O8 presentes no cristal do complexo **9**.



Fonte: Dados da pesquisa.

#### 4.4. Espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE)

Os complexos **1**, **2** e **3** foram caracterizados por Espectroscopia de ressonância paramagnética (RPE) no estado sólido e em soluções metanólicas congeladas (77 K). Esta técnica é empregada no estudo de complexos paramagnéticos, com um ou mais elétrons desemparelhados, oferecendo informações sobre a estrutura e a esfera de coordenação em torno do centro metálico, ou para indicar a presença de múltiplas espécies paramagnéticas (GARRIBBA, MICERA, 2006). O íon  $\text{Cu}^{2+}$  ( $d^9$ ) possui um elétron desemparelhado, com número quântico de spin total  $S=1/2$ , apresentando dois estados de spin possíveis ( $M_s = +1/2$  e  $-1/2$ ). Esses estados são degenerados na ausência de um campo magnético ( $\beta$ ). Quando o campo magnético é aplicado ocorre uma interação entre o elétron desemparelhado e o próprio campo

magnético provocando um desdobramento destes estados em diferentes níveis de energia (GARRIBBA, MICERA, 2006). A diferença de energia ( $\Delta E$ ) entre estes estados corresponde à região de micro-ondas do espectro eletromagnético e pode ser calculada pela equação:  $\Delta E = g\mu\beta$ , onde  $g$  é a constante giromagnética que depende da identidade da partícula e  $\mu$  é o momento magnético (KNOWLES *et al.*, 1976). Para um elétron livre  $g = 2,0023$ . Para um íon de metal o valor de  $g$  é diferente daquele observado para o elétron livre, devido ao acoplamento spin-órbita. No espectro de RPE são registradas as transições de spin entre os diferentes estados de energia que ocorrem devido ao suprimento da radiação de micro-ondas, assim o sistema permanece em ressonância (HOUSECROFT, SHARPE, 2013). No caso do íon  $\text{Cu}^{2+}$ , o elétron desemparelhado acopla-se ao próprio núcleo,  $^{63}\text{Cu}$  e  $^{65}\text{Cu}$ , originando dois padrões hiperfinos de quatro linhas sobrepostas, devido ao seu spin nuclear  $I=3/2$ . Desta forma, o espectro de RPE de um complexo de cobre(II) é composto por quatro linhas largas  $\{(2I + 1) = 2(3/2) + 1 = 4\}$  (ROMANOWSKI *et al.*, 2001). Estas linhas podem ser desdobradas pela interação do spin eletrônico com o spin nuclear de átomos vizinhos que apresentem momento magnético. Em íons metálicos paramagnéticos, o desdobramento dominante vem do próprio íon metálico chamado estrutura hiperfina (A) (HOUSECROFT, SHARPE, 2013).

A Figura 32 apresenta os espectros de RPE dos complexos **1**, **2** e **3** que foram realizados no estado sólido (a) e em soluções metanólicas congeladas a 77 K (b). Os complexos exibem parâmetros espectroscópicos similares, Tabela 9, uma vez que o ambiente químico ao redor do íon  $\text{Cu(II)}$  é muito semelhante para os três compostos.

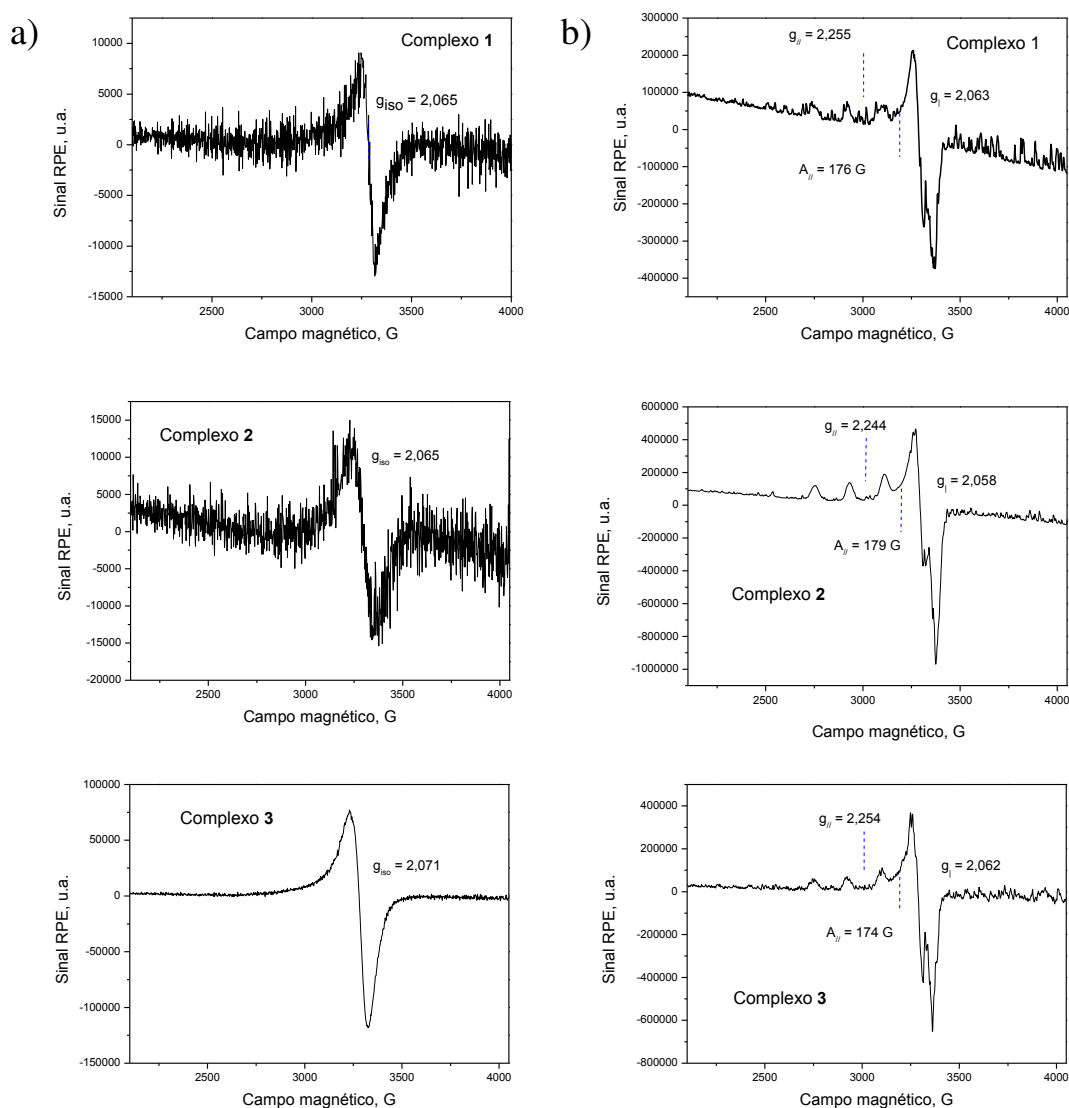
**Tabela 9:** Parâmetros de RPE para os complexos **1**, **2** e **3** no estado sólido e em soluções metanólicas congeladas (77 K).

Complexo	$g_{\text{iso}}^{\#}$	$g_{\perp}$	$g_{\parallel}$	$A_{\parallel}$ (G)	$A_{\parallel}$ ( $10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ) <sup>§</sup>	$g_{\parallel}/A_{\parallel}$ (cm)
<b>1</b>	2,065	2,063	2,255	176	185	122
<b>2</b>	2,065	2,058	2,244	179	188	119
<b>3</b>	2,071	2,062	2,254	174	183	123

<sup>#</sup>Estado sólido; <sup>§</sup>  $A_{\parallel}$  (em  $10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ) =  $g_{\parallel} \beta A_{\parallel}$  (em G) =  $0,46686 \times 10^{-4} g_{\parallel} A_{\parallel}$  (em G);  $\beta = 1,39969 \text{ MHz/G}$ .

Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 32:** Espectros de RPE para os complexos **1**, **2** e **3** no estado sólido (a) e em soluções metanólicas congeladas, 77 K (b).



Fonte: Dados da pesquisa.

No estado sólido, todos os compostos exibiram apenas um valor de  $g_{iso}$  variando de 2,065 a 2,071. Em solução, a ausência de sinais na região em torno de 1500G indica que não ocorrem interações magnéticas entre átomos de cobre ( $Cu \cdots Cu$ ), o que sugere a presença de espécies monoméricas (GARRIBBA, MICERA, 2006). A presença de quatro linhas no espectro de RPE é característica do íon  $Cu(II)$ , pois o sinal hiperfino sofre um desdobramento em  $n=4$ , ( $n= 2I + 1$ ), devido ao momento nuclear  $I = 3/2$ . O desdobramento hiperfino pode ser observado nos espectros RPE dos complexos **1**, **2** e **3** e os valores de  $A$  são de 176, 179 e 174 G, respectivamente.

Os sistemas que são anisotrópicos, mas tem simetria axial, apresentam dois eixos equivalentes ( $x$  e  $y$ ) que são diferentes do eixo principal ( $z$ ), este fato dá origem a dois valores de  $g$ , denominados  $g_{\parallel}$  e  $g_{\perp}$ , dependendo do alinhamento do eixo principal molecular com o campo magnético. Nos espectros de RPE para os complexos **1**, **2** e **3** observamos que valores de  $g$  seguem a ordem  $g_{\parallel} > g_{\perp} > 2,0023$  que são consistentes com a geometria octaédrica alongada segundo o eixo  $z$  (GARRIBBA, MICERA, 2006). Este comportamento é característico de uma simetria axial, típica de uma configuração  $d^9$  no estado fundamental, onde o elétron desemparelhado ocupa o orbital  $d_{x^2-y^2}$  (GARRIBBA, MICERA, 2006). Comparando o valor de  $g_{\parallel}$  dos complexos **1** e **2**, que possuem a mesma hidrazida, pode-se observar que o valor de  $g_{\parallel}$  igual a 2,255 para o composto **1** é maior do que para o composto **2** ( $g_{\parallel} = 2,244$ ), o que sugere uma diminuição na força do campo ligante no plano equatorial do composto **1**.

Nos complexos de cobre(II), a razão empírica  $g_{\parallel} / A_{\parallel}$  é frequentemente utilizada para avaliar a extensão da distorção tetraédrica em compostos com o ambiente tetragonal ao redor do metal. Os complexos exibem uma razão  $g_{\parallel} / A_{\parallel}$  com valores em torno de 120 cm, indicando um arranjo tetragonal dos ligantes em torno do íon Cu(II), com uma pequena distorção tetraédrica, como observado para compostos correlatos (SILVA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2014; ALMEIDA *et al.*, 2016)

#### 4.5. Espectrofotometria de absorção na região do UV-Vis e reflectância difusa

Os espectros eletrônicos na região do UV-Visível dos complexos e seus respectivos ligantes foram analisados no intervalo entre 200 e 800 nm, utilizando-se os solventes metanol ou acetonitrila de grau espectroscópico. Os comprimentos de onda de absorção máxima ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e absorvidade molar ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) para todos os compostos orgânicos são apresentados na Tabela 10 e de acordo com esta, os ligantes phen, bipy e dmb possuem bandas com altos coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon > 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ) entre 214 e 281 nm, que podem ser atribuídas às transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  e  $n \rightarrow \pi^*$  que são permitidas pelas regras de seleção (SHRIVER; ATKINS, 2008; INAMDAR, SHEELA, 2016, LOPES *et al.*, 2013; ALMEIDA *et al.*, 2015). Por sua vez, os ligantes hidrazidas apresentam duas bandas com valores de absorvidade molar variando entre  $10^3$  e  $10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ , sendo que a banda de maior energia pode ser

atribuída à transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  envolvendo o grupo carbonila (MOHANRAJ *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2014), enquanto que a banda de menor energia corresponde à transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  do anel aromático (SOUZA *et al.*, 2012; MAHALINGAM *et al.*, 2009). Uma exceção foi o ligante 2-CH que apresentou apenas uma banda em 215 nm, provavelmente, devido à combinação das duas transições mencionadas anteriormente.

**Tabela 10:** Atribuição das bandas observadas ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e valores de absorvidade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) dos ligantes utilizados neste estudo.

Composto	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{mol}^{-1} \text{L cm}^{-1}$ )	Transição
phen	229	$7,9 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$
	263	$5,1 \times 10^4$	
bipy	235	$8,0 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$
	281	$1,2 \times 10^4$	
dmb	214	$7,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$
	253 (ombro)	$1,8 \times 10^4$	
	275	$1,6 \times 10^4$	
4-FH	213	$7,0 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	277	$2,6 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (anel aromático)
4-NH	209	$2,2 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	262	$2,2 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (anel aromático)
BH	224	$2,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	271 (ombro)	$4,0 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (anel aromático)
2-CH	215	$9,8 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O e anel aromático)
4-CH	225	$1,6 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	239 (ombro)	$1,1 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (anel aromático)
2-MH	230	$8,6 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	286	$3,9 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (anel aromático)
4-MH	249	$3,5 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	298 (ombro)	$5,0 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (anel aromático)

Fonte: Dados da pesquisa.

As bandas de absorção observadas no espectro eletrônico de complexos metálicos na região do UV-Vis, são decorrentes de transições envolvendo elétrons entre níveis de energia diferentes, tais como, transições  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\pi \rightarrow \pi^*$  (intra-ligante),  $d-d$  ou de bandas de transferência de carga. A Tabela 11 ilustra as bandas de absorção observadas ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e os respectivos valores de absorvidade molar ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) obtidos para os complexos sintetizados neste estudo.

**Tabela 11:** Atribuição das bandas observadas ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) e valores de absorvidade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) dos complexos sintetizados neste estudo.

Complexo	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon$ ( $\text{mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ )	Transição
<b>1</b> ou Cu(4-FH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	220	$3,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	272	$3,5 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	293	$1,1 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	479		TCML
	640	$2,9 \times 10^1$	d-d
<b>2</b> ou Cu(4-FH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	229	$6,4 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	277	$1,8 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	286	$1,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	299	$1,4 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	474		TCML
	635	$2,6 \times 10^1$	d-d
<b>3</b> ou Cu(4-NH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	224	$4,8 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	272	$5,6 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	293	$2,2 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	471		TCML
	632	$3,5 \times 10^1$	d-d
<b>4</b> ou Cu(4-NH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	249	$3,0 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	298	$2,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	310	$2,4 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	474		TCML
	625	$1,3 \times 10^1$	d-d

<b>5</b> ou Cu(4-NH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	229	$8,4 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	287	$3,2 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	299	$2,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	476		TCML
	622	$7,1 \times 10^1$	d-d
<b>6</b> ou Cu(BH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	223	$3,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	271	$2,9 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	292 (ombro)	$9,0 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	606	$3,8 \times 10^1$	d-d
<b>7</b> ou Cu(BH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	238	$1,6 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	299	$9,7 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	310 (ombro)	$8,7 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	622	$2,6 \times 10^1$	d-d
<b>8</b> ou Cu(BH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	229	$5,8 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	277 (ombro)	$1,1 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	287 (ombro)	$1,0 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	299	$9,2 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	475		TCML
	623	$4,0 \times 10^1$	d-d
<b>9</b> ou Cu(2-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	224	$6,6 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	272	$4,4 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	295 (ombro)	$1,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	645	$2,8 \times 10^1$	d-d
<b>10</b> ou Cu(2-CH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	236 (ombro)	$1,9 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	297	$9,4 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	309	$7,8 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	626	$3,1 \times 10^1$	d-d
<b>11</b> ou Cu(2-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	228	$4,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	276 (ombro)	$7,8 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	286 (ombro)	$7,1 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	298	$6,1 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	476		TCML
625	$3,1 \times 10^1$	d-d	

<b>12</b> ou Cu(4-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	227	$4,2 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	271	$3,0 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	294 (ombro)	$1,1 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	633	$3,3 \times 10^1$	d-d
<b>13</b> ou Cu(4-CH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	243	$4,0 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	300	$1,9 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	310	$1,9 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	616	$4,1 \times 10^1$	d-d
<b>14</b> ou Cu(4-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	229	$5,7 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	286 (ombro)	$1,1 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	299	$9,5 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	640	$2,3 \times 10^1$	d-d
<b>15</b> ou Cu(2-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	225	$4,5 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	269	$2,6 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	294 (ombro)	$9,8 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	626	$4,3 \times 10^1$	d-d
<b>16</b> ou Cu(2-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	233 (ombro)	$3,0 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	297	$2,1 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	309 (ombro)	$1,9 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	622	$3,2 \times 10^1$	d-d
<b>17</b> ou Cu(2-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	228	$5,5 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	287 (ombro)	$1,1 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	298	$1,0 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	615	$5,1 \times 10^1$	d-d
<b>18</b> ou Cu(4-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	225 (ombro)	$3,3 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	266	$3,3 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	272	$3,2 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	293 (ombro)	$8,5 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	626	$3,9 \times 10^1$	d-d
<b>19</b> ou Cu(4-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	250	$1,8 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
	299	$1,1 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	309 (ombro)	$8,7 \times 10^3$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	610	$5,2 \times 10^1$	d-d



<b>20</b> ou	220	$1,8 \times 10^5$	$\pi \rightarrow \pi^*$ (C=O)
Cu(4-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	286 (ombro)	$7,0 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	299	$5,3 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ (intra-ligante)
	616	$4,1 \times 10^1$	d-d

Fonte: Dados da pesquisa.

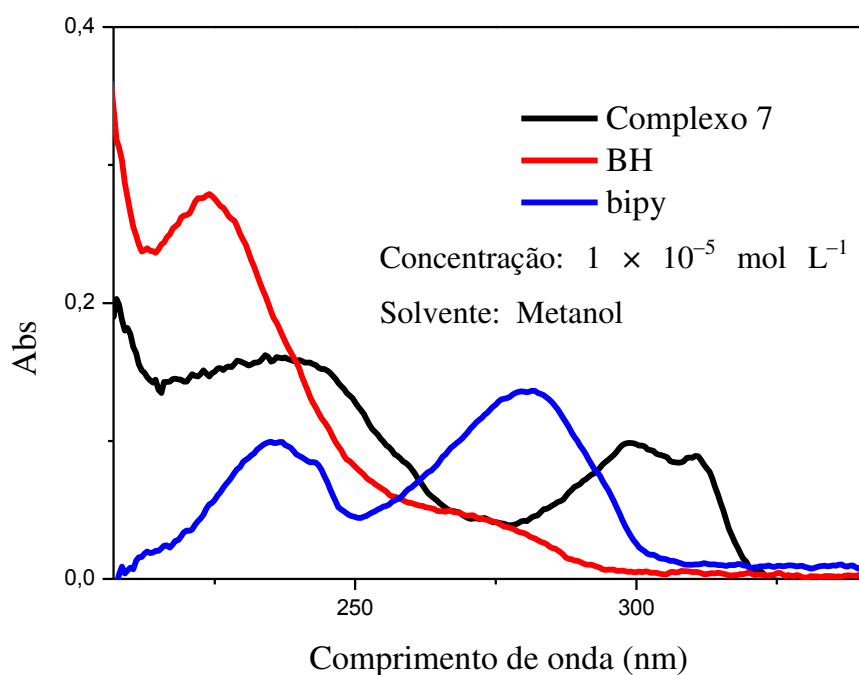
Considerando os dados da Tabela 11, em concentrações  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, todos complexos apresentaram três ou quatro bandas na região compreendida entre 220 e 310 nm. As bandas observadas entre 220 e 310 nm são atribuídas às transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  e  $n \rightarrow \pi^*$  das hidrazidas e bases heterocíclicas, como discutido anteriormente. Em soluções mais concentradas (aproximadamente  $1 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>) todos os complexos exibem uma banda assimétrica (efeito Jahn Teller), referente a transição eletrônica interna do tipo *d-d*, na região entre 606-645 nm dependendo do complexo. No estado sólido, essa banda ocorre no intervalo entre 574-622 nm, e em alguns casos, observou-se também uma banda de transferência de carga em torno de 480 nm.

Para melhor compreensão, a Figura 33 ilustra os espectros de absorção do complexo **7** e seus respectivos ligantes, em concentrações  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> utilizando o solvente metanol. Como pode ser verificado, o espectro do complexo **7** apresentou bandas em 238, 299 e 310 nm. Quando correlacionamos este espectro com o de seus respectivos ligantes livres podemos inferir que a banda em 281 nm (bipy), também foi observada no complexo **7**, porém foi deslocada para 299 nm. Por sua vez, as bandas em 224 e 271 nm (BH), também foram observadas no complexo, porém deslocadas para 238 e 310 nm, respectivamente. Estes deslocamentos confirmam a coordenação dos ligantes ao centro metálico e sugere a participação do grupo C=O na esfera de coordenação.

O íon cobre(II) livre, configuração  $d^9$ , possui nove elétrons distribuídos em cinco orbitais *d* degenerados. Quando estes orbitais são submetidos à influência de um campo ligante, ocorre um desdobramento em diferentes níveis de energia. A Figura 34 ilustra o diagrama de desdobramento dos orbitais *d* em diferentes níveis de energia, de acordo com as diferentes geometrias. Este desdobramento favorece a ocorrência das transições *d-d*, que são características de metais com subcamada *d* não totalmente preenchida. Estas transições são

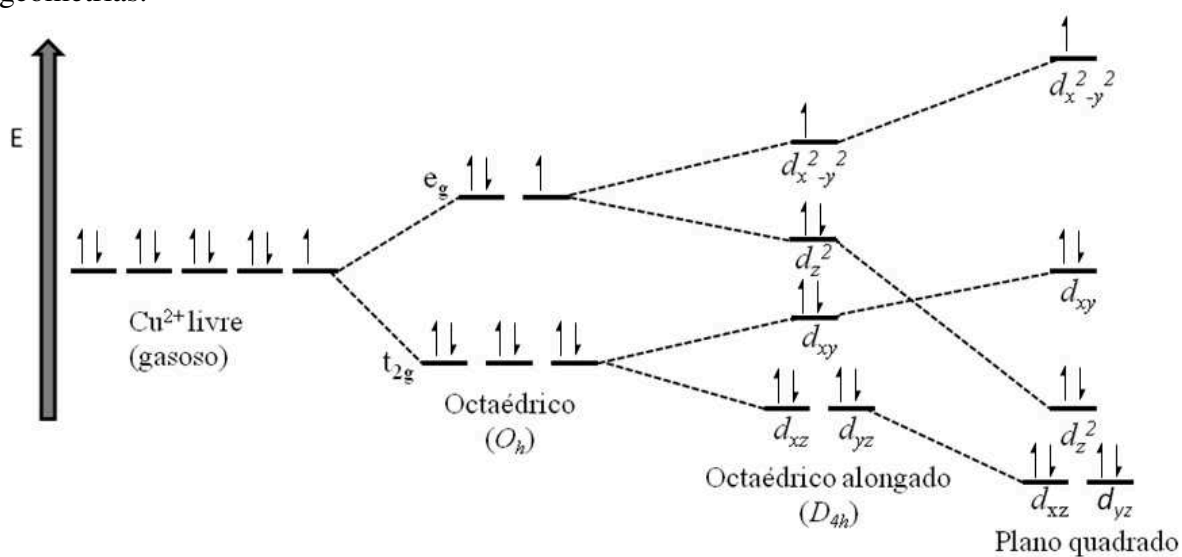
facilmente reconhecidas em um espectro eletrônico, pois geram bandas largas e de baixa intensidade ( $\epsilon \approx 10$  a  $10^2 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ) (SHRIVER; ATKINS, 2008).

**Figura 33:** Espectros de absorção do complexo **7** e seus respectivos ligantes, em concentrações  $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  utilizando o solvente metanol.



Fonte: Dados de pesquisa.

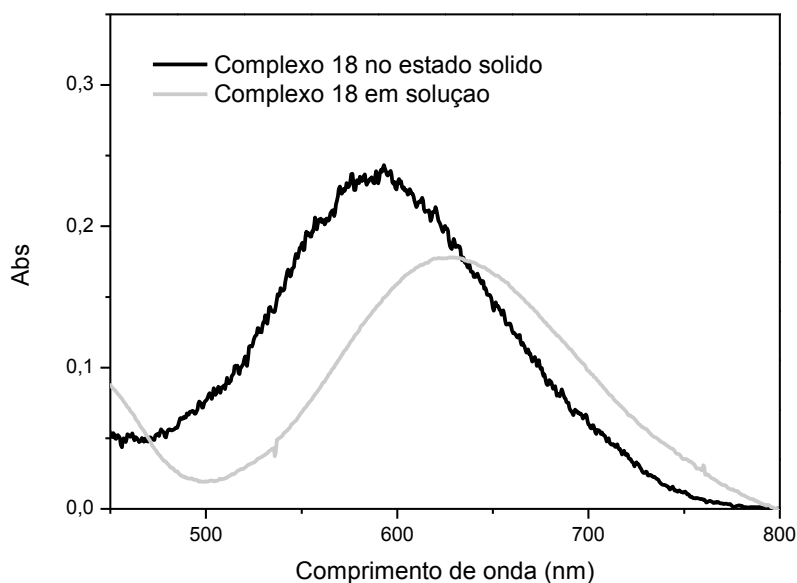
**Figura 34:** Diagrama de desdobramento dos níveis de energia dos orbitais d, em diferentes geometrias.



Fonte: A autora.

A Figura 35 apresenta as transições do tipo  $d-d$ , no estado sólido e em solução, que foram observadas para o complexo **18**. O espectro do complexo **18** em solução metanólica ( $5,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) exibiu uma banda  $d-d$  assimétrica centrada em 626 nm, com  $\epsilon = 3,9 \times 10^1 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ . No estado sólido (reflectância difusa), esta banda encontra-se centrada em 588 nm. Com a mudança do estado sólido para solução, observamos que a banda  $d-d$  desloca-se para maiores comprimentos de onda, indicando que a geometria no estado sólido difere daquela observada em solução, como verificado por outras técnicas. Esse fato pode ser explicado pela substituição do ligante axial (perclorato) por uma molécula solvente, pois o perclorato é um ligante fraco (SHRIVER; ATKINS, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2015; LOPES *et al.*, 2013;). Além disso, com base nos valores de comprimento de onda próximos a 600 nm, podemos inferir que no estado sólido o complexo esteja hexacoordenado, apresentando uma geometria octaédrica tetragonalmente distorcida (HATHAWAY, TOMLINSON, 1970; SILVA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2014).

**Figura 35:** Espectros de absorção do complexo **18**, no estado sólido e em solução metanólica ( $5,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ).



Fonte: Dados de pesquisa.

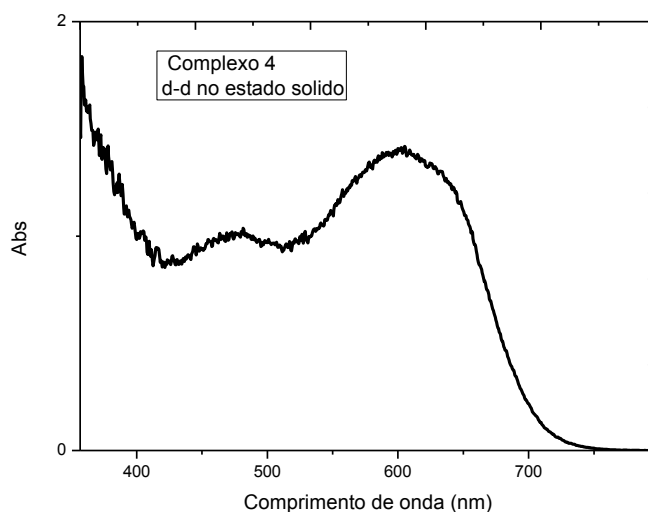
A energia associada ao desdobramento dos orbitais  $d$ , ilustrados na Figura 34, é fortemente influenciada pela natureza do ligante (série espectroquímica), pelo estado de

oxidação do metal e pela geometria em torno do íon metálico. Desse modo os complexos contendo ligantes de campo forte apresentam bandas  $d-d$  com valores de comprimento de onda menores do que aqueles contendo ligantes de campo fraco (SHRIVER; ATKINS, 2008). Como os complexos em estudo apresentam a mesma geometria e o mesmo estado de oxidação do metal é possível avaliar a contribuição de cada classe de ligante, presente no plano equatorial, para a posição da banda  $d-d$ . Para os complexos octaédricos a separação de energia entre os orbitais aumenta juntamente com a série espectroquímica de ligantes, assim é esperado que os complexos contendo o ligante phen (campo + forte) apresentem bandas  $d-d$  com valores de comprimento de onda menores do que aqueles contendo os ligantes bipy ou dmb (campo ligeiramente + fraco) (HOUSECROFT, SHARPE, 2013; MAQSOOD *et al.*, 2013). De fato, este comportamento foi observado para os complexos **6**, **7** e **8** indicando que o efeito causado pela natureza do ligante hidrazida BH, é menos pronunciável do que o efeito causado pelas bases heterocíclicas. Para os demais complexos essa tendência não foi observada, indicando que as hidrazidas contribuem mais fortemente para a separação de energia entre os orbitais e, conseqüentemente para a posição da banda  $d-d$ , como previamente reportado na literatura (SILVA *et al.*, 2014). Por exemplo, para os complexos contendo as hidrazidas 2-CH, 2-MH e 4-NH, o comprimento de onda das bandas  $d-d$  apresentou uma tendência inversa em relação aos complexos com a BH, ou seja, phen > bipy > dmb. Este comportamento pode ser explicado pela diminuição na força do campo ligante no plano equatorial, que é causado pela hidrazida. Isto corresponderia, então, a uma superposição mais fraca dos orbitais dos átomos da hidrazida com os orbitais do íon  $\text{Cu}^{2+}$ . Para os complexos contendo phen, o comprimento de onda das bandas  $d-d$  apresentou a tendência 4-FH>4-NH>2-CH>4-CH>2-MH≈4-MH>BH, indicando que a força do campo ligante das hidrazidas aumenta de acordo com a seqüência inversa. Este comportamento pode ser justificado pela presença dos substituintes no anel aromático, uma vez que os ligantes  $\pi$ -doadores, contribuem para o aumento da doação  $\pi$  e a estabilização do nível  $t_{2g}$ , dessa forma diminui a separação de energia entre os orbitais e conseqüentemente aumenta o comprimento de onda da banda  $d-d$ .

No estado sólido, também foram observadas as bandas de transferência de carga em alguns complexos. As bandas de transferência de carga do metal para o ligante (TCML) geralmente acontece em complexos metálicos que possuem um ligante com orbital  $\pi^*$  de baixa energia vazio, tais como os ligantes aromáticos heterocíclicos phen e bipy (HOUSECROFT, SHARPE, 2013; ALMEIDA *et al.*, 2015; LOPES *et al.*, 2013). Em alguns complexos foi observada uma banda TCML na região compreendida entre 470-480 nm, como

mostra a Tabela 11. No estado sólido, o espectro de absorção do complexo **4** (Figura 36) apresentou uma banda TCML em torno de 474 nm. Este comportamento não foi observado para todos os complexos, pois a banda de TCML pode ser encoberta pela transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  que ocorre no ligante heterocíclico (HOUSECROFT, SHARPE, 2013).

**Figura 36:** Espectros de absorção do complexo **4** no estado sólido.



Fonte: Dados da pesquisa.

#### 4.6. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os ligantes utilizados neste trabalho foram caracterizados por espectroscopia no infravermelho para posterior comparação com os respectivos complexos isolados, na tentativa de atribuir o modo de coordenação.

Para as bases heterocíclicas, as bandas mais energéticas presentes na região entre  $1647$  e  $1550\text{ cm}^{-1}$  são características do estiramento simétrico e assimétrico da ligação  $\text{C}=\text{C}$  do anel aromático, enquanto que as absorções encontradas próximas a  $1430\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento  $\text{C}-\text{N}$ . As bandas observadas na região próxima a  $3100\text{ cm}^{-1}$  são provenientes dos estiramentos da ligação  $\text{C}-\text{H}$ , enquanto que as absorções encontradas nas proximidades de  $3000$ ,  $1140$  e  $810\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas às deformações axiais e angulares dentro e fora do plano do anel aromático, respectivamente. Para o ligante dmb, duas bandas encontradas em  $1432$  e  $1025\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas aos estiramentos do grupo metóxi. Estas atribuições estão

condizentes com os dados da literatura (AWAD *et al.*, 2010; FIRDAUS *et al.*, 2008; NAKAMOTO, 1997).

As hidrazidas têm a capacidade de coordenar prontamente a muitos metais de transição, pois apresentam três átomos doadores (C=O, NH<sub>2</sub> e NH), assim a ligação com os metais de transição pode ocorrer através de um único átomo doador (forma monodentada) ou através de dois átomos doadores simultaneamente (forma bidentada) (FONTES *et al.*, 2004; ROTH *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2013a; SOUZA *et al.*, 2013b; SATHYADEVI *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2015). Estes ligantes apresentam, em geral, duas absorções características no intervalo 3372-3200 cm<sup>-1</sup>, que correspondem aos estiramentos (simétrico e assimétrico) do grupo NH<sub>2</sub>. Absorções encontradas entre 1590-1550 cm<sup>-1</sup> são atribuídas à deformação angular do grupo NH<sub>2</sub>. As bandas na região compreendida entre 1668-1645 cm<sup>-1</sup> são atribuídas às frequências vibracionais do grupo C=O (NAKAMOTO, 1997). Estas atribuições são de grande relevância para o entendimento do modo de coordenação das hidrazidas, que pode ser mono ou bidentado, como mencionado anteriormente. A Tabela 12 ilustra as principais atribuições observadas.

**Tabela 12:** Atribuições de alguns modos vibracionais, infravermelho, para o ligante e os seus respectivos complexos.

Composto	OH (cm <sup>-1</sup> )	vNH <sub>2</sub> (cm <sup>-1</sup> )	vNH (cm <sup>-1</sup> )	vC=O (cm <sup>-1</sup> )	vC-H <sub>ar</sub> (cm <sup>-1</sup> )	Outras bandas (cm <sup>-1</sup> )
phen	—	—	—	—	3057f	
bipy	—	—	—	—	3105f	
dmb	—	—	—	—	3103f	
4-FH	—	3306f	3205f	1665m	3081f	v(C-O) 1223m v(C-F) 1037m
<b>1</b>	—	3258f	3201f	1656m	3070f	v(C-O) 1223m v(C-F) 1038m

<b>2</b>	3600f	3245f	3095f	1668m	3000f	v(C-O)1227m v(C-F) 1045m
4-NH	—	3331f	3104f	1646m	3104f	v(NO <sub>2</sub> ) <sup>a</sup> 1343 m v(NO <sub>2</sub> ) <sup>s</sup> 1317m
<b>3</b>	3506f	3233f	3167f	1653m	3092f	v(NO <sub>2</sub> ) <sup>a</sup> 1348m v(NO <sub>2</sub> ) <sup>s</sup> 1321m
<b>4</b>	3531f	3231f	3164f	1653m	3086f	v(NO <sub>2</sub> ) <sup>a</sup> 1346m v(NO <sub>2</sub> ) <sup>s</sup> 1323m
<b>5</b>	3600f	3243f	3178f	1653m	3082f	v(NO <sub>2</sub> ) <sup>a</sup> 1344m v(NO <sub>2</sub> ) <sup>s</sup> 1321m
BH	—	3298m	3196m	1659m	3052f	—
<b>6</b>	3573f	3242	3155f	1646m	3076f	—
<b>7</b>	3577m	3255m	3175f	1645m	3079f	—
<b>8</b>	3560m	3230m	3194f	1653i	3083f	—
2-CH	—	3277i	3185m	1641i	3024f	v(C-Cl) 649i
<b>9</b>	—	3246f	3173f	1653m	3073f	v(C-Cl) 654i
<b>10</b>	—	3219m	3125f	1651m	3091f	v(C-Cl) 650i
<b>11</b>	—	3222m	3127m	1654i	3086f	v(C-Cl) 620i
4-CH	—	3311m	3191m	1660i	3008f	v(C-Cl) 672i
<b>12</b>	3527f	3241m	3167m	1646i	3094f	v(C-Cl) 650i

<b>13</b>	3544f	3241f	3164f	1644i	3084f	v(C-Cl) 649i
<b>14</b>	3619f	3228m	3195f	1654i	3086f	v(C-Cl) 623i
2-MH	—	3372m	3217m	1653i	2975f	v(C-O) 1237i
<b>15</b>	3595f	3248m	3195f	1633m	3079f	v(C-O)1246m
<b>16</b>	3505m	3258m	3185f	1653m	3091f	v(C-O)1251m
<b>17</b>	3619m	3234m	3123f	1652i	3092f	v(C-O)1248m
4-MH	—	3314m	3191f	1650m	3059f	v(C-O)1252i
<b>18</b>	3578m	3246m	3169f	1647i	3092f	v(C-O)1240m
<b>19</b>	—	3233m	3156f	1652i	3087f	v(C-O)1247m
<b>20</b>	3604f	3246m	3199f	1651i	3088f	v(C-O)1259m

f=fraca; i=intensa; m=média; a= assimétrica; s=simétrica; ar=aromático.

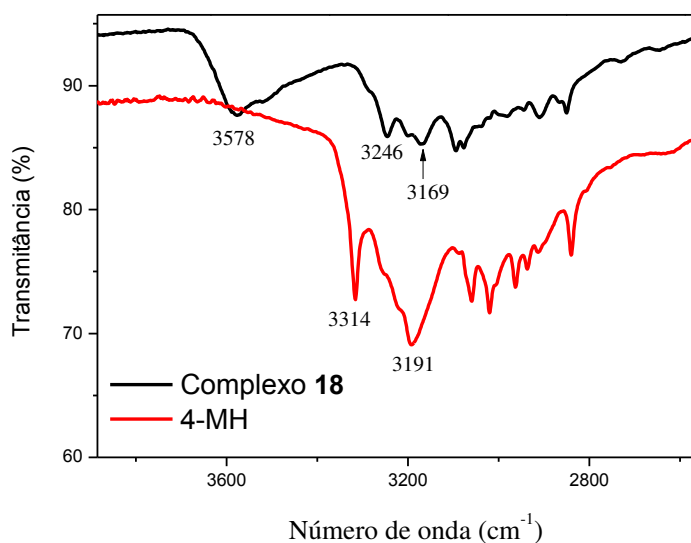
Fonte: Dados de pesquisa.

Em alguns complexos, bandas largas na região próxima a  $3550\text{ cm}^{-1}$ , indicam a presença de moléculas de água. Comparando o espectro de um determinado complexo com os espectros de seus respectivos ligantes, nota-se que as bandas atribuídas aos estiramentos do grupo  $\text{NH}_2$  sofrem um deslocamento significativo, o que indica a participação do nitrogênio ( $\text{NH}_2$ ) na coordenação ao íon metálico. As bandas referentes ao estiramento do grupo  $\text{NH}$ , também sofrem um deslocamento, porém menos significativo. Estes deslocamentos podem ser observados na Figura 37, que apresentam os espectros sobrepostos para o complexo **18** e o ligante 4-MH.

Adicionalmente, as bandas referentes ao grupo  $\text{C}=\text{O}$  também estão deslocadas, Figura 38, mas com variações menos acentuadas. Assim podemos sugerir que esta mudança é consequência do envolvimento da carbonila na coordenação, conforme observado nos dados de difração de raios X. Desta forma, conclui-se que as hidrazidas apresentam um comportamento bidentado perante o íon  $\text{Cu(II)}$ , de acordo com estudos prévios (FONTES *et al.*, 2004; ROTH *et al.*, 2014).

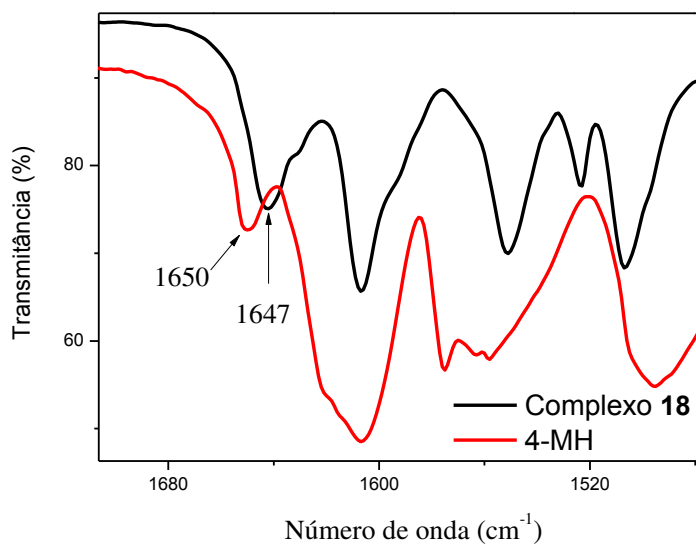


**Figura 37:** Espectros no infravermelho para o complexo **18** e o ligante 4-MH, na região próxima a 3300  $\text{cm}^{-1}$ .



Fonte: Dados de pesquisa.

**Figura 38:** Espectros no infravermelho para o complexo **18** e seus respectivos ligantes, na região próxima a 1600  $\text{cm}^{-1}$ .



Fonte: Dados de pesquisa.

Completando a esfera de coordenação, tem-se o perclorato. O íon perclorato livre pertence ao grupo pontual tetraédrico ( $T_d$ ) e apresenta dois estados fundamentais ativos no

infravermelho. Geralmente, este íon coordena ao metal quando a síntese do complexo é realizada em solventes não aquosos. Apesar de ser um fraco coordenante, ele apresenta dois modos de coordenação ao metal: mono ou bidentado. Quando coordenado ao centro metálico, ocorre uma diminuição da simetria deste ânion de  $T_d$  para  $C_{3v}$  (monodentado) ou para  $C_{2v}$  (bidentado). Como resultado do abaixamento de simetria as vibrações antes degeneradas são agora desdobradas (NAKAMOTO, 1997). A Tabela 13 mostra que as bandas ativas no espectro de infravermelho do perclorato não coordenado exibem dois modos vibracionais de  $T_2$  (triplamente degenerado) que são encontrados em duas regiões 1100 e 620  $\text{cm}^{-1}$ . Quando coordenado de modo monodentado (simetria  $C_{3v}$ ), cada um destes modos são desdobrados em duas bandas ativas no infravermelho,  $A_1$  e  $E$ . Na coordenação bidentada (simetria  $C_{2v}$ ) o modo  $E$  é desdobrado em duas bandas,  $B_1$  e  $B_2$ , sugerindo a presença de três bandas ativas no infravermelho (LEWIS *et al.*, 1975). Assim, o comportamento dos íons percloratos nos complexos pode ser inferido pelas frequências dos estiramentos Cl-O, uma vez que os complexos contendo perclorato coordenado podem ser distinguidos daqueles não coordenados pela presença de uma segunda banda nas proximidades de 620  $\text{cm}^{-1}$  e duas ou três bandas na região próxima a 1100  $\text{cm}^{-1}$ . Os complexos em estudo apresentaram duas ou três bandas intensas entre 1120 e 1045  $\text{cm}^{-1}$  que são atribuíveis à presença de dois grupos perclorato coordenados, também verificados nas estruturas de dois complexos (**1** e **9**) que tiveram suas estruturas determinadas por difração de raios X. Em alguns complexos, bandas fracas encontradas no intervalo de 500-400  $\text{cm}^{-1}$ , podem ser atribuídas aos estiramentos Cu-O e Cu-N (NAKAMOTO, 1997).

**Tabela 13:** Considerações gerais para o espectro de infravermelho do grupo perclorato.

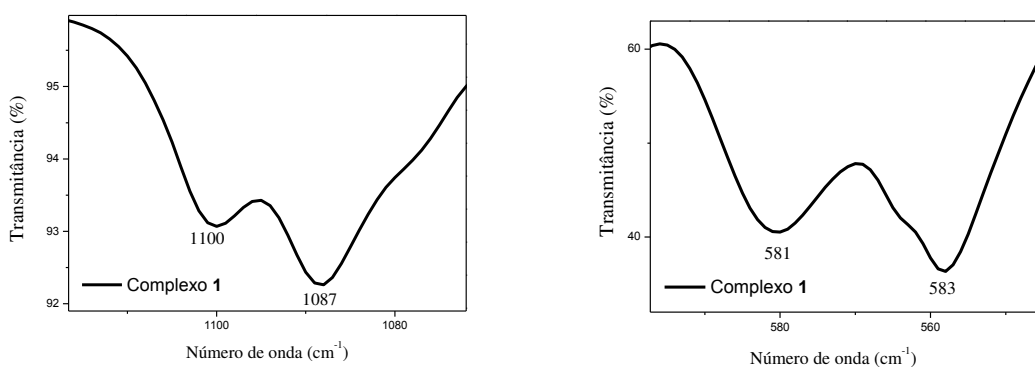
Simetria	Tipo de interação	Região (~ 1100 $\text{cm}^{-1}$ )	Região (~ 620 $\text{cm}^{-1}$ )
$T_d$	Não coordenado	$T_2$	$T_2$
$C_{3v}$	Monodentado	$A_1 + E$	$A_1 + E$
$C_{2v}$	Bidentado	$A_1 + B_1 + B_2$	$A_1 + B_1 + B_2$

Fonte: Adaptado de LEWIS *et al.*, 1975.

As Figuras 39 e 40 ilustram os espectros no infravermelho para os complexos **1** e **9** (nas regiões próximas a 1100 e 620  $\text{cm}^{-1}$ ), respectivamente. O complexo **1** apresenta duas bandas na região próxima a 1100  $\text{cm}^{-1}$  (1100 e 1087  $\text{cm}^{-1}$ ) e duas bandas na região próxima a

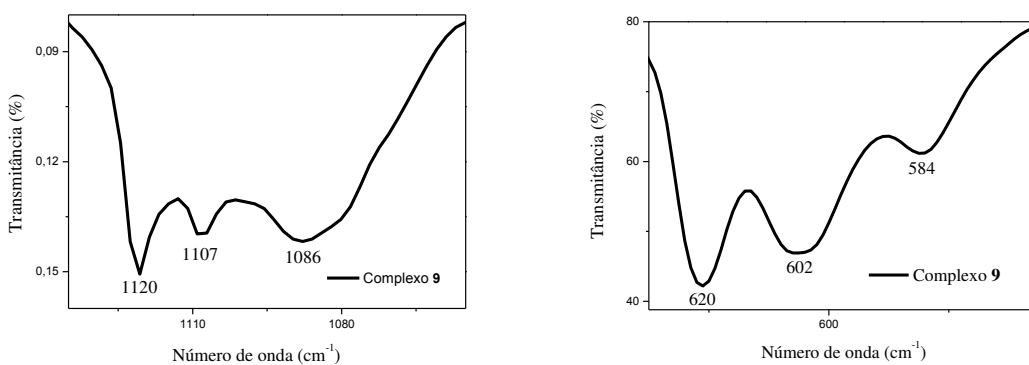
$620\text{ cm}^{-1}$  ( $581$  e  $553\text{ cm}^{-1}$ ) sugerindo um comportamento monodentado dos dois grupos percloratos, como observado na estrutura cristalina deste composto. Já o complexo **9** apresenta três bandas na região próxima a  $1100\text{ cm}^{-1}$  ( $1120$ ,  $1107$  e  $1086\text{ cm}^{-1}$ ) e três bandas na região próxima a  $620\text{ cm}^{-1}$  ( $620$ ,  $602$  e  $584\text{ cm}^{-1}$ ) sugerindo um comportamento bidentado do grupo perclorato, como verificado na estrutura cristalina deste composto. Os complexos **8** e **11** também apresentaram três bandas na região próxima a  $620\text{ cm}^{-1}$ , como mostra a Tabela 14, dessa forma é possível inferir que nestes compostos o grupo perclorato atua como ligante bidentado, como observado para o complexo **9**. Nessa mesma região, os demais complexos apresentaram duas bandas, Tabela 14, sugerindo um comportamento monodentado dos grupos percloratos, como verificado para o complexo **1**.

**Figura 39:** Espectros no infravermelho para o complexo **1**, nas regiões próximas a  $1100$  e  $620\text{ cm}^{-1}$ .



Fonte: Dados de pesquisa.

**Figura 40:** Espectros no infravermelho para o complexo **9**, nas regiões próximas a  $1100$  e  $620\text{ cm}^{-1}$ .



Fonte: Dados de pesquisa.

**Tabela 14:** Atribuição dos números de onda referente ao  $\nu_{\text{Cl-O}}$ , na região próxima a  $620 \text{ cm}^{-1}$ , para os complexos **1-20**.

Complexo	Vibração	$\nu_{\text{Cl-O}} (\text{cm}^{-1})$
<b>1</b> ou Cu(4-FH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	$A_1 + E$	581 e 553
<b>2</b> ou Cu(4-FH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	581 e 564
<b>3</b> ou Cu(4-NH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	615 e 586
<b>4</b> ou Cu(4-NH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	617 e 587
<b>5</b> ou Cu(4-NH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	610 e 586
<b>6</b> ou Cu(BH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	623 e 581
<b>7</b> ou Cu(BH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	613 e 575
<b>8</b> ou Cu(BH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	$A_1 + B_1 + B_2$	621, 590 e 577
<b>9</b> ou Cu(2-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	$A_1 + B_1 + B_2$	620, 602 e 584
<b>10</b> ou Cu(2-CH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	$A_1 + E$	620 e 583
<b>11</b> ou Cu(2-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	$A_1 + B_1 + B_2$	588, 578 e 533
<b>12</b> ou Cu(4-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	618 e 593
<b>13</b> ou Cu(4-CH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	618 e 603
<b>14</b> ou Cu(4-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	590 e 582
<b>15</b> ou Cu(2-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	618 e 603
<b>16</b> ou Cu(2-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	617 e 608
<b>17</b> ou Cu(2-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	619 e 599
<b>18</b> ou Cu(4-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	625 e 611
<b>19</b> ou Cu(4-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	$A_1 + E$	619 e 582
<b>20</b> ou Cu(4-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	$A_1 + E$	625 e 619

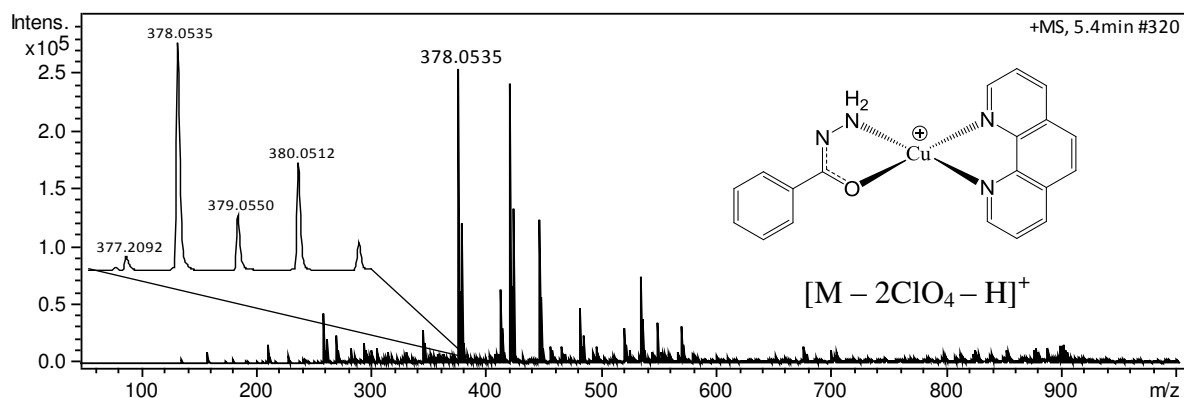
Fonte: Dados de pesquisa.

#### 4.7. Espectrometria de massas em alta resolução com ionização por *electrospray* (HRESIMS)

Os complexos sintetizados foram analisados por espectrometria de massas em alta resolução utilizando metanol e água na proporção 9:1 ou 7:3, v/v. Os espectros foram registrados no modo positivo e podem ser observados no anexo C. Durante o processo de ionização, as moléculas de água (sugeridas como de hidratação), presentes originalmente na maioria dos complexos, foram dissociadas e não foram, portanto consideradas para o cálculo

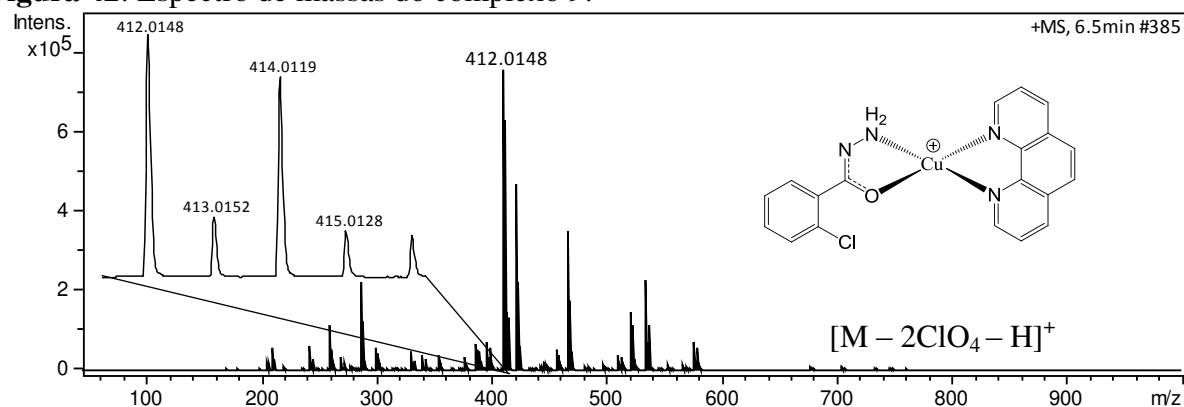
dos complexos carregados. Os valores de  $m/z$  listados na Tabela 15 são referentes ao isótopo  $^{63}\text{Cu}$ , que apresenta abundância isotópica de 69,15%. Os espectros de massas (EMs) registrados para todos os complexos estão de acordo com as estruturas propostas, sendo possível observar a presença dos sinais referentes às espécies  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$ , o que indica a perda dos ligantes percloratos. Este resultado corrobora com o fato de que a esfera de coordenação do íon cobre em solução é diferente daquela encontrada no estado sólido, devido à labilização dos ligantes axiais, como verificado pelos dados de condutimetria e RPE. Na seqüência são apresentados os EMs do complexo **6** (Figura 41), que permitiu observar o sinal de  $m/z$  378,0535  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$ , calculado para  $[\text{CuC}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}]^+$ , 378,0536 ( $\Delta - 0,26$  ppm), e do complexo **9** (Figura 42), que permitiu observar o sinal de  $m/z$  412,0148  $[\text{M} - 2\text{ClO}_4 - \text{H}]^+$ , calculado para  $[\text{CuC}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OCl}]^+$ , 412,0147 ( $\Delta 0,24$  ppm). Na Tabela 15 estão descritos os sinais de  $m/z$  referentes aos complexos carregados observados nos EMs dos complexos **1–20**, assim como os seus respectivos valores de  $m/z$  teórico.

**Figura 41:** Espectro de massas do complexo **6**.



Fonte: Dados de pesquisa.

**Figura 42:** Espectro de massas do complexo **9**.



Fonte: Dados de pesquisa.

**Tabela 15:** Valores de  $m/z$  teórico e experimental obtidos para os complexos carregados observados nos EMs dos compostos **1–20**.

Composto	Complexo carregado	$m/z$ experimental	$m/z$ teórico	Erro (ppm)
1	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	426,0555	426,0548	1,60
2	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	462,0760	462,0759	0,20
3	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	423,0399	423,0387	2,80
4	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	399,0393	399,0387	1,50
5	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	459,0606	459,0598	1,70
6	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	378,0535	378,0536	-0,26
7	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	354,0534	354,0536	-0,56
8	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	414,0752	414,0748	0,96
9	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	412,0148	412,0147	0,24
10	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	388,0150	388,0147	0,77
11	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	448,0356	448,0358	-0,44
12	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	412,0148	412,0147	0,24
13	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	388,0148	388,0147	0,25
14	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	448,0357	448,0358	-0,22
15	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	408,0641	408,0642	-0,24
16	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	384,0642	384,0642	0,00
17	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	444,0854	444,0853	0,22
18	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	408,0643	408,0642	0,24
19	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	384,0648	384,0648	0,00
20	$[M - 2ClO_4 - H]^+$	444,0851	444,0853	-0,45

Fonte: Dados de pesquisa.

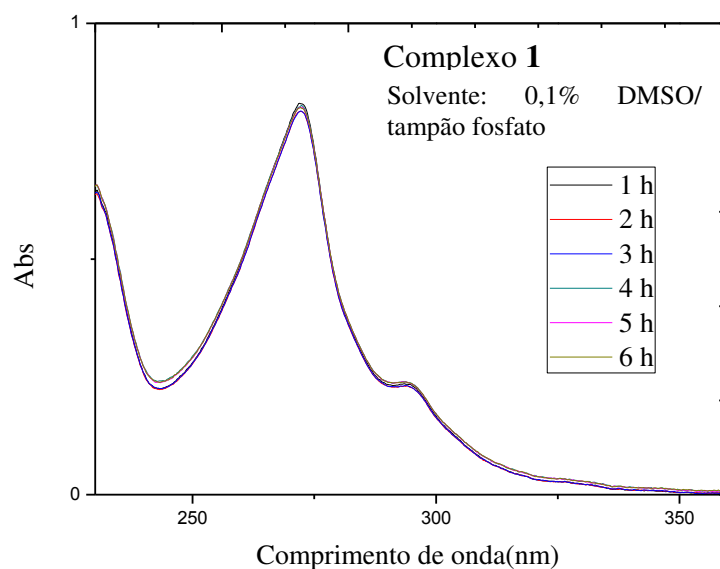
#### 4.8. Comportamento em solução aquosa

A estabilidade é um parâmetro crucial para o desenvolvimento de novos metalofármacos, e até o momento este tipo de estudo ainda não foi reportado para esta classe de compostos. A importância deste procedimento é baseada no fato da maioria dos quimioterápicos serem administrados em solução por via intravenosa. Para os complexos em estudo, a espécie encontrada em solução é diferente daquela observada no estado sólido,

como esperado e relatado na discussão de condutividade molar. Desta forma torna-se necessário analisar a estabilidade dos complexos em estudo em solução aquosa.

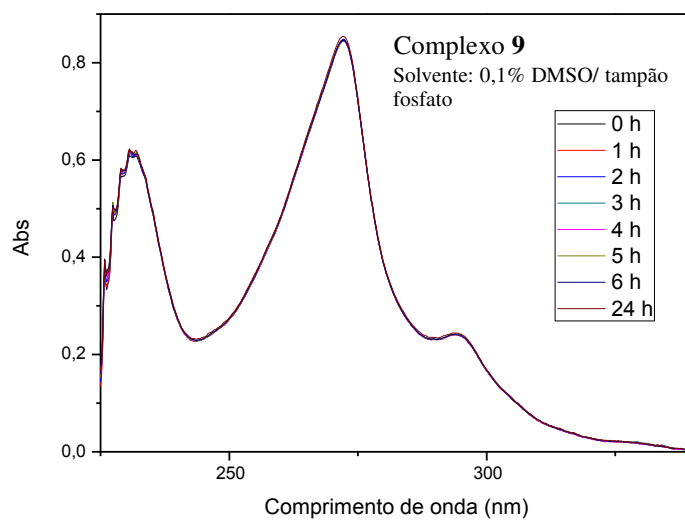
Na tentativa de avaliar a estabilidade dos complexos sintetizados, o comportamento em solução aquosa dos compostos **1**, **9**, **12** e **20** foi avaliado por espectroscopia UV-Vis em diferentes intervalos de tempo utilizando uma mistura de tampão fosfato / DMSO 0,1%. A mistura é justificada devido ao fato de o DMSO ter sido utilizado nos testes biológicos. Os valores de absorbância e comprimento de onda (Figuras 43-46) não foram afetados, mesmo após 6h, como observado para complexos de cobre(II), descritos na literatura (ANNARAJ *et al.*, 2016; HOSSEINI-YAZDI *et al.*, 2017; DEHKHODAEI *et al.*, 2017). Estes resultados indicam que as espécies  $[\text{Cu}(\text{N-O})(\text{N-N})]^{2+}$  permanecem intactas em solução sob as condições de ensaio, indicando que o potencial biológico observado é proveniente destas espécies.

**Figura 43:** Espectros de absorção na região do UV-Vis para o complexo **1**, em diferentes intervalos de tempo.



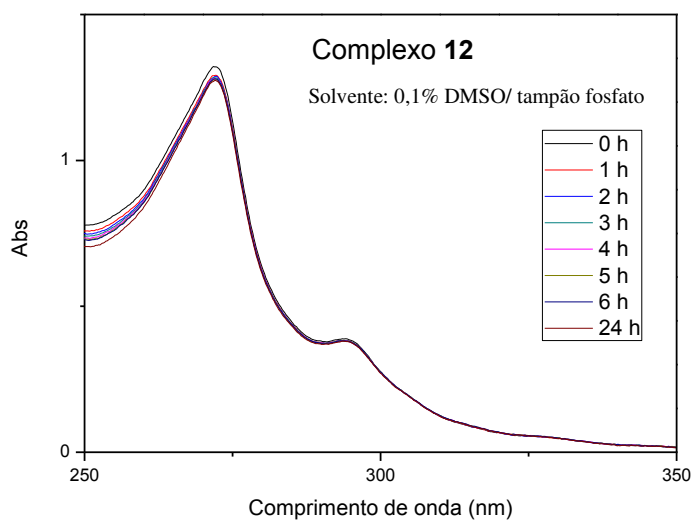
Fonte: Dados de pesquisa.

**Figura 44:** Espectros de absorção na região do UV-Vis para o complexo **9**, em diferentes intervalos de tempo.



Fonte: Dados da pesquisa.

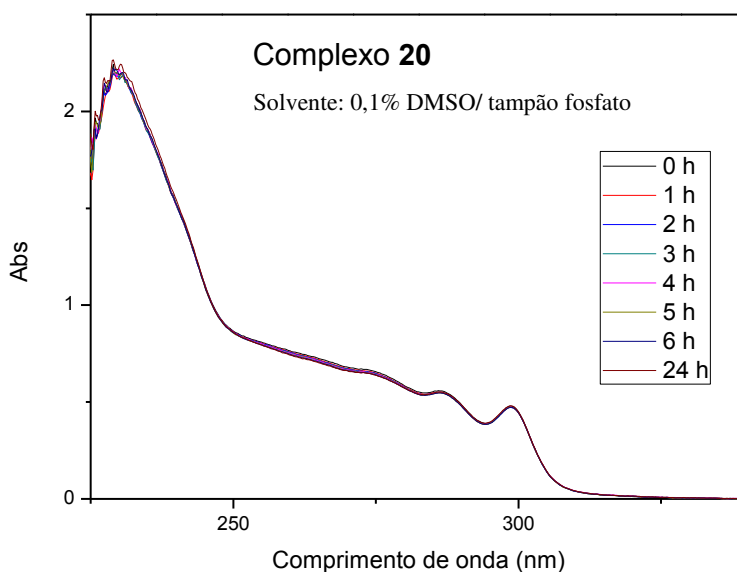
**Figura 45:** Espectros de absorção na região do UV-Vis para o complexo **12**, em diferentes intervalos de tempo.



Fonte: Dados da pesquisa.



**Figura 46:** Espectros de absorção na região do UV-Vis para o complexo **20**, em diferentes intervalos de tempo.



Fonte: Dados da pesquisa.

#### 4.9. Atividade citotóxica

A atividade citotóxica dos complexos **1-5**, e seus respectivos ligantes foi avaliada contra as células de leucemia mieloide crônica (K562). Adicionalmente, os complexos **1** e **3** e seus respectivos ligantes, também foram avaliados contra duas linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7). Os valores de  $IC_{50}$  ilustrados na Tabela 16 são referentes à concentração mínima necessária capaz de inibir 50% do crescimento celular, no intervalo de tempo pré-estabelecido. Por uma questão de comparação e para avaliar o potencial citotóxico destes complexos, os resultados obtidos foram comparados com dois fármacos de referência (cisplatina e carboplatina) e com o complexo  $[Cu(phen)_2](ClO_4)_2$ , que é uma nuclease artificial de reconhecida citotoxicidade *in vitro* (ZHANG *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2011).

**Tabela 16:** Valores de IC<sub>50</sub> para os complexos **1-5**, e seus respectivos ligantes.

Compostos	IC <sub>50</sub> (μmol L <sup>-1</sup> )	IC <sub>50</sub> (μmol L <sup>-1</sup> )	IC <sub>50</sub> (μmol L <sup>-1</sup> )
	K562	MDA-MB-231	MCF-7
<i>Compostos em estudo</i>			
4-FH	>100	>100	>100
4-NH	10,5	>100	>100
Dmb	23,5	n.d.	n.d.
Bipy	30,0	n.d.	n.d.
Phen	3,2	>100	>100
<b>1</b> ou Cu(4-FH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,8	8,8	6,5
<b>2</b> ou Cu(4-FH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	26,2	n.d.	n.d.
<b>3</b> ou Cu(4-NH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	1,6	5,5	4,6
<b>4</b> ou Cu(4-NH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	28,0	n.d.	n.d.
<b>5</b> ou Cu(4-NH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	15,0	n.d.	n.d.
<i>Fármacos de referência</i>			
[Cu(phen) <sub>2</sub> ](ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	3,4	n.d.	n.d.
Cisplatina	1,1	n.d.	n.d.
Carboplatina	10,0	>100	>100

IC<sub>50</sub>=concentração mínima necessária para inibir 50% do crescimento celular. n.d= não determinado.

Fonte: Dados da pesquisa.

Considerando os compostos orgânicos e os ensaios realizados contra a linhagem tumoral K562, podemos inferir que a phen é mais ativa do que a carboplatina e o ligante 4-NH apresenta atividade similar a carboplatina. Os demais ligantes (4-FH, bipy e dmb) exibiram baixa a moderada atividade contra esta linhagem. Por sua vez, os complexos de cobre exibiram alta ou boa atividade e inibiram o crescimento de células K562 com valores de IC<sub>50</sub> variando entre 1,6 e 28 μmol L<sup>-1</sup>, sendo que a ordem crescente de atividade é 3 > 1 > 5 > 2 > 4. Como pode ser verificado, os complexos de cobre com 1,10-fenantrolina (phen) foram mais ativos do que aqueles com 4-4'-dimetoxi-2-2'-bipiridina (dmb) e 2,2-bipiridina

(bipy). Esta ordem de reatividade pode ser explicada devido à maior planaridade do ligante phen, que favorece uma interação mais efetiva com o DNA, promovendo danos na estrutura do DNA (BARRA, NETTO, 2015).

Quando relacionamos as atividades dos complexos de cobre com phen e seus respectivos ligantes livres podemos concluir que os complexos **1** e **2** foram 1,8 e 2 vezes mais ativos do que a phen, respectivamente e 55,5 e 6,5 vezes mais ativo do que as hidrazidas correspondentes. Em relação aos complexos de cobre com dmb e seus ligantes podemos inferir que o complexo **5** foi 1,5 vezes mais ativos do que a sua respectiva hidrazida. Quando comparamos os resultados obtidos com os ligantes e fármacos de referência podemos observar que os complexos **2**, **4** e **5** apresentaram atividade boa ou moderada contra as células K562, já os complexos **1** e **3** foram mais ativos do que carboplatina,  $[\text{Cu}(\text{Phen})_2]^{2+}$  e seus respectivos ligantes livres, indicando que estes complexos são candidatos promissores para estudos posteriores.

Como os complexos **1** e **3** apresentaram resultados promissores frente a células K562, eles também foram avaliados em outras duas linhagens de câncer de mama (MDA-MB-231 e MCF-7), como mostra a Tabela 16. Estes compostos inibiram o crescimento celular com valores de  $\text{IC}_{50}$  variando entre 4,6 e 8,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , sendo o complexo **3** mais ativo do que o complexo **1** nas duas linhagens. Os dados obtidos na linhagem MDA-MB-231, mostraram que os complexos **1** e **3** foram aproximadamente 11 e 18 vezes mais ativos do que a carboplatina e seus ligantes livres. E os resultados contra a linhagem MCF-7, apontaram que os complexos **1** e **3** foram cerca de 15 e 20 vezes mais ativos do que a carboplatina e seus ligantes livres.

De acordo com os dados da literatura, complexos ternários de cobre(II) contendo phen têm demonstrado resultados antitumorais promissores contra a linhagem K562. A Tabela 17 destaca alguns destes complexos. Analisando os dados da Tabela 17, podemos observar que os complexos de cobre(II) contendo hidrazidas e phen apresentou valores de  $\text{IC}_{50}$  similares àqueles contendo antibióticos (doxicilina e tetraciclina) ou  $\beta$ -dicetonas embora o mecanismo de ação possa ser diferente (ALMEIDA *et al.*, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2014).

**Tabela 17:** Valores de IC<sub>50</sub> para os complexos ternários de cobre(II) contendo phen.

Complexos	IC <sub>50</sub> (μmol L <sup>-1</sup> ) K562 (72 h)	Referência
<i>Compostos em estudo</i>		
<b>1</b> ou Cu(4-FH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1,8	
<b>3</b> ou Cu(4-NH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	1,6	
<i>Complexos semelhantes</i>		
[Cu(BTA)(phen)NO <sub>3</sub> ]	2,9	ALMEIDA <i>et al.</i> , 2015
[Cu(TTA)(phen)NO <sub>3</sub> ]	2,5	ALMEIDA <i>et al.</i> , 2015
[Cu(BTACl)(phen)NO <sub>3</sub> ]	2,1	ALMEIDA <i>et al.</i> , 2015
[Cu(3-HPA)(phen)ClO <sub>4</sub> ]	2,3	ALMEIDA <i>et al.</i> , 2016
[Cu(doxiciclina)(phen)(H <sub>2</sub> O)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> )	1,9	SILVA <i>et al.</i> , 2011
[Cu(tetraciclina)(phen)(H <sub>2</sub> O)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> )	2,6	SILVA <i>et al.</i> , 2011
[Cu(phen)(Shyd)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> )	2,2	SILVA <i>et al.</i> , 2014
[Cu(phen)(Ohyd)(acn)(ClO <sub>4</sub> )](ClO <sub>4</sub> )	1,5	SILVA <i>et al.</i> , 2014

IC<sub>50</sub>=concentração mínima necessária para inibir 50% do crescimento celular.

#### 4.10. Determinação do modo de morte celular por citometria de fluxo

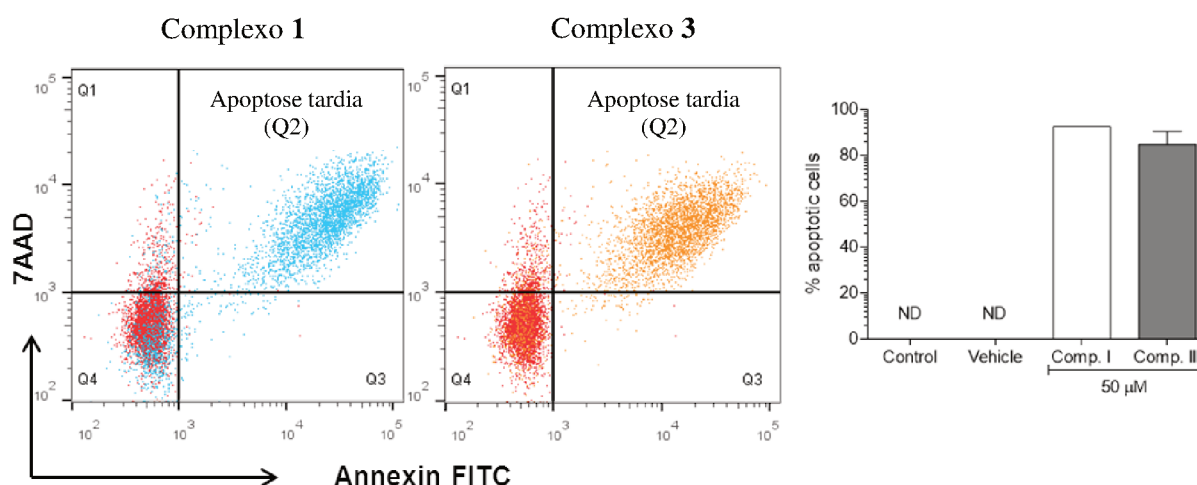
A análise por citometria de fluxo foi realizada para determinar se os complexos **1** e **3** (50 μmol L<sup>-1</sup>) são capazes de induzir a morte celular por apoptose, através da dosagem de fosfatidilserina. Como mencionado anteriormente, a apoptose é um tipo de morte celular programada, enquanto a necrose é um processo degradativo que ocorre após a morte celular (GONZALEZ *et al.*, 2001; ELMORE, 2007; SU *et al.*, 2015). A fosfatidilserina é predominantemente observada na superfície interna da bicamada lipídica. Durante o processo de apoptose, um dos primeiros eventos que acontecem é a exposição da fosfatidilserina na superfície externa da membrana plasmática, que permanece intacta, mas sofre uma desorganização (STURM *et al.*, 2006; VANDEN BERGHE *et al.*, 2013). Este fenômeno promove mudanças na assimetria da membrana, que são facilmente detectados e reconhecidos por proteínas dependentes de íons cálcio, como a anexina V (BOERSMA *et al.*, 2005; STURM *et al.*, 2006; GALLUZI *et al.*, 2012). A anexina V é uma proteína que se liga ao

fosfolipídio dependente de  $\text{Ca}^{2+}$  e possui alta afinidade pelo fosfolipídio fosfatidilserina, sendo vastamente utilizada para identificar células apoptóticas com fosfatidilserina exposta (WATANABE *et al.*, 2002; BOERSMA *et al.*, 2005). O procedimento de detecção de apoptose e necrose utilizando o kit Annexin V/Dead Cell consiste na ligação da anexina-V à fosfatidilserina, na membrana das células que estão iniciando o processo apoptótico e na ligação do corante 7-AAD ao DNA, que proporciona informação sobre a integridade da membrana das células. O 7AAD é um composto químico fluorescente que intercala entre as bases do DNA e dependendo da permeabilidade da membrana das células ele serve como marcador de apoptose tardia (ZEMBRUSKI *et al.*, 2012). As células com membranas intactas excluem o 7-AAD, tais como células vivas saudáveis e células apoptóticas precoces, enquanto as membranas de células danificadas e mortas são permeáveis ao 7-AAD.

Nos estágios iniciais do processo de apoptose ocorre a externalização da fosfatidilserina, mas a membrana permanece intacta resultando na marcação Anexina (+) e 7-AAD (-). Na apoptose tardia além da exposição da fosfatidilserina na membrana celular ocorre o aparecimento de poros na mesma tornando-a permeável ao corante 7-AAD, resultando na marcação Anexina (+) e 7-AAD (+). Em caso de necrose não ocorre a externalização fosfatidilserina na membrana, mas ocorre a permeabilização da membrana plasmática, devido à formação de poros na mesma, o que resulta na marcação Anexina (-) e 7-AAD (+). Desta forma a associação dos reagentes (anexina V + 7AAD) é capaz de identificar as populações de células e classificá-las em quatro grupos distintos: Células viáveis: Anexina (-) e 7-AAD (-), quadrante inferior esquerdo (Q4); Células em apoptose inicial: Anexina (+) e 7-AAD (-), quadrante inferior direito (Q3); Células em apoptose tardia: Anexina (+) e 7-AAD (+), quadrante superior direito (Q2). Células em necrose ou que morreram por via não-apoptótica: Anexina V (-) e 7-AAD (+), quadrante superior esquerdo (Q1).

Com base nestas marcações e avaliando a Figura 47, podemos observar que a maior população de células encontra-se no quadrante Q2, sugerindo que após 24 h de incubação, os complexos de cobre **1** e **3** induzem apoptose tardia na linhagem celular MDA-MB-231. Concordando com relatos da literatura que mostra a capacidade de vários complexos de cobre (II) em induzir apoptose, uma forma de morte celular programada que ocorre em células tumorais como resposta a alguns agentes anticancerígenos (FERNANDES *et al.*, 2015; ZHOU *et al.*, 2016; PAUL *et al.*, 2017).

**Figure 47:** Representação do tipo de morte celular, após 24 horas de tratamento com os complexos 1 e 3.



Fonte: Dados da pesquisa.

#### 4.11. Interação com DNA

O DNA é um dos principais alvos dos diferentes fármacos antitumorais, devido ao seu papel fundamental na replicação celular, transcrição e regulação genética. Como esta macromolécula é rica em ânions fosfatos e apresenta grupos doadores de pares de elétrons, tais como, átomos de oxigênio e nitrogênio, torna-se um alvo ideal para interações com complexos metálicos (BARRA, NETTO, 2015). A interação complexo-DNA pode ocorrer de duas formas: covalente ou não-covalente. A forma covalente é caracterizada pela ligação direta do complexo ao DNA, através de suas bases nitrogenadas ou pelo grupo fosfato e a forma não-covalente pode acontecer por meio de interações eletrostáticas, intercalação e interações hidrofóbicas no sulco menor do DNA (KEENE *et al.*, 2009; BOER, CANALS, 2009). Essas interações entre o fármaco e o alvo provocam modificações conformacionais na estrutura do DNA, que posteriormente interferem nos mecanismos de transcrição e replicação, induzindo a morte celular (BARRA, NETTO, 2015). De acordo com estudos descritos na literatura, quando a interação complexo-DNA ocorre por intercalação, o orbital  $\pi^*$  do ligante, presente no complexo intercalador, pode interagir com o orbital  $\pi$  dos pares de

base nitrogenadas do DNA, causando uma diminuição na energia da transição  $\pi\text{-}\pi^*$ , que resulta em um deslocamento batocrômico. Em contrapartida, a presença do orbital  $\pi$  parcialmente preenchido diminui a probabilidade destas transições, causando um efeito hipocrômico. Este comportamento é característico de processos por intercalação, enquanto o hipercromismo está relacionado às outras interações, como por atração eletrostática ou por ligação covalente (BARRA, NETTO, 2015).

Para averiguar a forma de interação dos compostos **1** e **3** com o DNA, foram realizados ensaios por espectroscopia na região do UV-Vis e por dicroísmo circular. Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível foram registrados a partir de soluções dos complexos **1** e **3** na ausência e na presença de subseqüentes adições de CT-DNA (DNA de timo de vitelo). As Figuras 48 e 49 ilustram, respectivamente, os espectros de absorção na região do UV-Vis obtidos a partir das soluções dos complexos **1** e **3** ( $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) em concentrações crescentes de DNA, variando de 0 a  $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em tampão HEPES e  $\text{pH} = 7,3$ ,  $I = 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .

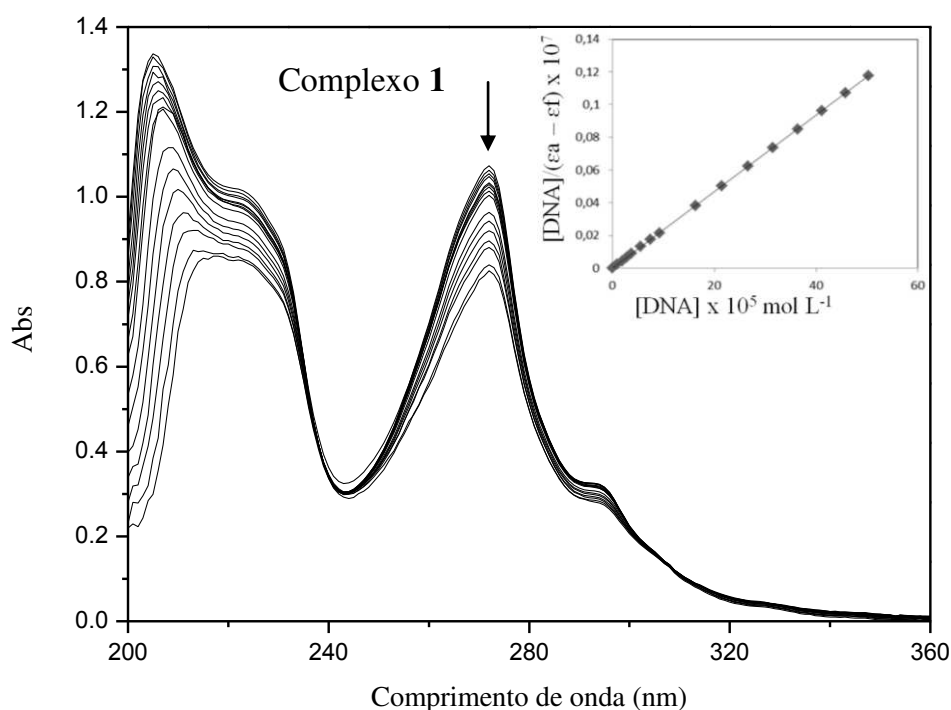
Analisando os espectros é possível observar que a adição de DNA induz simultaneamente um efeito hipocrômico e deslocamento batocrômico, indicando que ambos os complexos interagem por intercalação com o DNA de timo de vitelo. Mais especificamente, observamos que a banda próxima a 220 nm sofre um deslocamento batocrômico mais pronunciado do que a banda em torno de 270 nm, isto ocorre devido ao fato da banda de menor comprimento de onda ser uma transição  $\pi\text{-}\pi^*$  (C=O), enquanto a banda em maior comprimento de onda é proveniente da sobreposição das transições  $\pi\text{-}\pi^*$  e  $n\text{-}\pi^*$ . A partir dos dados obtidos durante a titulação espectrofotométrica dos complexos **1** e **3** com DNA, foi possível calcular a constante de afinidade (K) destes compostos por esta macromolécula, em conformidade com a equação:

$$[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f) = [\text{DNA}] / (\epsilon_0 - \epsilon_f) + 1/K(\epsilon_0 - \epsilon_f)$$

Em que, [DNA] é a concentração de DNA em pares de bases,  $\epsilon_a$  é a razão da absorvância / [Complexo],  $\epsilon_f$  é o coeficiente de extinção do complexo  $\text{Cu}^{\text{II}}$  livre e  $\epsilon_0$  é o coeficiente de extinção do complexo na forma totalmente vinculada (KUMAR *et al.*, 2009). A presença da variável  $\epsilon_a$  descarta o efeito de diluição, pois considera a nova concentração do complexo após a adição de cada alíquota de DNA. A relação entre a inclinação e a interceptação no gráfico de  $[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$  versus [DNA] dá o valor de K (Figuras 48 e 49).

A constante de afinidade do complexo **1** com o DNA é mais elevada do que o complexo **3**, com valores de  $K$  igual a  $4,38 \times 10^4$  e  $2,62 \times 10^4 \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente. Estes valores concordam com aqueles reportados para complexos de cobre(II) contendo o ligante 1,10-fenantrolina, que apresentaram valores de  $K$  no intervalo de  $10^2$  a  $10^5 \text{ mol L}^{-1}$  (SILVA *et al.*, 2014; ROY *et al.*, 2008; RAMAKRISHNAN *et al.*, 2009). Os resultados adquiridos neste estudo, revelaram que o complexo **1** tem maior afinidade pelo DNA do que o complexo **3**, contudo os valores de  $IC_{50}$  obtidos em três linhagens tumorais diferentes indicam que o complexo **1** é menos ativo que o **3**. Essas diferenças podem estar relacionadas com a capacidade dos complexos em penetrar a membrana celular.

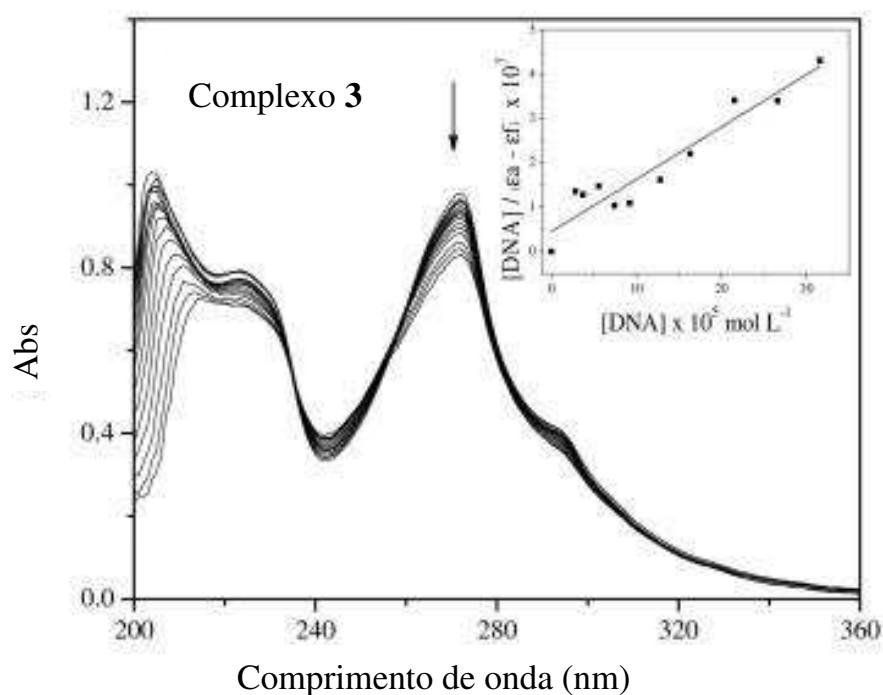
**Figura 48:** Espectros de absorção na região do UV-Vis de soluções contendo o complexo **1** ( $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e concentrações crescentes de DNA, variando de 0 a  $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão HEPES, pH = 7,3. Requadro:  $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  versus  $[DNA]$ .



Fonte: Dados da pesquisa.



**Figura 49:** Espectros de absorção na região do UV-Vis de soluções contendo o complexo **3** ( $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) e concentrações crescentes de DNA, variando de 0 a  $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão HEPES, pH = 7,3. Requadro:  $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  versus  $[\text{DNA}]$ .

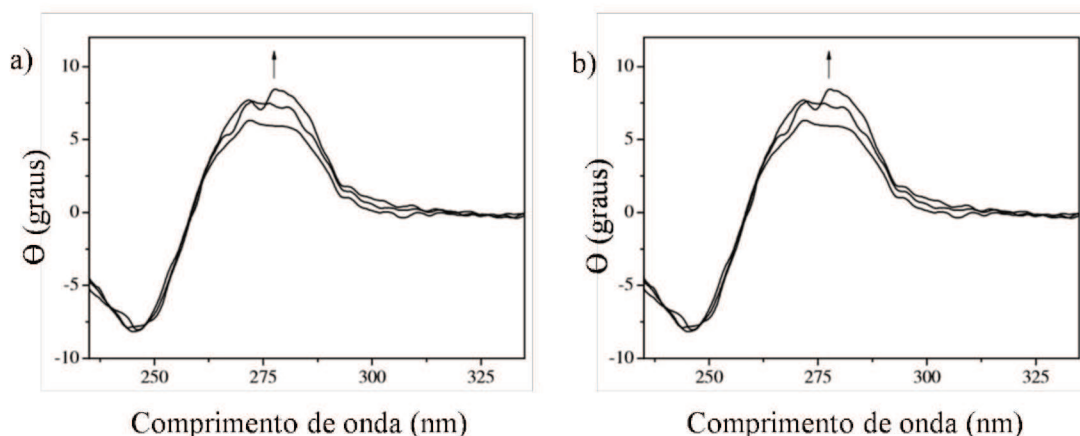


Fonte: Dados da pesquisa.

O ensaio de dicroísmo circular (CD) é um método espectroscópico baseado nos diferentes comportamentos, em termos de absorção da luz, de um determinado composto perante a exposição de duas luzes polarizadas e de igual intensidade (WOODY, 1995). A alta sensibilidade do dicroísmo circular (CD) aos aspectos conformacionais torna esta técnica adequada para acompanhar as mudanças na morfologia do DNA causadas por interações com fármacos ou moléculas pequenas (GARBETT *et al.*, 2007). Como esta técnica apresenta a habilidade de monitorar o ambiente dos compostos que interagem com o DNA, através da ligação entre as bases cromóforas e os grupos fosfatos, é possível obter informações sobre qual tipo de interação acontece, bem como a orientação deste composto em relação a esta macromolécula (STREKOWSKI E WILSON, 2007; PSILKOVA *et al.*, 2012). O espectro de CD do DNA livre é composto por uma banda positiva a 275 nm, devido ao empilhamento das bases do DNA, e uma negativa em torno de 245 nm, referente à helicidade da forma B do DNA (ZSILA, 2015; KYPR *et al.*, 2009; SINAN *et al.*, 2008).

A análise por dicroísmo circular, consiste em adicionar alíquotas dos compostos a serem avaliados, neste caso os complexos **1** e **3**, na solução de DNA e observar as mudanças que ocorrem na posição e na intensidade das bandas (positiva e negativa) do DNA. Estas modificações ocorrem devido à interação dos complexos com a macromolécula e exibem alterações características em ambas as bandas, dependendo do tipo de interação (CHEN et al., 2008; ZHANG et al., 2004). De acordo com estudos descritos na literatura, as mudanças conformacionais observadas no espectro de CD são provenientes de alterações que ocorrem nos pares de bases. Os compostos que interagem com o DNA por intercalação são geralmente reconhecidos por perturbarem as interações entre as bases do DNA aumentando o seu empilhamento e estabilizando a helicidade, o que provoca um aumento na intensidade das bandas. Enquanto que a simples ligação ao sulco e a interação eletrostática mostram menos ou nenhuma perturbação nas bandas que correspondem ao empilhamento e a helicidade da forma B do DNA (ZSILA, 2015; SINAN *et al.*, 2008). A avaliação da interação do DNA com os complexos **1** e **3** foi realizada por CD, e os espectros obtidos, Figura 50, revelaram um aumento na intensidade das bandas, que é condizente com o aumento do empilhamento das bases e estabilização da helicidade, sugerindo que o modo de interação dos complexos com o DNA ocorre por intercalação. Este comportamento também foi observado para outros complexos Cu(II) (CHIKIRA *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2011; GARCÍA-GIMÉNEZ *et al.*, 2009). Devido à similaridade dos espectros de CD obtidos, podemos inferir que as perturbações causadas ao DNA, pelos complexos **1** e **3**, são semelhantes,

**Figura 50:** Espectro de dicroísmo circular de CT-DNA ( $1 \times 10^{-4}$  mol L $^{-1}$ ) na presença de concentrações crescentes dos complexos **1** (a) e **3** (b). A concentração dos complexos variou de 0 a  $3,2 \times 10^{-5}$  mol L $^{-1}$ .



Fonte: Dados da pesquisa.

## 4.12. Atividade citotóxica e tripanocida

A atividade tripanocida dos ligantes livres e dos seus respectivos complexos foi avaliada contra a forma amastigota da estirpe CL Brener e os valores de  $IC_{50}$  obtidos foram comparados com o benzonidazol, fármaco de referência (Tabela 18). A atividade citotóxica dos complexos e seus respectivos ligantes foi realizada frente às células normais L929 (fibroblastos) e os valores da dosagem letal necessária pra matar 50% das células ( $DL_{50}$ ) são reportados na Tabela 18.

**Tabela 18:** Valores de  $IC_{50}$  e  $DL_{50}$  para os complexos **6–20** e seus respectivos ligantes.

<b>Composto</b>	<b><math>IC_{50}</math>amastigota (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b><math>DL_{50}</math>L929 (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>SI</b>
phen	208,0 $\pm$ 20,3	386,4 $\pm$ 21,2	1,8
bipy	100,5 $\pm$ 6,3	466,2 $\pm$ 22,8	4,6
dmb	29,7 $\pm$ 5,1	143,6 $\pm$ 11,2	4,8
BH	633,8 $\pm$ 7,6	571,1 $\pm$ 19,7	0,9
<b>6</b> ou Cu(BH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	6,0 $\pm$ 0,8	9,6 $\pm$ 2,0	1,6
<b>7</b> ou Cu(BH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	23,4 $\pm$ 1,6	46,5 $\pm$ 5,3	1,9
<b>8</b> ou Cu(BH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	11,5 $\pm$ 2,8	10,4 $\pm$ 2,7	0,9
2-CH	338,5 $\pm$ 23,6	396,0 $\pm$ 25,0	1,2
<b>9</b> ou Cu(2-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	0,6 $\pm$ 0,01	9,1 $\pm$ 1,1	18,0
<b>11</b> ou Cu(2-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	28,9 $\pm$ 2,5	27,1 $\pm$ 2,9	0,9
4-CH	262,9 $\pm$ 17,3	399,4 $\pm$ 11,1	1,5
<b>12</b> ou Cu(4-CH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	0,6 $\pm$ 0,03	5,6 $\pm$ 0,9	9,3
<b>14</b> ou Cu(4-CH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	10,7 $\pm$ 0,7	12,0 $\pm$ 1,4	1,1
2-MH	321,6 $\pm$ 16,9	428,0 $\pm$ 25,7	1,3
<b>15</b> ou Cu(2-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	3,1 $\pm$ 0,4	3,0 $\pm$ 0,3	0,9
<b>16</b> ou Cu(2-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •H <sub>2</sub> O	156,1 $\pm$ 18,2	118,7 $\pm$ 12,3	0,8
<b>17</b> ou Cu(2-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	21,2 $\pm$ 1,6	15,0 $\pm$ 1,4	0,7
4-MH	418,0 $\pm$ 34,6	440,9 $\pm$ 40,1	1,0
<b>18</b> ou Cu(4-MH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	0,3 $\pm$ 0,01	1,4 $\pm$ 0,2	4,6

<b>19</b> ou Cu(4-MH)(bipy)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	21,6 ± 1,9	18,1 ± 2,1	0,8
<b>20</b> ou Cu(4-MH)(dmb)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	14,0 ± 2,2	180,6 ± 11,1	12,9
Benzonidazol	7,0 ± 2,8	266,4 ± 31,0	38,0

Fonte: Dados da pesquisa.

A concentração mínima necessária para inibir 50% do crescimento das formas amastigota (IC<sub>50</sub><sub>amastigota</sub>) variou de 0,3 a 633,8 μmol L<sup>-1</sup>, considerando todos os compostos avaliados. Os compostos orgânicos exibiram uma atividade muito baixa, exceto o ligante dmb que exibiu uma moderada atividade contra as formas amastigotas do parasita. Como podem ser observados na Tabela 18, os complexos de cobre(II) exibiram elevada atividade contra a forma amastigota do *T. cruzi*, com a exceção dos complexo **11** e **16** que exibiu moderada e baixa atividade, respectivamente. Quando comparamos os complexos com seus respectivos ligantes, podemos concluir que a coordenação ao centro metálico potencializou a atividade tripanocida contra a forma amastigota, e este fato pode ser confirmado pela redução nos valores de IC<sub>50</sub>, assim a concentração necessária para inibir 50% do crescimento celular é menor, com exceção do complexo **16** que possui um valor de IC<sub>50</sub> superior a bipy.

Por se tratar de complexos ternários de cobre(II) é possível avaliar a influência do ligante heterocíclico na atividade tripanocida, bem como o efeito do substituinte no ligante hidrazida. Considerando a natureza do ligante heterocíclico *N,N*-doador, os complexos de cobre com 1,10-fenantrolina (phen) foram mais ativos do que aqueles com 4-4'-dimetoxi-2-2'-bipiridina (dmb) e 2, 2'-bipiridina (bipy). Phen e compostos análogos são reconhecidas por sua capacidade de se inserir entre os pares de base da dupla hélice do DNA, atuando como intercaladores, assim esta ordem de reatividade pode ser justificada pela planaridade dos ligantes, pois sabe-se que compostos que interagem eficientemente com o DNA podem ser ativos contra o *Trypanosoma cruzi* (BECCO *et al.*, 2012; GAMBINO, 2011; FARRELL, WILLIAMSON, MCLAREN, 1984; KINNAMON, STECK, RANE, 1979). Desse modo, avaliando os ligantes *N,N*-doadores, caso a caso, podemos inferir que a planaridade da phen é maior, devido a presença de três anéis aromáticos que enrijecem o sistema quando comparados com a bipy e dmb, que possuem apenas dois anéis. Estes ligantes, por sua vez, diferem em relação ao substituinte metóxi, que favorece o aumento da extensão da conjugação do anel, além de contribuir positivamente para a formação de interações intermoleculares que estabilizam o empilhamento entre os pares de bases do DNA.

Os complexos **6**, **7** e **8** possuem o anel benzênico da hidrazida isento de grupos substituintes e apresentaram boa a moderada atividade, e tomando estes valores como base é possível avaliar, em alguns casos, o efeito da substituição *orto* ou *para* dos grupos metóxi ou cloro no anel. Comparando-se os complexos análogos contendo a phen, foi possível observar que a presença do substituinte cloro ou metoxi, nas posições *orto* ou *para* do anel benzênico, aumenta a atividade tripanocida. Também foi possível constatar que os complexos contendo o grupo metóxi na posição *para* do anel benzênico foram mais ativos do que seus respectivos análogos contendo o mesmo substituinte na posição *orto*. Estes resultados podem ser explicados em termos do poder lipofílico, pois a diferença na posição do substituinte metóxi entre as duas hidrazidas causa mudanças significativas na lipofilia das mesmas e, conseqüentemente, nos complexos formados com esses ligantes.

Para avaliar o potencial tripanocida dos complexos em estudo, os resultados obtidos foram comparados com o benzonidazol (BZN), que é um fármaco de referência utilizado no tratamento da doença de chagas. Deste modo, observamos que os complexos **6**, **9**, **12**, **15** e **18** foram mais ativos do que o fármaco de referência, sendo que os complexos **9**, **12** e **18** apresentaram elevada atividade e foram cerca de 11,7, 11,7 e 23,3 vezes mais ativos do que o BZN, respectivamente. Outra forma de analisar o potencial biológico destes complexos é analisando a citotoxicidade em células normais, neste caso os complexos foram avaliados perante as células L929 (fibroblastos) e os valores da dosagem letal necessária pra matar 50% das células ( $DL_{50}$ ) são reportados na Tabela 18. Baseados nos valores de  $IC_{50}$  e  $DL_{50}$  é possível calcular o índice de seletividade (SI) de cada composto. O SI é calculado dividindo-se o valor de  $DL_{50}$  pelo valor de  $IC_{50}$  e quanto maior for este resultado menor a toxicidade do composto analisado. O índice de seletividade do benzonidazol é 38, mas qualquer composto que apresentar um  $SI > 10$ , pode ser selecionado para estudos *in vivo* (CHATELAIN, 2015).

Dentre os compostos estudados, os complexos **9** e **20** apresentaram índices de seletividade (SI) maiores do que 10, sendo 18 e 12,9, respectivamente, após avaliação da toxicidade contra células L929, indicando que os mesmos são candidatos promissores para estudos posteriores (CHATELAIN, 2015).

## 5. CONCLUSÃO

Foram sintetizados vinte complexos ternários de cobre(II) do tipo  $\text{Cu}(\text{N-O})(\text{N-N})(\text{ClO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  [ $n = 0, 1$  ou  $2$ ], em que N-O é uma hidrazida e N-N é uma base heterocíclica. Os complexos foram caracterizados por análise elementar, medidas de condutividade, espectrometria de massas de alta resolução com ionização por *electrospray* e por técnicas espectroscópicas, tais como UV-Vis e infravermelho. Os resultados indicam que o íon cobre está coordenado a dois ligantes de modo bidentado (N-O e N-N) e a esfera de coordenação é completada por dois grupos percloratos fracamente ligados, no estado sólido. A geometria octaédrica distorcida foi confirmada por difração de raios X de monocristais para os complexos **1** e **9**. O comportamento em solução aquosa para os complexos **1**, **9**, **12** e **20** foi realizado por espectroscopia UV-Vis em diferentes intervalos de tempo. Os resultados indicam que as espécies  $[\text{Cu}(\text{N-O})(\text{N-N})]^{2+}$  permanecem intactas em solução, mesmo após 6 horas, o que sugere que o potencial biológico observado é proveniente destas espécies.

A atividade citotóxica dos complexos **1** - **5** e seus respectivos ligantes foi avaliada contra três células tumorais. Os complexos de cobre(II) com 1,10-fenantrolina apresentaram resultados promissores, pois foram muito mais ativos do que os ligantes livres e a carboplatina. Considerando os complexos mais promissores (**1** e **3**), seus mecanismos de interação com o DNA foram analisados por dicroísmo circular e UV-Vis e foi verificado um efeito hipocrômico que sugere um processo de intercalação. Além disso, os dados de citometria de fluxo indicam que os mesmos induzem a morte celular por apoptose. A atividade tripanocida dos complexos **6-20** e seus respectivos ligantes foi avaliada contra a forma amastigota da estirpe CL Brener do parasito *T. Cruzi*. Os complexos **9**, **12** e **18** foram muito mais ativos do que o fármaco benzonidazol, sendo o complexo **9** o mais seletivo, sugerindo que este composto é um candidato promissor para estudos *in vivo*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLMALEKI, S.; GHADERMAZI, M.; FATTAHI, A.; SHESHMANI, S. Synthesis, characterization, spectral studies and cytotoxic effects of mixed-ligand mono and binuclear copper(II) complexes and their amide ligands. **Inorganica Chimica Acta**. v. 443, p. 284–298, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.01.016>

ALBADA, G. A. V.; DOMINICUS, I.; MUTIKAINEN, I.; TURPEINEN, U.; REEDIJK, J. Synthesis, X-ray crystal structures, spectroscopic properties and magnetism of copper(II) compounds of formula *trans*-Cu(LL)<sub>2</sub>(anion)<sub>2</sub>, with *N*-(pyridin-2-yl)acetamide and *N*-(pyrimidin-2-yl)acetamide as ligands: Unexpected absence of hydrogen bonding to the non-coordinating nitrogen atom of the ligand. **Polyhedron**. v.26, p. 3731-3736, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2007.04.035>

ALBERTO, M. E.; BUTERA, V; RUSSO, N. Which one among the Pt-containing anticancer drugs more easily forms monoadducts with G and A DNA bases A comparative study among oxaliplatin, nedaplatin, and carboplatin. **Inorganic Chemistry**. v. 50, n. 15, p. 6965-6971, 2011. <https://doi.org/10.1021/ic200148n>

ALMEIDA, J. C.; PAIXÃO, D. A.; MARZANO, I.; ELLENA, J. M.; PIVATTO, M.; LOPES, N. P.; FERREIRA, A. M. D.C.; PEREIRA-MAIA, E. C.; GUILARDI, S. GUERRA, W. Copper(II) complexes with  $\beta$ -diketones and N-donor heterocyclic ligands: Crystal structure, spectral properties, and cytotoxic activity. **Polyhedron**. v.89, p. 1–8, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.12.026>

ALMEIDA, J. C.; MARZANO, I.; PIVATTO, M.; LOPES, N. P.; FERREIRA, A. M. D.C.; PAVAN, F. R.; PEREIRA-MAIA, POELHSITZ, G. V.; GUERRA, W. Synthesis, cytotoxic and antitubercular activities of copper(II) complexes with heterocyclic bases and 3-hydroxypicolinic acid. **Inorganica Chimica Acta**. v.446, p.87-92, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.03.005>

ALMEIDA, V. L.; LEITAO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C.A.; DONNICI, C.L. Câncer e Agentes Antineoplásicos Ciclo-Celular Específicos e Ciclo-Celular Não Específicos que

Interagem com o DNA: uma Introdução. **Química nova**. v.28, p.118-129, 2005.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000100021>

ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, D. A. *et al.* Chagas disease: Current perspectives on forgotten disease. **Revista Médica del Hospital General de México**. 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.hgmx.2016.09.010>

ANAND, P.; KUNNUMAKARA, A. B.; SUNDARAM, C.; HARIKUMAR, K. B.; THARAKAN, S. T.; LAI, O.S.; SUNG, B.; AGGARWAL, B. B. Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes. **Pharmaceutical Research**. v. 25, p. 209 –

2116, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11095-008-9661-9>

ANNARAJ, B.; BALAKRISHNAN, C.; NEELAKANTAN, M.A. Synthesis, structure information, DNA/BSA binding affinity and in vitro cytotoxic studies of mixed ligand copper(II) complexes containing a phenylalanine derivative and diimine co-ligands. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**. v. 160, p. 278 –291, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.04.021>

ARCE, E. R. *et al.* A new ruthenium cyclopentadienyl azole compound with activity on tumor cell lines and trypanosomatid parasites. **Journal of Coordination Chemistry**. v. 68, p. 2923-

2937 2015. <http://dx.doi.org/10.1080/00958972.2015.1062480>

AZZOUZI, A. R.; BARRET, E.; BENNET, J.; MOORE, C.; TANEJA, S.; MUIR, G.;

VILLERS, A.; COLEMAN, J.; ALLEN, C.; SCHERZ, A.; EMBERTON, M.

TOOKAD<sup>®</sup> Soluble focal therapy: pooled analysis of three phase II studies assessing the minimally invasive ablation of localized prostate cancer. **World Journal of Urology** v. 33(7), p. 945–953, 2015. <https://doi.org/10.1007/s00345-015-1505-8>

BABA A., CĂTOI C. Bucharest: The Publishing House of the Romanian Academy; 2007.

BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre Complexos Antitumorais e o DNA e suas Ferramentas de Análise: um Enfoque nos Metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**. v. 7, 6, p. 1998-2016, 2015. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150118>



BARRY, N. P. E.; SADLER, P. J. Exploration of the medical periodic table: towards new targets. **Chemical communications**. v. 49, n. 45, p. 5106–5131, 2013.

<https://doi.org/10.1039/c3cc41143e>

BARRY, N. P.; SADLER, P. J. 100 years of metal coordination chemistry: from Alfred Werner to anticancer metallodrugs. **Pure and Applied Chemistry**, v. 86, n. 12, p. 1897-1910, 2014. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-0504>

BECCO, L.; RODRÍGUEZ, A.; BRAVO, M. E.; PRIETO, M. J.; RUIZ-AZUARA, L.; GARAT, B.; MORENO, V.; GAMBINO, D. New achievements on biological aspects of copper complexes Casiopeínas<sup>®</sup>: interaction with DNA and proteins and anti-Trypanosoma cruzi activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.109, p. 49–56, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.01.010>

BELLINI, M. F.; SILISTINO-SOUZA, R.; VARELLA-GARCIA, M.; AZEREDO-OLIVEIRA, M. T. V.; SILVA, A. E. Biologic and genetics of chagas disease at endemic areas. **Journal of tropical medicine**. v. 2012, 11 pages, 2011.

<http://dx.doi.org/10.1155/2012/357948>

BERALDO, H. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**. n. 6, p. 4–6, 2005.

BERGAMO, A.; GAIDDON, C.; SCHELLENS, J. H.; BEIJNEN, J. H.; SAVA, G. Approaching tumour therapy beyond platinum drugs: Status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 106, n. 1, p. 90–99, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.09.030>

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Considerações sobre a química bioinorgânica medicinal. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 4, n. 2, p. 131- 142, 2007.

<https://doi.org/10.5216/ref.v4i2.3027>

BERN, C. Chagas disease: antitrypanosomal drug therapy. 2016.

BERGAMO, A. *et al.* Ruthenium-based NAMI-A type complexes with in vivo selective metastasis reduction and in vitro invasion inhibition unrelated to cell cytotoxicity. **International Journal of Oncology**. v.21, p. 1331-8, 2002. PMID:12429985

BINGUL, M.; TAN, O.; GARDNER, C. R.; SUTTON, S. K.; ARNDT, G. M.; MARSHALL, G. M.; CHEUNG, B. B.; KUMAR, N.; BLACK, D. S. Synthesis, characterization and anti-cancer activity of hydrazide derivative incorporating a quinolone moiety. **Molecules**. v.21, p. 916, 2016. <https://doi.org/10.3390/molecules21070916>

BOER, D. R.; CANALS, A.; COLL, M. DNAbinding drugs caught in action: the latest 3D pictures of drug-DNA complexes. **Dalton Transactions**. v. 3, p. 399, 2009. <https://doi.org/10.1039/B809873P>

BOERSMA, H. H.; KIETSELAER, B. L.; STOLK, L. M. Past, present, and future of annexin A5: from protein discovery to clinical applications. **Journal of Nuclear Medicine**. v.46, p. 2035-2050, 2005. PMID:16330568

BOTONI, F.A. *et al.* A randomized trial of carvedilol after renin-angiotensin system inhibition in chronic Chagas cardiomyopathy. **American Heart Journal**. v. 153, p. 544, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2006.12.017>

BORTOLOTTI, T.; SILVA, P.P.; NEVES, A.; PEREIRA-MAIA, E.C.; TERENCEZI, H. Photoinduced DNA Cleavage Promoted by Two Copper(II) Complexes of Tetracyclines and 1,10-Phenanthroline. **Inorganic Chemistry**. v.50, p. 10519–10521, 2011. <https://doi.org/10.1021/ic201349s>

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**. v. 33, n. 6, p.1359-1369, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000600026>

BRAVO-GÓMES, M. E.; de la PAZ, A. L. H.; GRACIA-MORA, I. Antineoplastic evaluation of two mixed chelate copper complexes (Casiopeínas®) in HCT-15 Xenograft Model. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 57, p. 205-211, 2013.

BUCKNER, F. S.; VERLINDE, C.; LAFLAMME, A. C.; VANVOORHIS, W. C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites

expressing betagalactosidase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v.40, p. 2592-2597, 1996. PMID:8913471 PMCID:PMC163582

CAMBRONERO-CORTINAS, E. Epidemiology of chagas disease in non-endemic european countries. **International Cardiovascular Forum Journal**. v.7, p.11-14, 2016.

<https://doi.org/10.17987/icfj.v7i0.353>

CASTILLO, I.; SUWALSKY, M.; GALLARDO, M.J.; TRONCOSO, V.; SÁNCHEZ-EGUÍA, B.N.; SANTIAGO-OSORIO, E.; AGUIÑIGA, I.; GONZÁLEZ-UGARTE, A.K. Structural and functional effects of benzimidazole/thioether–copper complexes with antitumor activity on cell membranes and molecular models. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.156, p. 98–104, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.12.022>

CASINI, A.; DIAWARA, M. C.; SCOPELLITI, R.; ZAKEERUDDIN, S. M.; GRÄTZEL, M.; DYSON, P. J. Synthesis, characterisation and biological properties of gold(III) compounds with modified bipyridine and bipyridylamine ligands. **Dalton Transactions**. v. 39, p. 2239-2245, 2010. <https://doi.org/10.1039/b921019a>

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **DPDx – Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern**, 2016. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisAmerican/gallery.html#vector>>. Acesso em: 19 dez. 2016.

CERECETTO, H.; GONZÁLEZ, M. Synthetic medicinal chemistry in Chagas disease: Compound at the final stage. **Pharmaceutics**, v3 p. 810-838, 2010.

CHATTERJEE, A.K.; SARKAR, R.K.; CHATTOPADHYAY, A.P.; AICH, R.; CHAKRABORTY, P.; BASU, T. A simple robust method for synthesis of metallic copper nanoparticles of high antibacterial potency against E. coli. **Nanotechnology**. v.23, p. 085103, 2013. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/23/8/085103>

CHAGAS, C.R.J., 1911. Segunda conferência realizada na Academia Nacional de Medicina, em agosto de 1911. In: **Carlos Chagas: coletânea de trabalhos científicos** (A.R. Prata, org.), p.167- 192, Brasília: Universidade de Brasília.

- CHAMBERS, A.F., GROOM, A.C.; AND MACDONALD, I.C. Dissemination and Growth of Cancer Cells in Metastatic Sites. **Nature Reviews Cancer**, 2, 563-572. 2002. <https://doi.org/10.1038/nrc865>
- CHATELAIN, E. Chagas disease drug discovery: toward a new era. **Journal of biomolecular screening**, v.20, p.22-35, 2015. <https://doi.org/10.1177/1087057114550585>
- CHATELAIN, E. Chagas disease research and development: Is there light at the end of the tunnel. **Computational and structural biotechnology journal**, v15, p98-103, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2016.12.002>
- CHEN, C.H.; SIGMAN, D.S. Proc. Nuclease activity of 1,10-phenanthroline-copper: sequence-specific targeting. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 83, p. 7147–7151, 1986. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.19.7147>
- CHE, C-M; SIU, F-M. Metal complexes in medicine with focus on enzyme inhibition. **Current Opinion in chemical biology**. v. 14, p. 255-261, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.11.015>
- CHEFF, D. M.; e HALL, M. D. A Drug of Such Damned Nature.1 Challenges and Opportunities in Translational Platinum Drug Research. **Journal medicinal chemistry**. 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01351>
- CHIKIRA, M.; HEE NG C.; PALANIANDAVAR , M. Interaction of DNA with Simple and Mixed Ligand Copper(II) Complexes of 1,10-Phenanthrolines as Studied by DNA-Fiber EPR Spectroscopy. **International Journal of Molecular Sciences**. v.16, p. 22754-22780, 2015. <https://doi.org/10.3390/ijms160922754>
- CHITAMBAR, C. R. Gallium-containing anticancer compounds. **Future Medicinal Chemistry**. v. 4, p.1257-1272, 2012. <https://doi.org/10.4155/fmc.12.69>
- CHIZUKA, A. *et al.* Difference between hematological malignancy and Solid tumor research articles published in four major medical journals. **Leukemia**, v. 20, p.1655–1657, 2006. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404369>
- CHUDZIK, B.; TRACZ, I.B.; CZERNEL, G.; FIOŁKA, M.J.; BORSUK, G.; GAGOS M., Amphotericin B-Copper(II) Complex Shows Improved Therapeutic Index in Vitro. **European**

**Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 49, p. 850–857, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.06.007>

CORREIA, I.; ROY, S.; MATOS, C.P.; BOROVIĆ, S.; BUTENKO, N.; CAVACO, I.; MARQUES, F.; LORENZO, J.; RODRÍGUEZ, A.; MORENO, V.; PESSOA, J.C.

Vanadium(IV) and copper(II) complexes of salicylaldimines and aromatic heterocycles: Cytotoxicity, DNA binding and DNA cleavage properties. **Journal of Inorganic Biochemistry.** v.147 p. 134–146, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.02.021>

COURA, J. R.; BORGES-PEREIRA, J. Chronic phase of Chagas disease: why should it be treated? A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** v.106, p.641-645, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000600001>

CODITA, I.; CAPLAN, D.M; DRAGULESCU, E.C; LIXANDRU, B.E; COLDEA, I.L, DRAGOMIRESCU, C.C; SURDU-BOB, C; BADULESCU, M. Antimicrobial activity of Copper and Silver nanofilms on nosocomial bacterial species. **Roumanian Archives of Microbiology and Immunology.** v. 69, p. 204-212, 2010. PMID:21462835

DABROWIAK, J. C. Metals in Medicine. Segunda edição. John Wiley & Sons, 2017. <https://doi.org/10.1002/9781119191377>

DASARI, S.; TCHOUNWOU, P.B. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology.** v.740, p.364-78, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>

DIAS, L. C.; DESSOY, M. A.; SILVA, J. J. N.; THIEMANN, O. H.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Quimioterapia da doença de chagas: Estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova.** v. 32, p. 2444-2457, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000900038>

DEHKHODAEI, M.; KHORSHIDIFARD, M.; RUDBARI, H. A.; SAHIHI, M.; AZIMI, G.; HABIBI, N.; TAHERI, S.; BRUNO, G.; AZADBAKHT, R. Synthesis, characterization, crystal structure and DNA, HSA-binding studies of four Schiff base complexes derived from salicylaldehyde and isopropylamine. **Inorganica Chimica Acta.** v. 466, p. 48–60, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.05.035>

DEMICHELI, C.; FRÉZARD, F. Novas embalagens para medicamentos à base de antimônio usados no tratamento de leishmaniose e esquistossomose. **Cadernos Temáticos de Química Nova Na Escola**. v. 6, p. 24-30, 2005.

DHAR, S.; LIPPARD, S. J. Current status and mechanism of action of platinum – based anticancer drugs. In: ALESSIO, E.(Ed.). **Bioinorganic medicinal chemistry**. New York: WILEY, 2011. p. 82-85. <https://doi.org/10.1002/9783527633104.ch3>

DILRUBA, S., KALAYDA, G. Platinum-based drugs: past, present and future. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**. v.77, p. 1103-24, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00280-016-2976-z>

DU, X.; GUO, C.; HANSELL, E.; DOYLE, P. S.; CAFFREY, C. R.; HOLLER, T. P.; MCKERROW, J. H.; COHEN, F. E. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thio semicarbazone inhibitors of the Trypanosomal cysteine protease cruzain. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 45, n. 13, p. 2695-2707, 2002. <https://doi.org/10.1021/jm010459j>

ELMORE, S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. **Toxicologic Pathology**. v. 35, p. 495–516, 2007. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>

FARRELL, N.P.; WILLIAMSON, J.; MCLAREN, D.J.M. Trypanocidal and antitumour activity of platinum-metal and platinum-metal-drug dual-function complexes. **Biochemical Pharmacology**. v. 33, p. 961–968, 1984. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(84\)90501-X](https://doi.org/10.1016/0006-2952(84)90501-X)

FARRELL, N. Biomedical uses and applications of Inorganic Chemistry. An overview. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, n. 1-2, p. 1-4, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(02\)00100-5](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00100-5)

FARRUGIA, L. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, n. 4, p. 837-838, 1999. <https://doi.org/10.1107/S0021889899006020>

FERNANDES, P.; SOUSA, I.; CUNHA-SILVA, L.; FERREIRA, M.; DE CASTRO, B.; PEREIRA, E.F.; FEIO, M.J. GAMEIRO, P. Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper (II) lomefloxacin ternary complex. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.131, p 21–29, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.10.013>

FIELD, M. C.; HORN, D.; FAIRLAMB, A. H.; FERGUSON, M. A.; GRAY, D. W.; READ, K. D.; DE RYCKER, M.; TORRIE, L. S.; WYATT, P. G.; WYLLIE, S.; GILBERT, I. H. Anti-trypanosomatid drug discovery: an going challenge and a continuing need. **Nature Reviews Microbiology**. v. 15, p. 217–231, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.193>

FONTES, A. P. S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H. A química inorgânica na terapia do câncer. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 6, p.13-18, 2005.

FONTES, A. P. S.; GUERRA, W.; MACHADO, F. C.; ALMEIDA, M. V.; ALVES, W. A.; FERREIRA, A. M. C.; PADUAN-FILHO, A. New copper(II) complexes containing 2-furoic hydrazide and 5-nitro-2-furoic hydrazide ligands: synthesis, thermal, magnetic and spectroscopic characterization. **Transition Metal Chemistry**, v. 29, p. 382-387, 2004. <https://doi.org/10.1023/B:TMCH.0000027451.42739.b5>

FRICKER, S. P. The therapeutic application of lanthanides. **Chemical Society Reviews**. v. 35, n. 6, p. 524-533, 2006. <https://doi.org/10.1039/b509608c>

FRICKER, S. P. Metal based drugs: from serendipity to design. **Dalton Transactions**. v. 43, p. 4903-4917, 2007. <https://doi.org/10.1039/b705551j>

GALLAGHER, J.; CHEN, C.H.; PAN, C.Q.; PERRIN, D.M.; CHO, Y.M.; SIGMAN, D.S. Optimizing the Targeted Chemical Nuclease Activity of 1,10-Phenanthroline-Copper by Ligand Modification. **Bioconjugate Chemistry**. v. 7, p. 413–420, 1996. <https://doi.org/10.1021/bc960028t>

GALLUZZI, L.; VITALE, I.; ABRAMS, J. M. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. **Cell Death and Differentiation**. v.19, p. 107-120, 2012. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.96>

GAMBINO, D. Potentiality of vanadium compounds as anti-parasitic agents. **Coordination Chemistry Reviews**. v.255, p. 2193–2203, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.12.028>

GAMBINO, D.; OTERO, L. Perspectives on what ruthenium-based compounds could offer in the development of potential antiparasitic drugs. **Inorganica Chimica Acta**, v. 393, p. 103–114, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2012.05.028>

GARBETT, N. C.; RAGAZZON, P. A.; CHAIRES, J. B. Circular dichroism to determine binding mode and affinity of ligand–DNA interactions. **Nature Protocols**. v.2, 12, p.3166-72, 2007. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.475>

GARCÍA-GIMÉNEZ, J.L. *et al.* Toward the development of metal-based synthetic nucleases: DNA binding and oxidative DNA cleavage of a mixed copper(II) complex with N-(9H-purin-6-yl)benzenesulfonamide and 1,10-phenanthroline. Antitumor activity in human Caco-2 cells and Jurkat T lymphocytes. Evaluation of p53 and Bcl-2 proteins in the apoptotic mechanism. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.103, 923-934, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2009.04.003>

GARRIBA, E.; MICERA, G. The determination of the geometry of Cu(II) complexes: An EPR spectroscopy experiment. **Journal of Chemical Education**. v. 83, p. 1229, 2006. <https://doi.org/10.1021/ed083p1229>

GAROUFIS, A.; HADJIKAKOU, S. K.; HADJILIADIS, N. Palladium coordination compounds as anti-viral, anti-fungal, anti-microbial and anti-tumor agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 9-10, p. 1384-1397, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.09.011>

GBD, 2015. Mortality and causes of death collaborators. **Lancet**, v. 388, p 1459-544, 2016.

GBD, 2016. Global, regional and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability adjusted life years for 32 cancer groups, 1990 to 2015. A systematic analysis for the global burden of disease study. **JAMA Oncology**. v.3, p.524-548, 2017. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.5688>

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**. v. 7, p. 81122, 1971. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80009-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80009-0)

GIANNOUSI, K.; LAFAZANIS, K.; ARVANITIDIS, J.; PANTAZAKI, A.; DENDRINOUSAMARA, C. Hydrothermal synthesis of copper based nanoparticles: antimicrobial screening and interaction with DNA. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.133, p 24–32, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.12.009>



CHIKIRA, M.;HEE NG C.; PALANIANDAVAR , M. Interaction of DNA with Simple and Mixed Ligand Copper(II) Complexes of 1,10-Phenanthrolines as Studied by DNA-Fiber EPR Spectroscopy. **International Journal of Molecular Sciences**. v.16, p. 22754-22780, 2015. <https://doi.org/10.3390/ijms160922754>

GRASS, G.; RENSING, C.; SOLIOZ, M. Metallic copper as an antimicrobial surface. **Applied and Environmental Microbiology**. v.77, p. 1541–1547, 2011. <https://doi.org/10.1128/AEM.02766-10>

GREEN, M.; GARNER, M.; ORTON, D. M.; Literature highlights cisplatin the last five years. **Transition Metal Chemistry**, v.17, n.2, p. 164-176, 1992. <https://doi.org/10.1007/BF02910812>

GÓMEZ-RUIZ, S. *et al.* On the discovery, biological effects, and use of cisplatin and metallocenes in anticancer chemotherapy. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2012, p. 15–17, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/140284>

GUNEY, E. *et al.* Synthesis, characterization, structures and cytotoxic activity of palladium(II) and platinum(II) complexes containing bis(2-pyridylmethyl)amine and saccharinate. **Polyhedron**. v. 30, p. 114-122, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2010.09.037>

GURUMOORTHY, P.; MAHENDIRAN, D.; PRABHU, D.; ARULVASU, C.; RAHIMAN, A.K. Mixed-ligand copper(II) phenolate complexes: Synthesis, spectral characterization, phosphate-hydrolysis, antioxidant, DNA interaction and cytotoxic studies. **Journal of Molecular Structure**. v.1080, p. 88–98, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.09.070>

GZIUT, M.; MACGREGOR, H.J.; NEVELL, T.G.; MASON, T.; LAIGHT, D.; SHUTE J.K. Anti-inflammatory effects of tobramycin and a copper-tobramycin complex with superoxide dismutase-like activity. **British Journal of Pharmacology**. v 168, p. 1165–1181, 2013. <https://doi.org/10.1111/bph.12018>

HALCROW, M. A. Jahn–Teller distortions in transition metal compounds, and their importance in functional molecular and inorganic materials. **Chemical Society Reviews**. v.1784, p. 42, 2013. <https://doi.org/10.1039/c2cs35253b>

- HAMBLEY, T. W. Platinum binding to DNA: structural controls and consequences. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, v., n. 19, p. 2711-2718, 2001. <http://dx.doi.org/10.1039/B105406F>
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**. v. 144, n. 5, p. 646-74, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- HOSSEINI-YAZDI, S. A. *et al.* Synthesis, characterization and in vitro biological activities of new water-soluble copper(II), zinc(II), and nickel(II) complexes with sulfonato-substituted Schiff base ligand. **Inorganica Chimica Acta** v. 458, p. 171–180, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.01.005>
- HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A.G. Química inorgânica. Volume 2. ISBN: 9788521613281. 4. ed. Rio de Janeiro. LTC, 2013.
- HUANG, W. *et al.*, Efficacy and tolerability of lanthanum carbonate in treatment of hyperphosphatemia patients receiving dialysis--a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Current Medical Research and Opinion**. v. 30, n. 1, p. 99-108, 2014. <https://doi.org/10.1185/03007995.2013.838551>
- IGLESIAS, S. *et al.* Synthesis, structural characterization and cytotoxic activity of ternary copper(II)–di-peptide–phenanthroline complexes. A step towards the development of new copper compounds for the treatment of cancer. **Journal Inorganic Biochemistry**. v.139, p. 117–123, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.06.007>
- INAMDAR, P.R.; SHEELA A. Spectroscopic investigations on partial intercalative binding behaviour of terpyridine based copper(II) complexes with DNA. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**. v. 159, p. 133 –141, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.03.007>
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Câncer**. 2016. Disponível em: <www2.inca.gov.br>. Acesso em: 20 dez. 2016.
- IRACE, C. *et al.* Antiproliferative effects of ruthenium-based nucleolipidic nanoaggregates in human models of breast cancer *in vitro*: insights into their mode of action. **Scientific Reports**. V 7, 45236, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep45236>

JAHN, H. A.; TELLER, E. Stability of polyatomic molecules in degenerate electronic states. I. Orbital degeneracy. **Proceedings of the Royal Society of London A**. v. 161, p. 220-235, 1937. <https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0142>

JUNGWIRTH, U.; KOWOL, C. R.; KEPPLER, B. K.; HARTINGER, C. G.; BERGER, W.; HEFFETER, P. Anticancer Activity of Metal Complexes: Involvement of Redox Processes. **Antioxidants & Redox Signaling**. v. 15, n. 4, p. 1085–1127, 2011. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3663>

KAABI, K.; GLAOU, M. EL; ZELLER, M.; NASR, C.B. Diaquabis(perchlorato)(1,10-phenanthroline)copper(II). **Acta crystallographica**. E66, m1145–m1146, 2010. <https://doi.org/10.1107/S160053681003312X>

KACHADOURIAN, R.; BRECHBUHL, H.M.; RUIZ-AZUARA, L.; GRACIA-MORA, I.; DAY, B.J. Casiopeína IIgly-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human lung cancer A549 and H157 cells. **Toxicology**. v. 268, p. 176–183, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.12.010>

KEENE, F. R.; SMITH, J. A.; COLLINS, J. G. Metal complexes as structure selective binding agents for nucleic acids. **Coordination Chemistry Reviews**. v.253, p.2021, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.01.004>

KHARADI, G.J. Effect of substituent of terpyridines on the in vitro antioxidant, antitubercular, biocidal and fluorescence studies of copper(II) complexes with clioquinol. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v. 117, p.662–668, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.09.049>

KINNAMON, K.; STECK, E. A.; RANE, E. S. Activity of antitumor drugs against African trypanosomes. **Antimicrobial agents chemotherapy**. v.15, n. 2, p. 157–160, 1979. <https://doi.org/10.1128/AAC.15.2.157>

KIRAN, T. *et al.*, Synthesis, spectroscopic characterization and *in vitro* studies of new heteroleptic copper (II) complexes derived from 2-hydroxy naphthaldehyde Schiff's bases and N, N donor ligands: Antimicrobial, DNA binding and cytotoxic investigations. **Inorganica Chimica Acta**. v. 433, p. 26–34, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2015.04.033>

KLJUN, J.; BRATSOS, I.; ALESSIO, E.; PSOMAS, G.; REPNIK, U.; BUTINAR, M.; TURK, B.; TUREL, I. New uses for old drugs: attempts to convert quinolone antibacterials into potential anticancer agents containing ruthenium. **Inorganic Chemistry**. v.52, p. 9039-9052, 2013. <https://doi.org/10.1021/ic401220x>

KUMAR, R. S. *et al.* Surfactant-cobalto(III) complexes: Syntesis, critical micelle concentration (CMC) determination, DNA binding, antimicrobial and cytotoxicity studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.103, p.117, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.09.010>

KYPR, J.; KEJNOVSKA, I.; RENCIOUK, D.; VORLICKOVA, M. Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA. **Nucleic Acids Research**. v.37, p. 1713-1725, 2009. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp026>

KNOWLES, P. F.; MARSH, D.; RATTLE, H. W. E. Magnetic Resonance of Biomolecules. **Jonh Wiley & sons**, New York, p. 343, 1976.

LEWIS, D. L.; ESTES, E. D.; DEREK J. H. The infrared spectra of coordinated perchlorates. **Journal of Molecular Structure**. v. 5, p.67-74, 1975. <https://doi.org/10.1007/BF01202553>

LI, X.; ZHANG, Z.; WANG, C.; ZHANG, T.; HE, K.; DENG, F. Synthesis, crystal structure and action on Escherichia coli by microcalorimetry of copper complexes with 1,10-phenanthroline and amino acid. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.105, p. 23–30, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.09.001>

LI, D-D.; TIAN, J-L.; GU.W.; LIU, X.; ZENG, H-H.; YAN, S-P.. DNA binding, oxidative DNA cleavage, cytotoxicity, and apoptosis-inducing activity of copper(II) complexes with 1,4-tpbd (N,N,N',N'-tetrakis(2-yritylmethyl) benzene-1,4-diamine) ligand. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.105, p. 894–901, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.03.012>

LOPES, E. R.; CHAPADEIRO, E. Anatomia patológica da doença de Chagas humana. **Editora Fiocruz**, Rio de Janeiro. 1997.

LOPES, P. S. *et al.* A new copper complex with 2-thenoyltrifluoroacetone and 2,2-bipyridine: Cristal structure, spectral propeties and cytotoxic activity. **Scientific Journal of molecular Structure**, v. 1034, p 84-88, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.09.022>

MA, T.; XU, J.; YUAN W.; YU, H.; YANG, L.; DING, W.; ZHU, W.; CHEN, R. GE, Z.; TAN, Y.; JIA, L.; ZHU, T. Ternary copper(II) complexes with amino acid chains and heterocyclic bases: DNA binding, cytotoxic and cell apoptosis induction properties. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.144, p. 38–46. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.09.022>

MACRAE, C. F. *et al.*, Mercury: visualization and analysis of crystal structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 39, p. 453-457, 2006. <https://doi.org/10.1107/S002188980600731X>

MAHALINGAM, V. *et al.* Ru(II)–DMSO complexes containing aromatic and heterocyclic acid hydrazides: Structure, electrochemistry and biological activity. **Polyhedron**, v. 28, n. 8, p. 1532-1540, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2009.03.023>

MAIA , P. I. DA S.; CARNEIRO Z. A.; LOPES, C. D.; OLIVEIRA, C. G.; SILVA, J. S.; ALBUQUERQUE, S.; HAGENBACH, A.; GUST, R.; DEFLON, V. M.; ABRAM, U. Organometallic gold(III) complexes with hybrid SNS-donating thiosemicarbazone ligands: cytotoxicity and anti-Trypanosoma cruzi activity. **Dalton Transactions**. V. 46, p. 2559-2571, 2017. <https://doi.org/10.1039/C6DT04307K>

MANIKANDAMATHAVAN, V.M.; RAJAPANDIAN, V.; FREDDY, A.J.; WEYHERMULLER, T.; SUBRAMANIAN, V.; NAIR, B.U. Effect of coordinated ligands on antiproliferative activity and DNA cleavage property of three mononuclear Cu(II)-terpyridine complexes **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.57, p. 449–458, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.06.039>

MAQSOOD, S. R.; ISLAM, N.; BASHIR, S.; KHAN, B.; PANDITH, H. Sigma donor and pi acceptor characteristics of certain NN-bidentate ligands: a DFT Study. **Journal of Coordination Chemistry**. v. 66, n. 13, p. 2308–2315, 2013. <https://doi.org/10.1080/00958972.2013.800866>

- MARTÍNEZ, A. *et al.* Searching for New Chemotherapies for Tropical Diseases: Ruthenium–Clotrimazole Complexes Display High in Vitro Activity against Leishmania major and Trypanosoma cruzi and Low Toxicity toward Normal Mammalian Cells. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 55, p. 3867–3877, 2012. <https://dx.doi.org/10.1021/jm300070h>
- MARTINS, D. A. *et al.*, Norfloxacin and n-donor mixed-ligand copper(II) complexes: synthesis, albumin interaction and anti-trypanosoma cruzi activity. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2016, 11pages, 2016. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5027404>
- MARTINS, D. A. *et al.*, Copper(II)-fluoroquinolone complex with anti- trypanosoma cruzi activity and DNA binding ability. **Biometals**, v. 25, p. 951-960, 2012, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10534-012-9565-3>
- MARTINS, D. A. *et al.*, Copper (II) nitroaromatic Schiff bases complexes: synthesis, biological activity and their interaction with DNA and albumins. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 28, p. 87-97, 2017. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20160150>
- MARTINS, D.A.; GOUVEA, L.R.; DA GAMA JEAN BATISTA, D.; DA SILVA, P.B.; LOURO, S.R.; DE NAZARE C.S.M.;TEIXEIRA, L.R. Copper(II)-Fluoroquinolone Complexes With Anti-Trypanosoma Cruzi Activity and DNA Binding Ability. **Biometals**. v.25, p.951–960, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10534-012-9565-3>
- MARTINS- MELO, F. R. *et al.* Prevalence of Chagas disease in brazil: A systematic review and meta-analysis. **Acta tropica**. v. 130, p.167-174, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.10.002>
- MARZANO, C.; PELLEI, M.; TISATO, F.; SANTINI, C. Copper Complexes as Anticancer Agents. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**. v. 9, p. 185-211, 2009. <https://doi.org/10.2174/187152009787313837>
- MEDICI, S. *et al.* Noble metals in medicine: Latest advances. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 284, p. 329–350, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.08.002>
- MELOS, J. L. R.; ENCHERRAVIA, A. Sistemas Enzimáticos de Tripanossomatídeos como Potenciais Alvos Quimioterápicos. **Revista Virtual de Química**. v. 4, p. 374-392, 2012. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20120029>

- MOHANRAJ, M.; AYYANNAN, G.; RAJA, G.; JAYABALAKRISHNAN, C. Synthesis, characterization and in vitro biological assays of copper(II) and nickel(II) complexes with furan-2-carboxylic acid hydrazide. **Applied Organometallic Chemistry**. v.31, p. e3852,2017. <https://doi.org/10.1002/aoc.3582>
- MOLINA, I. *et al.*, Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic Chagas disease. **The new England journal of medicine**, v. 370, n. 20, p. 1899-1908, 2014. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1313122>
- MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**. v. 65, p. 55– 63, 1983. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- NARANG, R.; NARASIMHAN, B.; SHARMA S. A review on biological activities and chemical synthesis of hydrazide derivatives. **Current Medicinal Chemistry**. V.19, P. 569-612, 2012. <https://doi.org/10.2174/092986712798918789>
- NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. Platinum(II) Complexes in Cancer Therapy. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 3, p. 196–209, 2011. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20110023>
- NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11<sup>o</sup> edição. Editora: Atheneu, 2012.
- ORVIG, C.; ABRAMS, M. J. Medicinal inorganic chemistry: introduction. **Chemical Reviews**. v. 99, n. 9, p. 2201-2204, 1999. <https://doi.org/10.1021/cr980419w>
- OTERO, L.; *et al.* Novel antitrypanosomal agents based on palladium nitrofurylthiosemicarbazone complexes: DNA and redox metabolism as potential therapeutic targets. **Journal of Medicinal Chemistry**. v. 49, n.11, p. 3322-3331, 2006. <https://doi.org/10.1021/jm0512241>
- OUYANG, Y.; CAI, X.; SHI, Q.; LIU, L.; WAN, D.; TAN, S. Poly-l-lysine-modified reduced graphene oxide stabilizes the copper nanoparticles with higher water-solubility and long-term additively antibacterial activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 107, p. 107–114, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.073>

PARSA, N. Environmental Factors Inducing Human Cancers. **Iranian Journal of Public Health**. v. 41, p 1–9, 2012. PMID:23304670 PMCID:PMC3521879

PATEL, M.N.; JOSHI, H.N.; PATEL, C.R.; Cytotoxic, antibacterial, DNA interaction and superoxide dismutase like activities of sparfloxacin drug based copper (II) complexes with nitrogen donor ligands. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v.104, p 48-55, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.11.045>

PATRA, A.K.; ROY, S.; CHAKRAVARTY, A.R. Synthesis, crystal structures, DNA binding and cleavage activity of l-glutamine copper(II) complexes of heterocyclic bases **Inorganica Chimica Acta**. v.362, p. 1591–1599, 2009.

<https://doi.org/10.1016/j.ica.2008.08.003>

PAUL, A.; HAZRA, S.; SHARMA, G.; GUEDES DA SILVA, M. F. C.; KOCH, B.; POMBEIRO, A. J.L. Unfolding biological properties of a versatile dicopper(II) precursor and its two mononuclear copper(II) derivatives. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v. 174, p. 25–36, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.05.013>

PIVETTA, T.; TRUDUA, F.; VALLETTA, E.; ISAIA, F.; CASTELLANO, C.; DEMARTIN, F.; TUVERI, R.; VASCELLARI, S.; PANI, A. Novel copper(II) complexes as new promising antitumour agents. A crystal structure of [Cu(1,10-phenanthroline-5,6-dione)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)(OCIO<sub>3</sub>)](ClO<sub>4</sub>). **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.141, p.103–113, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.08.011>

PLSIKOVA, J. *et al.* 3,6-Bis(3-alkylguanidino)acridines as DNA intercalating antitumor agents. **European Journal Medicinal Chemistry**. v. 57, p. 283-295, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.09.020>

PRANCZK, J. *et al.* Platinum(II) and Palladium(II) Complex Compounds as Anti-cancer Drugs . Methods of Cytotoxicity Determination. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 10, p. 2–9, 2014. <https://doi.org/10.2174/157341291001140102103324>

PRAMANIK, A.; LAHA, D.; BHATTACHARYA, D.; PRAMANIK, P.; KARMAKAR, P. A novel study of antibacterial activity of copper iodide nanoparticle mediated by DNA and



membrane damage. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 96, p. 50–55, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.03.021>

RAHBAN, M.; DIVSALAR, A.; SABOURY, A. A.; GOLESTANI, A. Nanotoxicity and spectroscopy studies of silver nanoparticle: calf thymus DNA and K562 as targets. **Journal of Physical Chemistry C**. v. 114, p. 5798, 2010. <https://doi.org/10.1021/jp910656g>

RAJALAKSHMI, S.; WEYHERMULLER, T.; FREDDY, A.J.; VASANTHI, H.R.; NAIR, B.U. Anomalous behavior of pentacoordinate copper complexes of dimethylphenanthroline and derivatives of terpyridine ligands: Studies on DNA binding, cleavage and apoptotic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 46, p. 608–617, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.11.041>

RAJALAKSHMI, S.; WEYHERMULLER, T.; DINESH, M.; NAIR, B.U. S. Copper (II) complexes of terpyridine derivatives: A footstep towards development of antiproliferative agent for breast cancer. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.117, p. 48–59, 2012.

<https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.08.010>

RAKOFF-NAHOUM, S. Cancer Issue Why Cancer and Inflammation? **Yale Journal of Biology and Medicine**. v.79, p. 123–130, 2006. PMID:17940622

RAMAKRISHNAN, S. *et al.* Induction of cell death by ternary copper(II) complexes of L-tyrosine and diimines: role of coligands on DNA binding and cleavage and anticancer activity.

**Inorganic Chemistry**. v.48, p.1309, 2009. <https://doi.org/10.1021/ic801144x>

RASSI JR, A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. **The Lancet**. v. 375, n. 9723, p. 1388-1402, 2010. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60061-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60061-X)

RIOS, A. O.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Proteção de carotenoides contra radicais livres gerados no tratamento do câncer com cisplatina. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 2, p. 343-350, 2009.

RODRIGUES, M. A. *et al.* Platinum(II) complexes with carbazates and hydrazides: Synthesis, spectral characterization, computational modeling, and biological studies.

**Polyhedron**, v. 98, p. 146–153, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2015.06.025>

- ROY, S.; PATRA, A. K.; DHAR, S.; CHAKRAVARTY, A. R. Photosensitizer in a molecular bowl and its effect on the DNA-Binding and cleavage activity of 3d-metal scorpionates. **Inorganic Chemistry**. v.47, p.5625, 2008. <https://doi.org/10.1021/ic702508r>
- ROLLAS, S.; KÜÇÜKGÜZEL, G. Biological activities of hydrazone derivatives. **Molecules**, v. 12, n. e, p. 1910-1939, 2007. <https://doi.org/10.3390/12081910>
- ROTH, A.; BUCHHOLZ, A.; SILVA, P. P. et al. Correlation between DNA interactions and cytotoxic activity of four new ternary compounds of copper(II) with N-donor heterocyclic ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 132, p. 67–76, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.014>
- RODRIGUES, M. A.; RUGGIERO, R.; GUERRA, W. Compostos inorgânicos como fármacos. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 115, p. 25-30, 2009.
- ROMANOWSKI, S. M. M.; MAGRICH, A. S. Síntese e caracterização de novos compostos de coordenação de cobre(II) com ligantes não-simétricos N,O-doadores: contribuições para o sítio ativo da galactose oxidase. **Química Nova**, v. 24, n. 5, p. 592-598, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422001000500004>
- RUÍZ, P.; ORTIZ, R.; PERELLÓ, L.; ALZUET, G.; GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, M.; LIU-GONZÁLEZ, M.; SANZ-RUÍZ, F. Synthesis, structure, and nuclease properties of several binary and ternary complexes of copper(II) with norfloxacin and 1,10-phenantroline. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.101, p. 831–840, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2007.01.009>
- RUIZ-AZUARA, L.; BRAVO-GÓMEZ, M.E. Copper compounds in cancer chemotherapy. **Current Medicinal Chemistry**. v.17, p. 3606–3615, 2010. <https://doi.org/10.2174/092986710793213751>
- SÁNCHEZ-SANCHO, F.; CAMPILLO, N. E.; PÁEZ, J. A. Chagas disease: progress and new perspectives. **Current Medicinal Chemistry**. v. 17, p. 423-452, 2010. <https://doi.org/10.2174/092986710790226101>

- SANTINI, C.; PELLEI, M.; GANDIN, V.; PORCHIA, M.; TISATO, F.; MARZANO, C. Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents. **Chemical Reviews**. v.114, p. 815–862, 2014. <https://doi.org/10.1021/cr400135x>
- SERAFIM, E. O. P. *et al.*, Abordagem da latenciação de fármacos como ferramenta para descoberta de novos antichágasicos. **Revista uniara**. v.14, n1, p. 140-157, 2011.
- SERMENT-GUERRERO, J.; CANO-SANCHEZ, P.; REYES-PEREZ, E.; VELAZQUEZ-GARCIA, F.; BRAVO-GÓMEZ, M.; RUIZ-AZUARA, L. Genotoxicity of the copper antineoplastic coordination complexes casiopeinas<sup>®</sup>. **Toxicology in Vitro**. v. 25, p. 1376–1384, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.05.008>
- SHELDRICK, G.M. SHELXS97, Program for the Solution of Crystal Structures, University of Göttingen, Germany, 1997.
- SHELDRICK, G.M. SHELXL2014.
- SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. **Química Inorgânica**. 4. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.
- SILVA, P. P. *et al.* Two new ternary complexes of copper(II) with tetracycline or doxycycline and 1,10-phenanthroline and their potential as antitumoral: Cytotoxicity and DNA cleavage. **Inorganic Chemistry**, v. 50, n. 14, p. 6414-6424, 2011. <https://doi.org/10.1021/ic101791r>
- SILVA, P. P. **Sínteses, caracterizações e estudos da potencial atividade antitumoral de alguns complexos de cobre(II)**. 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
- SILVA, P. P. *et al.*, Correlation between DNA interactions and cytotoxic activity of four new ternary compounds of copper(II) with N-donor heterocyclic ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 132, p. 67–76, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.014>

- SINAN, M. *et al.*, Mild Synthesis of a Family of Planar Triazinium Cations via Proton-Assisted Cyclization of Pyridyl Containing Azo Compounds and Studies on DNA Intercalation. **Journal of the American Chemical Society**. v.130, p. 5185–5193, 2008. <https://doi.org/10.1021/ja710211u>
- SOSA-ESTANI, S.; SEGURA, E. L. Integrated control of chagas disease for its elimination as public health problem- A review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v.110, p.289-298, 2015. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140408>
- SOUSA, I.; CLARO, V., PEREIRA, J. L.; AMARAL, A.L.; CUNHA-SILVA, L.; DE CASTRO, B.; FEIO, M.J.; PEREIRA, E.; GAMEIRO, P. Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper(II) levofloxacin ternary complex. **Journal Inorganic Biochemistry**. v.110, p. 64-71, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.02.003>
- SOUZA, G. D.; RODRIGUES, M. A.; FERNADES, L. E.; SILVA, P. P.; RUGGIERO, R.; PEREIRA-MAIA, E. C.; GUERRA, W. Complexes of platinum and palladium with 4-nitrobenzoic hydrazide: synthesis and cytotoxic activity. **Central European Journal of Chemistry**, v. 11, n. 2, p. 290–294, 2012. <https://doi.org/10.2478/s11532-012-0156-5>
- SOUZA, G. D. *et al.* A New Complex of Palladium(II) With 2-Furoic Hydrazide: Synthesis, Characterization, Theoretical Calculations and Biological Studies. **Croatica Chemica Acta**, v. 86, n. 2, p. 201–206, 2013. <https://doi.org/10.5562/cca2151>
- STANAWAY, J. D.; ROTH, G. The burden of Chagas disease. **Global Heart**, v.10, n3, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.gheart.2015.06.001>
- STAROSTA, R.. *et al.*. Copper(I) (Pseudo)Halide Complexes with Neocuproine and Aminomethylphosphines Derived from Morpholine and Thiomorpholine – In Vitro Cytotoxic and Antimicrobial Activity and the Interactions with DNA and Serum Albumins. **Chemical Biology & Drug Design**. v.82, p. 579–586, 2013. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12187>
- STRATTON, M. R.; CAMPBELL, P. J.; FUTREAL, P. A. The cancer genome. **Nature**, v.458, n. 7239, p. 719-24, Apr 9 2009. <https://doi.org/10.1038/nature07943>
- STREKOWSKI, L.; WILSON, B. Noncovalent interactions with DNA: an overview. **Mutation Research**. v. 623, p. 3-13, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.03.008>

SU, Z. *et al.*, Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis: A Review of Programmed Cell Death. **Molecular Cancer**, v. 14, p. 48, 2015.

<https://doi.org/10.1186/s12943-015-0321-5>

SUDHAKAR, A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. **Journal of Cancer Science and Therapy** v. 1, p. 1–4, 2009.

<https://doi.org/10.4172/1948-5956.100000e2>

STURM, A.; AMINO, R.; VAN DE SAND, C. Manipulation of host hepatocytes by the malaria parasite for delivery into liver sinusoids. **Science**. v. 313, p. 1287-1290, 2006.

<https://doi.org/10.1126/science.1129720>

TABASSUM, S.; ASIM, A.; ARJMAND, F.; AFZAL, M.; BAGCHI, V. Synthesis and characterization of copper (II) and zinc (II)-based potential chemotherapeutic compounds: their biological evaluation viz. DNA binding profile, cleavage and antimicrobial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.58, p. 308–316,2012.

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.09.051>

TIAN, W.X. *et al.*, Copper as an antimicrobial agent against opportunistic pathogenic and multidrug resistant Enterobacter bacteria. **Journal of Microbiology**. v.50, p. 586–593, 2012.

<https://doi.org/10.1007/s12275-012-2067-8>

TISATO, F. *et al.*, Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies. **Medicinal Research Reviews**, v. 30, n. 4, p. 708-749, 2010.

<https://doi.org/10.1002/med.20174>

THEKKAE PADIL, V.V.; CERNIK, M. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application. **International Journal of Nanomedicine**. v.8, p. 889–898, 2013. <https://dx.doi.org/10.2147%2FIJN.S40599>

THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. Boon and bane of metal ions in medicine. **Science**, v. 300, n. 5621, p. 936-939, 2003. <https://doi.org/10.1126/science.1083004>

URBINA, J. A. Specific chemotherapy of chagas disease: relevance, current limitations and new approaches. **Acta Tropica**, v. 115, p. 55-68, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.10.023>

URBINA, J. A. Recent clinical trial for the etiological treatment of chronic Chagas disease. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 62, p. 149-156, 2015.

<https://doi.org/10.1111/jeu.12184>

USMAN, M. S.; EL ZOWALATY, M. E.; SHAMELI, K.; ZAINUDDIN, N.; SALAMA, M.; IBRAHIM, N. A. Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, vol. 8, no. 1, p. 4467–4479, 2013. <https://doi.org/10.2147/IJN.S50837>

VANDEN BERGHE, T.; GROOTJANS, S.; GOOSSENS, V. Determination of apoptotic and necrotic cell death in vitro and in vivo. **Methods**. v.61, p.117-129, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2013.02.011>

VELÁSQUEZ, A. M. A. *et al.*, Antiprotozoal Activity of the Cyclopalladated Complexes Against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 27, No. 6, p.1032-1039, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150360>

VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico**. 2006. 170 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

VERONESI, S. Tratado de infectologia. 2 Volumes. ISBN: 9788538806486. Editora:Atheneu Rio. 2015.

VIEITES, M. *et al.* Platinum-based complexes of bioactive 3-(5-nitrofuryl)acroleine thiosemicarbazones showing anti-*Trypanosoma cruzi* activity. **Journal Inorganic Biochemistry**. v.103, p. 411–418, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.12.004>

WARAD *et al.*, Metals ions as antitumor complexes-review. **Journal of Materials and Environmental Science**. v.4, p.542-557, 2013. ISSN: 2028-2508 CODEN: JMESCN

WATANABE, M.; HITOMI, M.; VAN DER WEE, K. The pros and cons of apoptosis assays for use in the study of cells, tissues, and organs. **Microscopy and Microanalysis**. v.8, p. 375-391, 2002. <https://doi.org/10.1017/S1431927602010346>

WEAVER, B. A. How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. **Molecular Biology of the Cell**. v.25, p. 2677–2681, 2014. <https://doi.org/10.1091/mbc.E14-04-0916>

WHANG, Q-W. *et al.* Synthesis of platinum(II) and palladium(II) complexes with 9,9-dihexyl-4,5-diazafluorene and their in vivo antitumour activity against Hep3B xenografted mice. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v 124, p. 537–543, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.08.033>

WOODY, R. W. Circular dichroism. **Methods in Enzymology**. v. 246, p.34-71,1995. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(95\)46006-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(95)46006-3)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Câncer**. 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>>. Acesso em: 18 nov. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>> Acesso em: 19 dez. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases**.2015.

ZSILA, F. Apparent circular dichroism signature of stirring-oriented DNA and drug-DNA complexes. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 72, p.1034–1040, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.009>

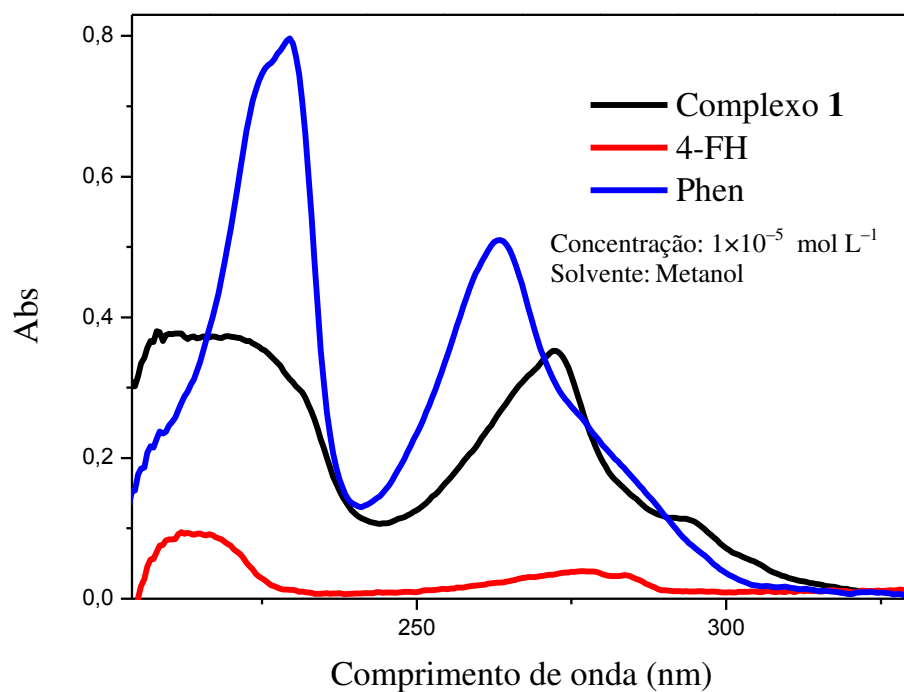
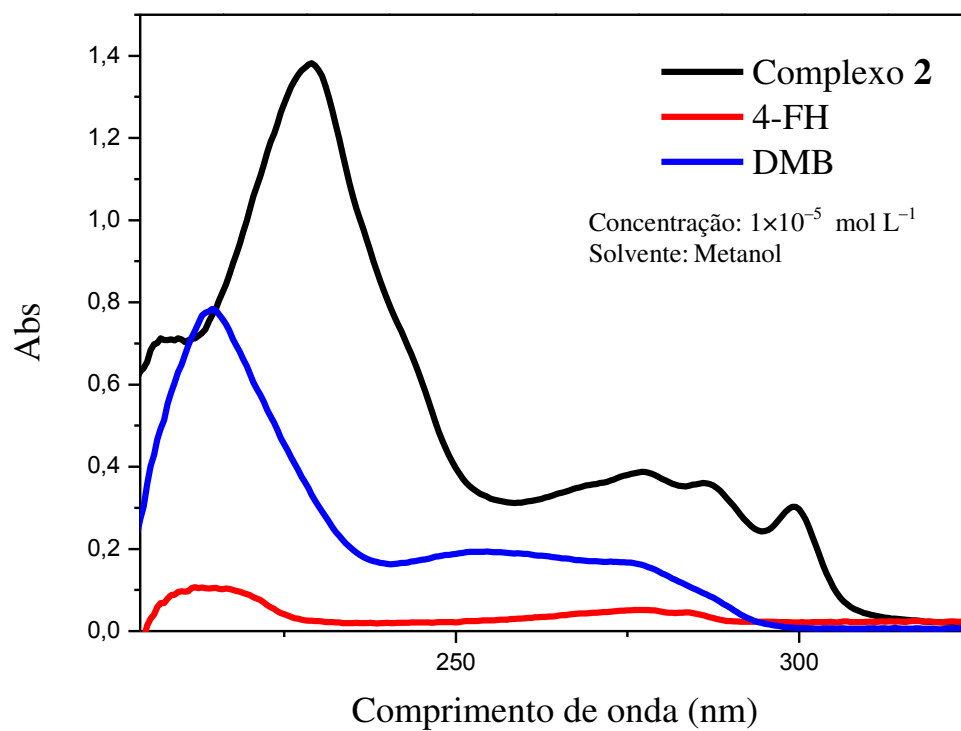
ZANG, C.; LIPPARD, S. New metal complexes as potential therapeutics. **Current Opinion in chemical biology**. v.7, p. 481-489, 2003. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(03\)00081-4](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(03)00081-4)

ZEMBRUSKI, N. C.; STACHE, V.; HAEFELI, W.; WEISS, J. 7-aminoactinomycin D for apoptosis staining in flow cytometry. **Analytical Biochemistry** v. 429(1), p. 79-81, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2012.07.005>

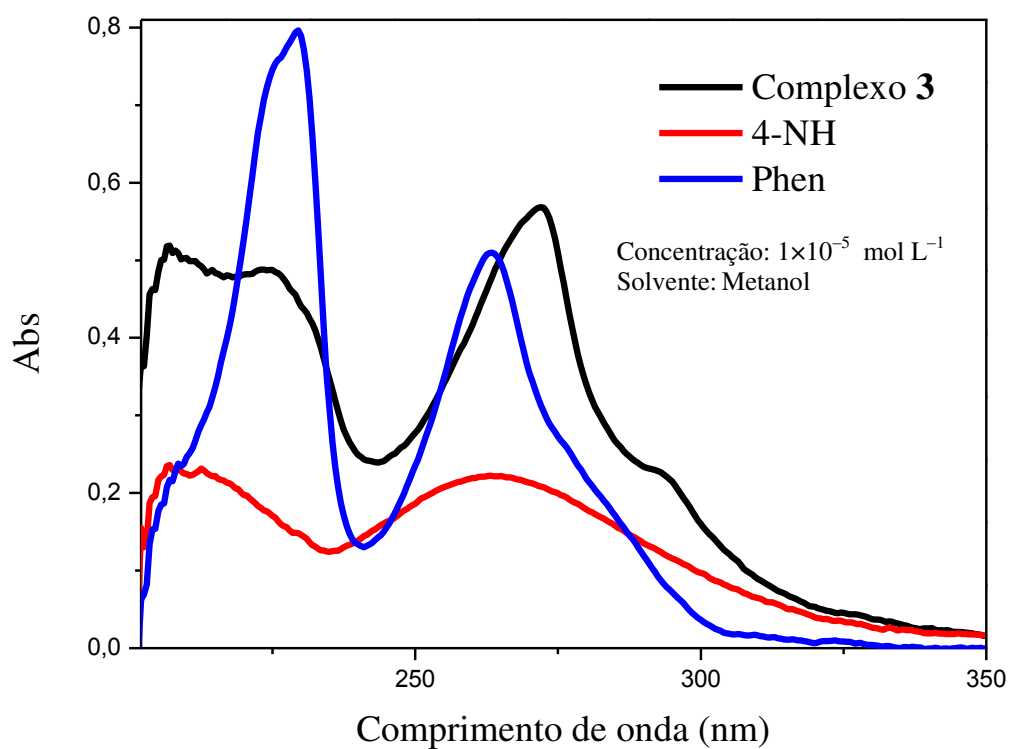
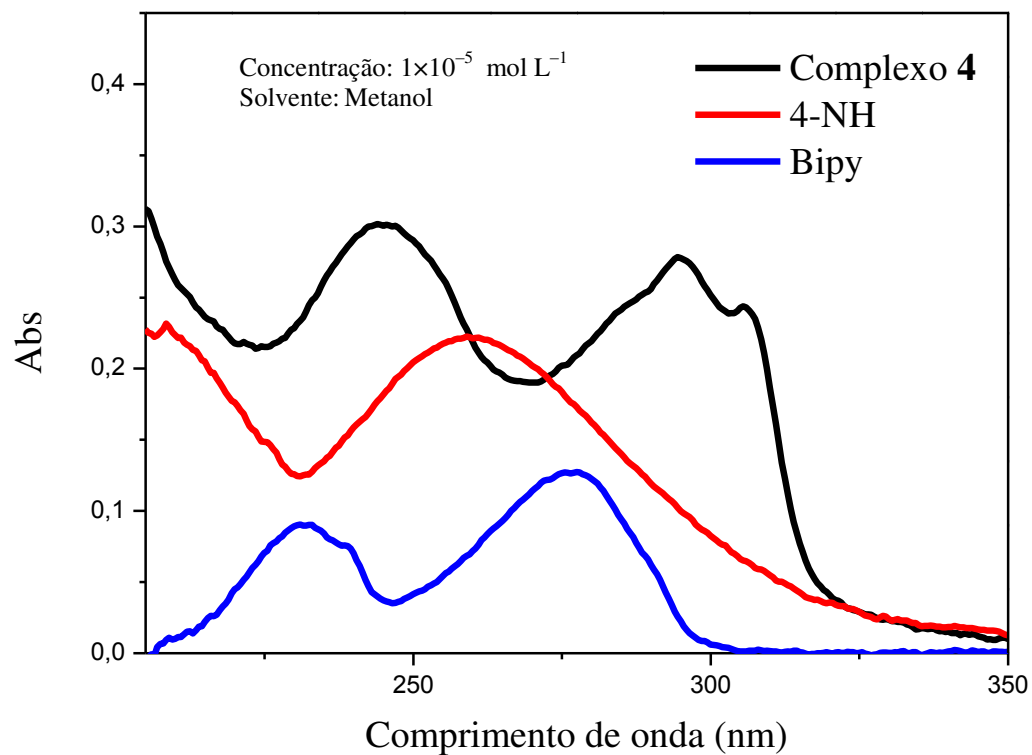
ZHANG, Z. BI. C.; SCHMITT, S.M.; FAN, Y.; DONG, L.; ZUO, J.; DOU, Q.P. 1,10-Phenanthroline promotes copper complexes into tumor cells and induces apoptosis by inhibiting the proteasome activity. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**. v 17, p. 1257–1267, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00775-012-0940-x>

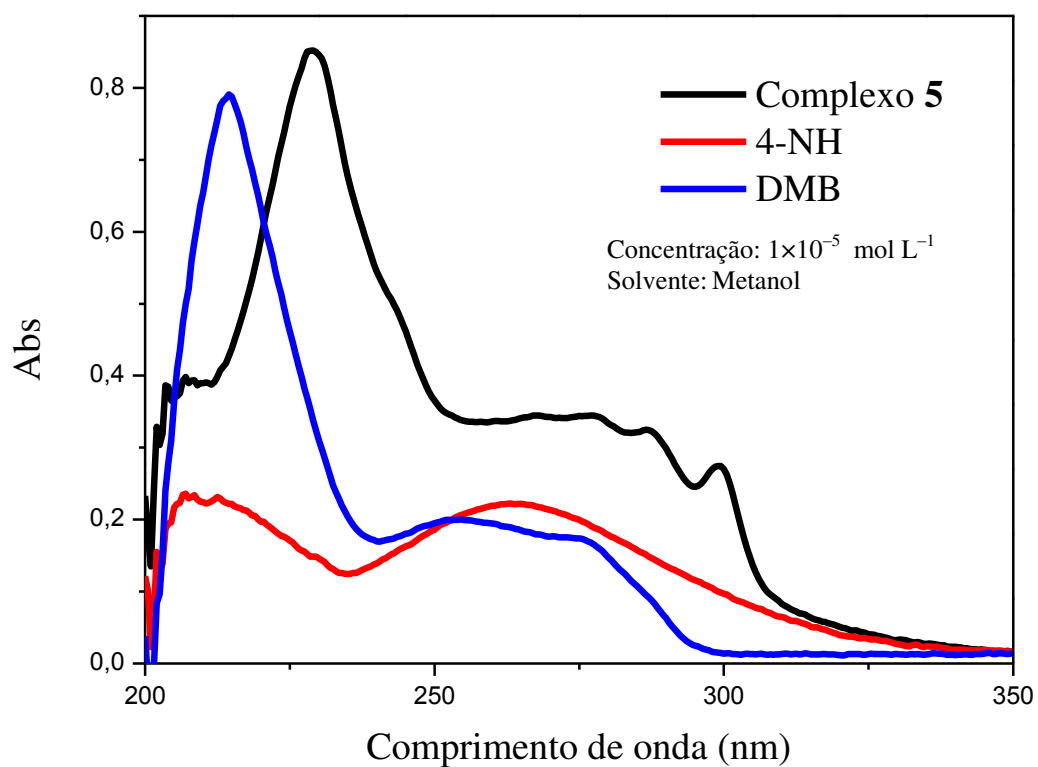
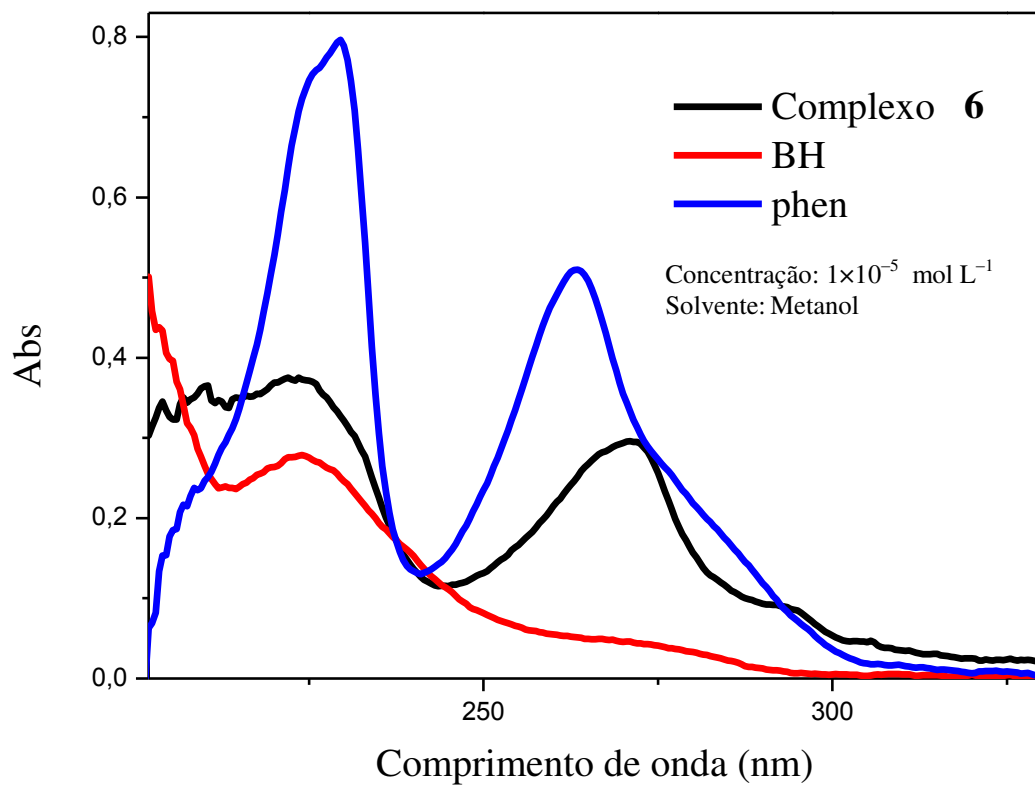
## 8. ANEXOS

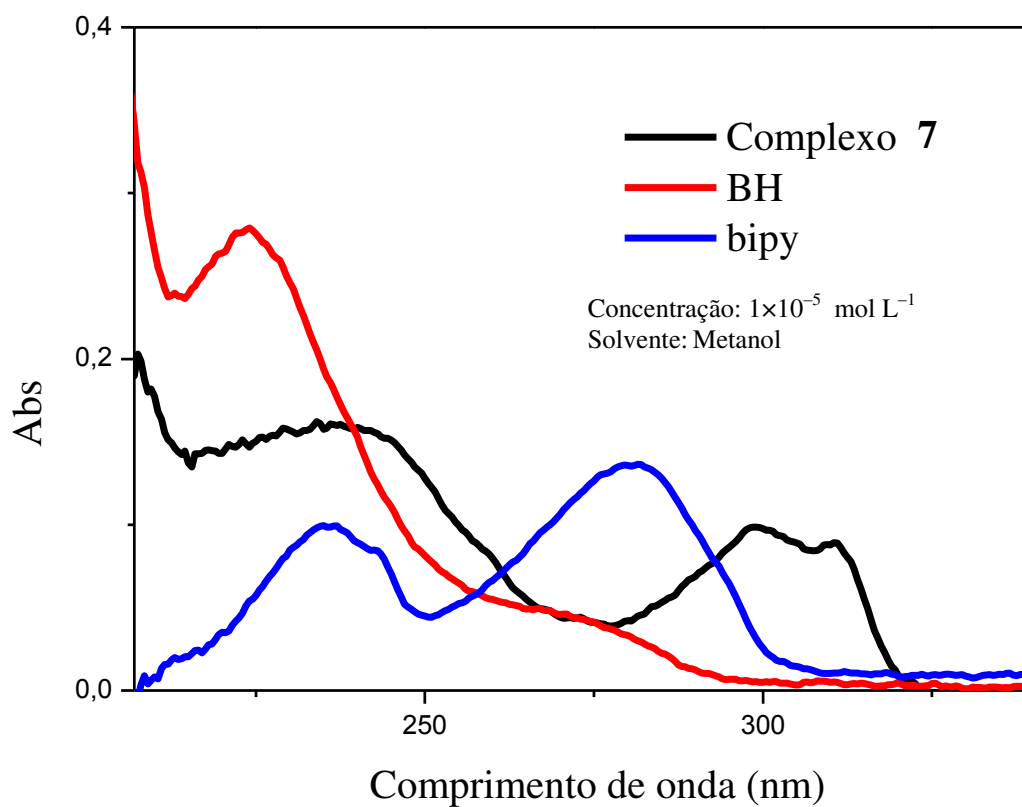
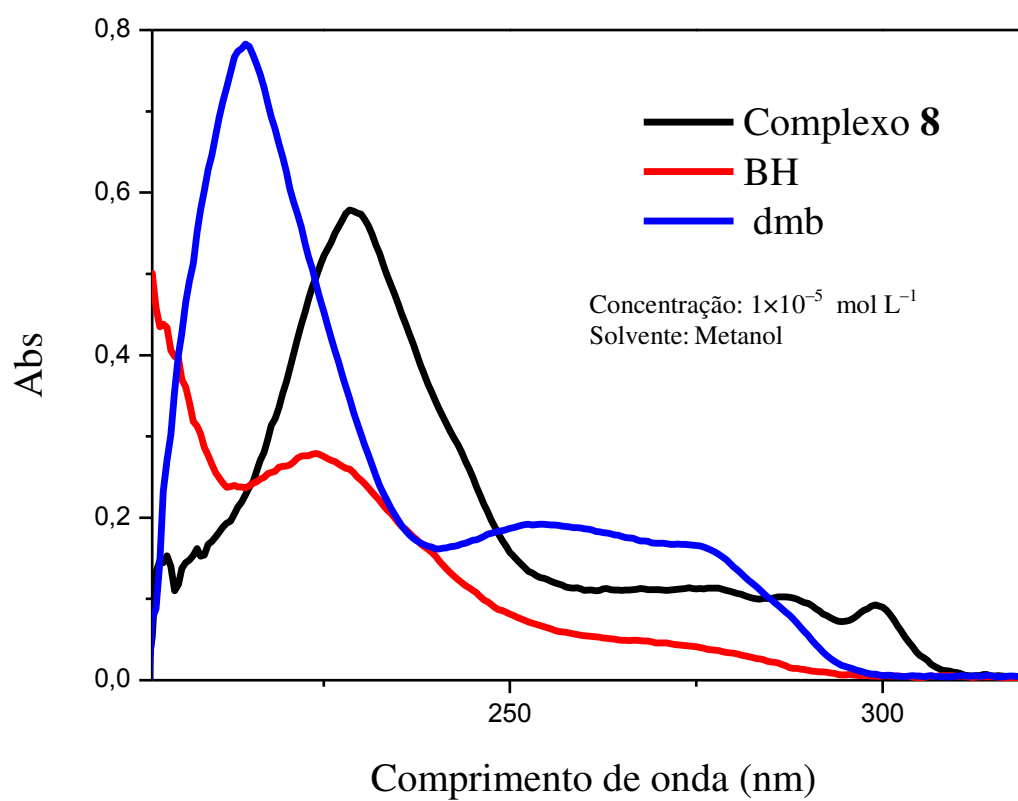
## A. Espectros de UV-Vis

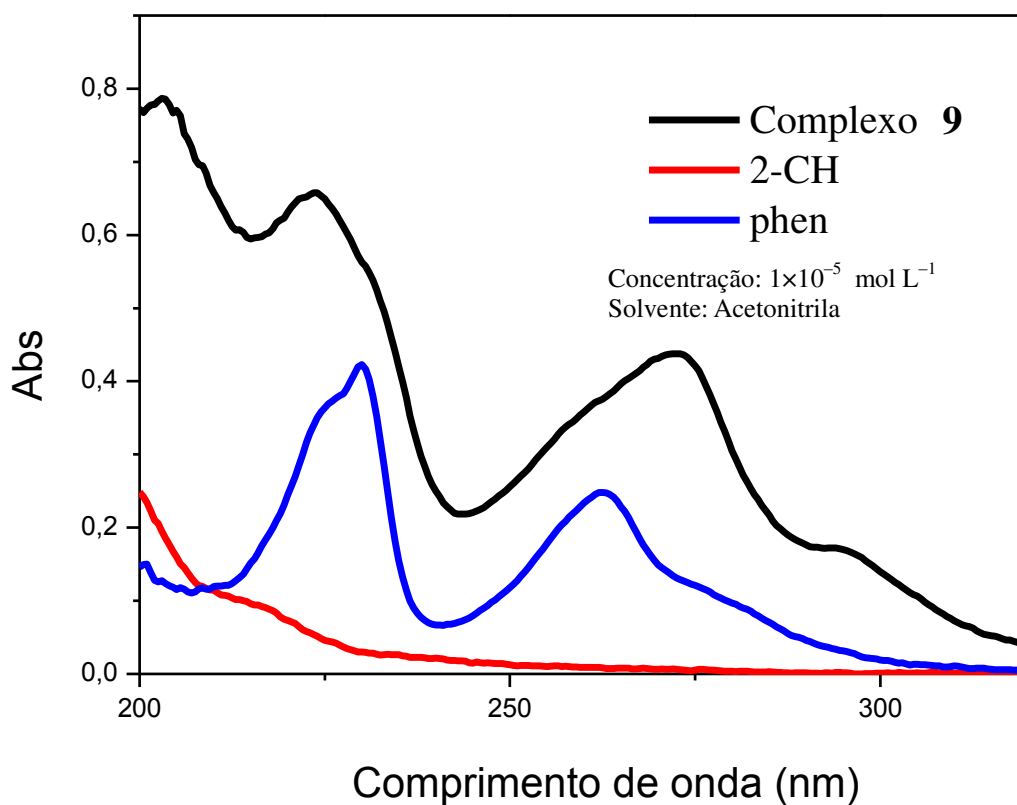
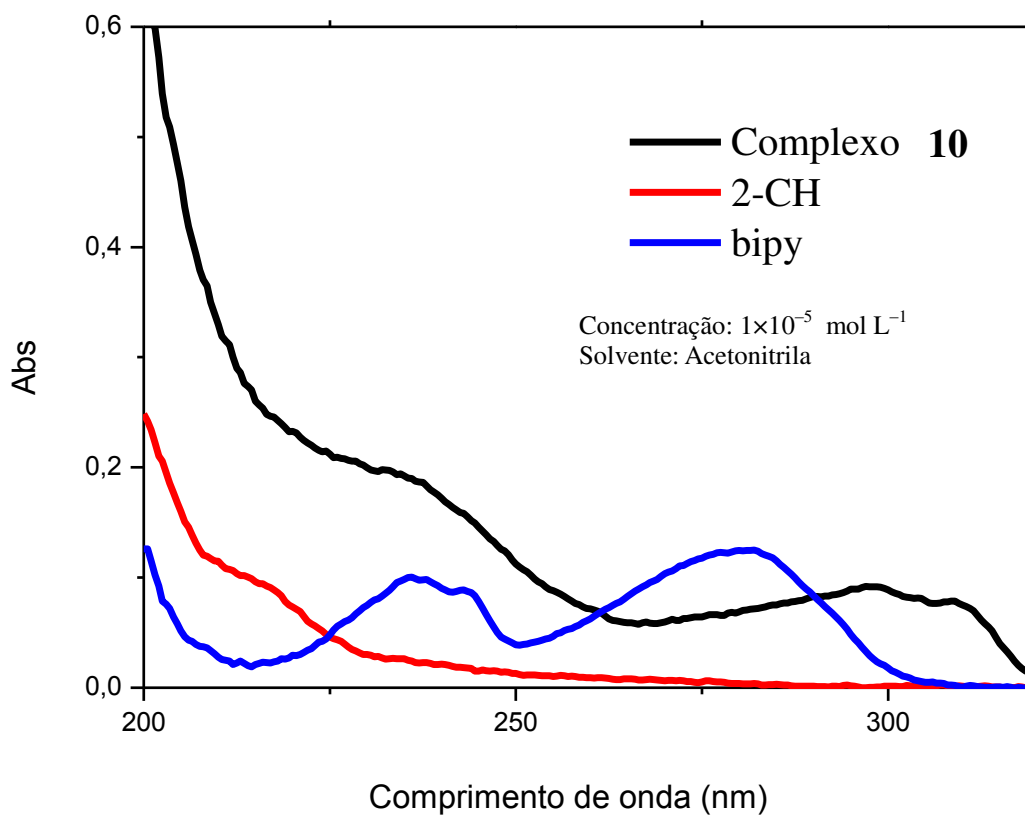
**Figura A1:** Espectro de UV-Vis do complexo 1 e seus respectivos ligantes.**Figura A2:** Espectro de UV-Vis do complexo 2 e seus respectivos ligantes.

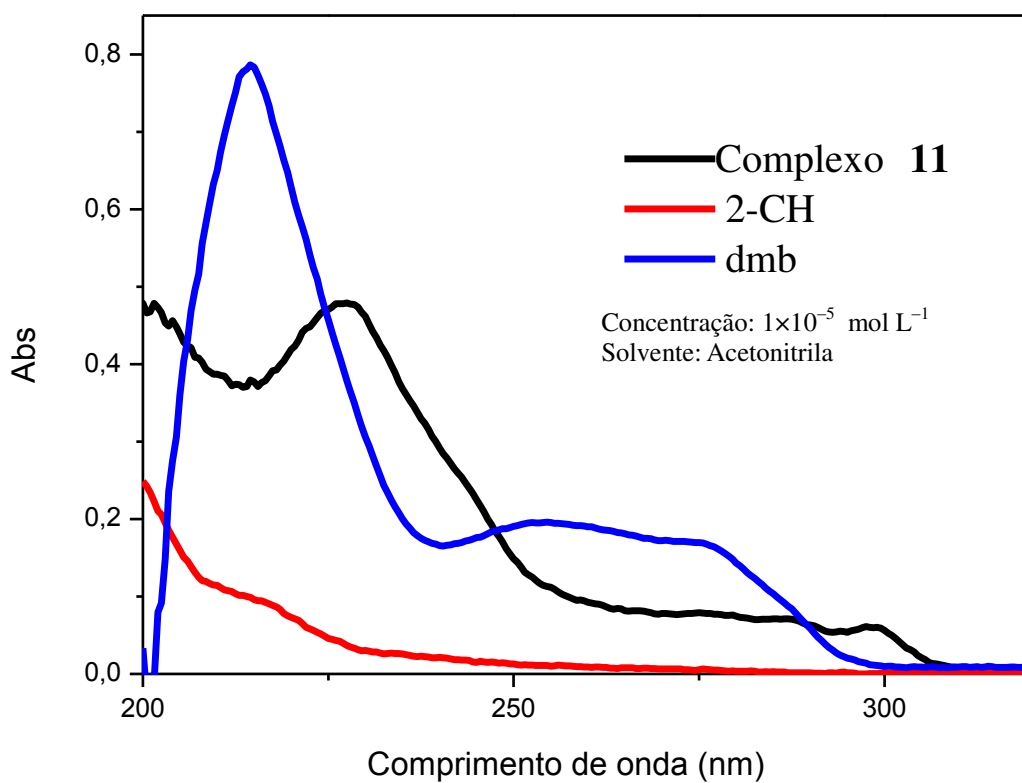
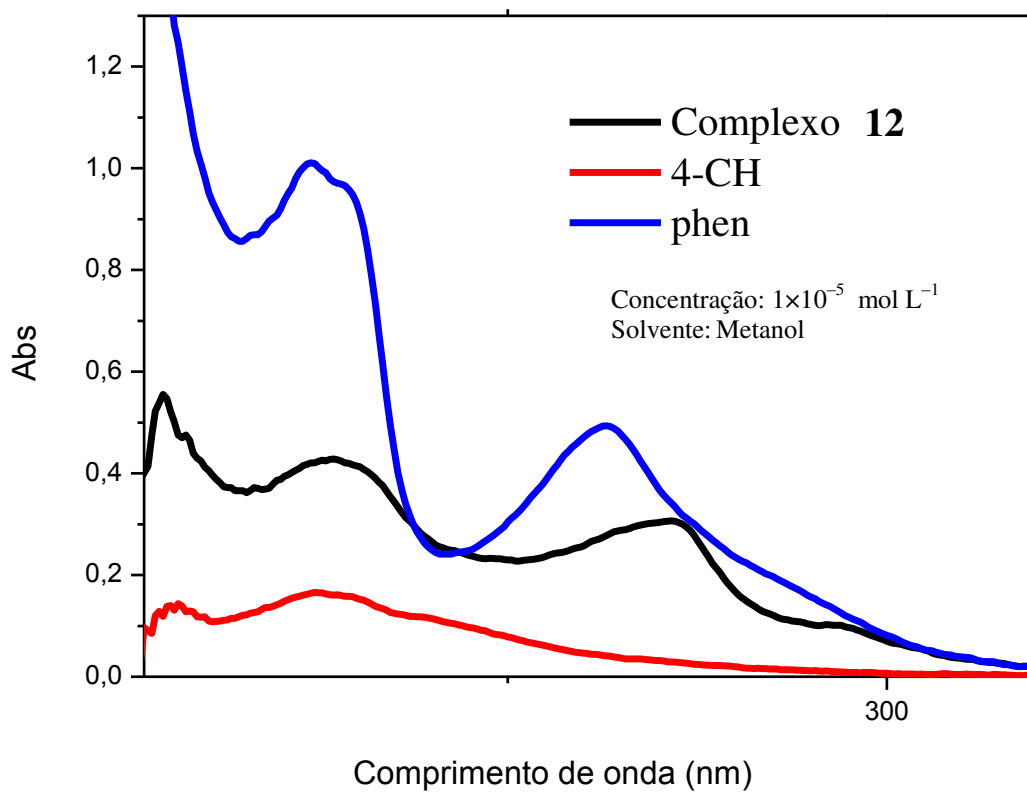


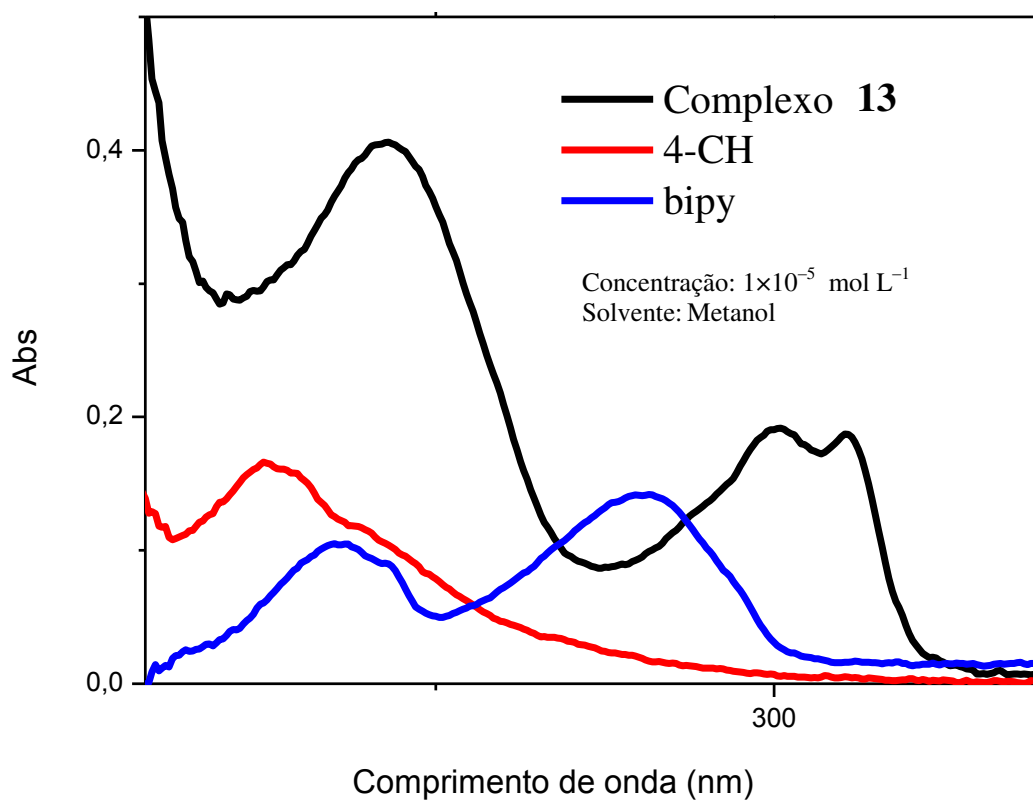
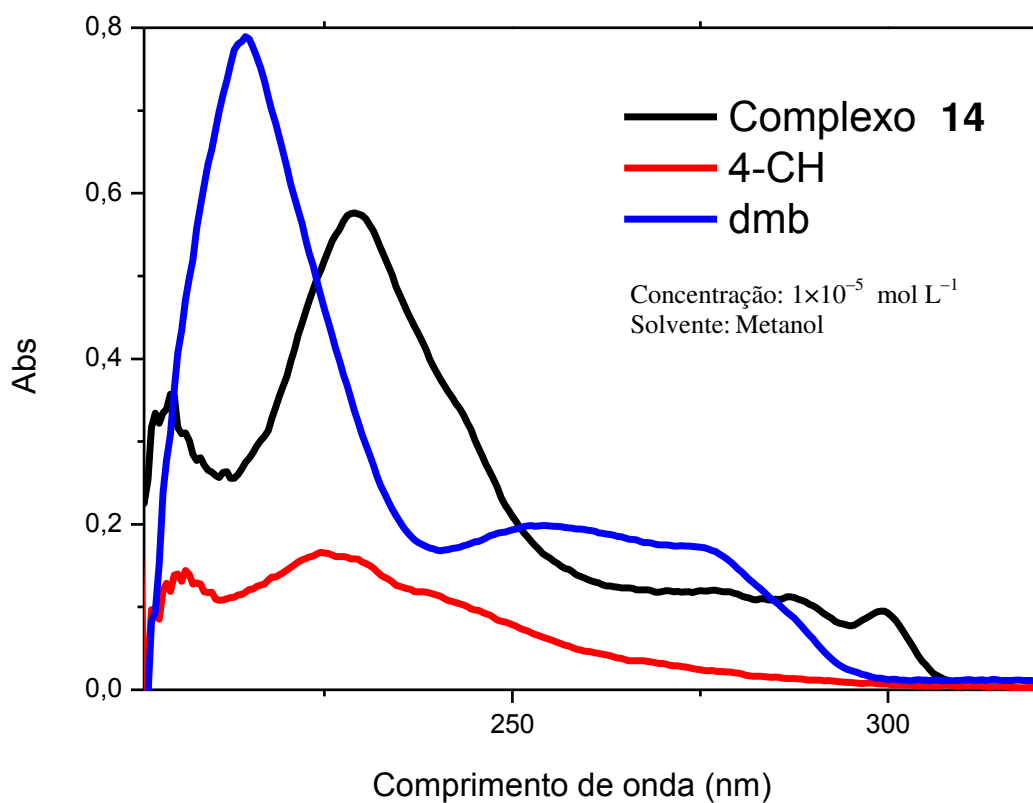
**Figura A3:** Espectro de UV-Vis do complexo **3** e seus respectivos ligantes.**Figura A4:** Espectro de UV-Vis do complexo **4** e seus respectivos ligantes.

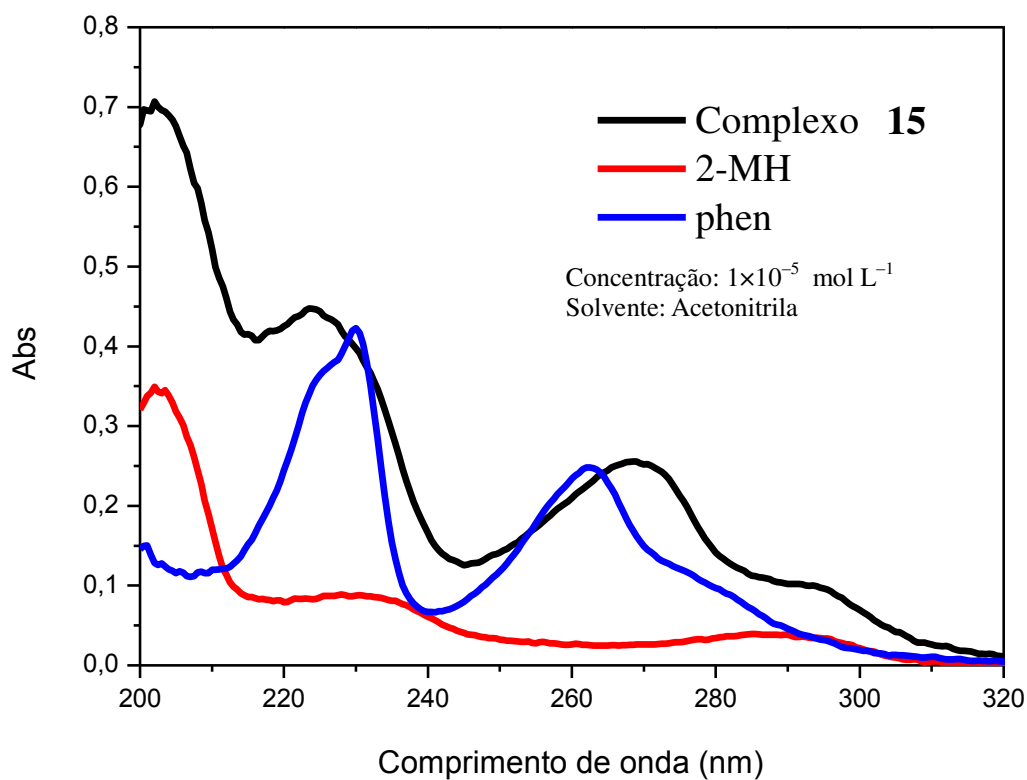
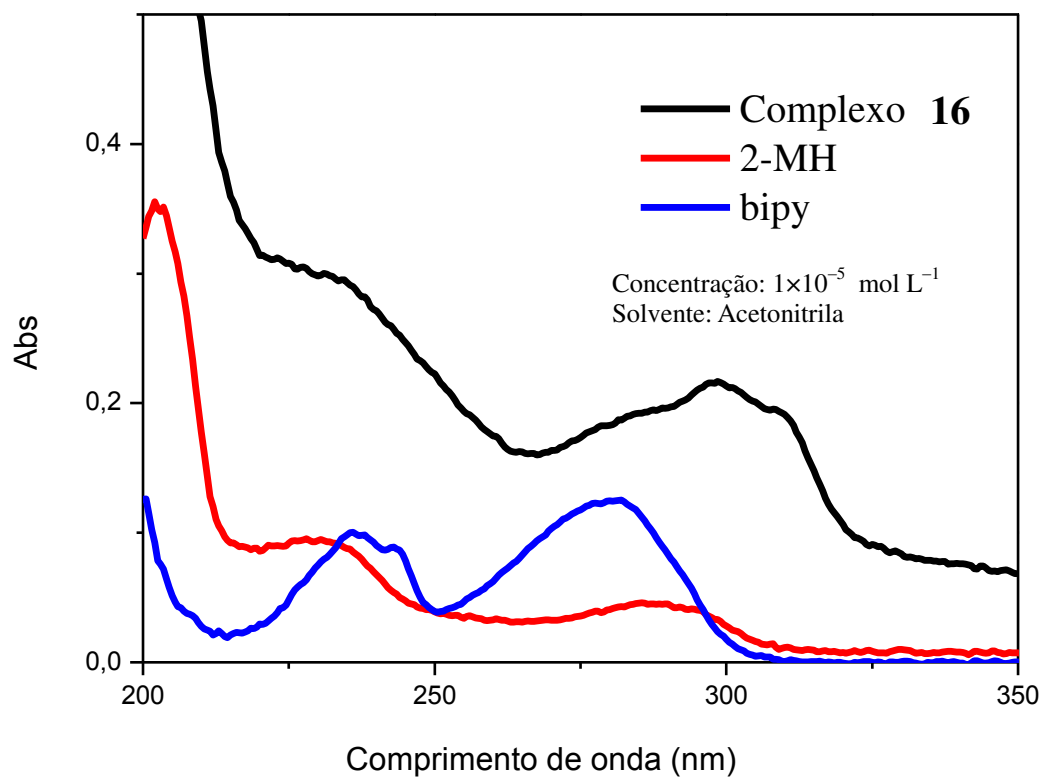
**Figura A5:** Espectro de UV-Vis do complexo **5** e seus respectivos ligantes.**Figura A6:** Espectro de UV-Vis do complexo **6** e seus respectivos ligantes.

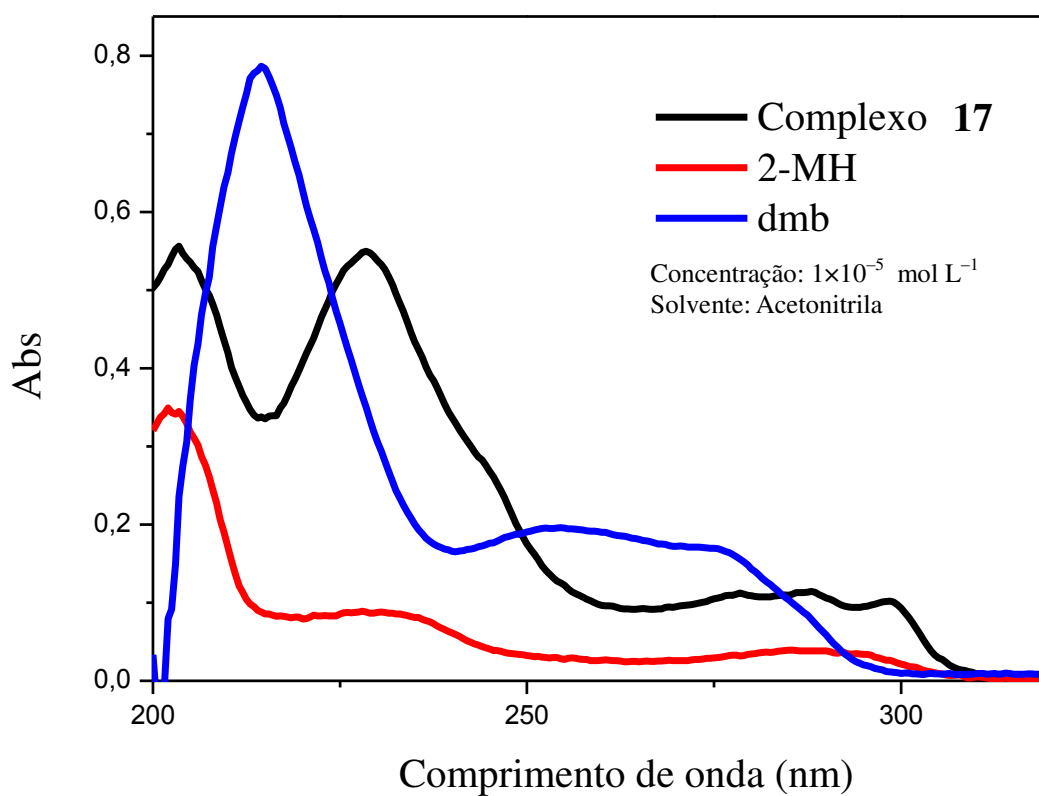
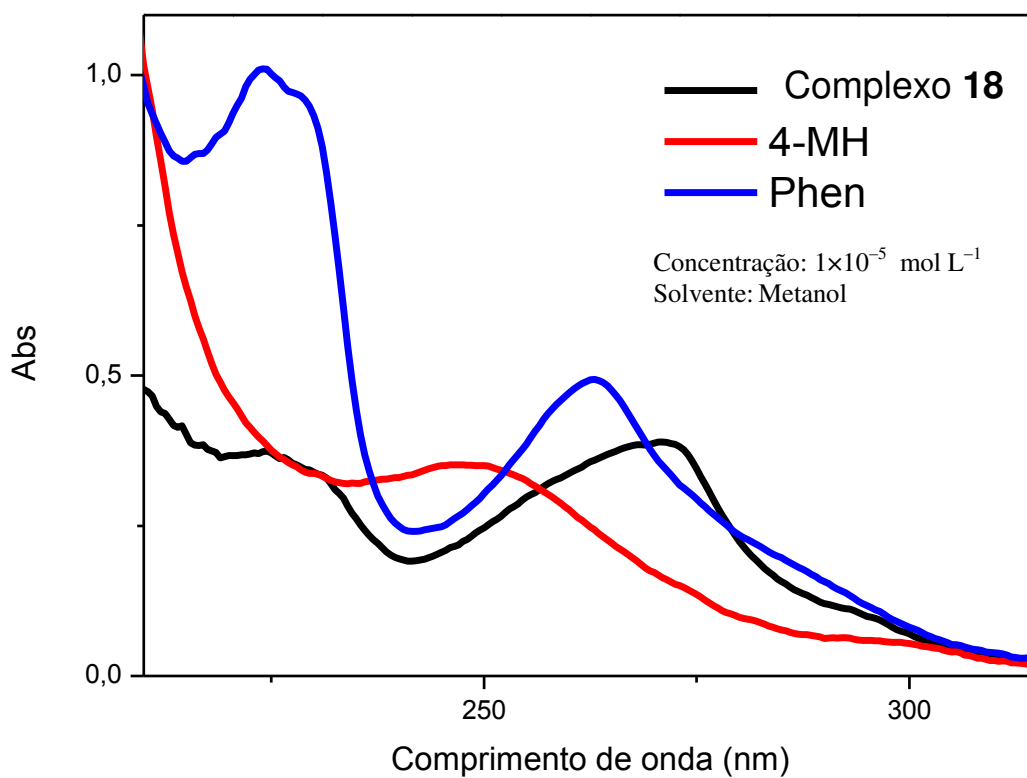
**Figura A7:** Espectro de UV-Vis do complexo **7** e seus respectivos ligantes.**Figura A8:** Espectro de UV-Vis do complexo **8** e seus respectivos ligantes.

**Figura A9:** Espectro de UV-Vis do complexo **9** e seus respectivos ligantes.**Figura A10:** Espectro de UV-Vis do complexo **10** e seus respectivos ligantes.

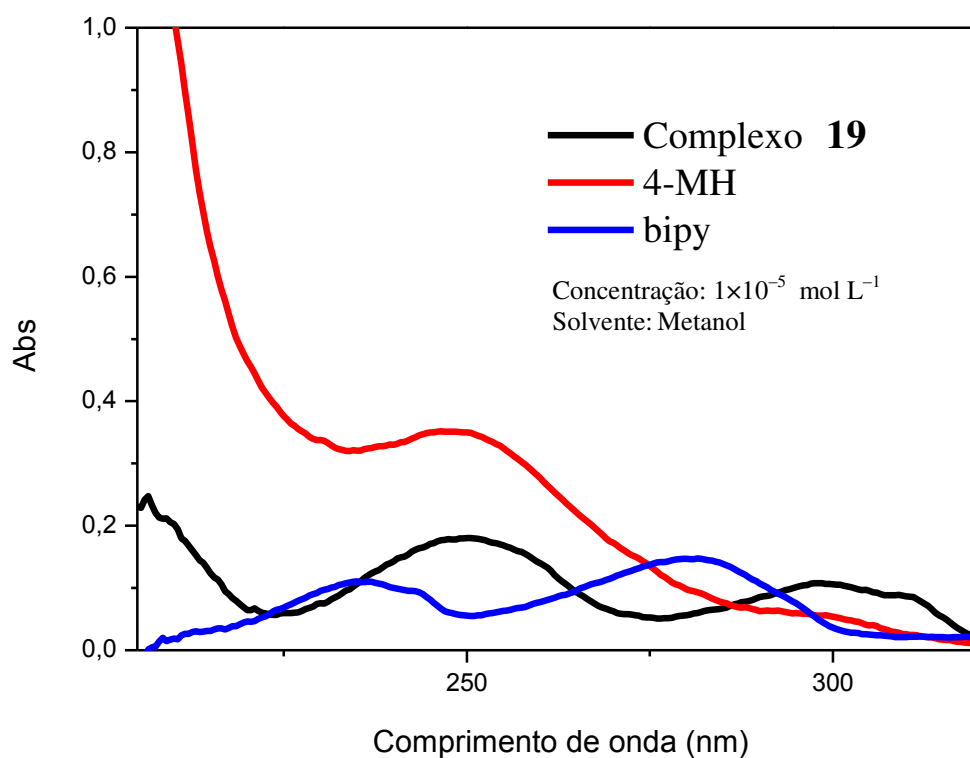
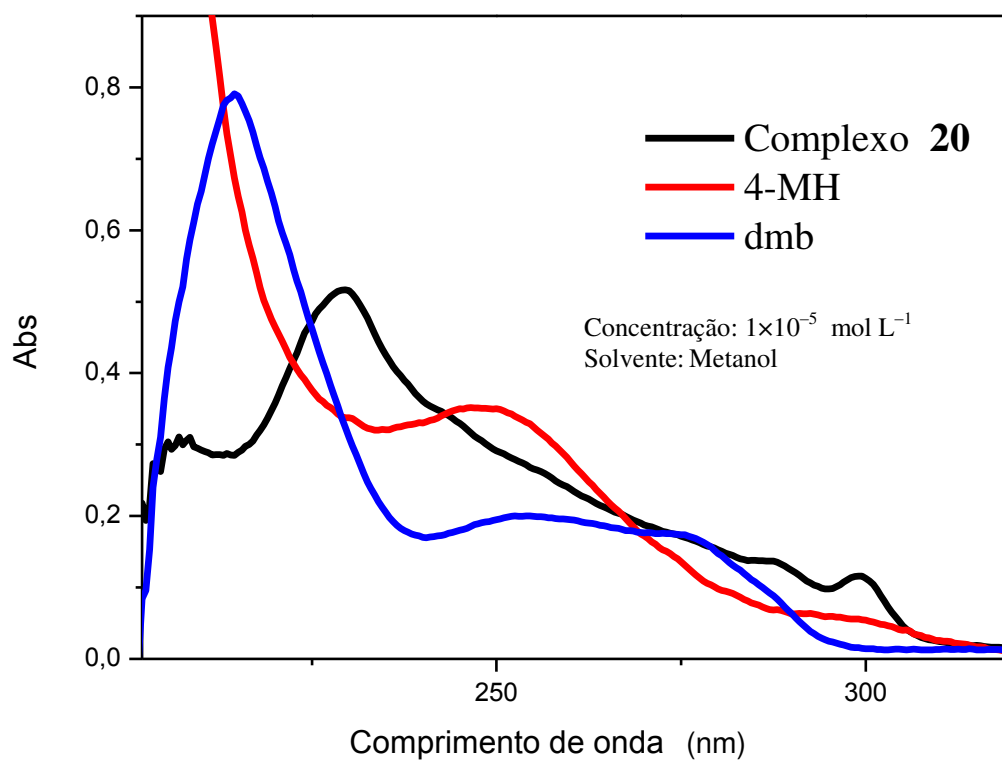
**Figura A11:** Espectro de UV-Vis do complexo **11** e seus respectivos ligantes.**Figura A12:** Espectro de UV-Vis do complexo **12** e seus respectivos ligantes.

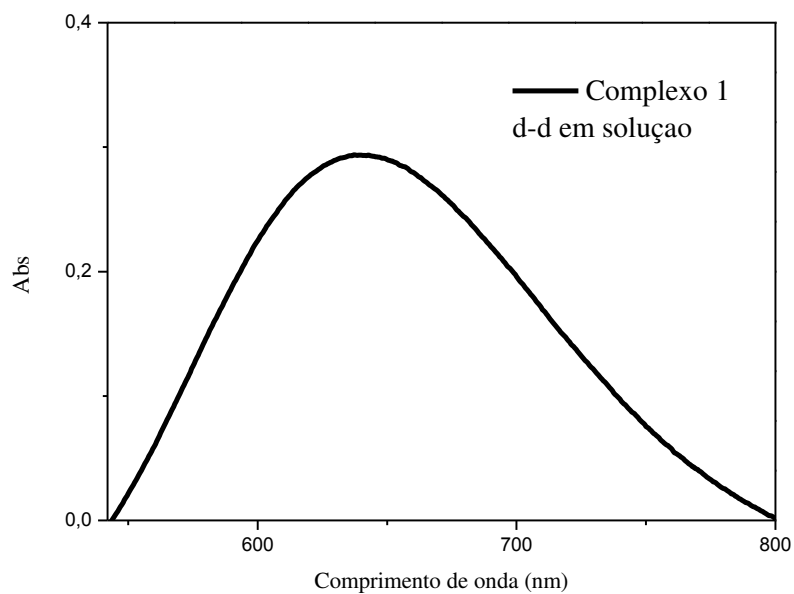
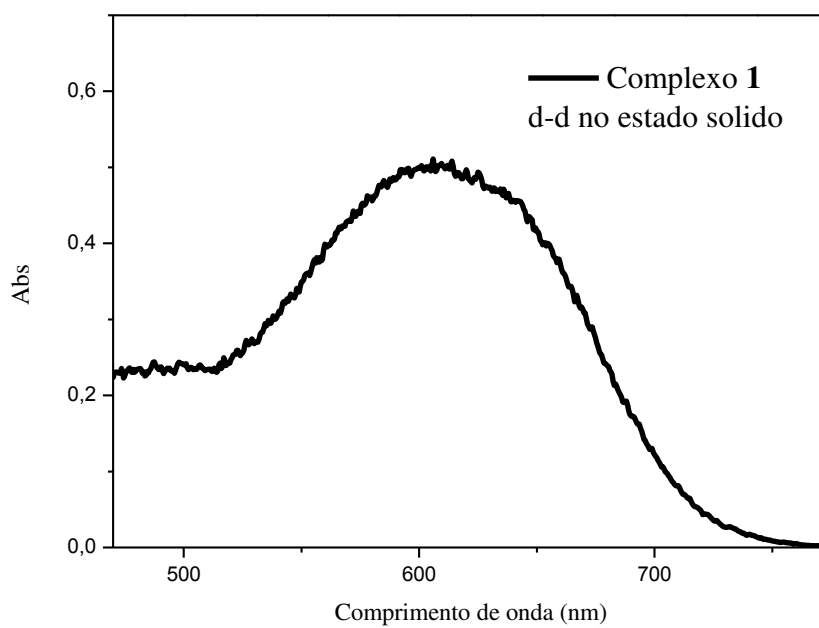
**Figura A13:** Espectro de UV-Vis do complexo **13** e seus respectivos ligantes.**Figura A14:** Espectro de UV-Vis do complexo **14** e seus respectivos ligantes.

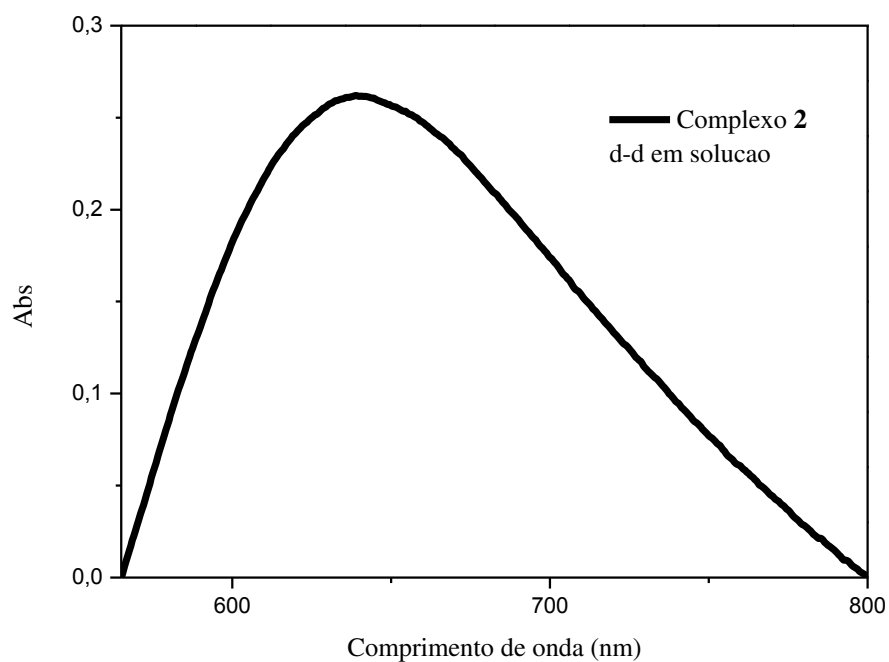
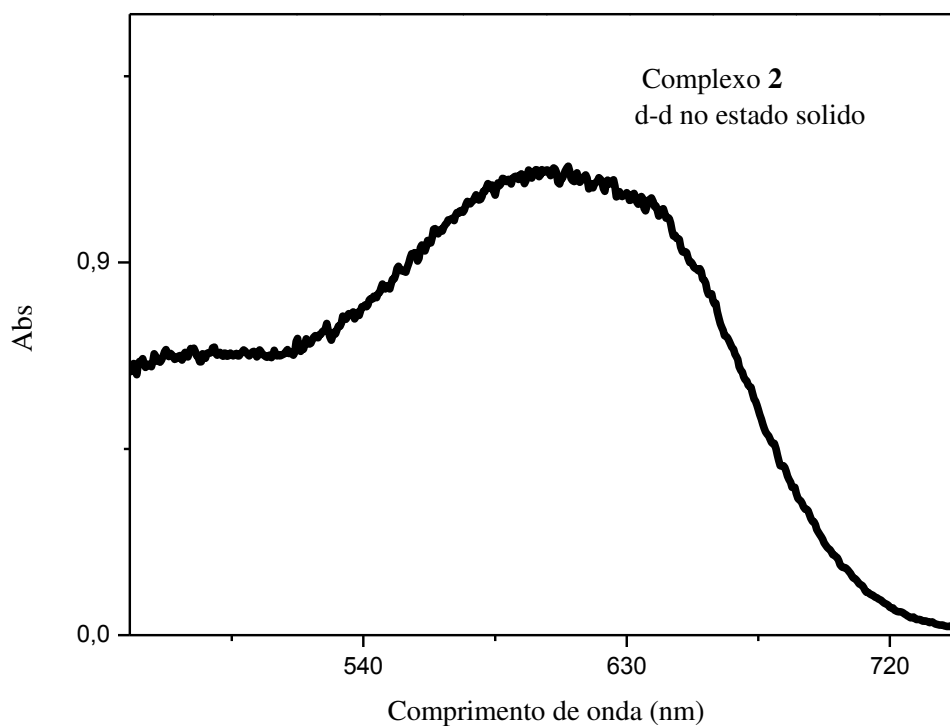
**Figura A15:** Espectro de UV-Vis do complexo **15** e seus respectivos ligantes.**Figura A16:** Espectro de UV-Vis do complexo **16** e seus respectivos ligantes.

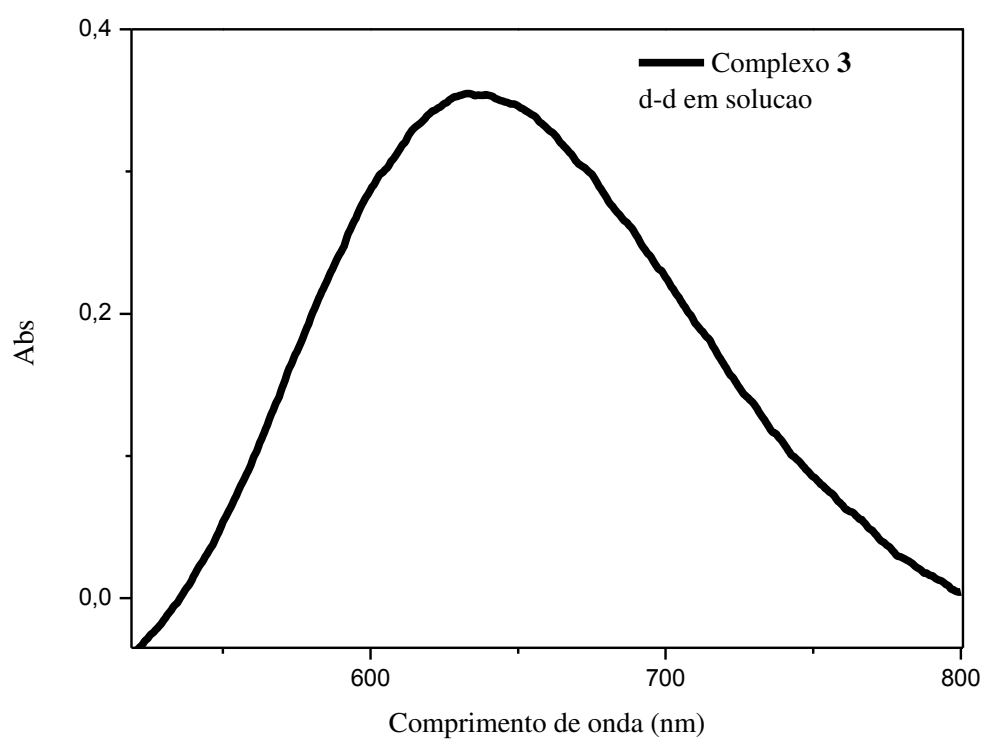
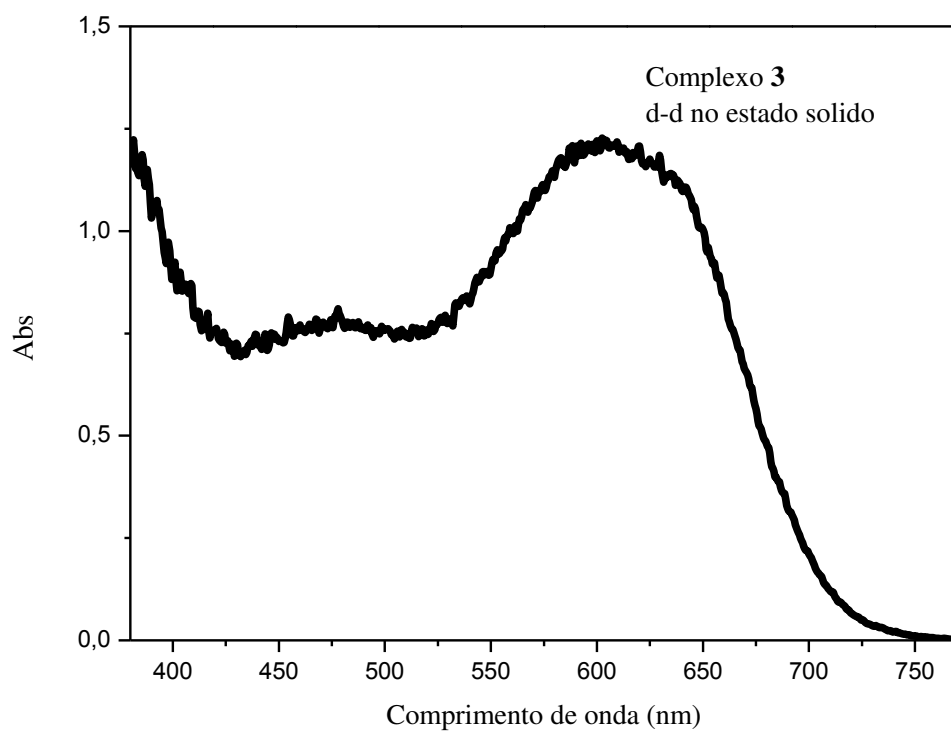
**Figura A17:** Espectro de UV-Vis do complexo **17** e seus respectivos ligantes.**Figura A18:** Espectro de UV-Vis do complexo **18** e seus respectivos ligantes.

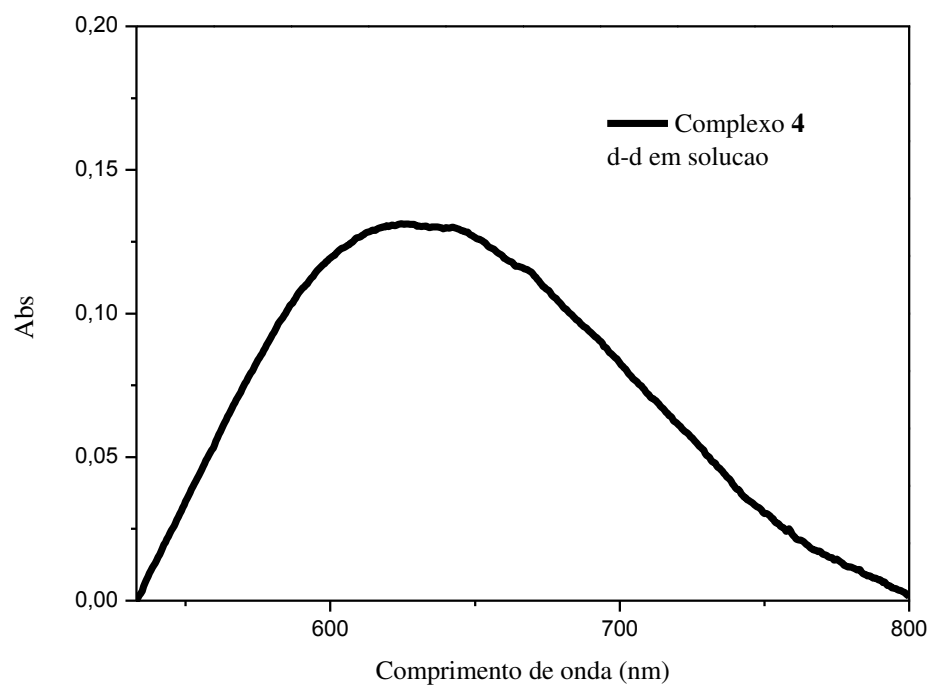
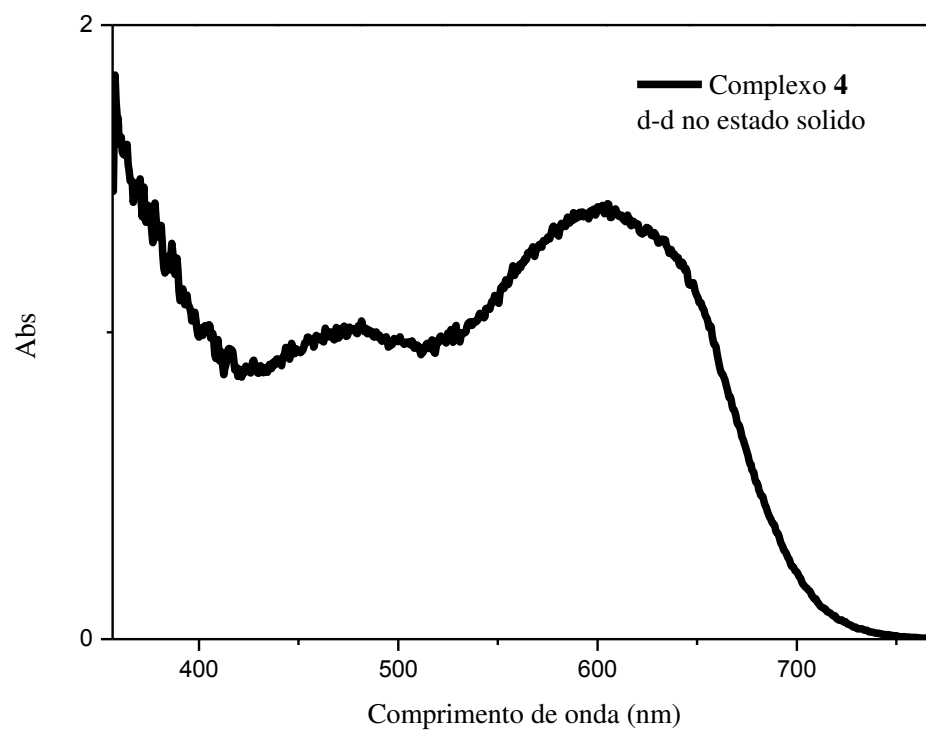


**Figura A19:** Espectro de UV-Vis do complexo **19** e seus respectivos ligantes.**Figura A20:** Espectro de UV-Vis do complexo **20** e seus respectivos ligantes.

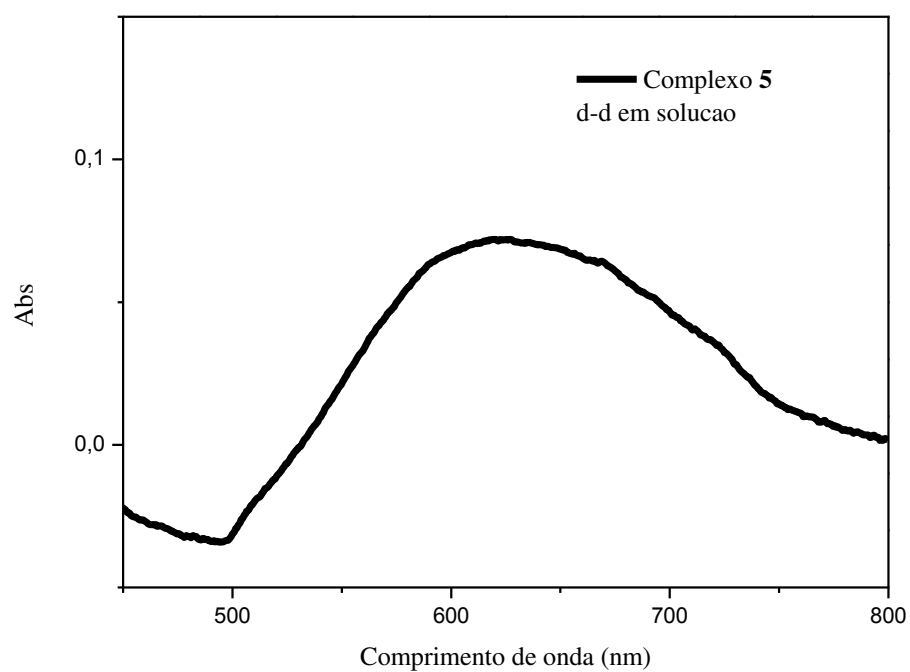
**Figura A21:** Espectro de UV-Vis do complexo **1** em solução metanólica.**Figura A22:** Espectro de UV-Vis do complexo **1** no estado sólido.

**Figura A23:** Espectro de UV-Vis do complexo **2** em solução metanólica.**Figura A24:** Espectro de UV-Vis do complexo **2** no estado sólido.

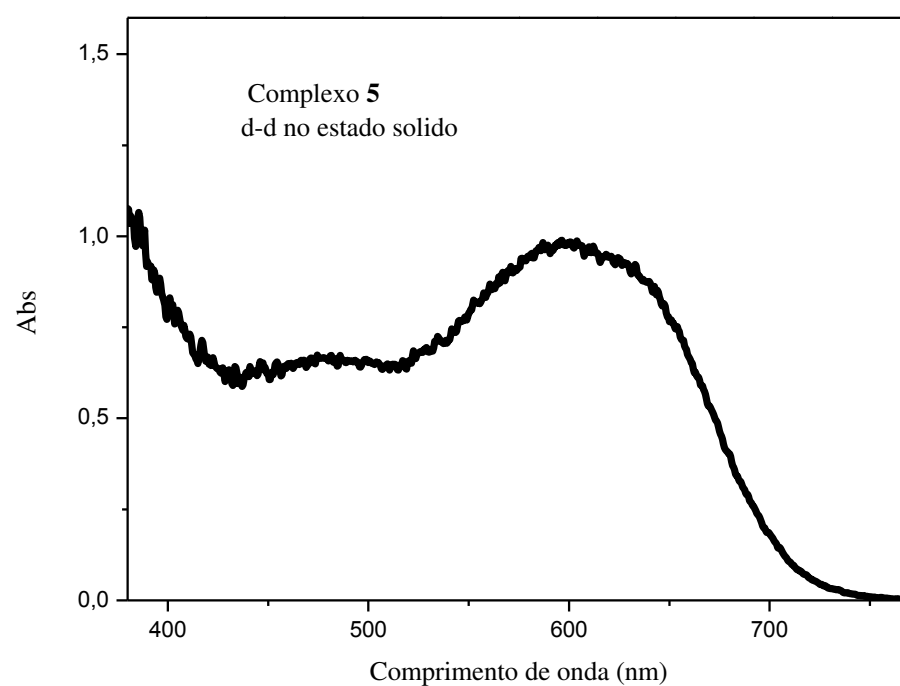
**Figura A25:** Espectro de UV-Vis do complexo **3** em solução metanólica.**Figura A26:** Espectro de UV-Vis do complexo **3** no estado sólido.

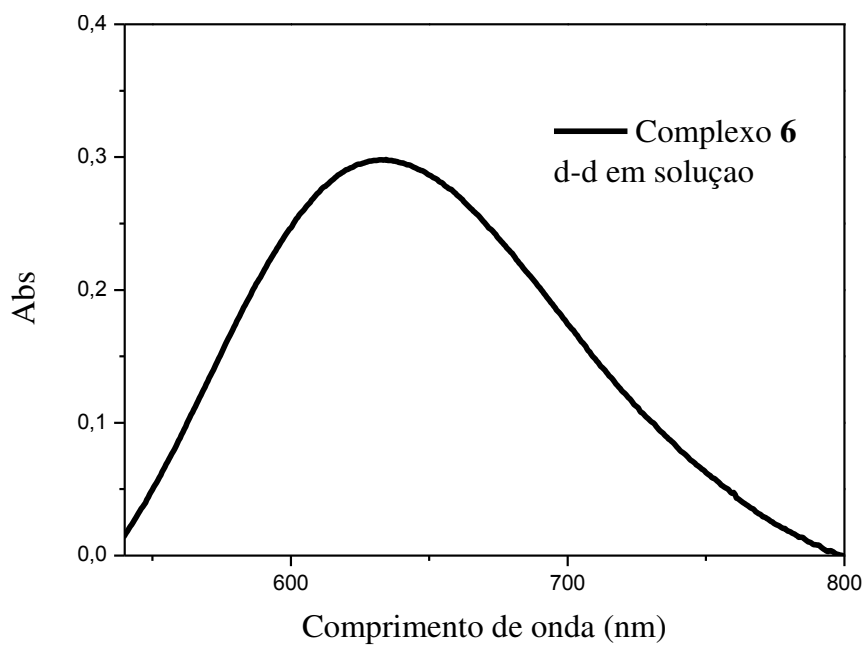
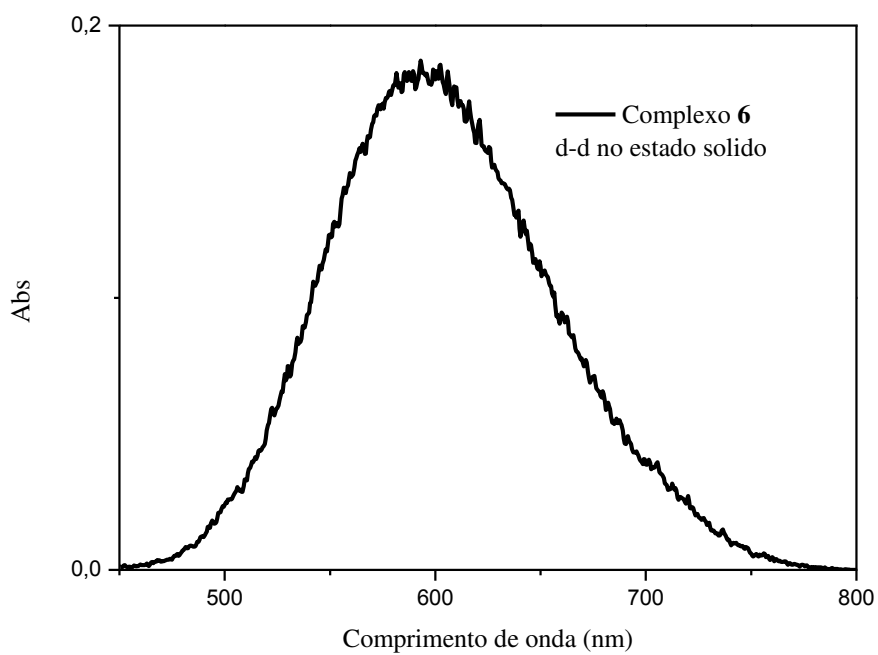
**Figura A27:** Espectro de UV-Vis do complexo 4 em solução metanólica.**Figura A28:** Espectro de UV-Vis do complexo 4 no estado sólido.

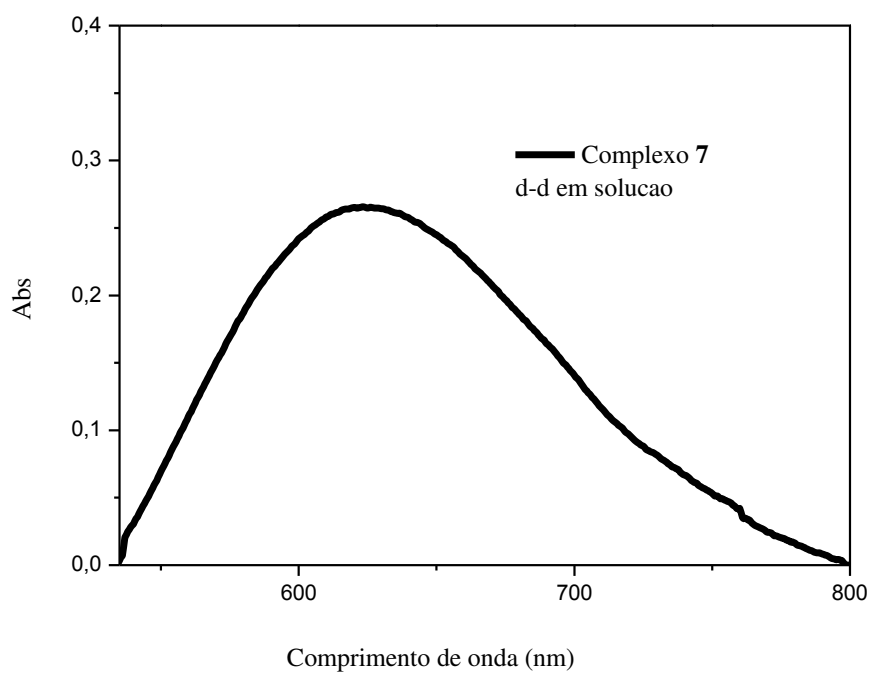
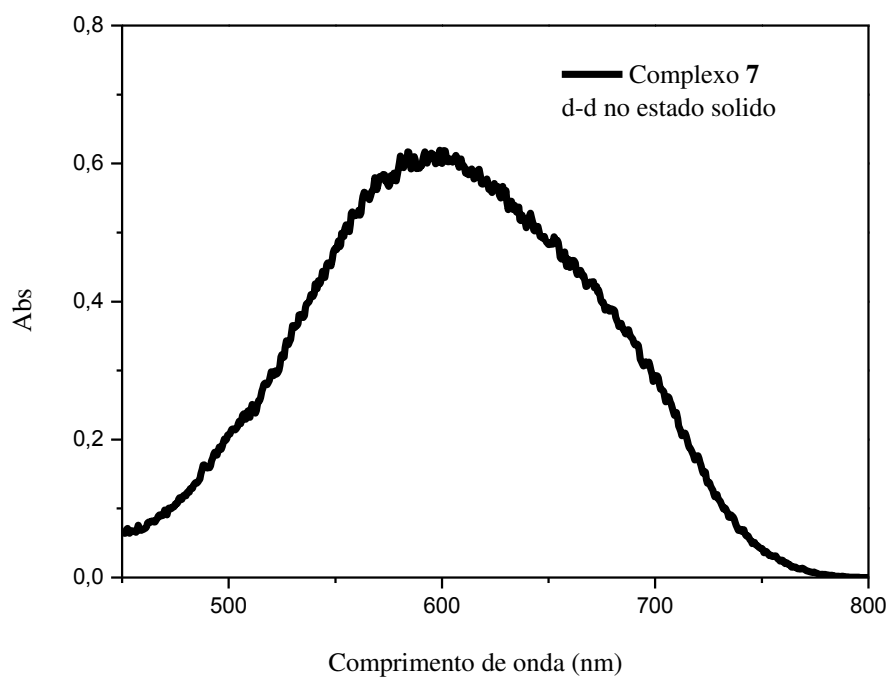
**Figura A29:** Espectro de UV-Vis do complexo **5** em solução metanólica.



**Figura A30:** Espectro de UV-Vis do complexo **5** no estado sólido.

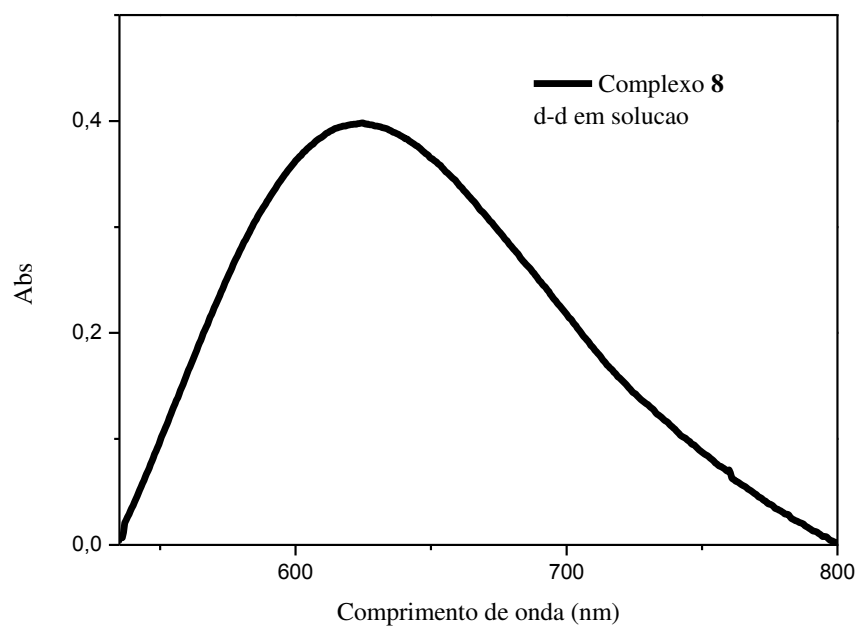


**Figura A31:** Espectro de UV-Vis do complexo **6** em solução metanólica.**Figura A32:** Espectro de UV-Vis do complexo **6** no estado sólido.

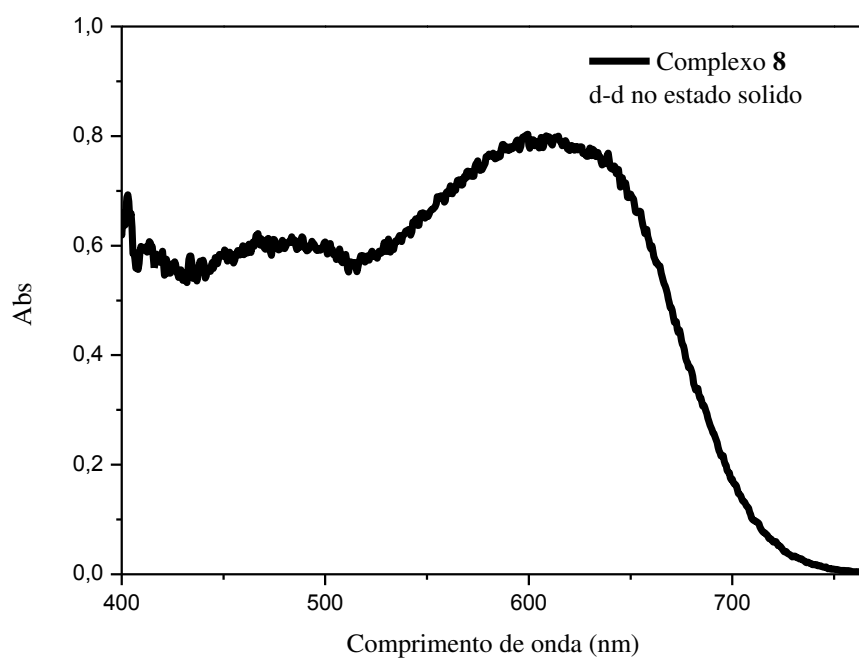
**Figura A33:** Espectro de UV-Vis do complexo 7 em solução metanólica.**Figura A34:** Espectro de UV-Vis do complexo 7 no estado sólido.



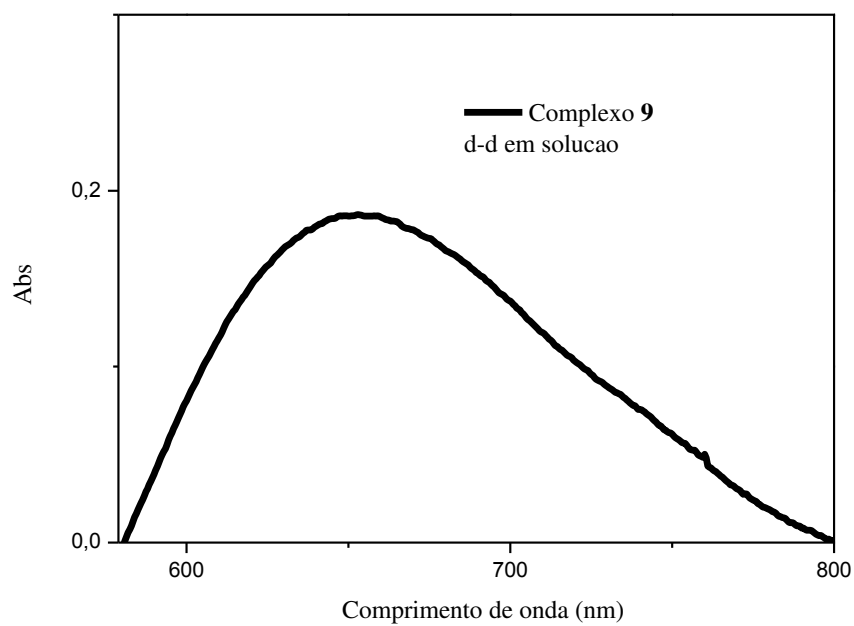
**Figura A35:** Espectro de UV-Vis do complexo **8** em solução metanólica.



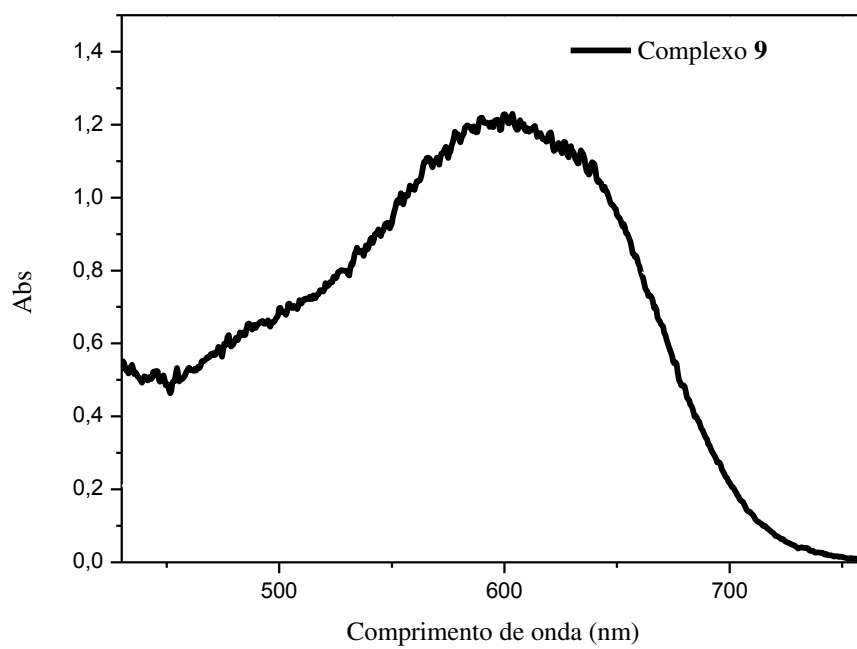
**Figura A36:** Espectro de UV-Vis do complexo **8** no estado sólido.

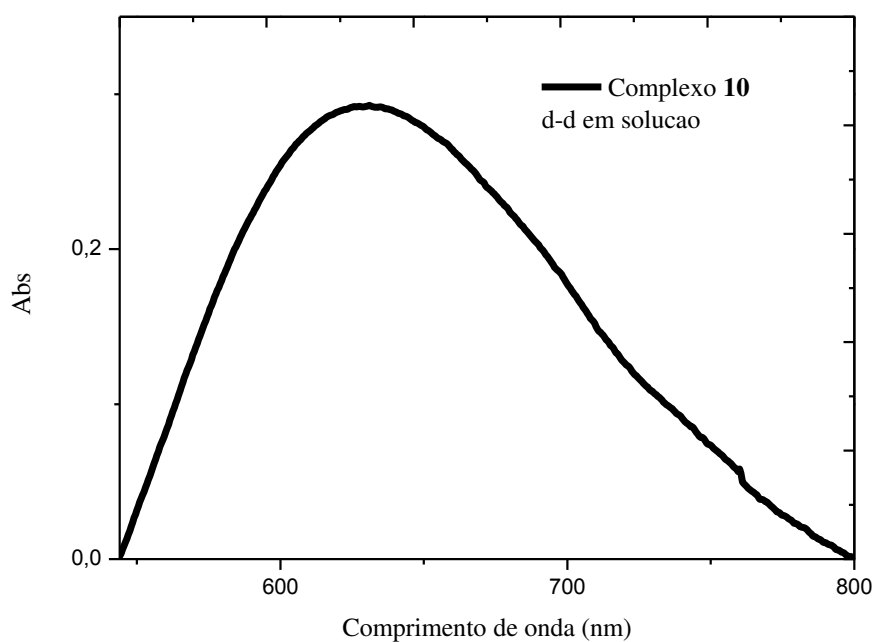
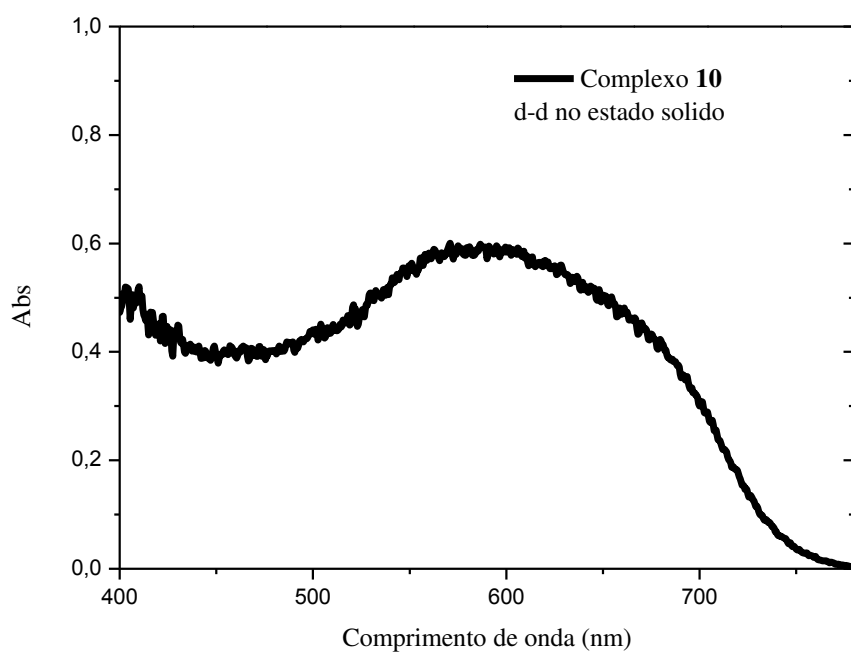


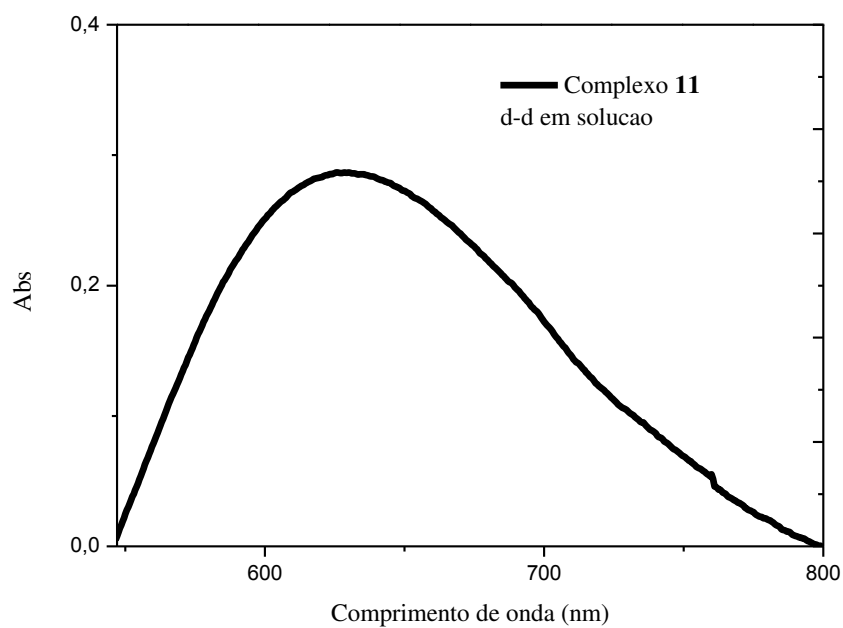
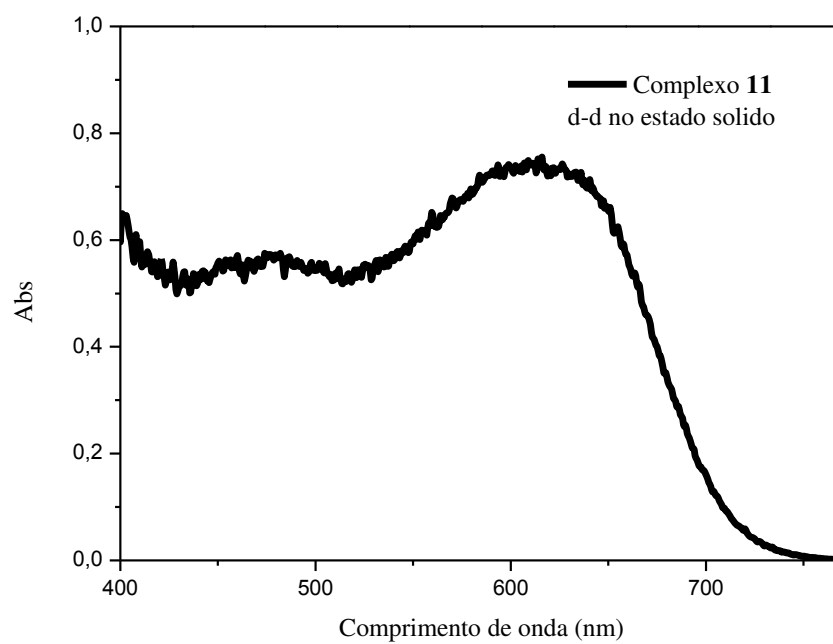
**Figura A37:** Espectro de UV-Vis do complexo **9** em solução (Solvente: Acetonitrila).

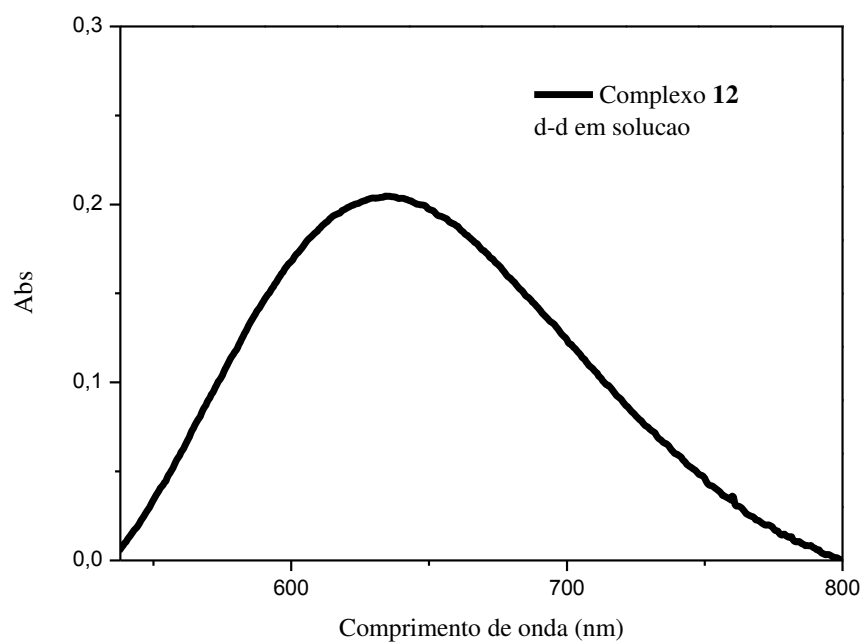
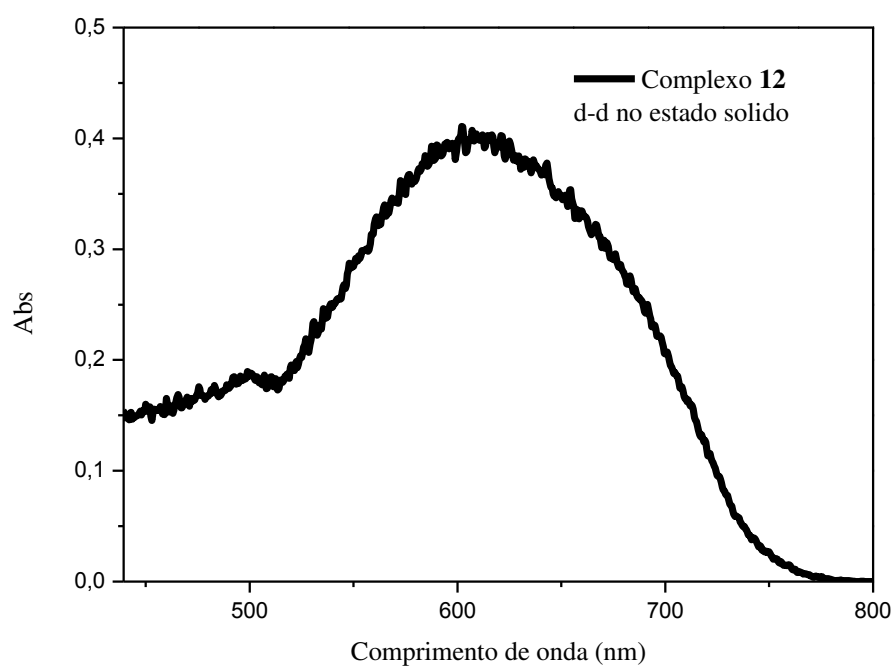


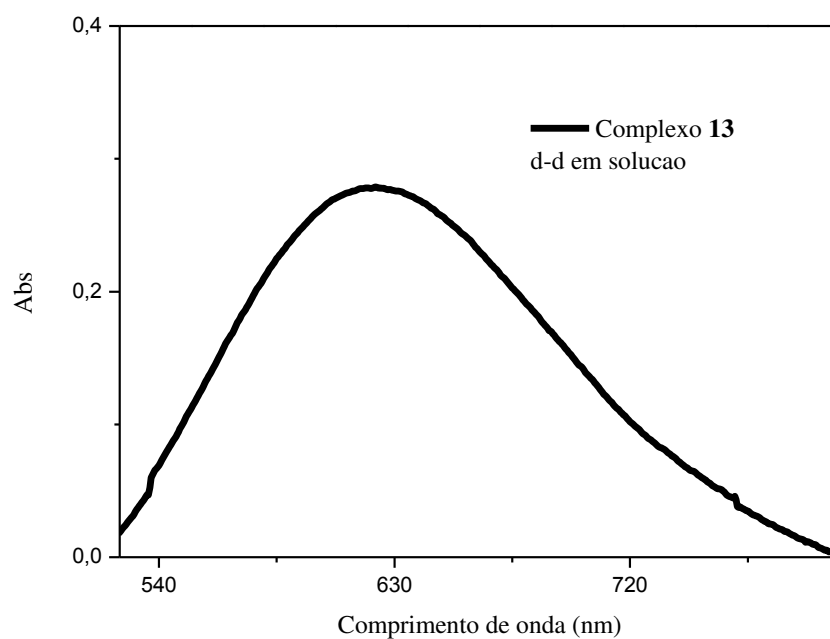
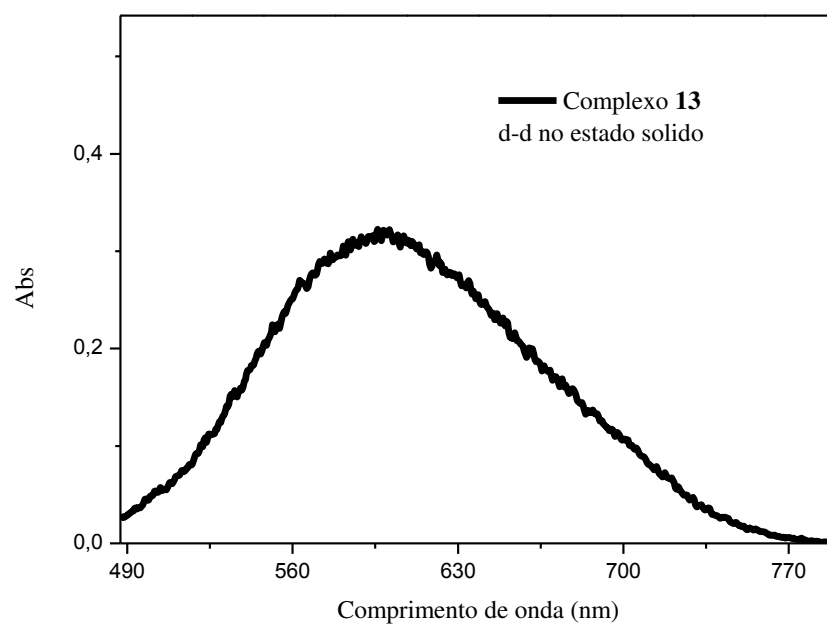
**Figura A38:** Espectro de UV-Vis do complexo **9** no estado sólido.

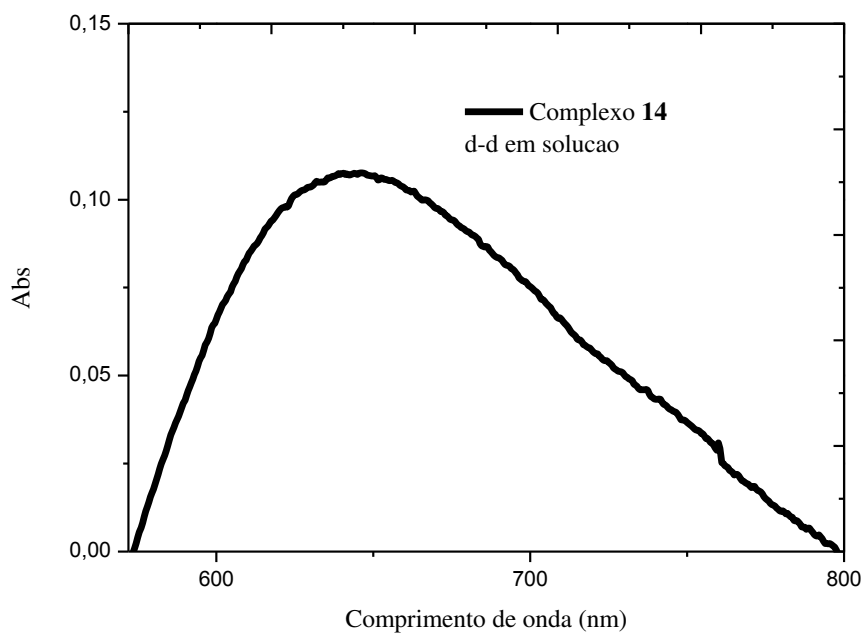
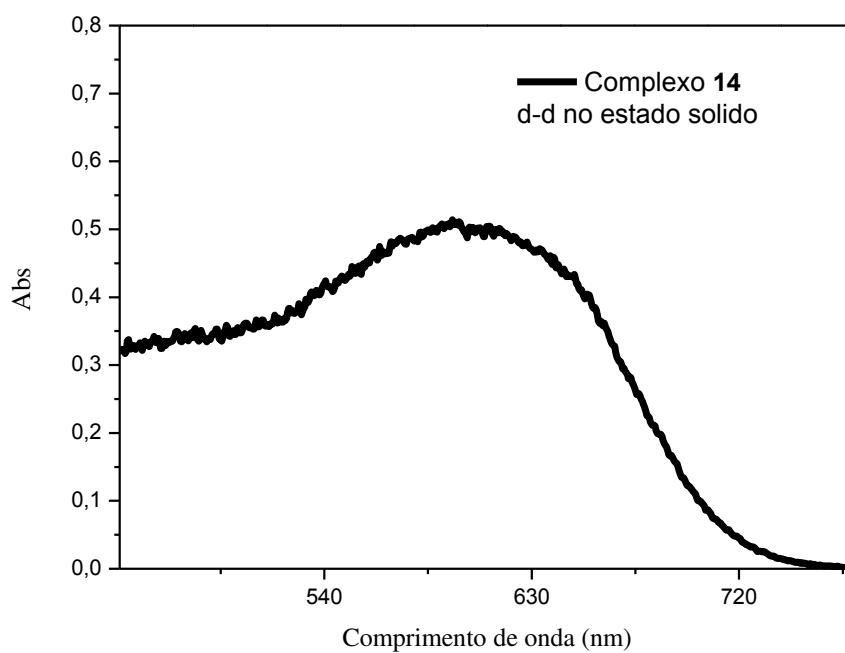


**Figura A39:** Espectro de UV-Vis do complexo **10** em solução (Solvente: Acetonitrila).**Figura A40:** Espectro de UV-Vis do complexo **10** no estado sólido.

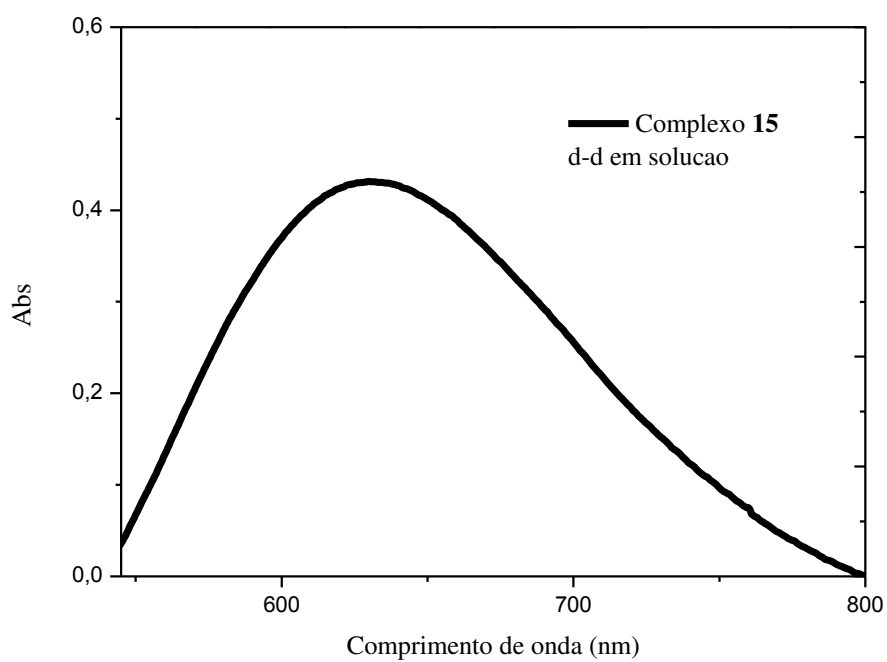
**Figura A41:** Espectro de UV-Vis do complexo **11** em solução (Solvente: Acetonitrila).**Figura A42:** Espectro de UV-Vis do complexo **11** no estado sólido.

**Figura A43:** Espectro de UV-Vis do complexo **12** em solução metanólica.**Figura A44:** Espectro de UV-Vis do complexo **12** no estado sólido.

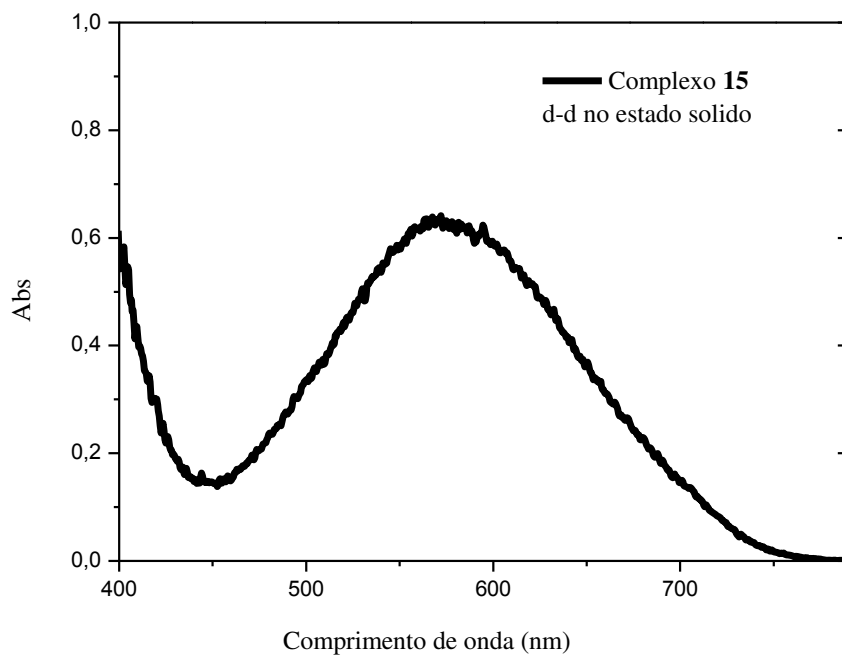
**Figura A45:** Espectro de UV-Vis do complexo **13** em solução metanólica.**Figura A46:** Espectro de UV-Vis do complexo **13** no estado sólido.

**Figura A47:** Espectro de UV-Vis do complexo **14** em solução metanólica.**Figura A48:** Espectro de UV-Vis do complexo **14** no estado sólido.

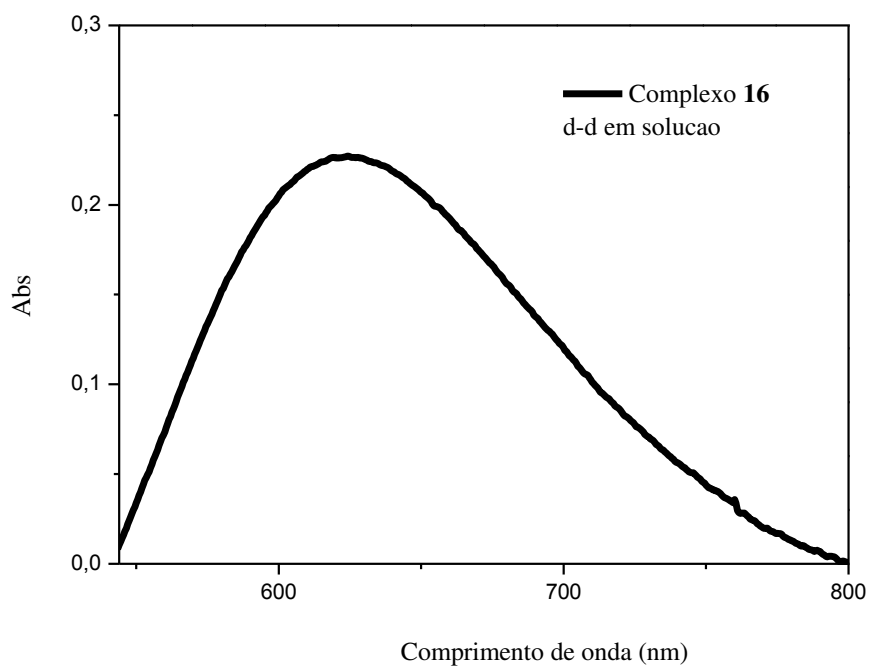
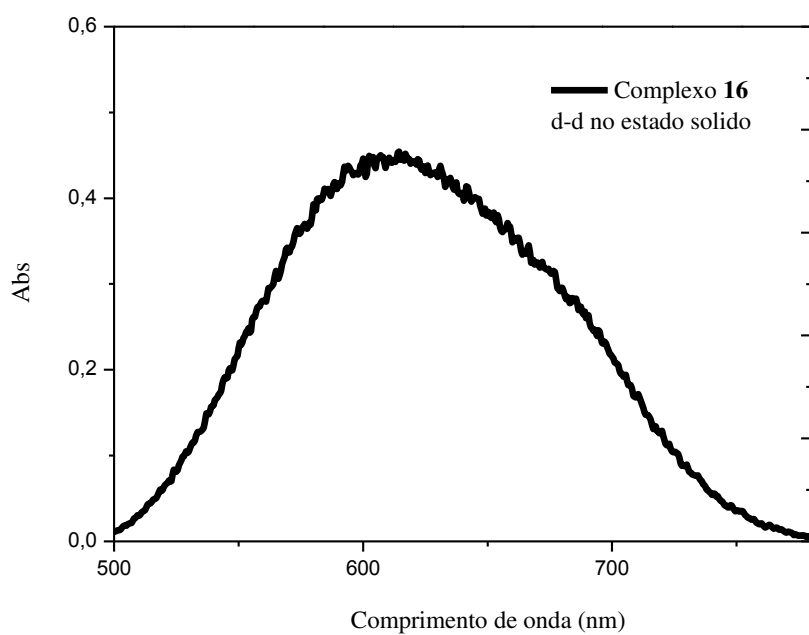
**Figura A49:** Espectro de UV-Vis do complexo **15** em solução (Solvente: Acetonitrila).

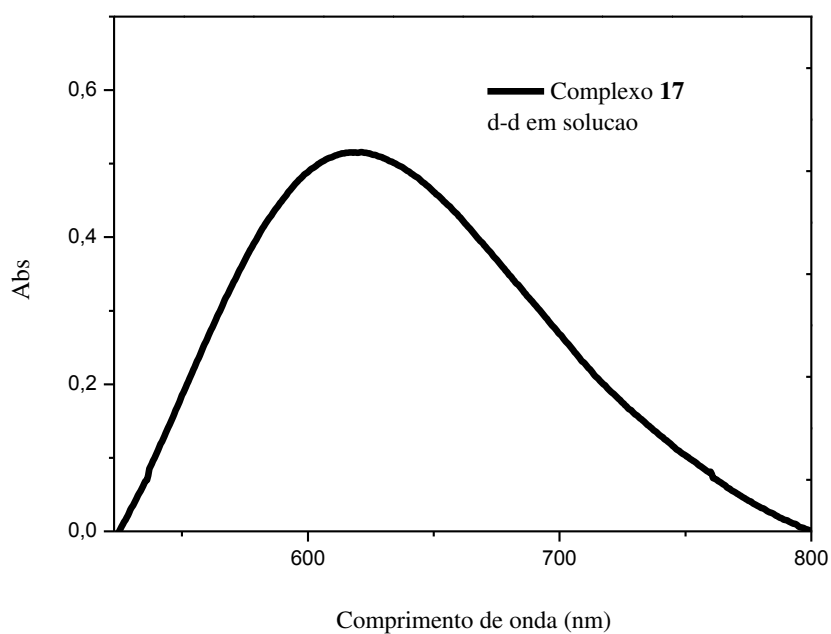
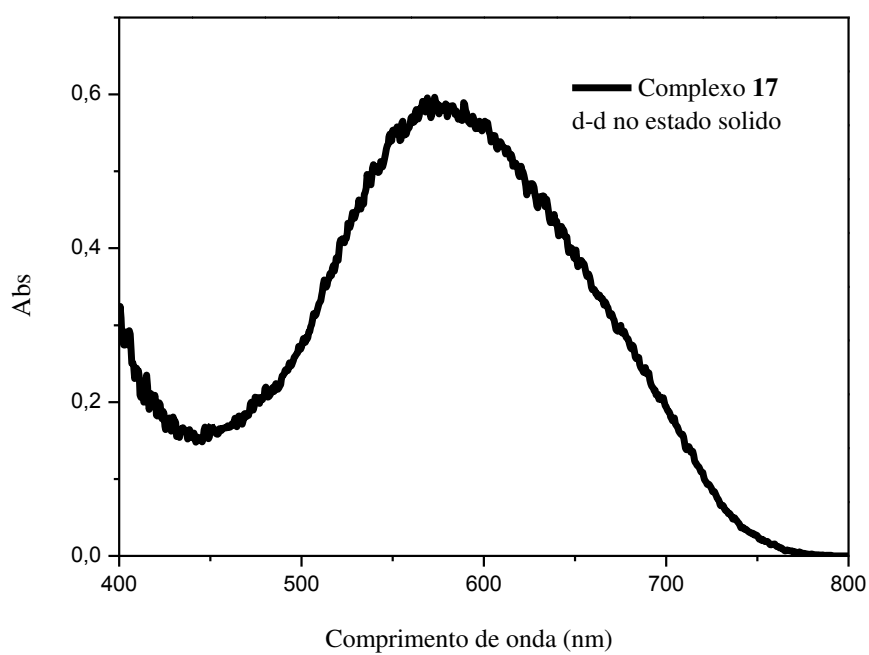


**Figura A50:** Espectro de UV-Vis do complexo **15** no estado sólido.

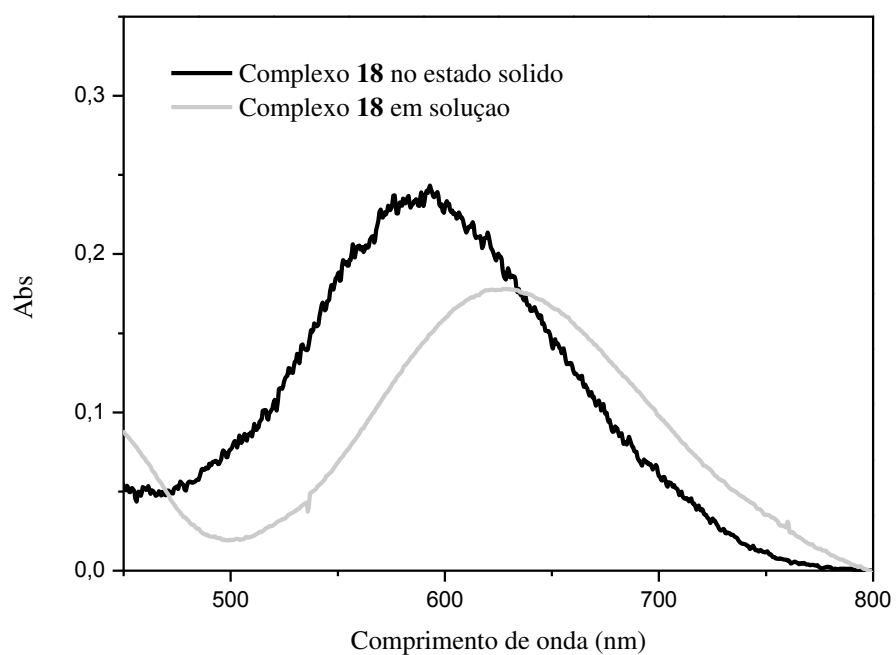




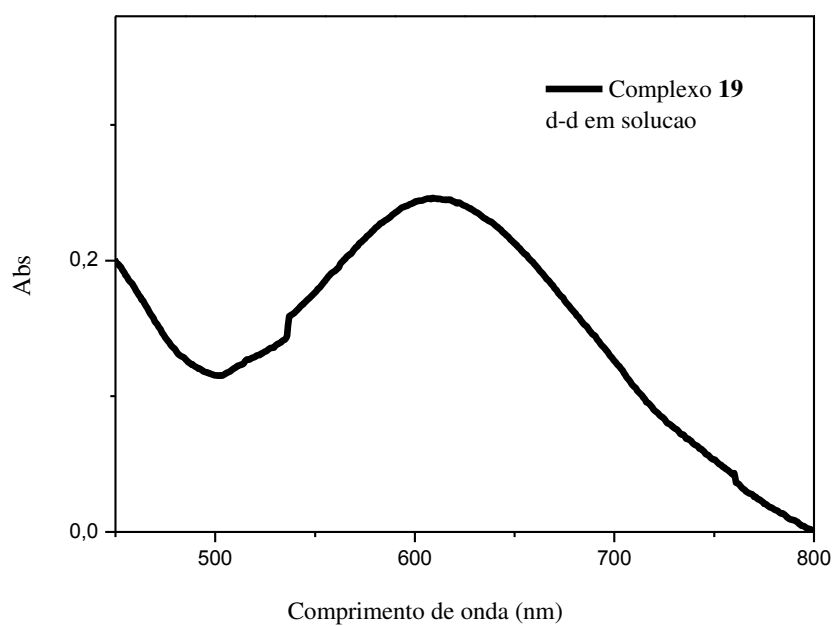
**Figura A51:** Espectro de UV-Vis do complexo **16** em solução (Solvente: Acetonitrila)**Figura A52:** Espectro de UV-Vis do complexo **16** no estado sólido.

**Figura A53:** Espectro de UV-Vis do complexo **17** em solução (Solvente: Acetonitrila).**Figura A54:** Espectro de UV-Vis do complexo **17** no estado sólido.

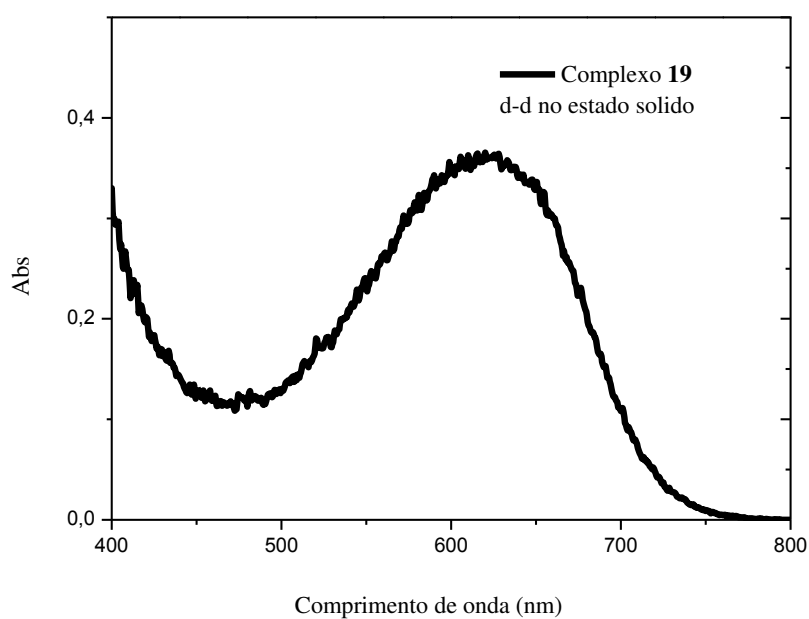
**Figura A55:** Espectros de UV-Vis do complexo **18**, no estado sólido e em solução metanólica.



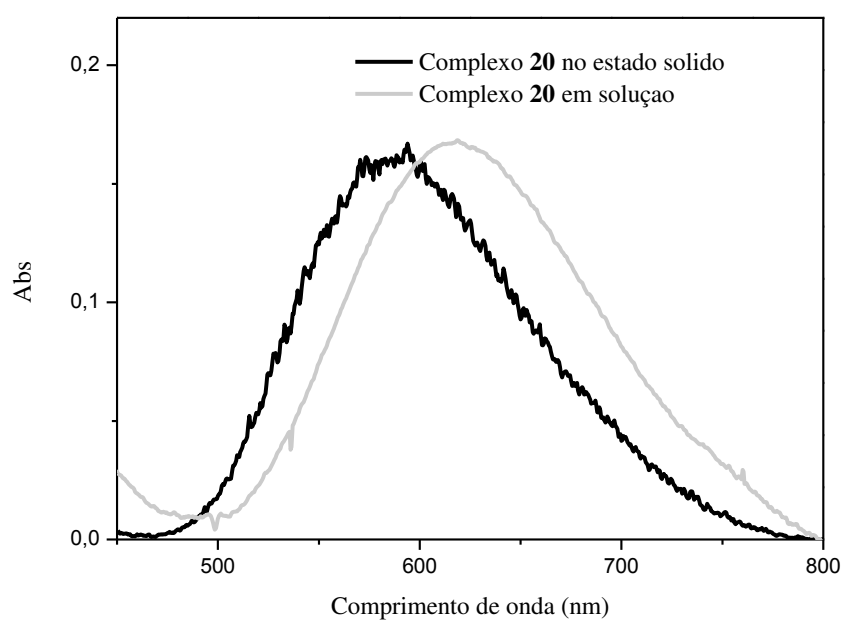
**Figura A56:** Espectro de UV-Vis do complexo **19** em solução metanólica.



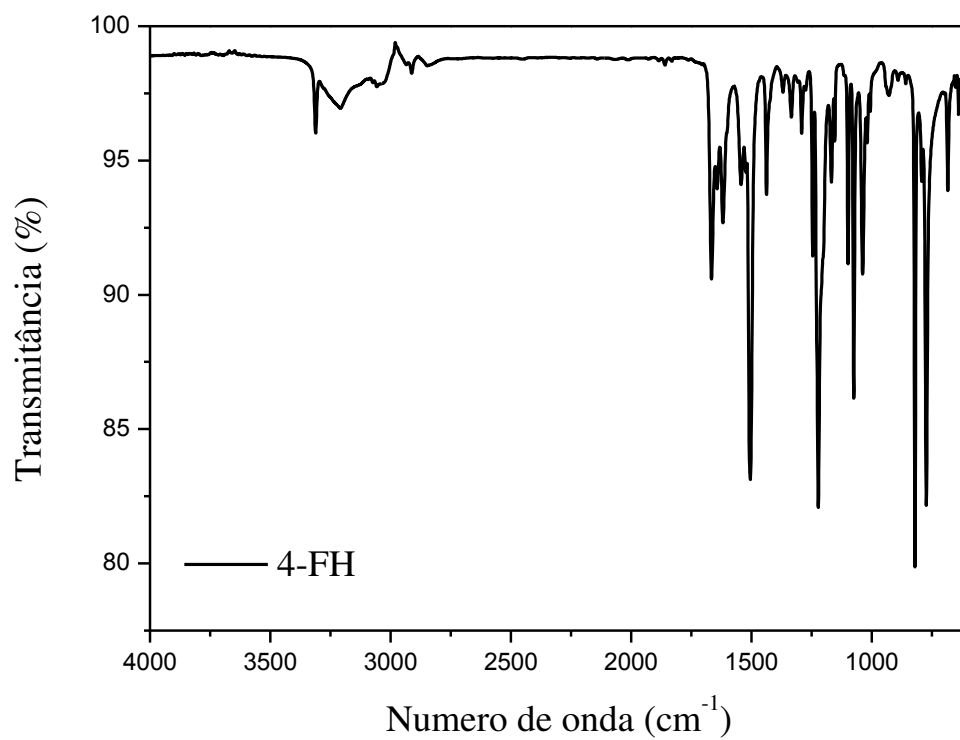
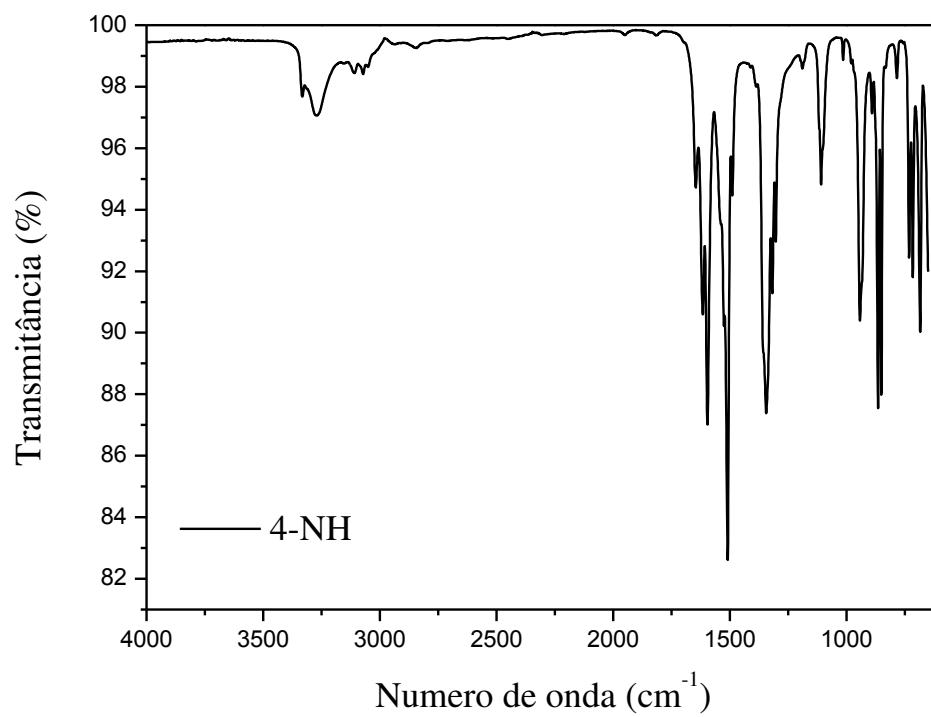
**Figura A57:** Espectro de UV-Vis do complexo **19** no estado sólido.

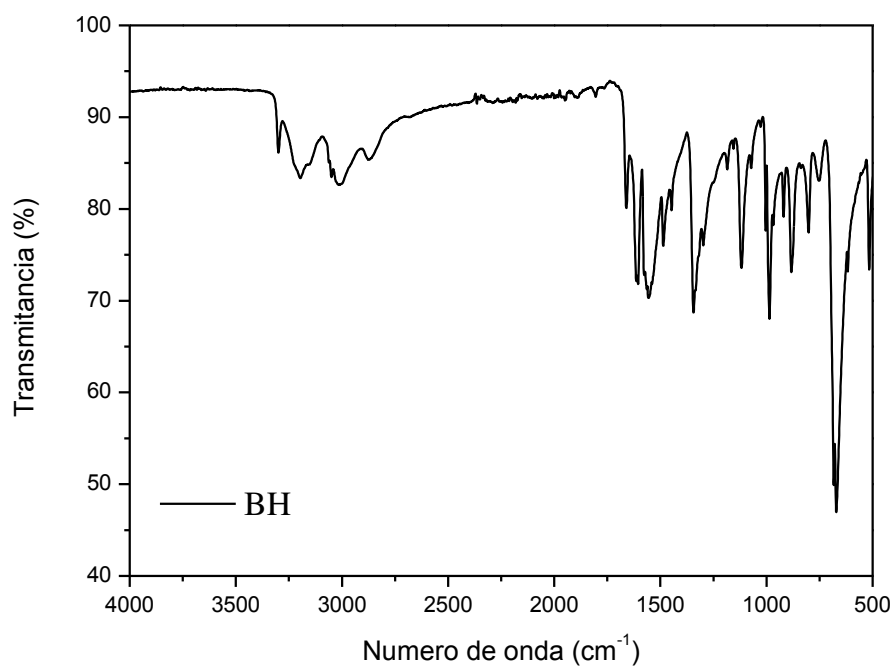
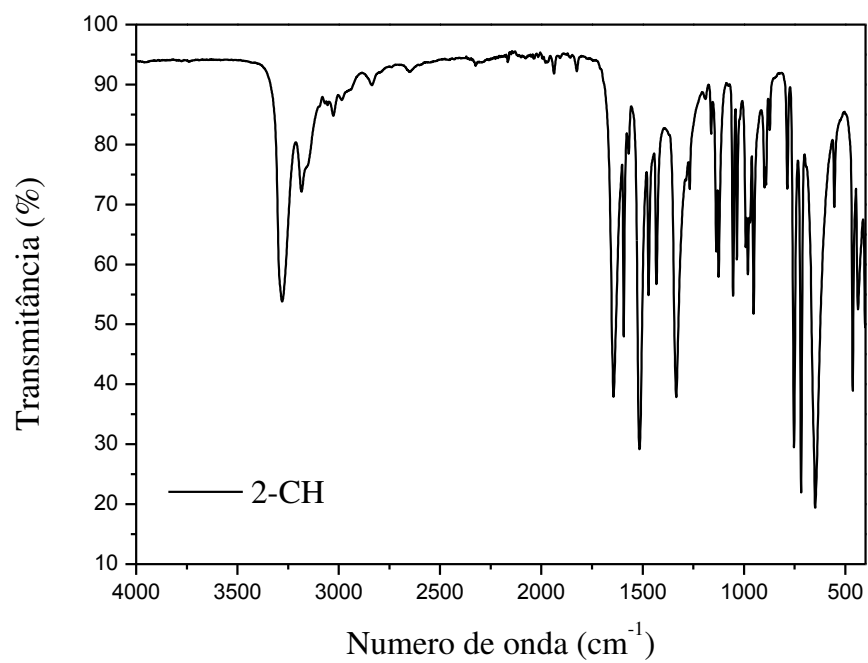


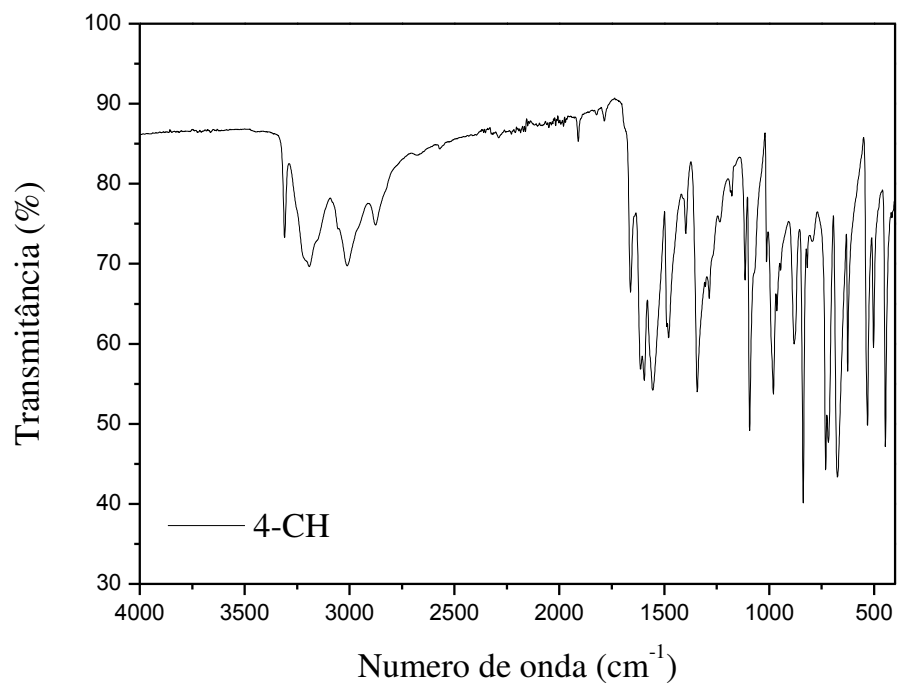
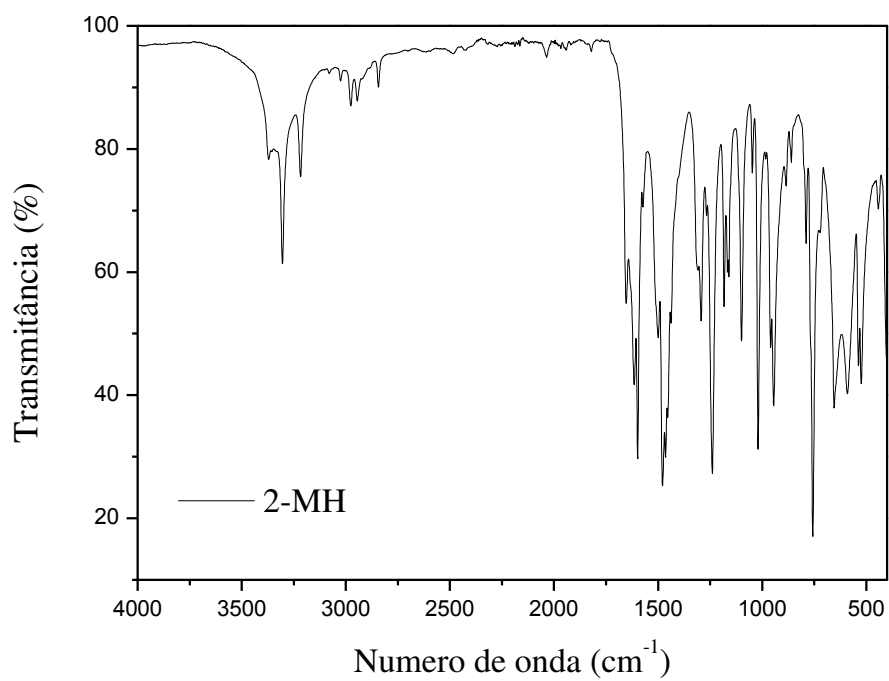
**Figura A58:** Espectro de UV-Vis do complexo **20**, no estado sólido e em solução metanólica.

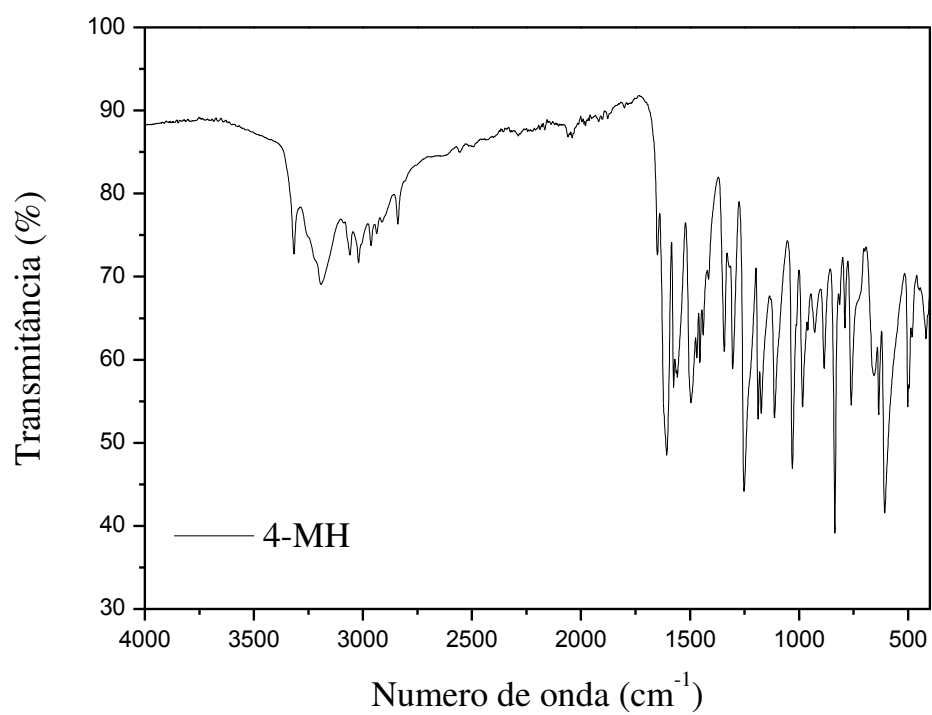
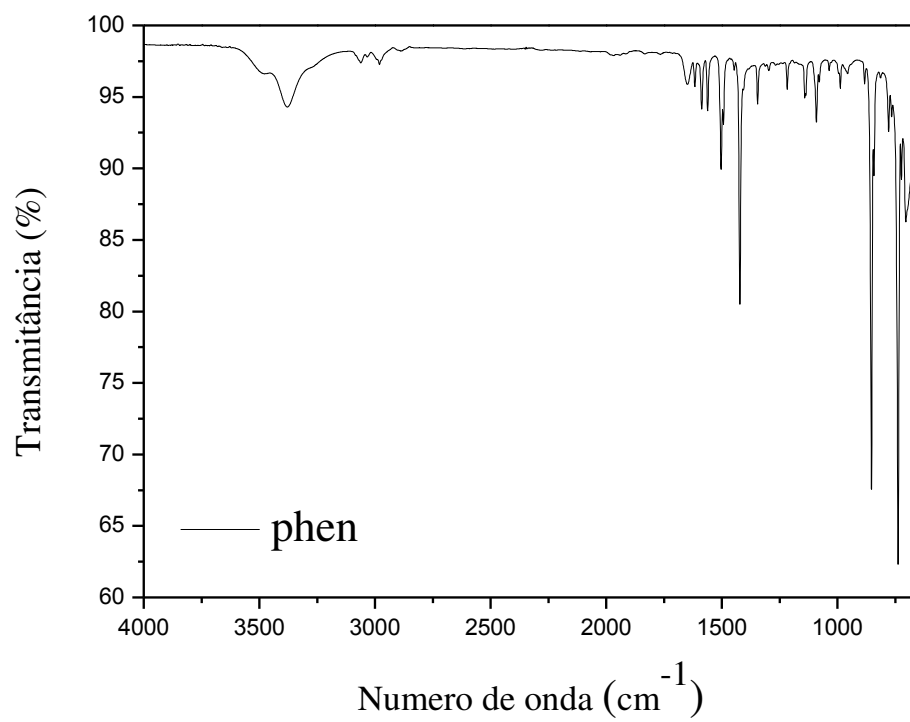


## B. Espectros de infravermelho

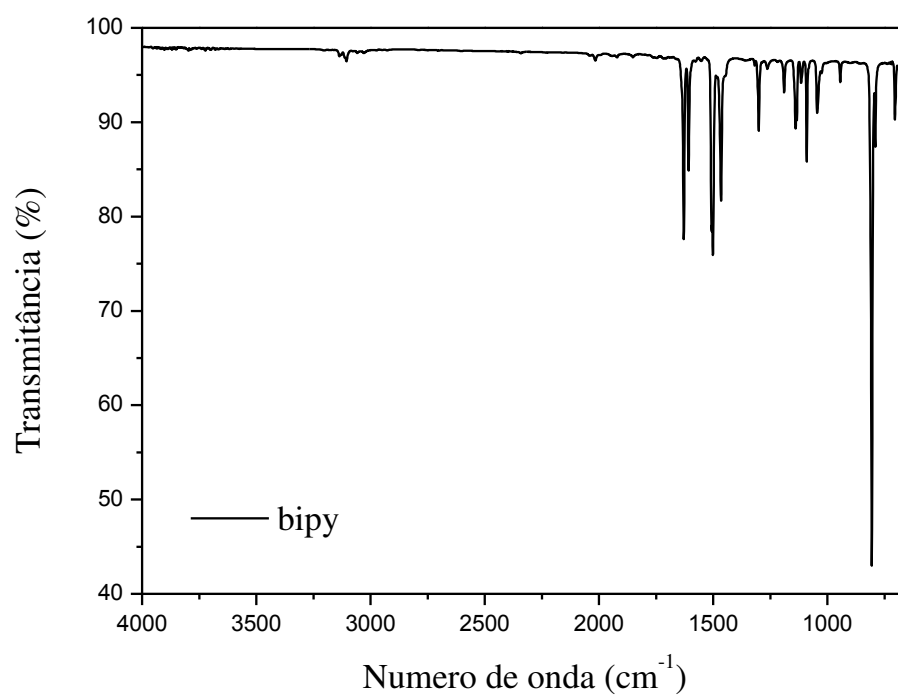
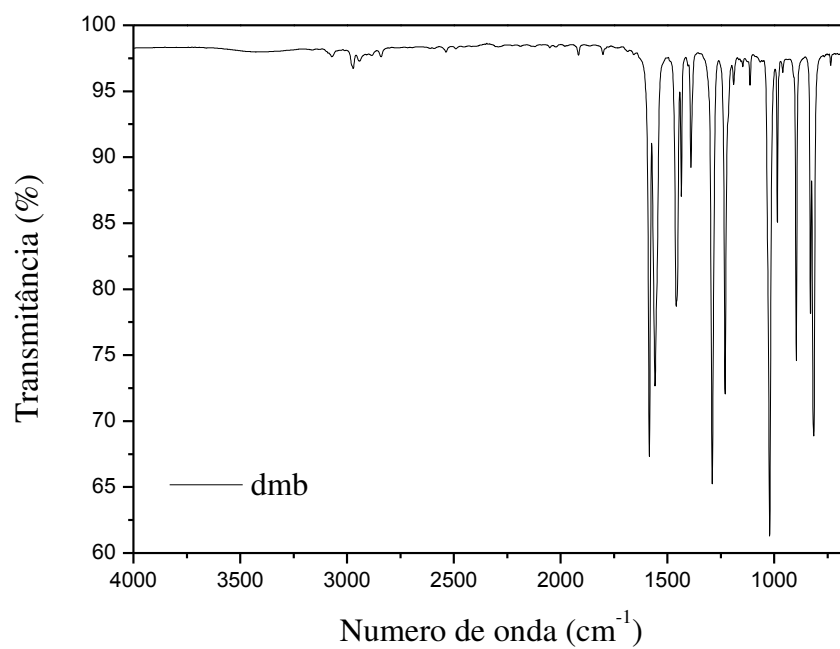
**Figura B1:** Espectro de infravermelho do ligante 4-FH.**Figura B2:** Espectro de infravermelho do ligante 4-NH.

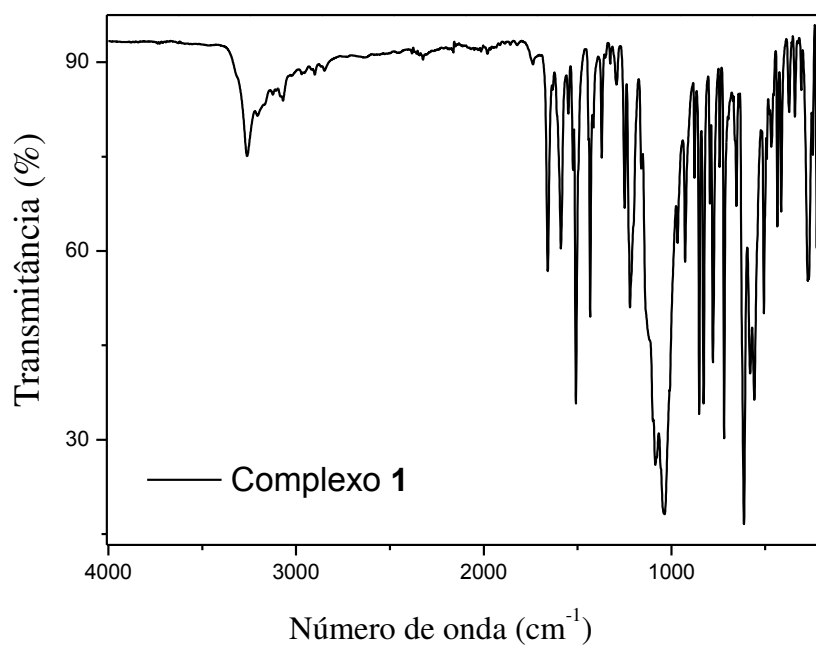
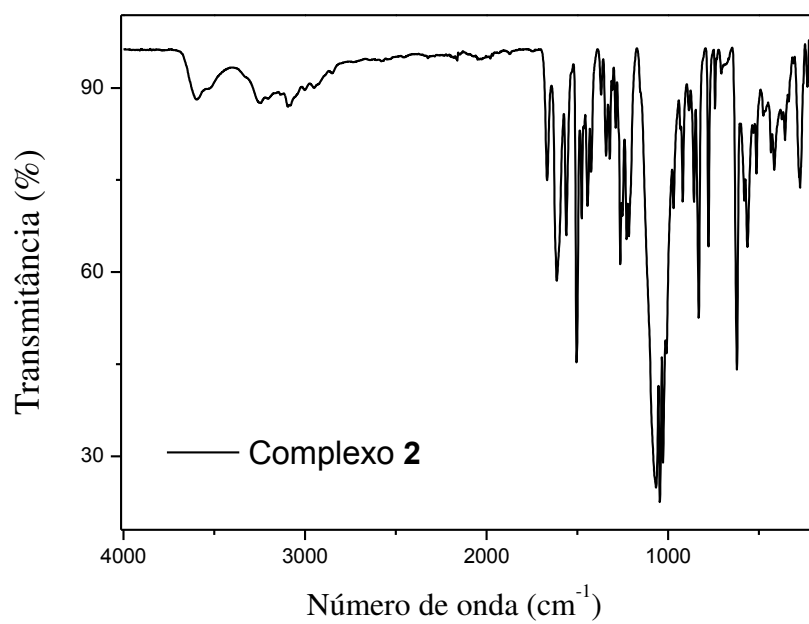
**Figura B3:** Espectro de infravermelho do ligante BH.**Figura B4:** Espectro de infravermelho do ligante 2-CH.

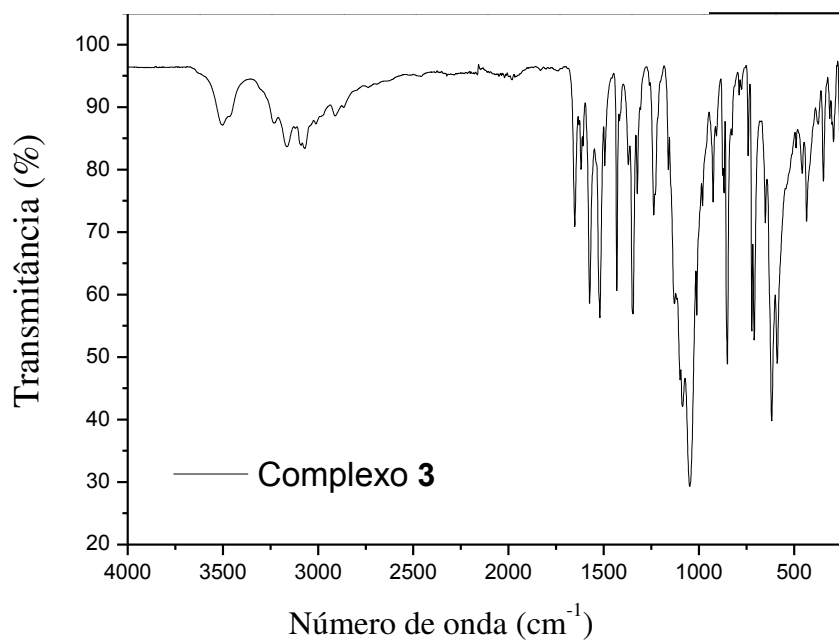
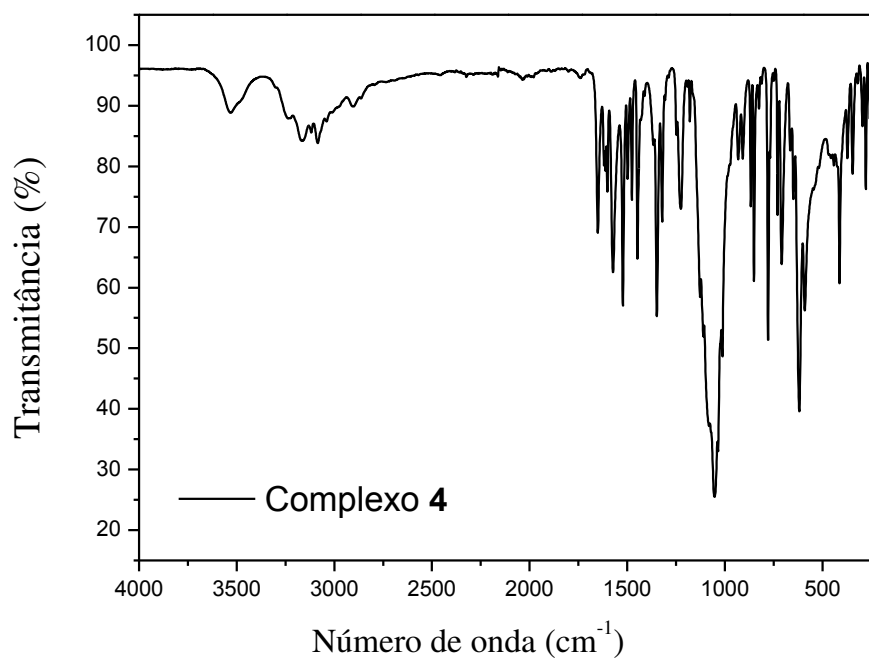
**Figura B5:** Espectro de infravermelho do ligante 4-CH.**Figura B6:** Espectro de infravermelho do ligante 2-MH.

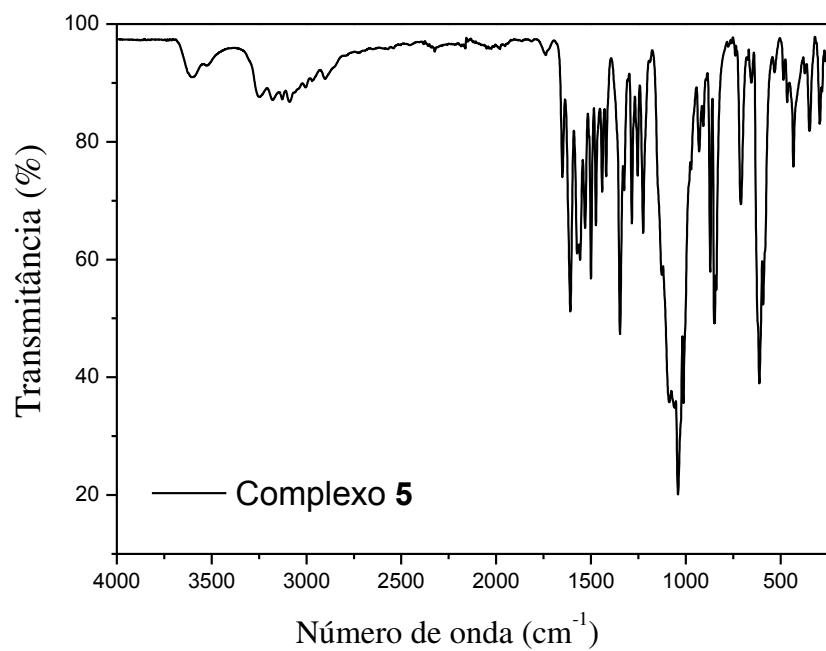
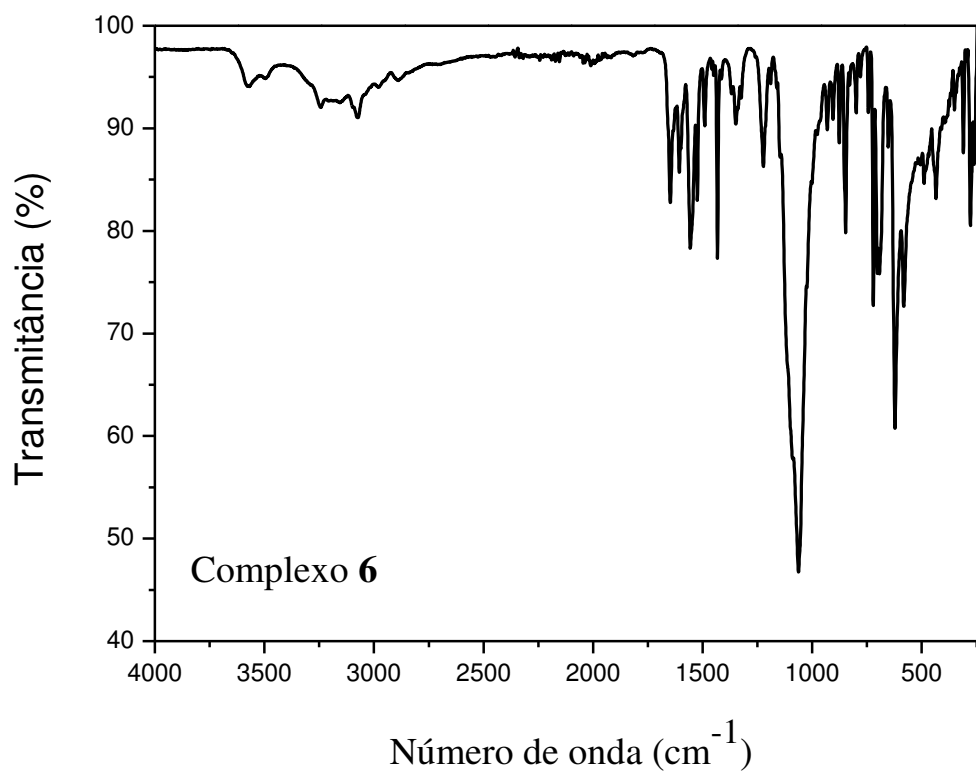
**Figura B7:** Espectro de infravermelho do ligante 4-MH.**Figura B8:** Espectro de infravermelho do ligante phen.

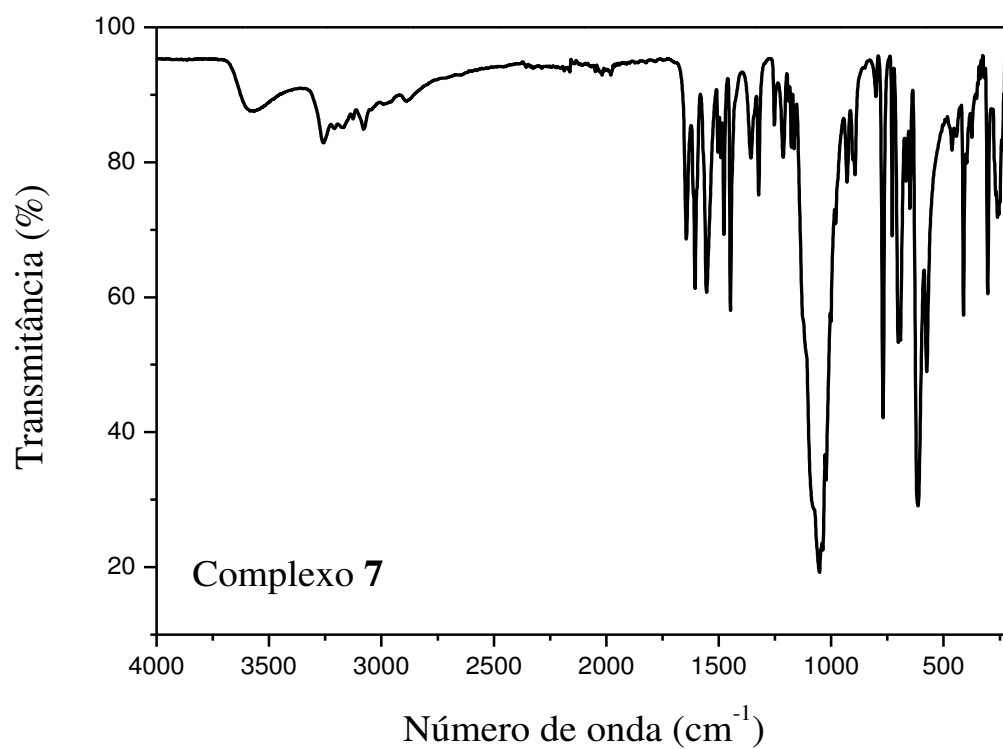
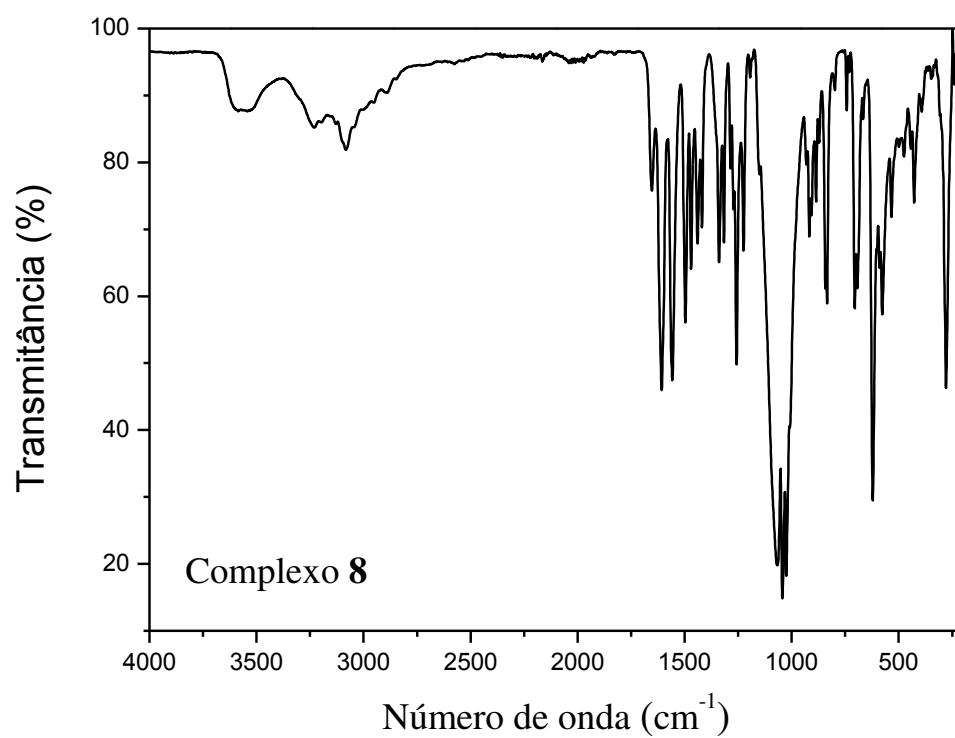


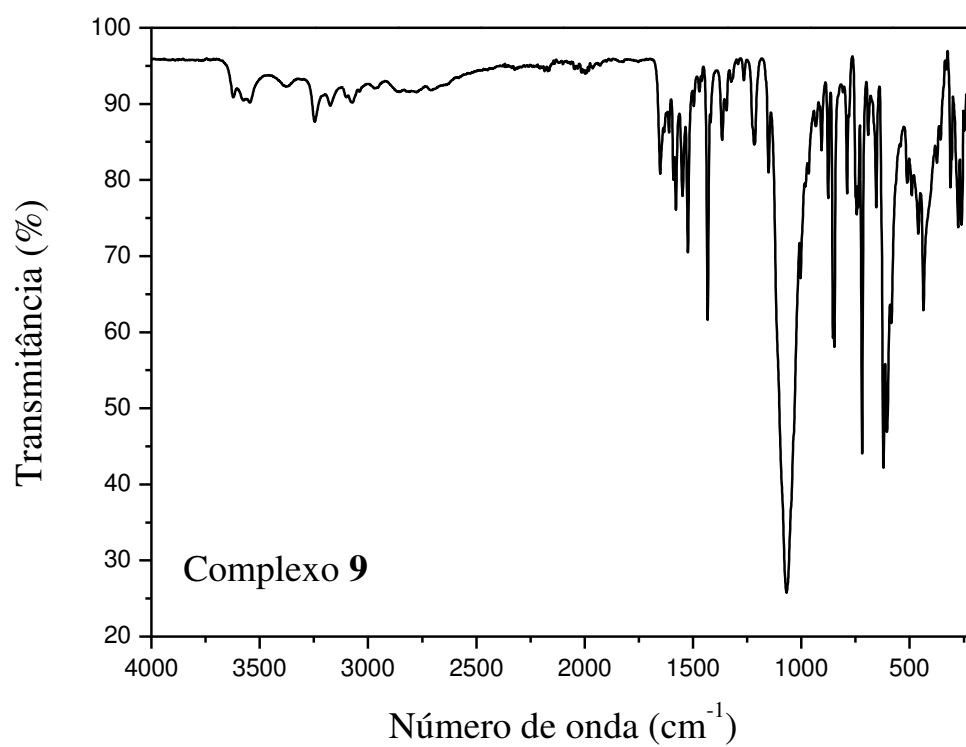
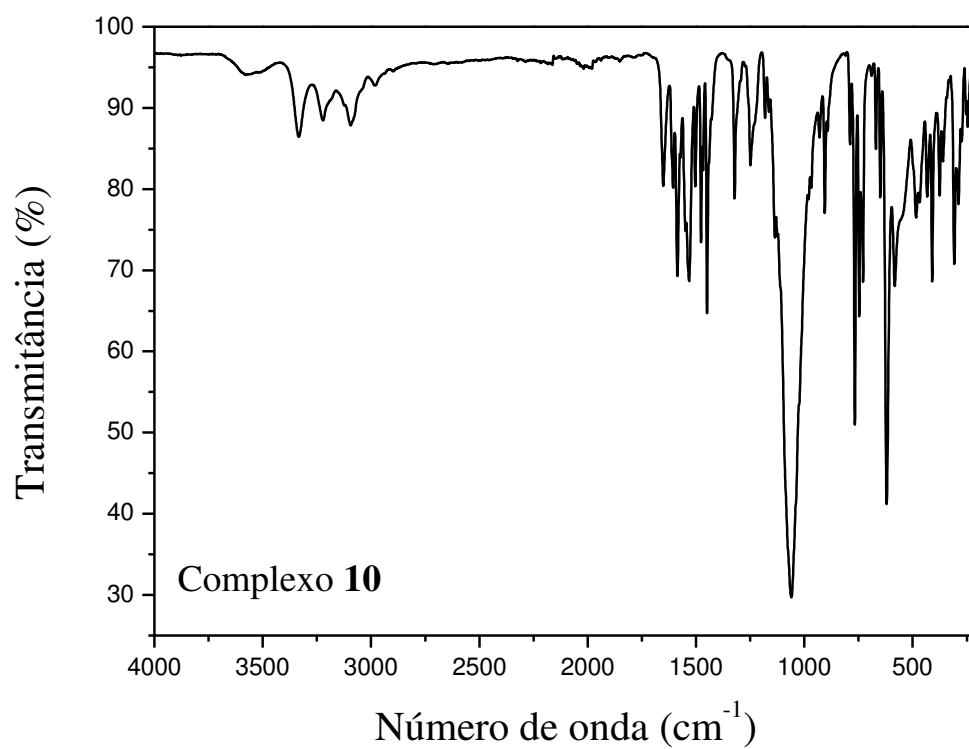
**Figura B9:** Espectro de infravermelho do ligante bipy.**Figura B10:** Espectro de infravermelho do ligante dmb.

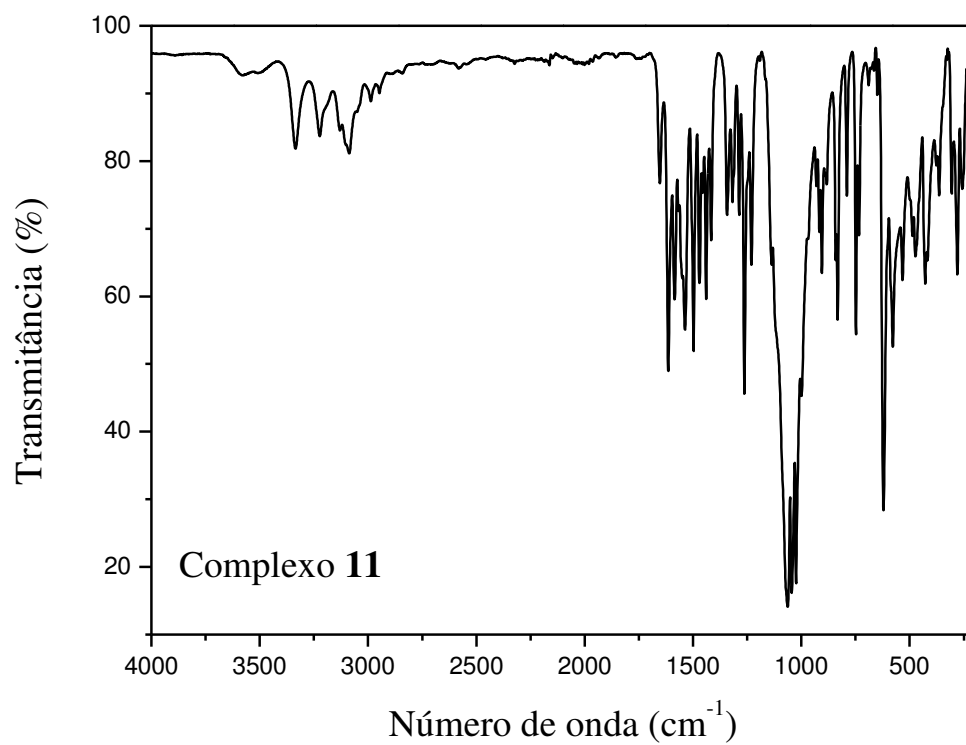
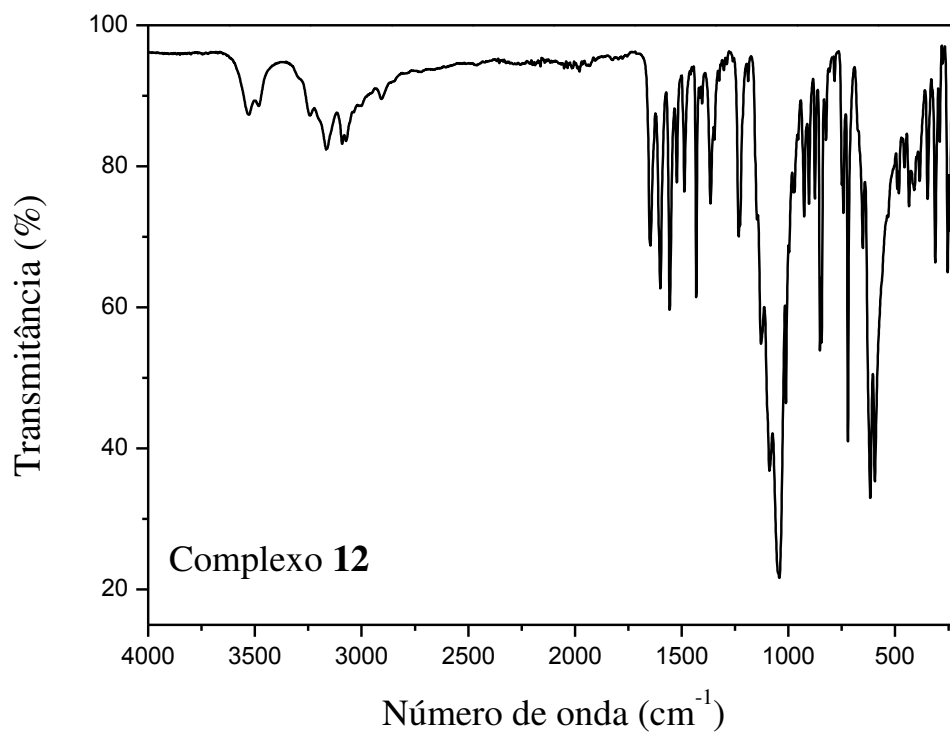
**Figura B11:** Espectro de infravermelho do complexo 1.**Figura B12:** Espectro de infravermelho do complexo 2.

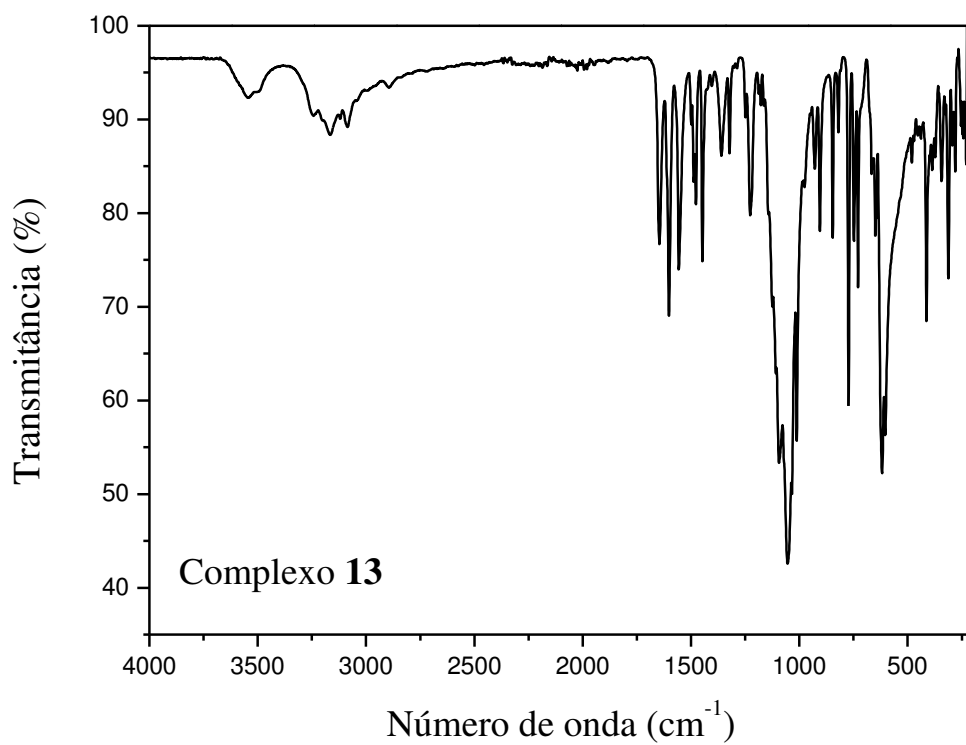
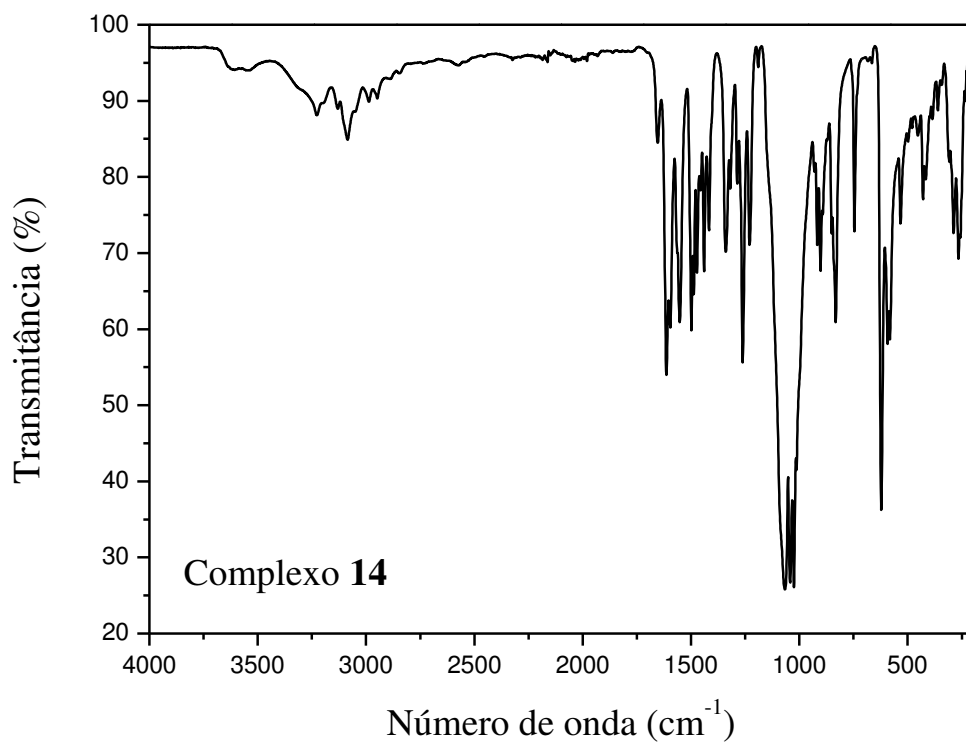
**Figura B13:** Espectro de infravermelho do complexo 3.**Figura B14:** Espectro de infravermelho do complexo 4.

**Figura B15:** Espectro de infravermelho do complexo **5**.**Figura B16:** Espectro de infravermelho do complexo **6**.

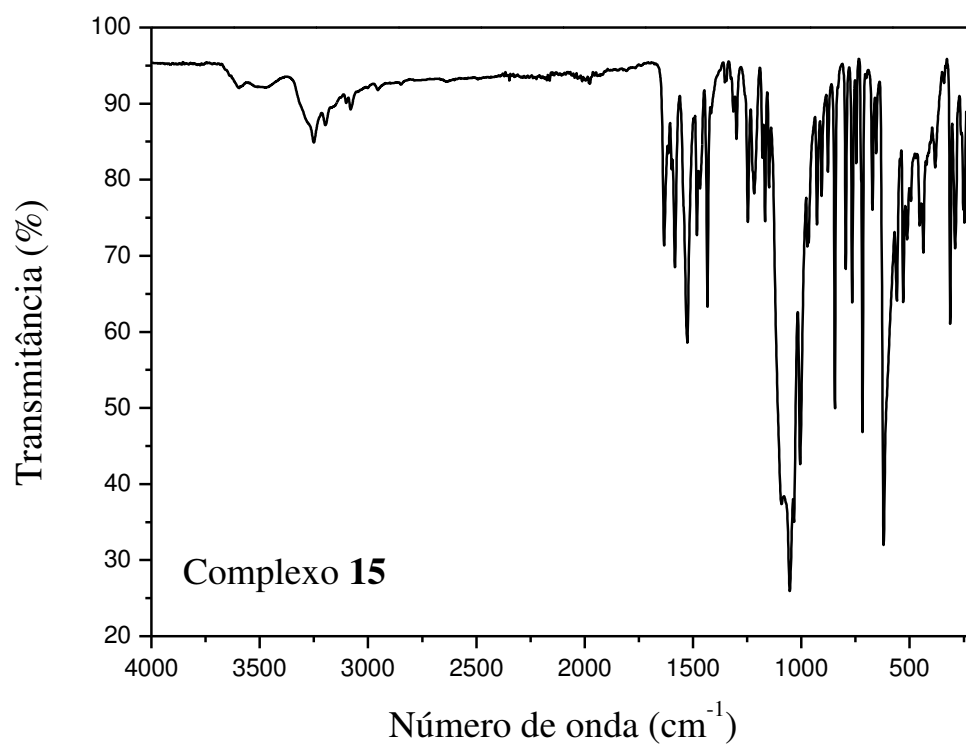
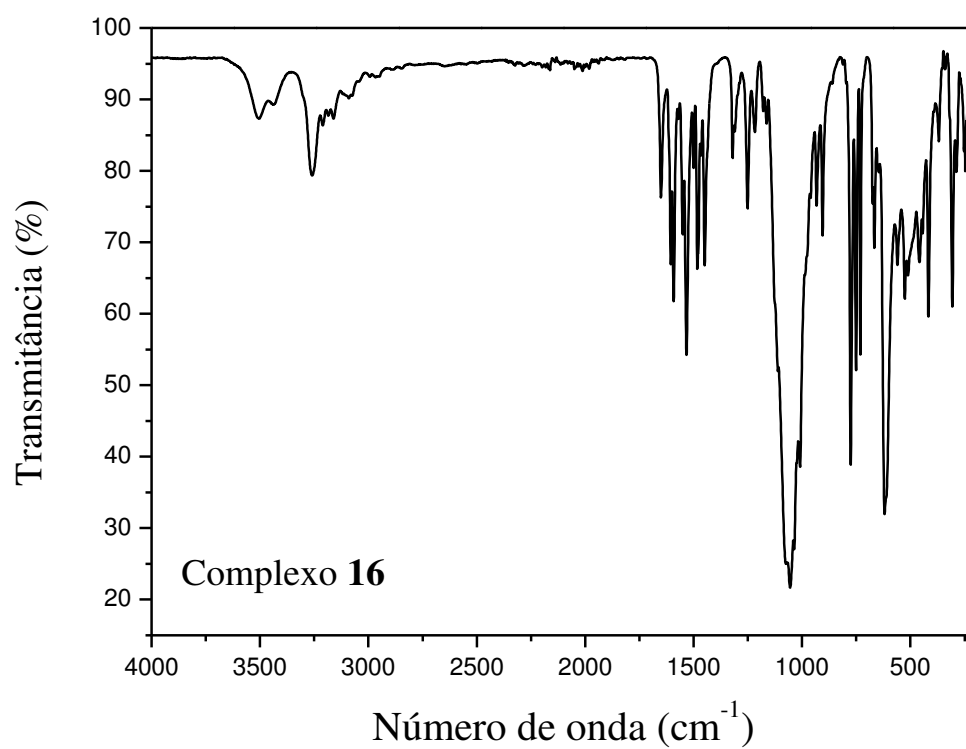
**Figura B17:** Espectro de infravermelho do complexo 7.**Figura B18:** Espectro de infravermelho do complexo 8.

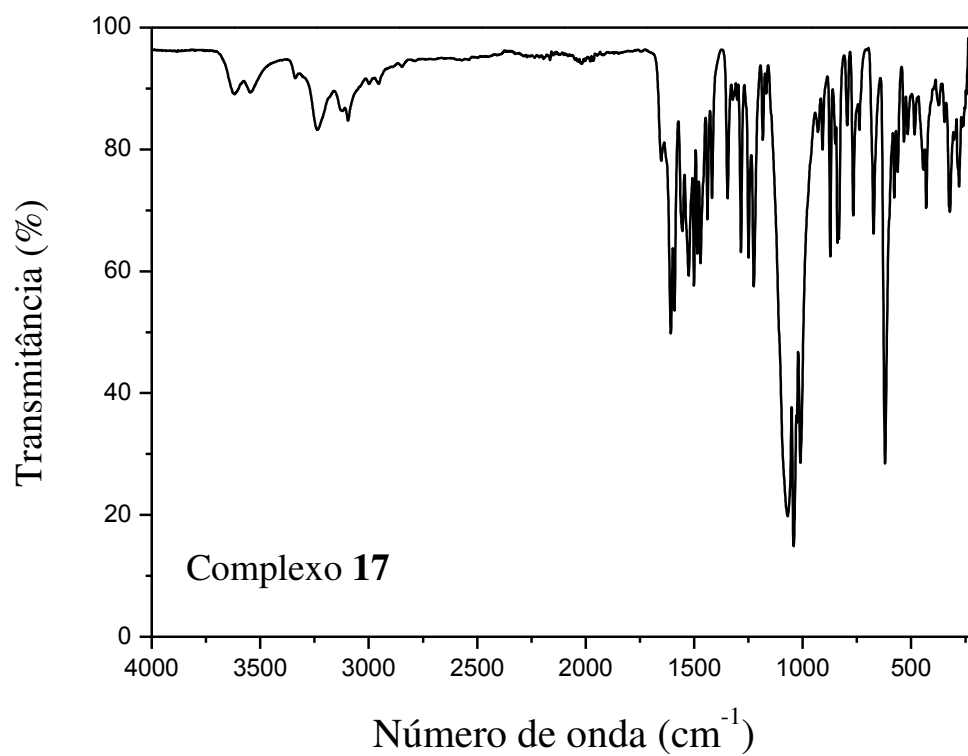
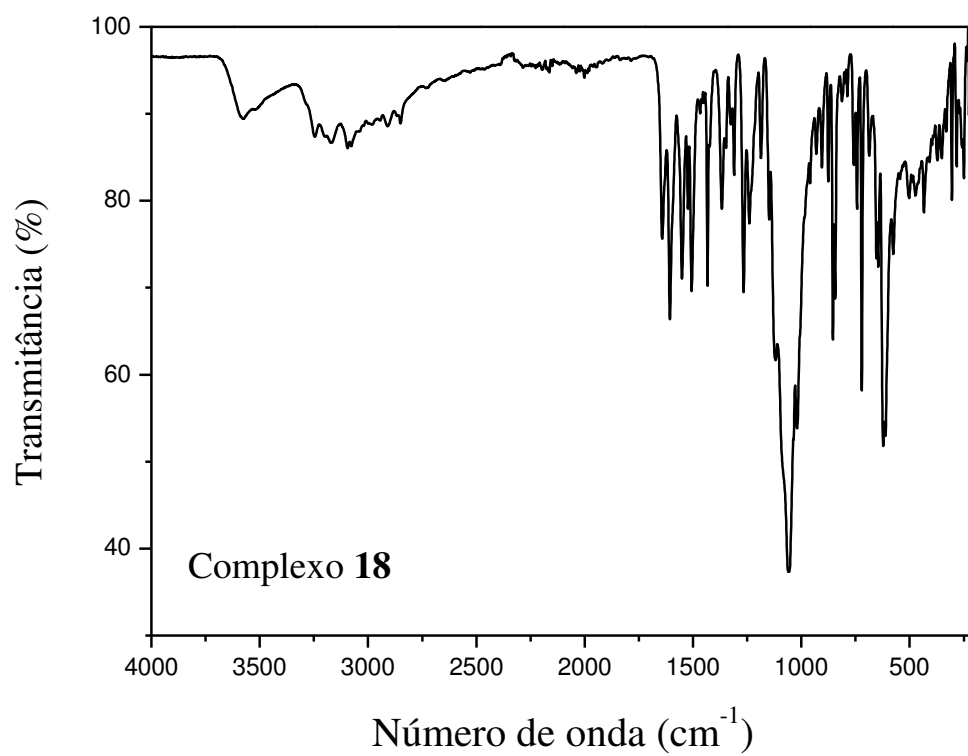
**Figura B19:** Espectro de infravermelho do complexo **9**.**Figura B20:** Espectro de infravermelho do complexo **10**.

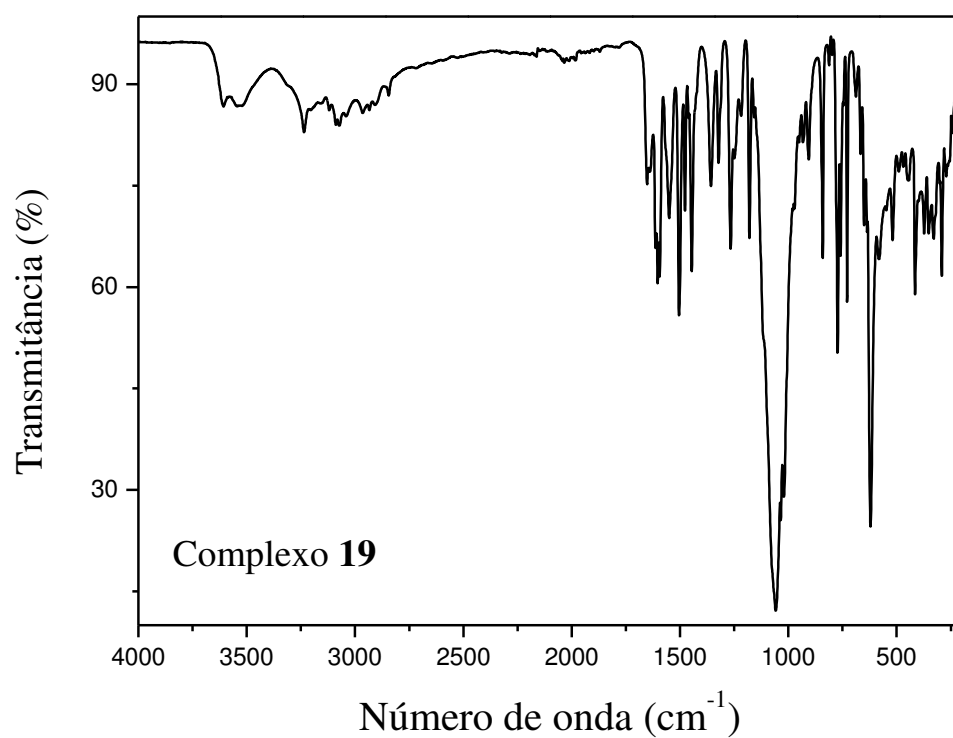
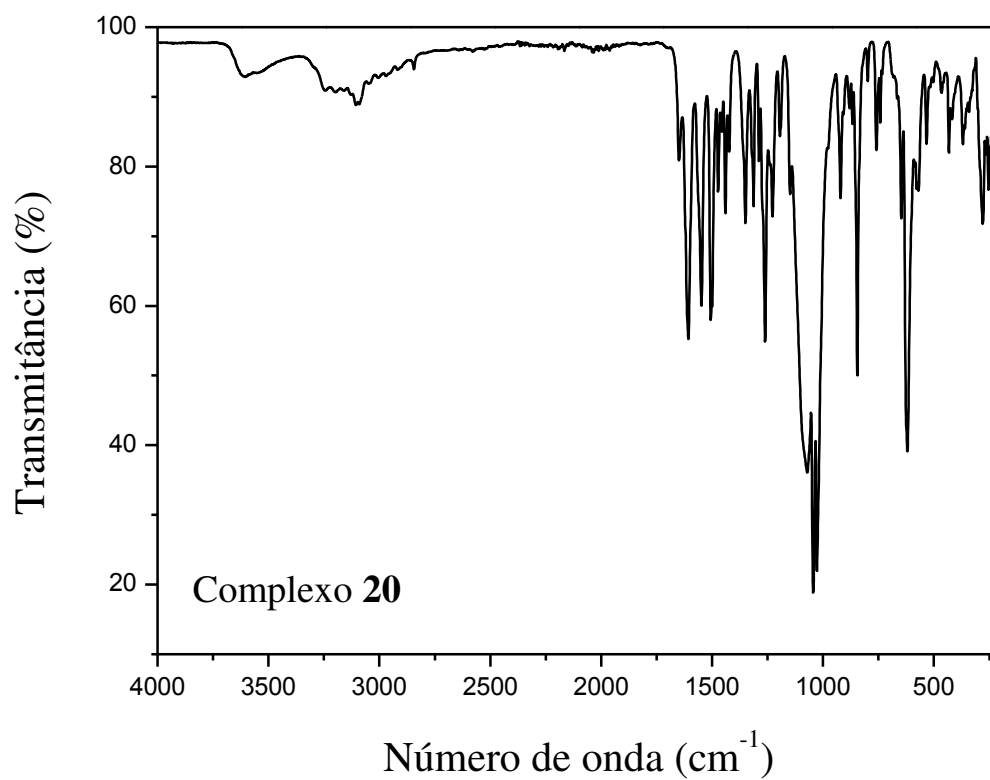
**Figura B21:** Espectro de infravermelho do complexo **11**.**Figura B22:** Espectro de infravermelho do complexo **12**.

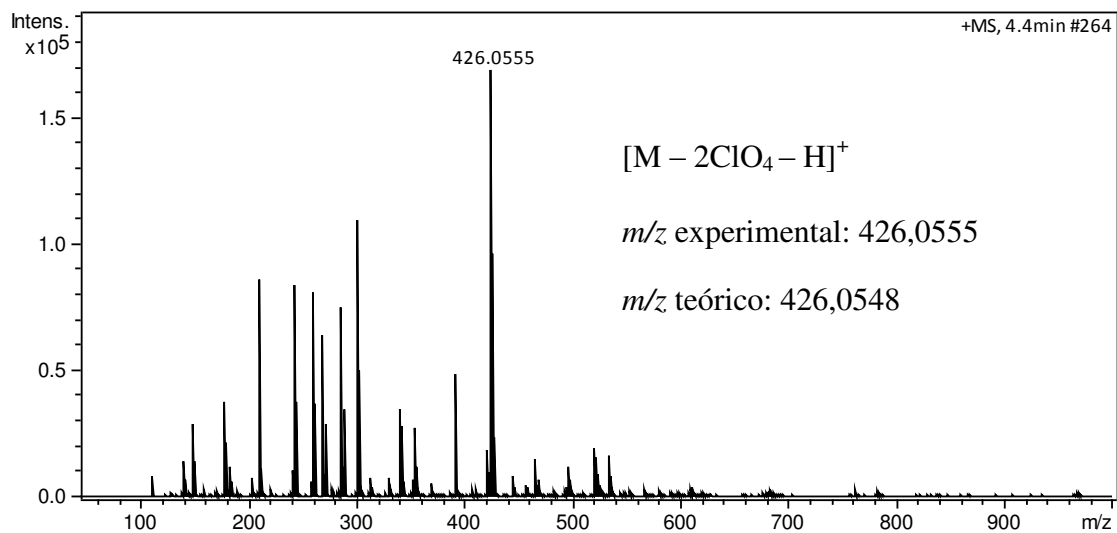
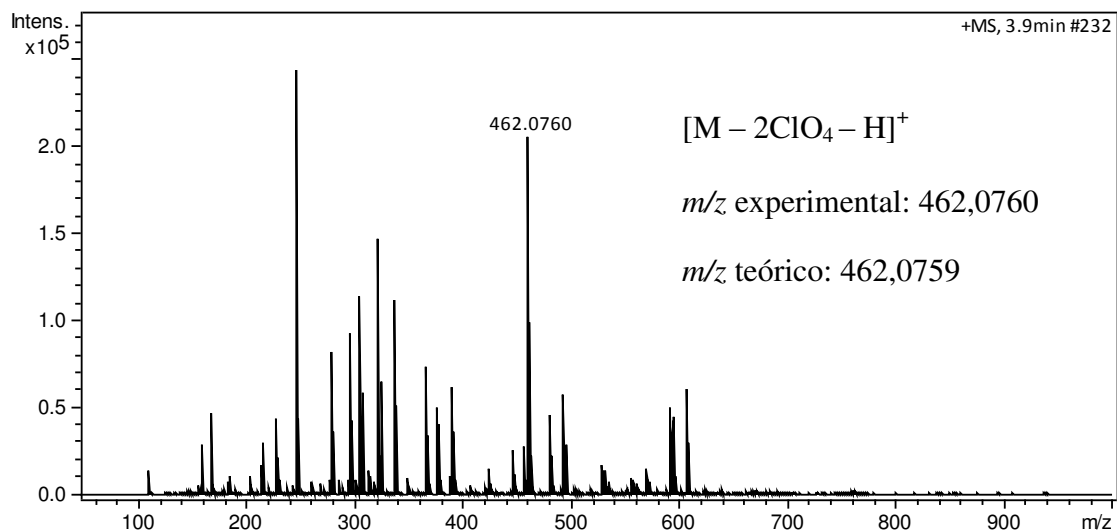
**Figura B23:** Espectro de infravermelho do complexo **13**.**Figura B24:** Espectro de infravermelho do complexo **14**.

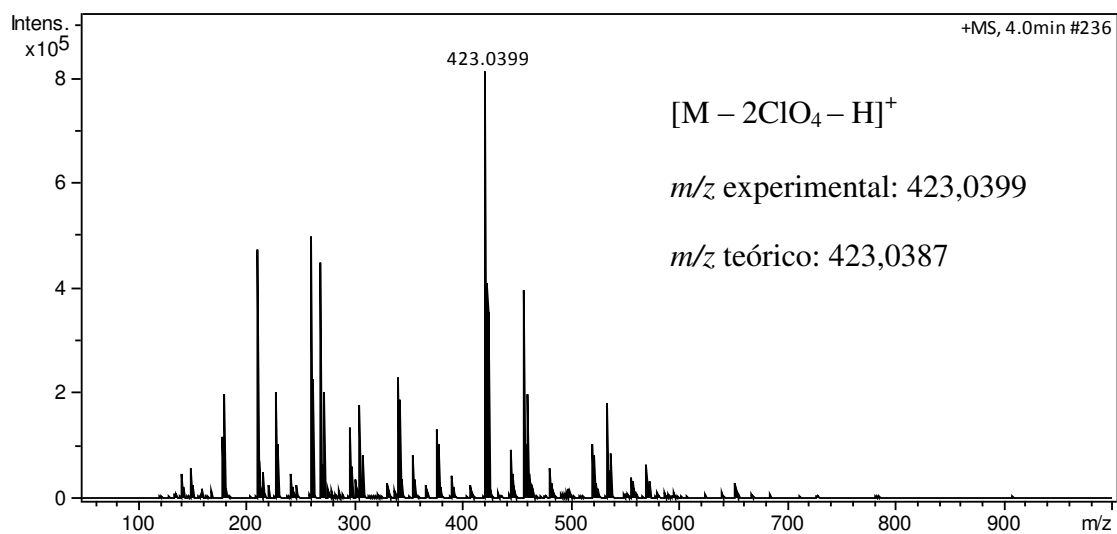
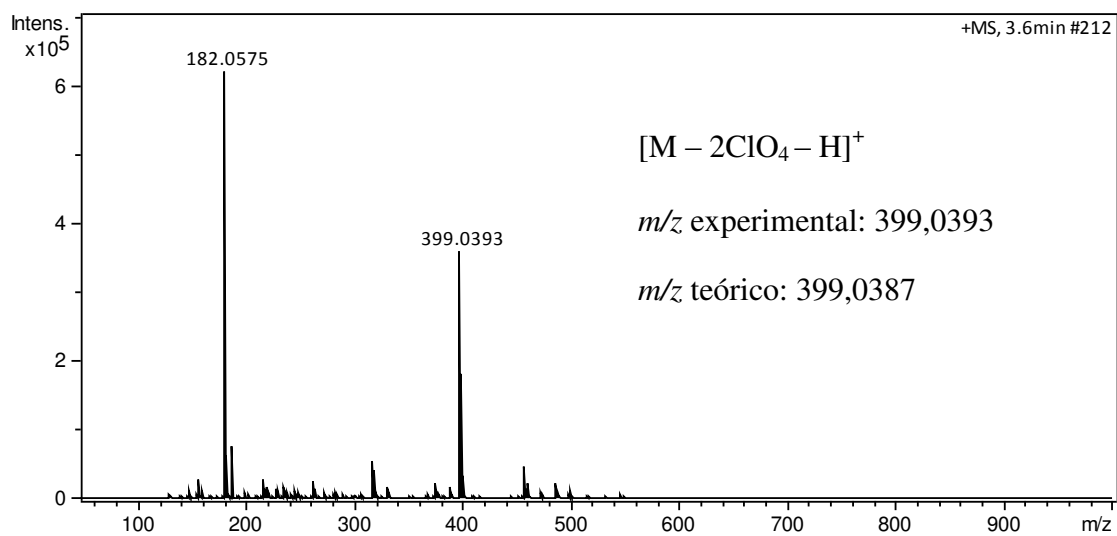


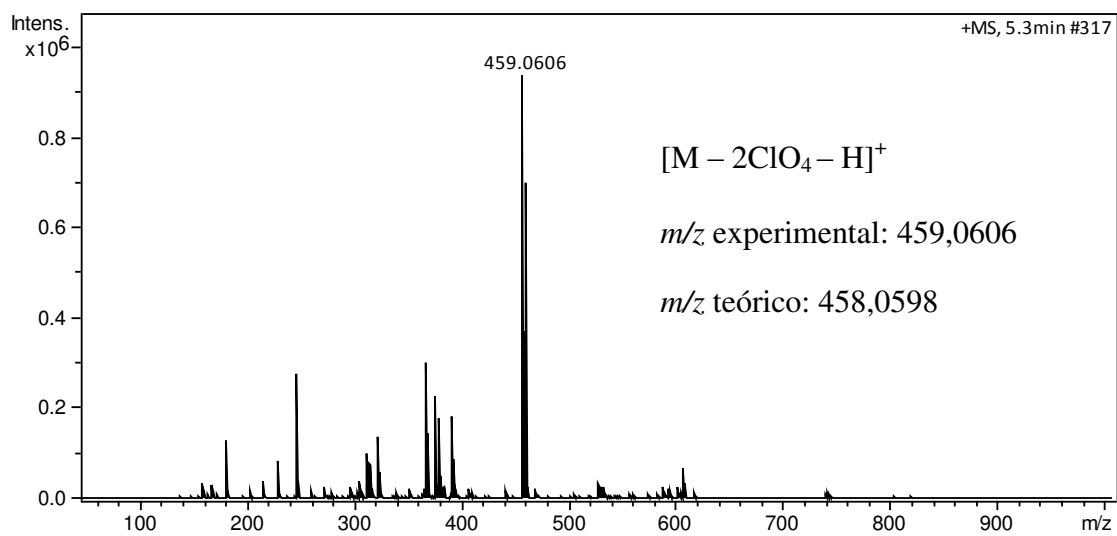
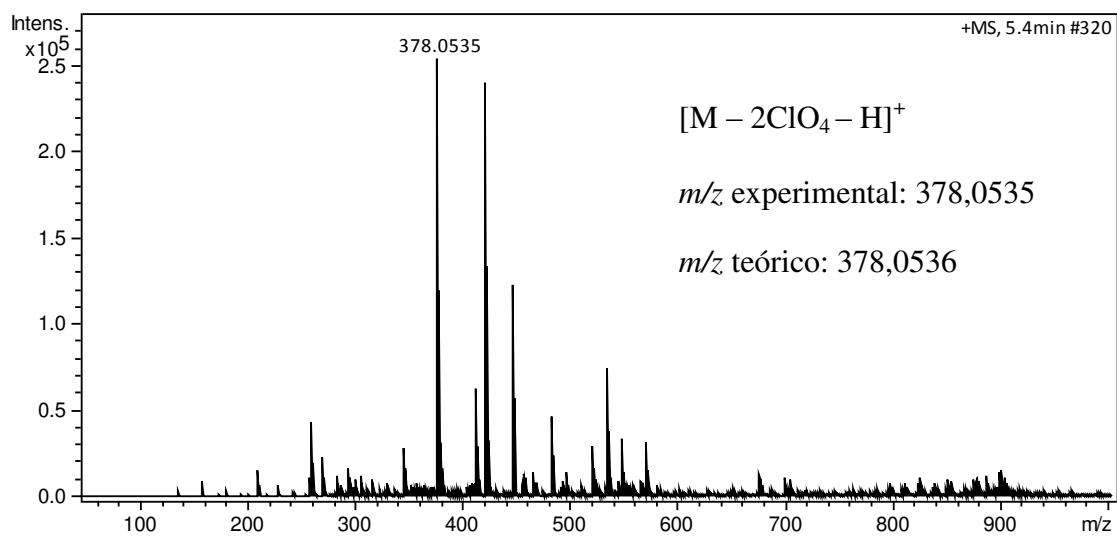
**Figura B25:** Espectro de infravermelho do complexo **15**.**Figura B26:** Espectro de infravermelho do complexo **16**.

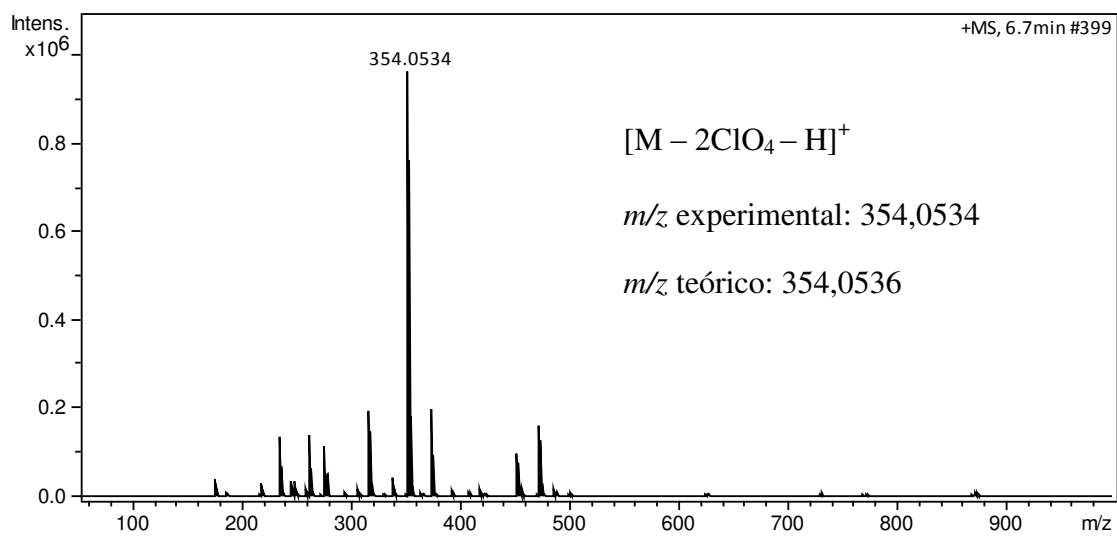
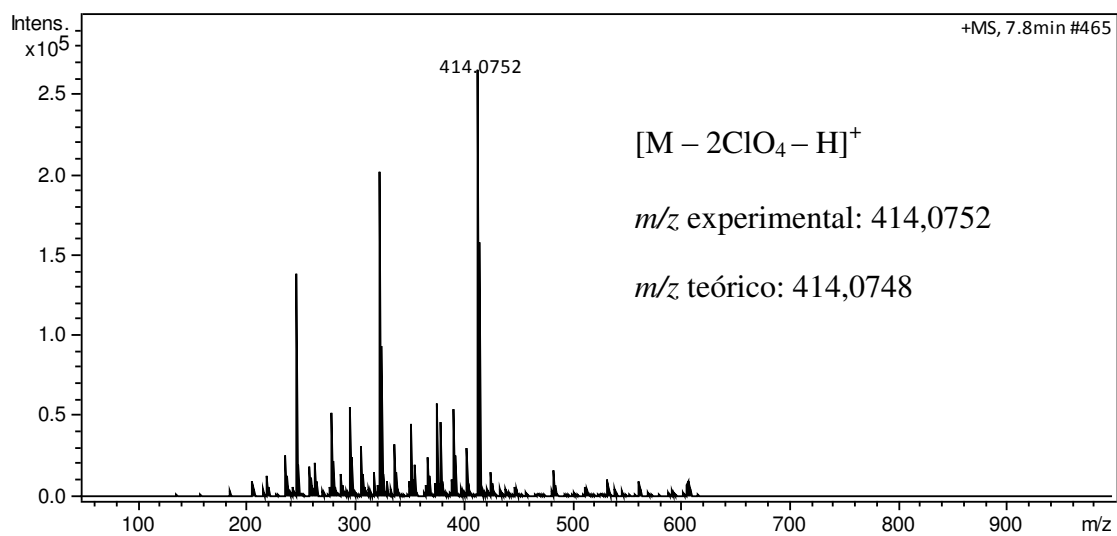
**Figura B27:** Espectro de infravermelho do complexo 17.**Figura B28:** Espectro de infravermelho do complexo 18.

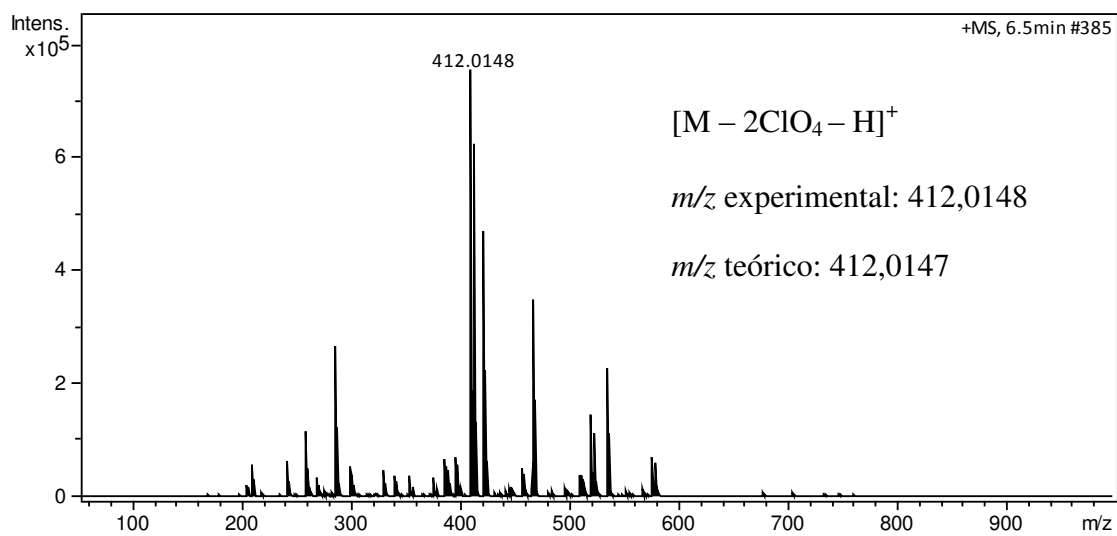
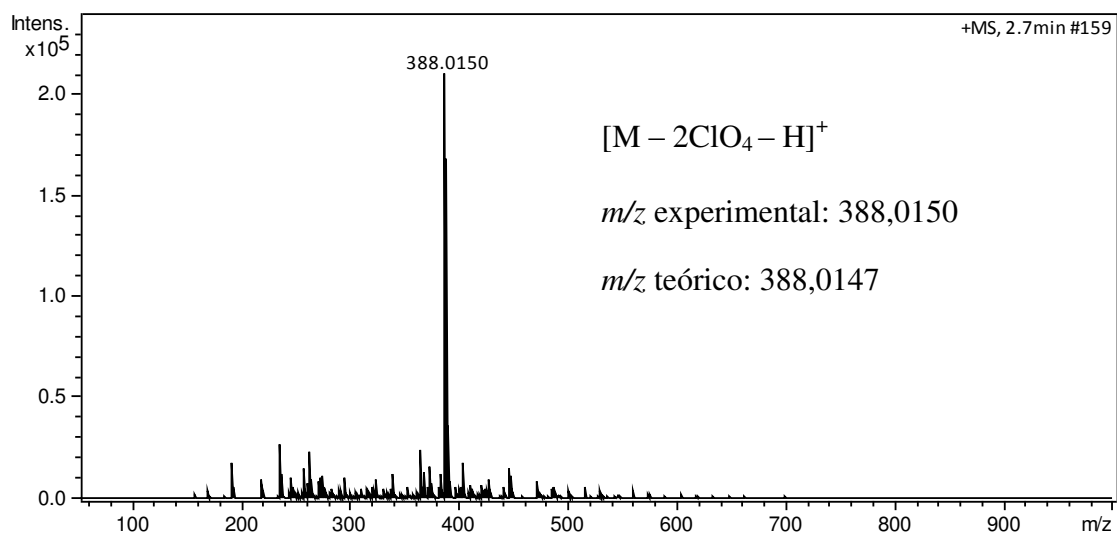
**Figura B29:** Espectro de infravermelho do complexo **19**.**Figura B30:** Espectro de infravermelho do complexo **20**.

C. Espectros de massas em alta resolução com ionização por *electrospray* (HRESIMS)**Figura C1:** Espectro de massas do complexo 1.**Figura C2:** Espectro de massas do complexo 2.

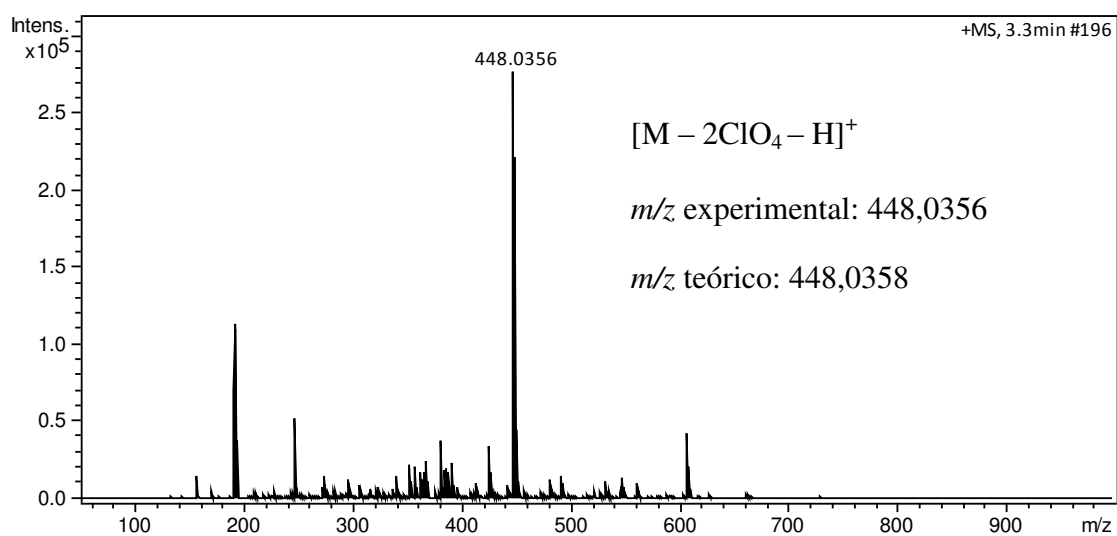
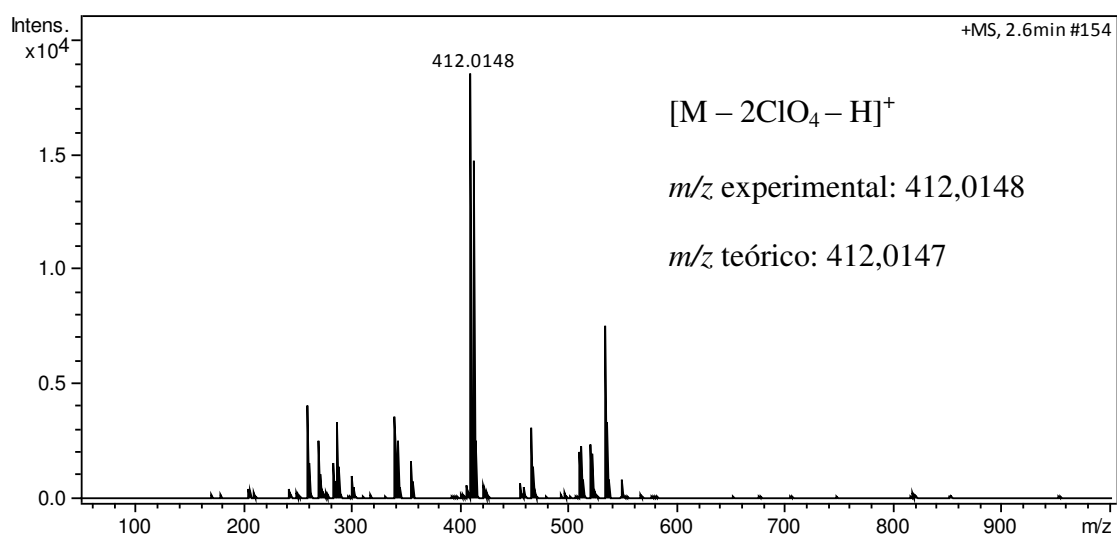
**Figura C3:** Espectro de massas do complexo 3.**Figura C4:** Espectro de massas do complexo 4.

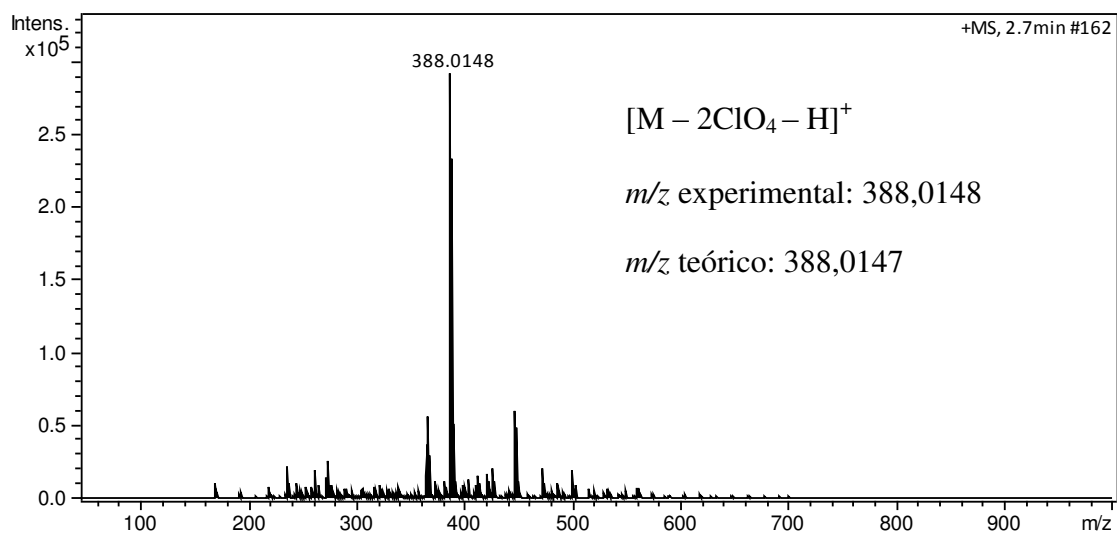
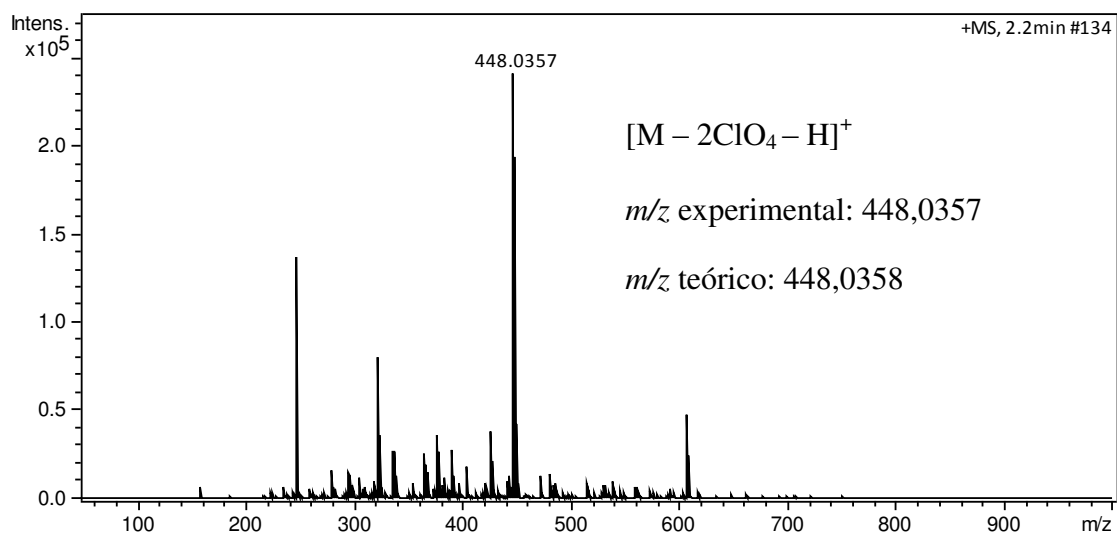
**Figura C5:** Espectro de massas do complexo 5.**Figura C6:** Espectro de massas do complexo 6.

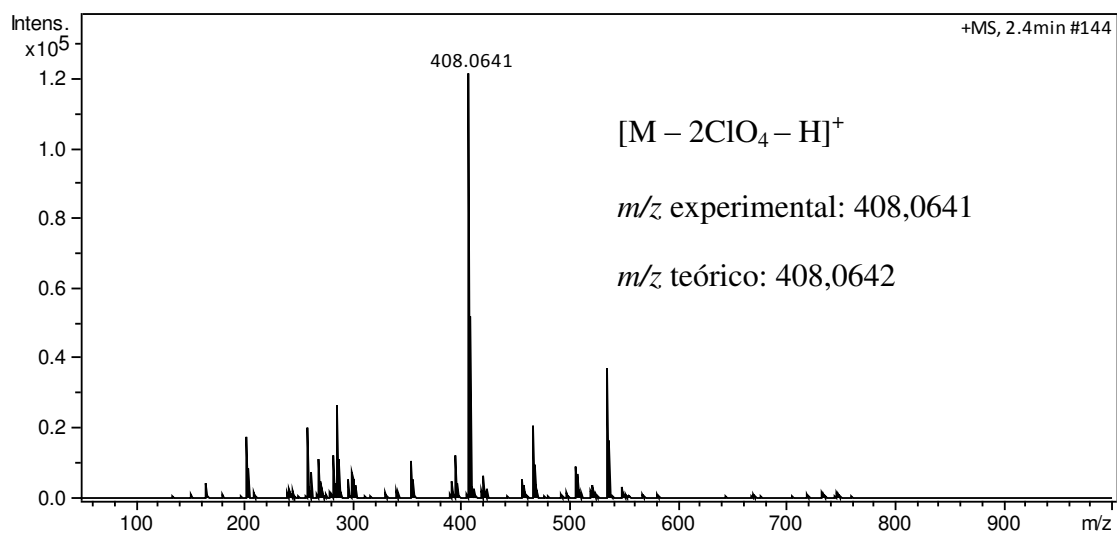
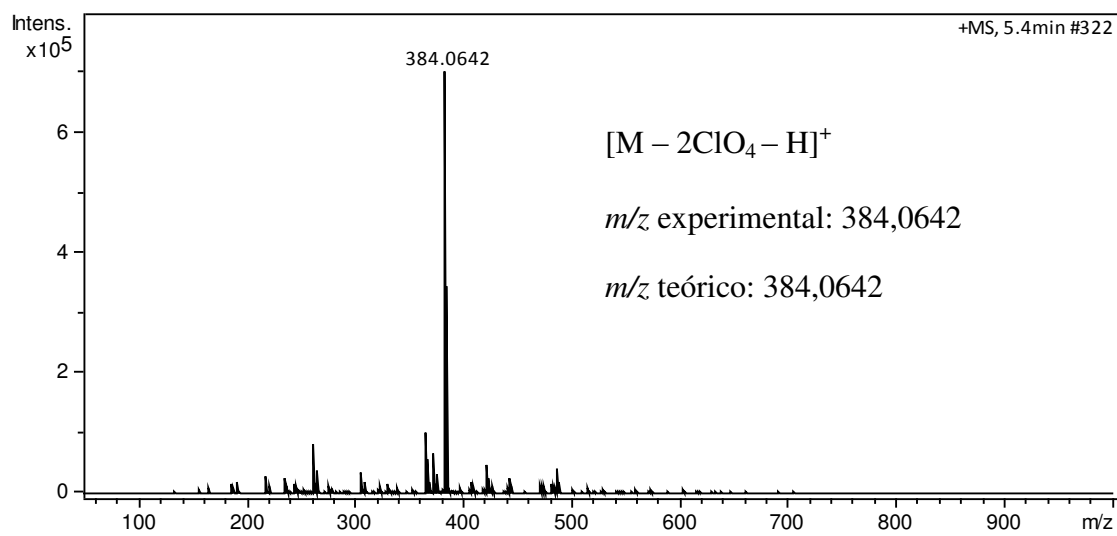
**Figura C7:** Espectro de massas do complexo 7.**Figura C8:** Espectro de massas do complexo 8.

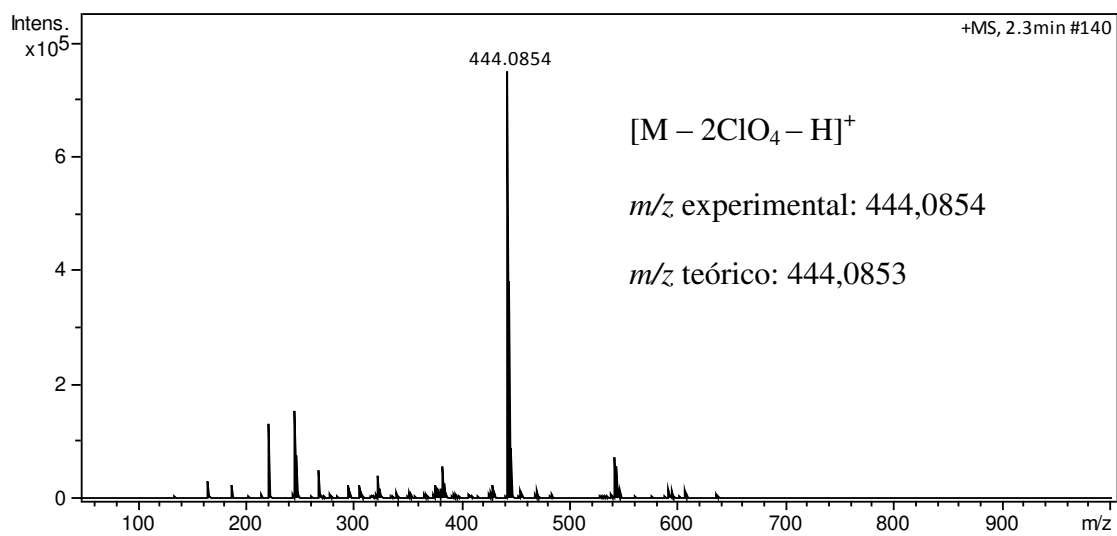
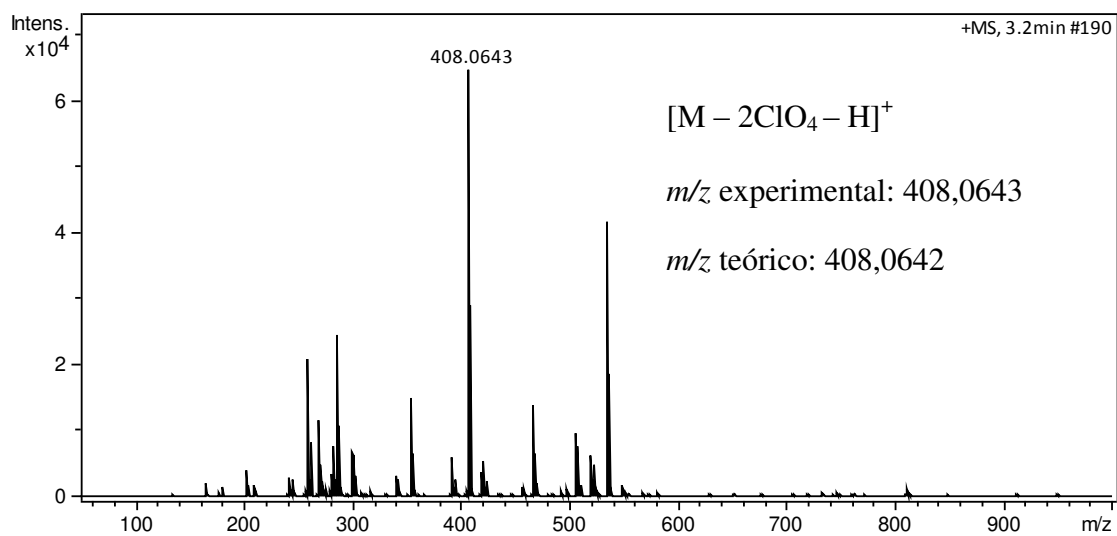
**Figura C9:** Espectro de massas do complexo **9**.**Figura C10:** Espectro de massas do complexo **10**.

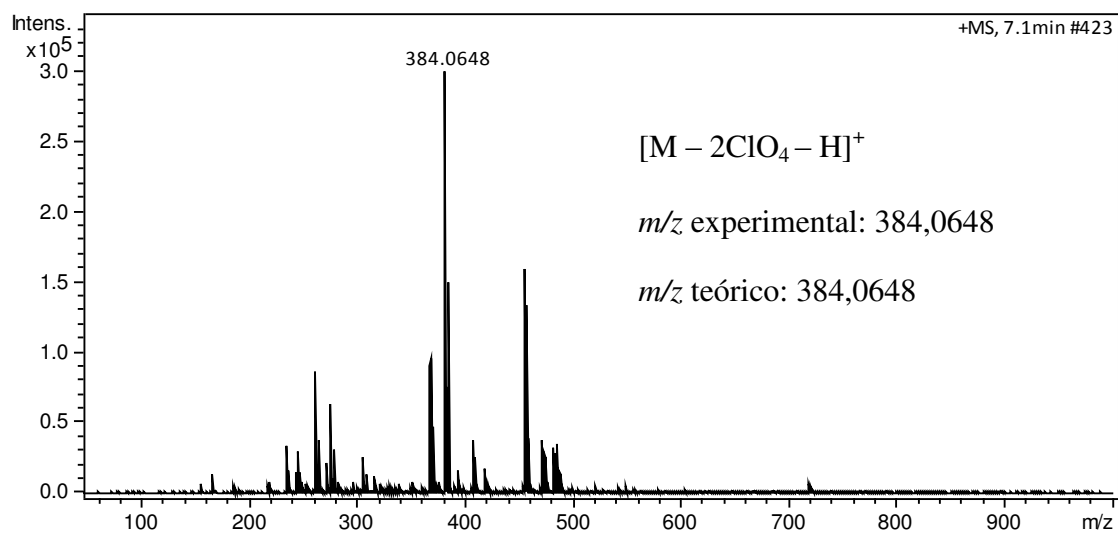
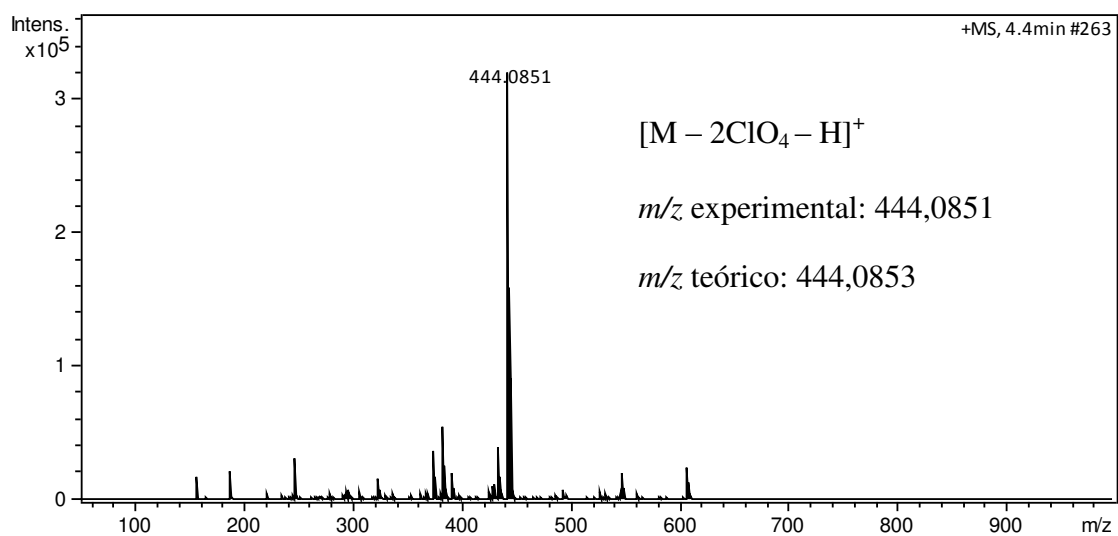


**Figura C11:** Espectro de massas do complexo 11.**Figura C12:** Espectro de massas do complexo 12.

**Figura C13:** Espectro de massas do complexo 13.**Figura C14:** Espectro de massas do complexo 14.

**Figura C15:** Espectro de massas do complexo 15.**Figura C16:** Espectro de massas do complexo 16.

**Figura C17:** Espectro de massas do complexo **17**.**Figura C18:** Espectro de massas do complexo **18**.

**Figura C19:** Espectro de massas do complexo **19**.**Figura C20:** Espectro de massas do complexo **20**.

## 9. PRODUÇÃO CIENTÍFICA



## Novel copper(II) complexes with hydrazides and heterocyclic bases: Synthesis, structure and biological studies



Drielly A. Paixão<sup>a</sup>, Ivana M. Marzano<sup>b</sup>, Edgar H.L. Jaimes<sup>b</sup>, Marcos Pivatto<sup>a</sup>, Débora L. Campos<sup>c</sup>, Fernando R. Pavan<sup>c</sup>, Victor M. Deflon<sup>d</sup>, Pedro Ivo da S. Maia<sup>e</sup>, Ana M. Da Costa Ferreira<sup>f</sup>, Isadora A. Uehara<sup>g</sup>, Marcelo J.B. Silva<sup>g</sup>, Françoise V. Botelho<sup>h</sup>, Elene C. Pereira-Maia<sup>b</sup>, Silvana Guilardi<sup>a</sup>, Wendell Guerra<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil

<sup>b</sup> Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil

<sup>c</sup> Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Campus Araraquara, 14.800-903 Araraquara, SP, Brazil

<sup>d</sup> Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brazil

<sup>e</sup> Instituto de Ciências Naturais, Exatas e Educação, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brazil

<sup>f</sup> Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

<sup>g</sup> Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil

<sup>h</sup> Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Copper(II) complexes  
Hydrazide  
DNA binding  
Apoptosis  
Antitumoral activity  
Mycobacterium tuberculosis

### ABSTRACT

Five new copper(II) complexes of the type  $[\text{Cu}(\text{N}-\text{O})(\text{N}-\text{N})(\text{ClO}_4)_2]$ , in which  $\text{N}-\text{O} = 4$ -fluorophenoxyacetic acid hydrazide (4-FH) or 4-nitrobenzoic hydrazide (4-NH) and  $\text{N}-\text{N} = 1,10$ -phenanthroline (phen), 4-4'-dimethoxy-2-2'-bipyridine (dmb) or 2,2'-bipyridine (bipy) were synthesized and characterized using various spectroscopic methods. The X-ray structural analysis of one representative compound indicates that the geometry around the copper ion is distorted octahedron, in which the ion is coordinated to hydrazide via the terminal nitrogen and the carbonyl oxygen, and to heterocyclic bases via their two nitrogen atoms. Two perchlorate anions occupy the apical positions, completing the coordination sphere. The cytotoxic activity of compounds was investigated in three tumor cell lines (K562, MDA-MB-231 and MCF-7). Concerning K562 cell line, the complexes with 1,10-phenanthroline exhibit high cytotoxic activity and are more active than carboplatin, free ligands and  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ . Considering the cytotoxicity results, further investigations for the compounds  $[\text{Cu}(4\text{-FH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2]$  **I** and  $[\text{Cu}(4\text{-NH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$  **III** were performed. Flow cytometric analysis revealed that these complexes induce apoptotic cell death in MDA-MB-231 cell line and bind to DNA with  $K$  values of  $4.38 \times 10^4$  and  $2.62 \times 10^4$ , respectively. These compounds were also evaluated against wild type Mycobacterium tuberculosis (ATCC 27294) and exhibited antimycobacterial activity, displayed MIC values lower than those of the corresponding free ligands.

### 1. Introduction

Nowadays, there is a great interest in the use of copper complexes in cancer chemotherapy, mainly those containing  $N,N$ -heterocyclic ligands, such as 1,10-phenanthroline, 2,2'-bipyridine, 2,2':6',2''-terpyridine, and derivatives, that facilitate intercalation to DNA. After the report that  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$  complex cleaves DNA, a great number of copper complexes with  $N,N$ -donors ligands have been synthesized and utilized as artificial nucleases [1]. Moreover, many of these copper compounds have been described to inhibit tumoral cell growth [2–14]. Regarding the clinical utility of these complexes, two of them devel-

oped by L. Ruiz and co-workers, are already approved for clinical trials as antitumor drugs [15,16].

Our research group has a great interest in the synthesis and biological evaluation of ternary complexes of copper. As a first example, we reported the DNA cleavage ability of two copper(II)-phenanthroline complexes with tetracycline and doxycycline. Both complexes showed an expressive plasmid DNA cleavage activity, under mild reaction conditions, even in the absence of any additional reducing agent, besides inhibited the growth of a chronic myelogenous leukemia cell line [17]. Furthermore, it was reported that UV-light exposure increases the cytotoxic activities of these copper complexes,

\* Corresponding author at: Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, João Naves de Ávila Avenue, 2121, Campus Santa Mônica, 38.400-902 Uberlândia, MG, Brazil.  
E-mail address: [wendell.guerra@ufu.br](mailto:wendell.guerra@ufu.br) (W. Guerra).

which makes them potential agents for photodynamic therapy [18]. In other studies, our research group has also shown that copper(II) complexes containing  $\beta$ -diketones and 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline are promising antitumoral agents [19,20]. For example, the compound  $[\text{Cu}(\text{L})(\text{phen})\text{NO}_3]$ , in which  $\text{L} = 1$ -(4-chlorophenyl)-4,4,4-trifluoro-1,3-butanedione, inhibits the growth of K562 cells with an  $\text{IC}_{50}$  value equal to  $2.1 \mu\text{M}$  [19].

Regarding hydrazides and derivatives, it is known that these compounds exhibit a wide variety of biological activities, including antimycobacterial, antifungal, antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, and antitumoral, among others [21]. This class of compounds has the ability to readily coordinate to many transition metals. Therefore, several hydrazide complexes have been synthesized and characterized [22,23]. Some of these compounds exhibit remarkable biological properties, mainly antimycobacterial and antitumoral [24–32]. For instance, the effect of copper(II) complexes containing hydrazides and *N,N*-heterocyclic ligands on the growth of tumor cells was evaluated by our research group. These complexes were able to enter the cells and inhibit cellular growth in a concentration-dependent manner, with an activity higher than that of the corresponding free ligands [31]. Concerning the pharmacological potential of metal-based drugs, this work was, as much as is from our knowledge, the first to describe anticancer properties of copper(II) complexes with hydrazides and 1,10-phenanthroline or derivatives. In addition, more recently, Bortolotto et al. showed that under UV-light exposure, these complexes enhance the DNA cleavage activity [32]. Indeed, these results show clearly that ternary complexes of copper(II) with hydrazides and heterocyclic bases, such as 1,10-phenanthroline, are very promising as anticancer agents. Aiming to continue this work, we describe herein the synthesis of a new series of complexes containing hydrazides and *N,N*-heterocyclic ligands (Fig. 1). The new complexes were characterized by elemental analyses, conductivity measurements, high-resolution electrospray ionization mass spectrometry (HRESIMS), FT-IR, UV-Vis and EPR. Thereafter, DNA interactions, pro-apoptotic properties, cytotoxicity and antitubercular activity of the synthesized compounds were evaluated.

## 2. Experimental

### 2.1. Starting materials

The reagents (ligands and metallic salts) are commercially available (Sigma-Aldrich).

### 2.2. Physical measurements

Conductivity studies were carried out with a Tecnal Tec-4MP conductivity meter using a cell of constant  $1.03 \text{ cm}^{-1}$ . Spectroscopic grade methanol (Sigma-Aldrich) ( $\Lambda_{\text{M}} = 2.13 \mu\text{S}/\text{cm}$ ) was used as solvent.

Elemental analyses were performed using a Perkin-Elmer 2400 CHN Elemental Analyzer.

Infrared spectra were obtained on a PerkinElmer Spectrum Two spectrophotometer equipped with an attenuated total reflectance (ATR) sample holder and ZnSe crystal. The spectra were recorded in the range of  $4000\text{--}600 \text{ cm}^{-1}$ .

Diffuse reflectance spectra and UV-Vis were obtained on a Shimadzu UV-2501 PC spectrophotometer.

High-resolution electrospray ionization mass spectra (HRESIMS) were measured on an ultrTOF (Bruker Daltonics) spectrometer, operating in the positive mode. Methanol was used as solvent system and the samples were infused into the ESI source at a flow rate of  $5 \mu\text{L}/\text{min}$ . The calculated values for the charged complex ions were made using ChemDraw Ultra 15.0.

To register EPR spectra of the metal complexes, a Bruker instrument (Karlsruhe, Germany) model EMX was used, operating at X-band (9.50 GHz frequency, 20 mW power, 100 kHz modulation frequency), at 77 K. Samples in solid or as frozen methanol solution were used, in Wilmad quartz tubes, and frequency calibration was provided with DPPH ( $\alpha, \alpha'$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl;  $g = 2.0036$ ).

### 2.3. Crystal structure determination

The data collection was performed at room temperature (296 K) using Mo-K $\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ) on a BRUKER APEX II Duo diffractometer. Standard procedures were applied for data reduction and absorption correction. The structure was solved with SHELXS97 using direct methods [33] and refined by full-matrix least-square methods against  $F^2$  (SHELXL2014) [34]. All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic displacement parameters with SHELXL2014 [34]. The hydrogen atoms were calculated at idealized positions using the riding model option of SHELXL2014 [34]. Crystallographic data, experimental details, data collection and refinement are reported in Table 1.

### 2.4. Preparation of the complexes

All complexes were prepared by the reaction of  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

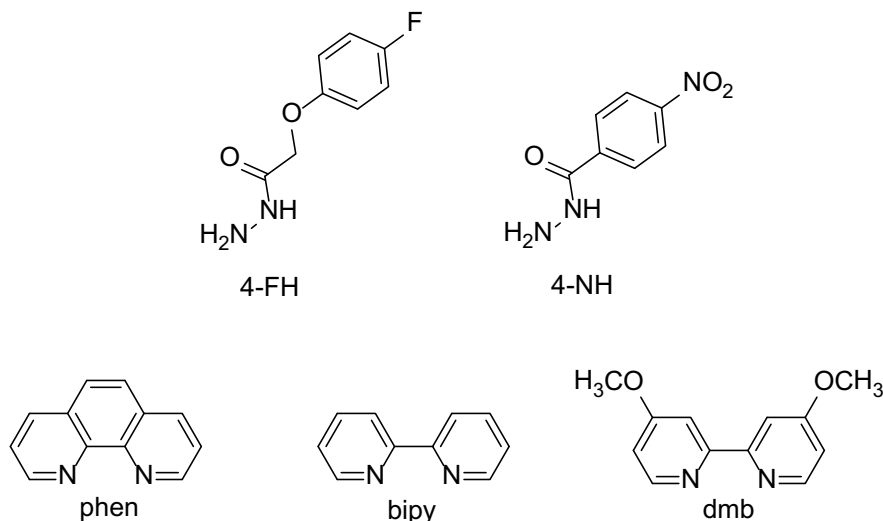


Fig. 1. Organic compounds used as ligands.



**Table 1**  
Crystal data and structure refinement for complex I.

Empirical formula	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> Cu F N <sub>4</sub> O <sub>10</sub>
Formula weight	626.82
Temperature	296(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P 2 <sub>1</sub> /c
Unit cell dimensions	a = 18.6542(6) Å b = 13.7070(4) Å β = 96.4240(10)° c = 9.2529(3) Å
Volume	2351.05(13) Å <sup>3</sup>
Z	4
Density (calculated)	1.771 Mg/m <sup>3</sup>
Absorption coefficient	1.230 mm <sup>-1</sup>
F(000)	1268
Crystal size	0.40 × 0.12 × 0.09 mm <sup>3</sup>
θ range for data collection	1.098 to 26.394°
Index ranges	-23 < = h < = 23, -17 < = k < = 17, -11 < = l < = 11
Reflections collected	42,766
Independent reflections	4816 [R(int) = 0.0274]
Completeness to theta = 25.242	100.0%
Absorption correction	Multi-scan
Max. and min. Transmission	0.7454 and 0.6596
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data/restraints/parameters	4816/14/381
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.043
Final R indices [I > 2σ(I)]	R <sub>1</sub> = 0.0401, wR <sub>2</sub> = 0.1082
R indices (all data)	R <sub>1</sub> = 0.0473, wR <sub>2</sub> = 0.1138
Extinction coefficient	n/a
Largest diff. Peak and hole	0.687 and -0.547 e.Å <sup>-3</sup>

(0.09 g, 0.25 mmol) with 0.25 mmol of hydrazide dissolved in a minimum amount of methanol. The mixture was stirred for 2 h, followed by the addition of *N,N*-donor heterocyclic ligand (0.25 mmol) previously dissolved in methanol. After 48 h, the compound was filtered, washed with methanol and dried under reduced pressure.

a. [Cu(4-FH)(phen)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>] I.

M.M.: 626.82 g mol<sup>-1</sup>. Yield: 75%. Color: Blue. Anal. Calc. for (CuC<sub>20</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>): C, 38.32; H, 2.73; N, 8.94%. Found: C, 38.68; H, 2.77; N, 8.90%. (+)-HRESIMS (methanol), *m/z*: 426.0555 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calc. for C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>CuFN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>, 426.0548 (Δ 1.6 ppm)). IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>): 3262, 3204, 3069, 1661, 1588, 1525, 1511, 1434, 1371, 1250, 1221, 1138, 1100, 1088, 1049, 927, 878, 854, 830, 780, 742, 721, 652, 615. UV-Vis (methanol), λ<sub>max</sub> (nm) = 293 (1.1 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 272 (3.5 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 220 (3.7 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 640 (2.9 × 10<sup>1</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 610 (solid). EPR parameters (in methanol frozen solution): g<sub>⊥</sub> 2.063; g<sub>∥</sub> 2.255; A<sub>∥</sub> 185 × 10<sup>-4</sup> cm<sup>-1</sup>. Molar conductivity, ΔM (methanol) = 188.45 μS cm<sup>-1</sup>.

b. [Cu(4-FH)(dmb)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]·H<sub>2</sub>O II

M.M.: 680.86 g mol<sup>-1</sup>. Yield: 51%. Color: Blue. Anal. Calc. for (CuC<sub>20</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>13</sub>Cl<sub>2</sub>): C, 35.28; H, 3.40; N, 8.23%. Found: C, 34.85; H, 3.56; N, 7.81%. (+)-HRESIMS (methanol), *m/z*: 462.0760 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calc. for C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>CuFN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, 462.0759 (Δ 0.2 ppm)). IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>): 3613, 3256, 3094, 2980, 1669, 1614, 1562, 1506, 1476, 1444, 1424, 1370, 1342, 1322, 1288, 1272, 1264, 1251, 1229, 1217, 1087, 1048, 1030, 1010, 970, 920, 889, 859, 832, 778, 742. UV-Vis (methanol), λ<sub>max</sub> (nm) = 299 (1.4 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 286 (1.7 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 277 (1.8 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 229 (6.4 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 635 (2.6 × 10<sup>1</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 607 (solid). EPR parameters (in methanol frozen solution): g<sub>⊥</sub> 2.058; g<sub>∥</sub> 2.244; A<sub>∥</sub> 188 × 10<sup>-4</sup> cm<sup>-1</sup>. Molar conductivity, ΔM (methanol)

= 176.01 μS cm<sup>-1</sup>.

c. [Cu(4-NH)(phen)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]·H<sub>2</sub>O III

M.M.: 641.81 g mol<sup>-1</sup>. Yield: 54%. Color: Blue. Anal. Calc. for (CuC<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>): C, 35.56; H, 2.67; N, 10.91%. Found: C, 35.95; H, 2.68; N, 10.92%. (+)-HRESIMS (methanol), *m/z*: 423.0399 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calc. for C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>, 423.0387 (Δ 2.8 ppm)). IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>): 3509, 3461, 3236, 3166, 3092, 3070, 2978, 2915, 1653, 1619, 1574, 1522, 1493, 1431, 1368, 1350, 1322, 1236, 1160, 1133, 1101, 1088, 1054, 1011, 924, 866, 856, 826, 788, 741, 721, 710. UV-Vis (methanol), λ<sub>max</sub> (nm) = 293 (2.2 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 272 (5.6 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 224 (4.8 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 206 (5.1 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 632 (3.5 × 10<sup>1</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 608 (solid). EPR parameters (in methanol frozen solution): g<sub>⊥</sub> 2.062; g<sub>∥</sub> 2.254; A<sub>∥</sub> 183 × 10<sup>-4</sup> cm<sup>-1</sup>. Molar conductivity, ΔM (methanol) = 168.19 μS cm<sup>-1</sup>.

d. [Cu(4-NH)(bipy)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]·H<sub>2</sub>O IV

M.M.: 617.79 g mol<sup>-1</sup>. Yield: 60%. Color: Blue. Anal. Calc. for (CuC<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>): C, 33.05; H, 2.77; N, 11.34%. Found: C, 33.43; H, 2.68; N, 11.12%. (+)-HRESIMS (methanol), *m/z*: 399.0393 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calc. for C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>, 399.0387 (Δ 1.5 ppm)). IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>): 3534, 3475, 3240, 3172, 3116, 3085, 3038, 2979, 2902, 2858, 1650, 1618, 1610, 1601, 1574, 1522, 1496, 1476, 1448, 1348, 1321, 1249, 1227, 1178, 1127, 1110, 1089, 1056, 1034, 1013, 933, 909, 866, 852, 825, 778, 731, 709, 666. UV-Vis (methanol), λ<sub>max</sub> (nm) = 310 (2.4 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 298 (2.7 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 249 (3.0 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 206 (3.4 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 203 (3.6 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 625 (1.3 × 10<sup>1</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 605 (solid). Molar conductivity, ΔM (methanol) = 191.75 μS cm<sup>-1</sup>.

e. [Cu(4-NH)(dmb)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]·H<sub>2</sub>O V

M.M.: 677.84 g mol<sup>-1</sup>. Yield: 73%. Color: Blue. Anal. Calc. for (CuC<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>): C, 33.67; H, 3.12; N, 10.33%. Found: C, 33.40; H, 2.97; N, 10.00%. (+)-HRESIMS (methanol), *m/z*: 459.0606 [M - 2ClO<sub>4</sub> - H]<sup>+</sup> (calc. for C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>5</sub>, 459.0598 (Δ 1.7 ppm)). IR (ATR) ν (cm<sup>-1</sup>): 3610, 3257, 3180, 3125, 3090, 2972, 2912, 2848, 1652, 1609, 1573, 1558, 1533, 1499, 1474, 1440, 1417, 1347, 1323, 1283, 1251, 1222, 1128, 1093, 1063, 1044, 1013, 970, 931, 907, 871, 852, 838, 709. UV-Vis (methanol), λ<sub>max</sub> (nm) = 299 (2.7 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 287 (3.2 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 229 (8.4 × 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 622 (7.1 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 604 (solid). Molar conductivity, ΔM (methanol) = 214.60 μS cm<sup>-1</sup>.

## 2.5. Cells and culture

### 2.5.1. K562 cells

The K562 cell line was purchased from the Rio de Janeiro Cell Bank (number CR083 of the RJCB collection). This cell line was established from pleural effusion of a 53 year-old female with chronic myelogenous leukemia in terminal blast crisis. Cells were cultured in RPMI 1640 (Sigma Chemical Co.) medium supplemented with 10% fetal calf serum (CULTILAB, São Paulo, Brazil) at 37 °C in a humidified 5% CO<sub>2</sub> atmosphere. Cultures grow exponentially from 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup> to about 8 × 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup> in three days. Cell viability was checked by Trypan Blue exclusion. The cell number was determined by Coulter counter analysis.

For cytotoxicity assessment, 1 × 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup> were cultured for 72 h in the absence and presence of a range of concentrations of tested compounds. The sensitivity to compound was evaluated by the concentration that inhibits cell growth by 50% (IC<sub>50</sub>). Stock solutions were prepared in DMSO and diluted accordingly to obtain the concentrations used in the cytotoxic assays. The final concentration of

DMSO in the experiments was below 0.5% and we have checked that the solvent has no effect in cell growth at this concentration.

### 2.5.2. Human breast cancer cell lines

The MDA-MB-231 and MCF-7 cell lines were purchased from the Rio de Janeiro Cell Bank. MCF-7 and MDA-MB-231 cells were cultured in DMEM medium supplemented with 10% fetal bovine serum, 100 units/mL penicillin, 100 mg/mL streptomycin, pH 7.4 at 37 °C with 5% CO<sub>2</sub>, in humid chamber, to reach ≈ 80% confluence for assays. Cells detachments for subculture/plating were done with a trypsin/EDTA solution for MCF-7 cells and EDTA solution for MDA-MB-231 cells, for 5 min; trypsin inactivation was carried out with BFS when applied and the cells were washed three times with medium. The cell number was determined by Neubauer chamber Counter analysis.

For cytotoxicity assessment,  $5 \times 10^4$  cells mL<sup>-1</sup> were cultured for 36 h in the absence and the presence of a range of concentrations of tested compounds. The sensitivity to compound was evaluated by the concentration that inhibits cell growth by 50% (IC<sub>50</sub>). Stock solutions of the compounds were prepared in DMSO.

### 2.5.3. Determination of cell death mode – flow cytometric analysis

The Annexin V/Dead Cell kit utilizes a fluorescent dye conjugated to Annexin-V to detect phosphatidylserine on the external membrane of apoptotic cells and a cell death dye 7-AAD that provides information on the membrane integrity or cell death. 7-AAD is excluded from living healthy cells, as well as early apoptotic cells. By observing the events of graphical plots populations of cells were classified into four distinguished groups: *Viable cells*: Annexin (-) and 7-AAD (-), lower-left quadrant (Q<sub>4</sub>); *Early apoptotic cells*: Annexin (+) and 7-AAD (-), lower right quadrant (Q<sub>3</sub>); *Late apoptotic cells*: Annexin (+) and 7-AAD (+), upper-right quadrant (Q<sub>2</sub>). *Cells that have died through non-apoptotic pathway*: Annexin V (-) and 7-AAD (+), upper-left quadrant (Q<sub>1</sub>). MDA-MB-231 cells were seeded in a 24-well culture plate at a density of  $3 \times 10^5$  cells/well and were cultured overnight in RPMI supplemented with 5% fetal bovine serum. In the next day cells were exposed to 50 μM of the complexes I and III for 24 h. MDA-MB-231 cells were harvested by trypsinisation and analyzed for the detection of early/late apoptosis and cell death mode using Annexin V/Dead Cell and 7-AAD.

### 2.6. Anti-Mycobacterium tuberculosis activity assay

The anti-MTB activity of the compounds was determined by the REMA (Resazurin Microtiter Assay) method [35]. Stock solutions of the tested compounds were prepared in DMSO at 10 mg/mL and diluted in Middlebrook 7H9 broth (Difco) supplemented with oleic acid, albumin, dextrose and catalase (OADC), performed by Precision XS (Biotek®) to obtain the final drug concentration range of 0.09–25 μg/mL. Rifampicin was dissolved in DMSO and was used as standard drugs. A suspension of the *M. tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 was cultured in Middlebrook 7H9 broth supplemented with OADC and 0.05% Tween 80. When the culture obtained a turbidity of McFarland standard No. 1, it was adjusted by  $5 \times 10^5$  CFU per mL and 100 μL of the inoculum were added to each well of a 96-well microplate (Kasvi®) together with 100 μL of the compounds. Samples were set up in triplicate. The plates were incubated for 7 days at 37 °C. Resazurin (solubilized in water) was added (30 μL of 0.01%). The fluorescence of the wells was read after 24 h with a Cytation 3 (Biotek®). The MIC was defined as the lowest concentration resulting in 90% inhibition of growth of MTB.

### 2.7. DNA binding

A Cary100 Varian spectrometer was used for UV and visible absorption measurements. For the interactions with CT DNA, the complex concentration used was  $2.5 \times 10^{-5}$  M and the DNA concentration varied from 0 to  $3 \times 10^{-4}$  M. The DNA concentration per nucleotide was determined by the  $\epsilon = 6600$  M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> at 260 nm. The

ionic strength was maintained constant with  $1 \times 10^{-3}$  M NaCl and the pH was fixed at 7.3 with 20 mM HEPES buffer. The absorbance of DNA itself was subtracted by adding equal quantity of DNA to both the complex and the reference solutions.

CD spectra were recorded in a Jasco J-815 spectropolarimeter in HEPES buffer ( $20 \times 10^{-3}$  M) pH 7.3. DNA concentration was  $1 \times 10^{-4}$  M and complex concentration varied from 0 to  $3.2 \times 10^{-5}$  M. The absorbance of the complexes was subtracted from that of the reaction mixture.

## 3. Results and discussion

Ternary complexes of copper(II) of the type [Cu(N–O)(N–N)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>], in which N–O = 4-fluorophenoxyacetic acid hydrazide (4-FH) or 4-nitrobenzoic hydrazide (4-NH); N–N = 1,10-phenanthroline (phen), 4–4'-dimethoxy-2-2'-bipyridine (dmb) or 2,2'-bipyridine (bipy) were synthesized. The complexes were characterized by elemental analyses, conductivity measurements and spectroscopic methods. In addition, complex I was analyzed by single crystal X-ray diffraction. All the copper complexes are colorful, non-hygroscopic, stable to air and light and soluble in organic solvents such as methanol, DMSO and acetonitrile.

The results of elemental analyses, which are given in experimental section, are in accordance with the proposed structures. The molar conductance measurements of the complexes were performed in methanol ( $1 \times 10^{-3}$  M) at room temperature. The values varied between 168.19 and 214.60 μS cm<sup>-1</sup>, depending of the complex, which indicates that they are 1:2 electrolytes [31]. The labilization of the axial ligands in solution (perchlorate anions) results in the generation of compounds of type [Cu(N–O)(N–N)]<sup>2+</sup> [17,19].

The high-resolution mass spectra of the copper complexes were recorded. The water molecules present in the molecular structures of II–V were dissociated from the complexes in the ionization process. The *m/z* values listed in the experimental section refer to the peak containing the most abundant isotope (<sup>63</sup>Cu). For instance, mass spectrum of the complex V exhibited the charged ion at *m/z* 459.0606 [M–2ClO<sub>4</sub>–H]<sup>+</sup> that was close to the calculated value for C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>CuN<sub>5</sub>O<sub>5</sub>, 459.0598 (Δ 1.7 ppm), and represents the pattern observed for all compounds (Fig. 2) [36].

In the IR spectra of the complexes II–V, a broad band at 3550 cm<sup>-1</sup> indicates the presence of one water molecule. For all complexes, a group of bands between 2900 and 3080 cm<sup>-1</sup> corresponds to the νC–H stretching vibration. Two intense bands between 1085 and 1045 cm<sup>-1</sup> are attributable to the presence of two unidentate perchlorate ions [37]. Hydrazides show characteristic absorptions between 3332 and 3150 cm<sup>-1</sup> which are attributable to the NH<sub>2</sub> and NH groups [22,23]. In all complexes studied, the bands originating from NH<sub>2</sub> group showed considerable shift as compared to the free ligands. An absorption assigned to νC=O around 1666–1645 cm<sup>-1</sup> corroborates with the proposed structures.

Electronic absorption spectra of all compounds were performed in methanol ( $10^{-5}$  M). A red shift in relation to free ligands confirms the presence of the complexes in solution [31]. The complexes possess only one broad and asymmetric d-d band centered at ≈ 630 nm. For example, the complex IV exhibits a d-d band centered at 625 nm ( $\epsilon = 13$  M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). These observations are consistent with a distortion from the octahedron geometry due to the Jahn-Teller effect [19]. In the solid state, all complexes exhibit the same d-d band centered at ≈ 608 nm, indicating that the geometry of the complexes in solution differs from that in solid state [19,20]. Moreover, in the solid state, the complexes exhibited a new band (CT) around 480 nm.

From EPR data, the corresponding parameters were determined for the studied copper(II) complexes (Table 2). The obtained values were very close, indicating a tetragonal arrangement of the ligands around the copper center, with a small tetrahedral distortion, as estimated by the empirical ratio  $g_{\parallel}/A_{\parallel}$  [31], around 120 cm. In the solid state, all

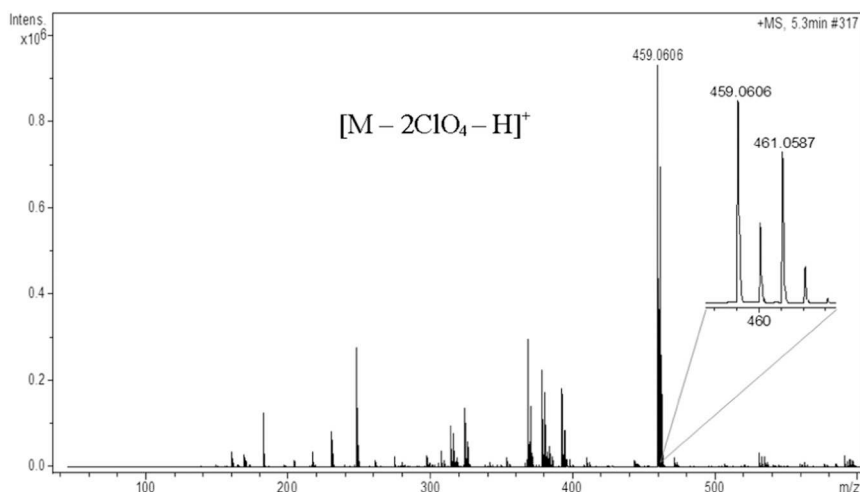


Fig. 2. (+)-HRESI-MS spectrum of complex V (charged complex ion observed was  $[M - 2ClO_4 - H]^+$ ).

Table 2

EPR parameters for copper(II) complexes in solid state and in methanol frozen solution, at 77 K.

Complex	$g_{iso}^{\#}$	$g_{\perp}$	$g_{//}$	$A_{//}$ (G)	$A_{//}$ ( $10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ) <sup>§</sup>	$g_{//}/A_{//}$ (cm)
I	2.065	2.063	2.255	176	185	122
II	2.065	2.058	2.244	179	188	119
III	2.071	2.062	2.254	174	183	123

<sup>#</sup> In solid state.

<sup>§</sup>  $A_{//}$  (in  $10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ ) =  $g_{//} \beta A_{//}$  (in G) =  $0.46686 \times 10^{-4} g_{//} A_{//}$  (in G); where  $\beta = 1.39969 \text{ MHz/G}$ .

the compounds exhibited only an isotropic  $g_{iso}$  value, 2.065 to 2.071.

### 3.1. Crystal structure

Blue crystals suitable for single crystal X-ray diffraction were obtained for complex I after slow evaporation of a methanol/toluene solution at room temperature. The crystals thereby formed were collected, washed with water and dried under reduced pressure. Single crystal X-ray analysis demonstrates that complex I crystallizes in the monoclinic system, space group  $P2_1/c$ . Fig. 3 illustrates the molecular structure of the complex I along with atomic labeling scheme. As it can be seen, the complex I exhibits a distorted octahedral geometry around Cu(II) ion, in which the ligands are coordinated in a bidentate mode. The equatorial site is occupied by two nitrogen atoms from phen (N3 and N4) and two atoms from 4-FH ligand (O1 and N2). The apical sites are occupied by two oxygen atoms (O3a and O10a)

from two perchlorates weakly bonded [31]. The perchlorate anions are disordered over two sites. The solid lines (labeled a) indicate the bonds between the atoms with higher occupation factor (54.7%), whereas the dashed lines (labeled b) represent the species with the lower occupation (45.3%). Selected bond lengths and angles are reported in Table 3.

The Cu1–O bond lengths from the disordered perchlorate ions range from 2.4 to 2.8 Å. These values are considerably longer than the Cu1–O distance in the basal plane. This elongation can be explained by the Jahn-Teller effect [19]. The Cu1–N<sub>phen</sub> (1.994(2) and 1.976(2) Å), Cu1–N2 (2.025(2) Å) and Cu1–O1 (1.970(2) Å) bond distances are normal and are comparable to those found for the related copper(II) complexes [31,38–41].

The basal geometry is considerably distorted from the perfect square-plane owing to the bite angle of the chelating phen ligand (83.23(9)°). The *trans* angles are 173.20(9)° and 174.52(9)°. The values of bond lengths and angles are within the values expected for this class of compounds [31,38]. The bidentate chelation to the copper(II) ion by the ligands lead to the formation of two 5-membered planar rings and the root mean square (r.m.s) deviation to the fitted atoms is 0.0154 and 0.0124 Å. The angle between the mean planes formed by these rings is 7.27(13)°. The copper atom is in the equatorial plane and the r.m.s deviations of the five fitted atoms in the CuN3O plane are 0.0368 Å. The phen ligand is approximately planar and the r.m.s deviations to the fitted non-hydrogen atoms are 0.0251 Å. The copper ion is displaced about 0.050 Å in relation to this plane.

The crystal structure is stabilized by hydrogen bonds (listed in Table 4) and weak  $\pi$ – $\pi$  stacking interactions. Intramolecular hydrogen bonds could be observed between the donor atoms of the 4-FH ligand and the oxygen atoms of the perchlorate groups (N2...O8a = 2.987(8)

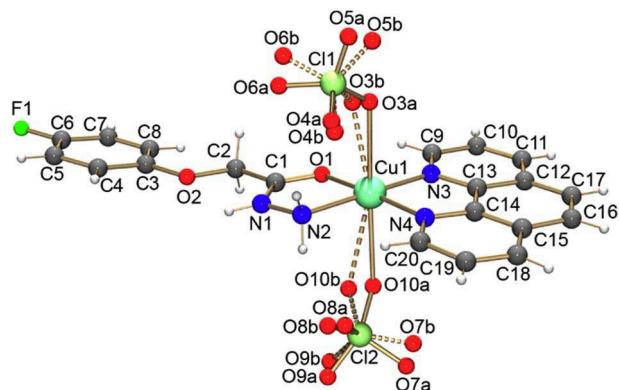


Fig. 3. Molecular structure of the complex  $[Cu(4-FH)(phen)(ClO_4)_2]$  I showing oxygen atoms from the perchlorate disordered over two sites. Major component (solid lines) with 54.7% occupation and minor component (dashed lines) with 45.3% occupation.

Table 3

Select bond lengths [Å] and angles [°] for complex I.

Cu1–O1	1.970(2)
Cu1–N2	2.025(2)
Cu1–N3	1.976(2)
Cu1–N4	1.994(2)
Cu1–O3a	2.489(7)
Cu1–O3b	2.412(10)
Cu1–O10a	2.601(7)
Cu1–O10b	2.769(7)
N3–Cu1–N4	83.23(9)
O1–Cu1–N2	82.49(8)
N4–Cu1–N2	100.89(9)
O1–Cu1–N3	93.04(8)
O1–Cu1–N4	173.20(9)
N3–Cu1–N2	174.52(9)

**Table 4**  
Hydrogen bonds for complex I [Å and °].

D–H...A	d(D–H)	d(H...A)	d(D...A)	< (DHA)
N1–H1...O8a <sup>#1</sup>	0.86	2.38	2.846(7)	114.3
N1–H1...O9a <sup>#1</sup>	0.86	2.38	3.212(11)	163.7
N1–H1...O8b <sup>#1</sup>	0.86	2.14	2.723(8)	124.9
N2–H2a...O8a	0.89	2.18	2.987(8)	150.2
N2–H2a...O8b	0.89	2.07	2.881(9)	151.5
N2–H2b...O4a	0.89	2.40	3.164(12)	143.8
N2–H2b...O4b	0.89	2.20	2.955(12)	141.7

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms: #1 x, -y + 1/2, z-1/2.

Å and N2...O4a = 3.164(12) Å) as illustrated in Fig. S1 (Supplementary Material). The N1 nitrogen atom of the 4-FH ligand is a proton donor in two hydrogen bonds of the type N–H...O, involving the O8 and O9 oxygen atoms from perchlorate groups, resulting in chains that extend along [001] direction as depicted in Fig. S2 (Supplementary Material). Using complete graph-set analysis [42] to describe patterns in the hydrogen-bond network, we find  $C_1^2(7)[R_1^2(4)]$ . These chains connect into a three-dimensional architecture by  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions among the phen moieties belonging to adjoining layers with centroid-centroid (Cg1–Cg2) distance of 3.770(1) Å for Cg1 (generated by the ring C9/C10/C11/C12/C13/N3) and Cg2 (generated by ring C12–C17) (Fig. S3, Supplementary Material).

### 3.2. Behavior in aqueous solution

The complexes were evaluated by UV–Vis spectroscopy at different times in a mixture containing H<sub>2</sub>O/DMSO 0.1%. The values of absorbance and wavelength were not affected, even after 6 h. These results indicate that the species  $[\text{Cu}(\text{N}=\text{O})(\text{N}=\text{N})]^{2+}$  remain intact in solution under the test conditions [19]. The spectra of a representative complex are reported in the Fig. 4.

### 3.3. Cytotoxic studies and determination of cell death mode

The cytotoxic activity of complexes is depicted in Table 5. IC<sub>50</sub> values obtained for the free ligands, carboplatin and for the complex  $[\text{Cu}(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)_2$  are also shown for the sake of comparison.

Concerning K562 cell line, phen and 4-NH exhibit high activity. However, for the phenanthroline and its derivatives, it is assumed that the sequestering of trace metals *in situ* is involved and that the resulting metallic complexes are the active species [43]. The organic compounds bipy and dmb display moderate activity. In turn, the copper complexes inhibit the growth of K562 cells with IC<sub>50</sub> values between 1.6 and 28 µM. As can be seen in the Table 5, the order of cytotoxic activity is: III > I > V > II > IV. The copper complexes with 1,10-phenanthroline (phen) are more active than those with 4–4'-dimethoxy-2-2'-

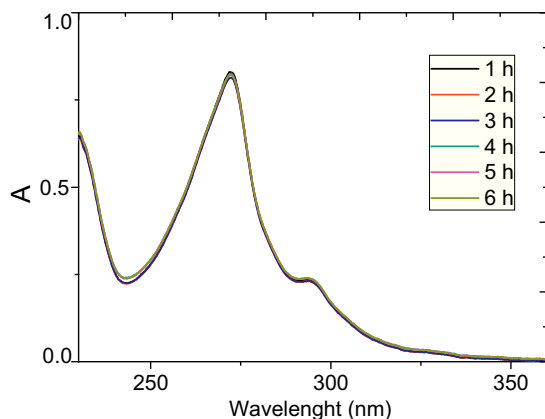


Fig. 4. Ultraviolet spectra of complex I as a function of time.

**Table 5**  
IC<sub>50</sub> (µM) values for ligands, complexes,  $[\text{Cu}(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)_2$  and carboplatin.a

Compound	K562 (72 h)	MDA-MB-231 (36 h)	MCF-7 (36 h)
4-FH	> 100	> 100	> 100
4-NH	10.5	> 100	> 100
dmb	23.5	–	–
bipy	30.0	–	–
phen	3.2	> 100	> 100
$[\text{Cu}(4\text{-FH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2]$ I	1.8	8.8	6.5
$[\text{Cu}(4\text{-FH})(\text{dmb})(\text{ClO}_4)_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ II	26.2	–	–
$[\text{Cu}(4\text{-NH})(\text{phen})(\text{ClO}_4)_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ III	1.6	5.5	4.6
$[\text{Cu}(4\text{-NH})(\text{bipy})(\text{ClO}_4)_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ IV	28.0	–	–
$[\text{Cu}(4\text{-NH})(\text{dmb})(\text{ClO}_4)_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$ V	15.0	–	–
$[\text{Cu}(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)_2$	3.4	–	–
Carboplatin	10.0	> 100	> 100

<sup>a</sup> IC<sub>50</sub> is the concentration required to inhibit 50% of K562 cell growth.

bipyridine (dmb) and 2,2-bipyridine (bipy). In the literature, several studies have shown that copper(II) complexes with phenanthroline are more reactive than similar ones with bipyridine ligands [17,31,44]. An accepted explanation for this order of reactivity is that the planar polycyclic phen ring interacts better with DNA [45]. The cytotoxic activity of complexes I and III is higher than the activity of all corresponding free ligands, carboplatin and  $[\text{Cu}(\text{Phen})_2]^{2+}$ , a complex known by its nuclease action [31]. The complexes II, IV and V exhibit moderate to good activity against K562 cell line.

As it can be seen in Table 5, the complexes I and III were also very active against MDA-MB-231 and MCF-7 cells. It is worth noting that the free ligands and carboplatin exhibit IC<sub>50</sub> values > 100 µM against MDA-MB-231 and MCF-7 cells. In general, the cytotoxic activity of these compounds is similar to copper complexes with N,N-donor heterocyclic ligands already described [46–51,17,31], although, the mode of action can be quite different [19].

We have used flow cytometric analysis to determine whether the selected complexes I and III (50 µM) are able to induce apoptosis. In accordance with our results, after 24 h incubation, the copper complexes I and III induce late apoptosis in MDA-MB-231 cell line (Fig. 5). Several copper(II) complexes were reported in literature by induce apoptosis, a form of programmed cell death that occurs in tumor cells as response to some anticancer agents [52–54].

### 3.4. DNA binding

We have registered the spectra of solutions of the complexes in the absence and in the presence of increasing concentrations of CT DNA. The addition of DNA induces a hypochromic effect and a minor bathochromic shift, indicating that both complexes interact with calf thymus DNA. A representative experiment obtained with complexes I and III at  $2.5 \times 10^{-5}$  M and DNA concentration ranging from 0 a  $3 \times 10^{-4}$  M is shown in Figs. 6 and 7, respectively. In order to evaluate the binding strengths of the complexes, the binding constant, K, was calculated accordingly to the equation.

$$[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f) = [\text{DNA}] / (\epsilon_0 - \epsilon_f) + 1/K(\epsilon_0 - \epsilon_f)$$

in which, [DNA] is the concentration of DNA in base pairs,  $\epsilon_a$  is the ratio of the absorbance/[Cu],  $\epsilon_f$  is the extinction coefficient of the free Cu<sup>II</sup> complex and  $\epsilon_0$  is the extinction coefficient of the complex in the fully bound form. The ratio of slope to intercept in the plot of  $[\text{DNA}] / (\epsilon_a - \epsilon_f)$  versus [DNA] gives the value of K (Figs. 6 and 7). The affinity of complex I to DNA is slightly higher than that complex III with K values of  $4.38 \times 10^4$  and  $2.62 \times 10^4$ , respectively.

The high sensitivity of circular dichroism (CD) to conformational aspects makes this technique suitable to follow changes in DNA

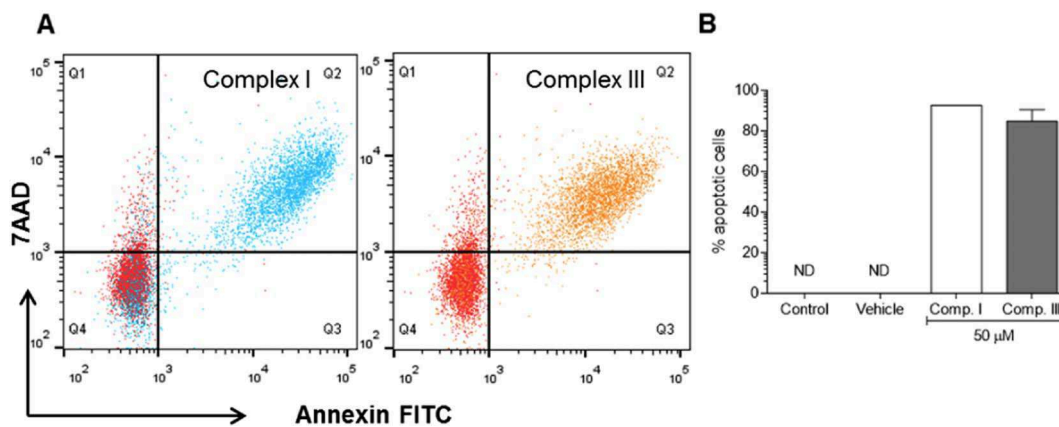


Fig. 5. Representative flow cytometry plots of MDA-MB-231 cell treated with complexes I and III.

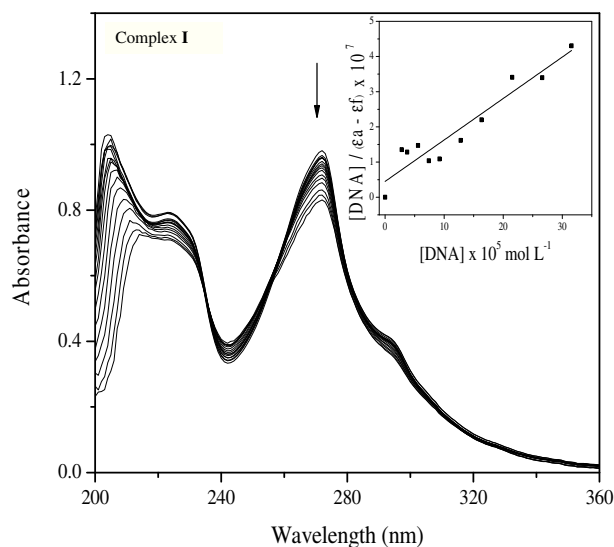


Fig. 6. Spectra of solutions containing complex I ( $2.5 \times 10^{-5}$  M) and increasing concentrations of DNA in HEPES buffer pH 7.3. [DNA]: [complex I] ranging from 0 to 12. Inset:  $[DNA]/(\epsilon a - \epsilon f)$  versus [DNA].

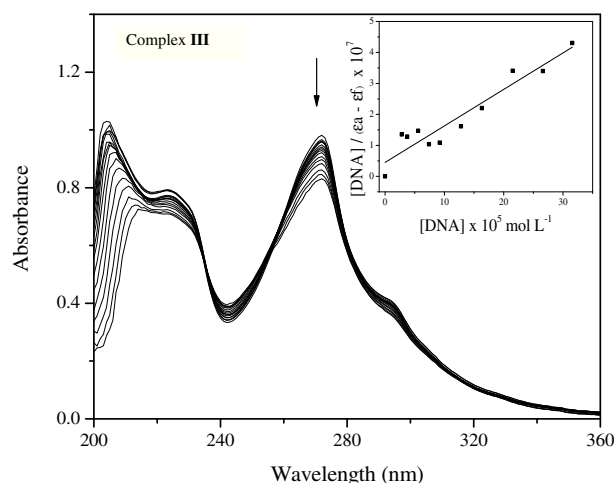


Fig. 7. Spectra of solutions containing complex III ( $2.5 \times 10^{-5}$  M) and increasing concentrations of DNA in HEPES buffer pH 7.3. [DNA]: [complex III] ranging from 0 to 12. Inset:  $[DNA]/(\epsilon a - \epsilon f)$  versus [DNA].

morphology caused by interactions with drugs or small molecules. The CD spectrum of the free DNA is composed of a positive band at 275 nm, due to base stacking, and a negative one at 245 nm, due to the right-

handed helicity of B-DNA [55–56]. By adding aliquots of I and III in the DNA solution the intensity of DNA bands increase (Fig. S4). This behavior is usually observed upon drug intercalation, since it enhances the base stacking and stabilizes helicity, and thus increases intensities of the bands, whereas simple groove binding and electrostatic interaction of small molecules show less or no perturbation on the base stacking and helicity bands [55–56].

### 3.5. Anti-*M. tuberculosis* activity

The antimycobacterial activity of compounds I and III were evaluated *in vitro* against MTB H37Rv (ATCC 27294) strain by the REMA method. The minimum inhibitory concentrations (MICs) found for the complexes, free ligands and rifampicin (standard drug) are shown in Table 6. The complexes I and III exhibited activity against the MTB with MIC values equal to 6.3 and 6.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. It is worth noting that the novel complexes possess MIC ( $\mu\text{M}$ ) values lower than those of the corresponding free ligands. Moreover, compared to similar compounds containing aromatic diimine ligands (N–N) already described, they are among the most active [57–59]. Whereas compounds with anti-MTB activity at  $\leq 10$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  (or molar equivalent) are selected for subsequent tests [60], these results show that copper complexes containing hydrazides and *N,N*-donor ligands are promising agents against MTB.

## 4. Concluding remarks

Five new copper complexes containing hydrazides and *N,N*-donor heterocyclic ligands were prepared and characterized. The X-ray structural analysis of one representative compound indicates that the geometry around the copper ion is octahedral distorted, in which both the ligands are coordinated in a bidentate mode, (N–O) and (N–N). EPR parameters determined for the all series of complexes corroborated these data, attesting a tetragonal geometry around the copper ion in solution. The obtained results of cytotoxicity activity of the synthesized compounds are very promising, especially in the case of copper

Table 6  
Anti-MTB activity (MIC) of I, III, free ligands and rifampicin.

Compound	MIC <sub>90</sub> $\mu\text{g}/\text{mL}$	MIC <sub>90</sub> $\mu\text{M}$
phen	2.3	12.7
4-FH	> 25	–
4-NH	> 25	–
[Cu(4-FH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ] I	6.3	10.0
[Cu(4-NH)(phen)(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ].H <sub>2</sub> O III	6.5	10.1
Rifampicin (standard drug)	0.02	0.03

complexes with phenanthroline, with IC<sub>50</sub> values in the range of a few  $\mu\text{M}$ . Also, the coordination to the metal ion ameliorates the ligand activity. Regarding its antitubercular activity, they are among the most active in comparison to similar compounds, with MIC  $\leq 10 \mu\text{g/mL}$ . These findings are noteworthy and motivate further studies with such compounds.

### Abbreviations

Phen	1,10-phenanthroline
bipy	2,2'-bipyridine
dmb	4-4'-dimethoxy-2-2'-bipyridine
DNA	Deoxyribonucleic acid
CT DNA	calf-thymus DNA
UV-Vis	ultraviolet-visible
IR	infrared
EPR	electron paramagnetic resonance
CD	circular dichroism
DMSO	dimethyl sulfoxide
K562	chronic myelogenous leukemia
MCF-7	breast adenocarcinoma
MDA-MB-231	human breast adenocarcinoma
IC <sub>50</sub>	concentration required to inhibit 50% of cell growth
MIC	minimum inhibitory concentration
MTB	Mycobacterium tuberculosis
CT	charge transfer

### Acknowledgements

To CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil) (442328/2014-1), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil), and FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais, Brazil) (APQ-00668-15) by financial support and fellowships. The authors are also thankful to the Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo - GMIT research group supported by FAPEMIG (APQ-00330-14). This work is a collaboration research project of members of the Rede Mineira de Química (RQ-MG) supported by FAPEMIG (Project: CEX - RED-00010-14).

### Appendix A. Supplementary data

CCDC 1499893 contains the supplementary crystallographic data for the complex I. These data can be obtained free of charge via <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html>, or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: (+44) 1223-336-033; or e-mail: [deposit@ccdc.cam.ac.uk](mailto:deposit@ccdc.cam.ac.uk). Supplementary data associated with this article can be found in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.04.024>.

### References

- [1] M. Chikira, C. Hee Ng, M. Palaniandavar, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2015) 22754–22780.
- [2] P. Ruiz, R. Ortiz, L. Perelló, G. Alzuet, M. González-Álvarez, M. Liu-González, F. Sanz-Ruiz, *J. Inorg. Biochem.* 101 (2007) 831–840.
- [3] P.R. Reddy, A. Shilpa, N. Raju, P. Raghavaiah, *J. Inorg. Biochem.* 105 (2011) 1603–1612.
- [4] A.K. Patra, S. Roy, A.R. Chakravarty, *Inorg. Chim. Acta* 362 (2009) 1591–1599.
- [5] I. Correia, S. Roy, C.P. Matos, S. Borovic, N. Butenko, I. Cavaco, F. Marques, J. Lorenzo, A. Rodríguez, V. Moreno, J.C. Pessoa, *J. Inorg. Biochem.* 147 (2015) 134–146.
- [6] A.M. Thomas, A.D. Naik, M. Nethaji, A.R. Chakravarty *Inorg. Chim. Acta* 357 (2004) 2315–2323.
- [7] C. Marzano, M. Pellei, F. Tisato, C. Santini, *Anti Cancer Agents Med. Chem.* 9 (2009) 185–211.
- [8] C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, *Chem. Rev.* 114 (2014) 815–862.
- [9] J.L. García-Giménez, M. González-Álvarez, M. Liu-González, B. Macías, J. Borrás, G. Alzuet, *J. Inorg. Biochem.* 103 (2009) 923–934.
- [10] T. Kiran, V.G. Prasanth, M.M. Balamurali, C.S. Vasavi, P. Munusami, K.L. Sathiyarayanan, M. Pathak, *Inorg. Chimica Acta* 433 (2015) 26–34.
- [11] T. Ma, J. Xu, Yuan Wang, H. Yu, Y. Yang, Y. Liu, W. Ding, W. Zhu, R. Chen, Z. Ge, Y. Tan, L. Jia, T. Zhu, *J. Inorg. Biochem.* 144 (2015) 38–46.
- [12] P. Gurumoorthy, D. Mahendiran, D. Prabhu, C. Arulvasu, A.K. Rahiman, *J. Mol. Struct.* 1080 (2015) 88–98.
- [13] S. Abdolmaleki, M. Ghadermazi, A. Fattahi, S. Sheshmani, *Inorg. Chimica Acta* 443 (2016) 284–298.
- [14] I. Castillo, M. Suwalsky, M.J. Gallardo, V. Troncoso, B.N. Sánchez-Eguía, E. Santiago-Osorio, I. Aguiñiga, A.K. González-Ugarte, *J. Inorg. Biochem.* 156 (2016) 98–104.
- [15] J. Serment-Guerrero, P. Cano-Sanchez, E. Reyes-Perez, F. Velazquez-Garcia, M. Bravo-Gomez, L. Ruiz-Azuara, *Toxicol. in Vitro* 25 (2011) 1376–1384.
- [16] S. Iglesias, N. Alvarez, M.H. Torre, E. Kremer, J. Ellena, R.R. Ribeiro, R.P. Barroso, A.J. Costa-Filho, M.G. Kramer, G. Facchin, *J. Inorg. Biochem.* 139 (2014) 117–123.
- [17] P.P. Silva, W. Guerra, J.N. Silveira, A.M. Da Costa Ferreira, T. Bortolotto, F.L. Fischer, H. Terenzi, A. Neves, E.C. Pereira-Maia, *Inorg. Chem.* 50 (2011) 6414–6424.
- [18] T. Bortolotto, P.P. Silva, A. Neves, E.C. Pereira-Maia, H. Terenzi, *Inorg. Chem.* 50 (2011) 10519–10521.
- [19] J.C. Almeida, D.A. Paixão, I.M. Marzano, J. Ellena, M. Pivatto, N.P. Lopes, A.M. Da Costa Ferreira, E.C. Pereira-Maia, S. Guillard, W. Guerra, *Polyhedron* 89 (2015) 1–8.
- [20] P.S. Lopes, D.A. Paixão, F.C.S. de Paula, A.M. Da Costa Ferreira, J. Ellena, S. Guillard, E.C. Pereira-Maia, W. Guerra, *J. Mol. Struct.* 1034 (2013) 84–88.
- [21] S. Rollas, Ş.G. Küçükgüzel, *Molecules* 12 (2007) 1910–1939.
- [22] L.M. Sousa, P.P. Corbi, A.L.B. Formiga, Marcelo Lancellotti, I.M. Marzano, E.C. Pereira-Maia, G. Von Poelhsitz, W. Guerra, *J. Mol. Struct.* 1097 (2015) 15–22.
- [23] M.A. Rodrigues, I.M. Marzano, G.H. Ribeiro, L. Colina-Vegas, M. Pivatto, A.P.S. Fontes, C.M. Ribeiro, F.R. Pavan, K.J. Almeida, A.A. Batista, E.C. Pereira-Maia, W. Guerra, *Polyhedron* 98 (2015) 146–153.
- [24] E.H.S. Sousa, F.G.M. Vieira, J.S. Butler, L.A. Basso, D.S. Santiago, I.C.N. Diógenes, L.G.F. Lopes, P.J. Sadler, *J. Inorg. Biochem.* 140 (2014) 236–244.
- [25] E.H.S. Sousa, L.A. Basso, D.S. Santos, I.C.N. Diógenes, E. Longhinotti, L.G.F. Lopes, I.S. Moreira, *J. Biol. Inorg. Chem.* 17 (2012) 275–283.
- [26] S.A. Galal, K.H. Hegab, A.S. Kassab, M.L. Rodriguez, S.M. Kerwin, A. Abdel-Mo'men, El-Khamry, H.I. El Diwani, *Eur. J. Med. Chem.* 44 (2009) 1500–1508.
- [27] V. Mahalingam, N. Chitrapriya, M. Zeller, K. Natarajan, *Polyhedron* 28 (2009) 1532–1540.
- [28] P. Sur, S.P. Chatterjee, P. Roy, B. Sur, *Cancer Lett.* 94 (1995) 27–32.
- [29] G.D. de Souza, M. A. L.E. Fernandes, P.P. Silva, R. Ruggiero, E.C. Pereira-Maia, W. Guerra, *Cent. Eur. J. Chem.* 11 (2013) 290–294.
- [30] N. Dodoff, K. Granharov, N. Spassovska, *J. Inorg. Biochem.* 60 (1995) 257–266.
- [31] P.P. Silva, W. Guerra, G.C. dos Santos, N.G. Fernandes, J.N. Silveira, A.M. da Costa Ferreira, T. Bortolotto, H. Terenzi, A.J. Bortoluzzi, A. Neves, E.C. Pereira-Maia, *J. Inorg. Biochem.* 132 (2014) 67–76.
- [32] T. Bortolotto, P.P. Silva-Caldeira, C.T. Pich, E.C. Pereira-Maia, H. Terenzi, *Chem. Commun.* 52 (2016) 7130–7133.
- [33] G.M. Sheldrick, SHELXS97, Program for the Solution of Crystal Structures, University of Göttingen, Germany, 1997.
- [34] G.M. Sheldrick, SHELXL2014.
- [35] J.C. Palomino, A. Martin, M. Camacho, H. Guerra, J. Swings, F. Portales, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46 (2002) 2720–2722.
- [36] K. Shin-Geol Kang, Ryu, Soo-Kyung Jung, Shang-Su Kim, *Bull. Kor. Chem. Soc.* 17 (1996) 331–334.
- [37] S. Dey, T. Mukherjee, S. Sarkar, H.S. Evans, P. Chattopadhyay, *Transit. Met. Chem.* 36 (2011) 631–636.
- [38] K. Kaabi, M. El Glaoui, M. Zeller, C.B. Nasr, *Acta Cryst E66* (2010) m1145–m1146.
- [39] T. Pivetta, F. Truduva, E. Valletta, F. Isaia, C. Castellano, F. Demartin, R. Tuveri, S. Vascellari, A. pani, *J. Inorg. Biochem.* 141 (2014) 103–113.
- [40] X. Li, Z. Zhang, C. Wang, T. Zhang, K. He, F. Deng, *J. Inorg. Biochem.* 105 (2011) 23–30.
- [41] G.A. Van Albada, I. Dominicus, I. Mutikainen, U. Turpeinen, J. Reedijk, *Polyhedron* 26 (2007) 3731–3736.
- [42] M.C. Etter, J.C. MacDonald, J. Bernstein, *Acta Cryst B46* (1990) 256–262.
- [43] M. McCann, A.L.S. Santos, B.A. da Silva, M.T.V. Romanos, A.S. Pyrrho, M. Devereux, K. Kavanagh, I. Fichtner, A. Kellet, *Toxicol. Res.* 1 (2012) 47–54.
- [44] C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, *Chem. Rev.* 114 (2014) 815–862.
- [45] M. Bravo-Gomez, J.C. Garcia-Ramos, I. Gracia-Mora, L. Ruiz-Azuara, *J. Inorg. Biochem.* 103 (2009) 299–309.
- [46] D. İnci, R. Aydın, Ö. Vatan, T. Sevgi, D. Yılmaz, Y. Zorlu, Y. Yerli, B. Çoşut, E. Demirkan, N. Çinkılıç, *J. Biol. Inorg. Chem.* 22 (2017) 61–85.
- [47] A. Marín-Hernandez, I. Gracia-Mora, L. Ruiz-Ramírez, R. Moreno-Sanchez, *Biochem. Pharmacol.* 65 (2003) 1979–1989.
- [48] R. Singh, R.N. Jadeja, M.C. Thounaojam, T. Patel, R.V. Devkar, D. Chakraborty, *Inorg. Chem. Commun.* 23 (2012) 78–84.
- [49] S. Patitungkho, S. Adsule, P. Dandawate, S. Padhye, A. Ahmad, F.H. Sarkar, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21 (2011) 1802–1806.
- [50] K.M. Vyas, R.N. Jadeja, D. Patel, R.V. Devkar, V.K. Gupta, *Polyhedron* 80 (2014) 20–33.
- [51] E.K. Efthimiadou, H. Thomadaki, Y. Sanakis, C.P. Raptopoulou, N. Katsaros, A. Scorilas, A. Karaliota, G. Psomas, *J. Inorg. Biochem.* 101 (2007) 64–73.
- [52] C. Fernandes, A. Horn Jr., B.F. Lopes, E.S. Bull, N.F.B. Azeredo, M.M. Kanashiro, F.V. Borges, A.J. Bortoluzzi, B. Szpoganicz, A.B. Pires, R.W.A. Franco, J.C. de Almeida, L.L.F. Maciel, J.A.L.C. Resende, G. Schenk, *J. Inorg. Biochem.* 153 (2015) 68–87.
- [53] K.G. Daniela, P. Gupta, R.H. Harbach, W.C. Guida, Q.P. Dou, *Biochem. Pharmacol.*

- 67 (2004) 1139–1151.
- [54] Xue-Quan Zhou, Y. Li, Dong-Yan Zhang, Y. Nie, Zong-Jin Li, W. Gu, X. Liu, Jin-Lei Tian, Shi-Ping Yan, *Eur. J. Med. Chem.* 114 (2016) 244–256.
- [55] Ferenc Zsila, *Int. J. Biol. Macromol.* 72 (2015) 1034–1040.
- [56] M. Sinan, M. Panda, A. Ghosh, K. Dhara, P.E. Fanwick, D.J. Chattopadhyay, S. Goswami, *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 5185–5193.
- [57] H.R. Dholariya, K.S. Patel, J.C. Patel, K.D. Pate, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 108 (2013) 319–328.
- [58] A.E. Hoffman, M. DeStefano, C. Shoen, K. Gopinath, D.F. Warner, M. Cynamon, R.P. Doyle, *Eur. J. Med. Chem.* 70 (2013) 589–593.
- [59] J.C. Almeida, I.M. Marzano, M. Pivatto, N.P. Lopes, A.M. Da Costa Ferreira, F.R. Pavan, I.C. Silva, E.C. Pereira-Maia, G. Von Poelhsitz, W. Guerra, *Inorg. Chim. Acta* 446 (2016) 87–92.
- [60] F.R. Pavan, D.N. Sato, C. Q., F. Leite, An approach to the search for new drugs against tuberculosis, in: P.-J. Cardona (Ed.), *Mycobacterium tuberculosis/book 2*, Intech, 2011.