

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE
MINAS GERAIS

Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais

Alexandre Bizzotto de Carvalho

Propriedades Biológicas, Estruturais, Eletrônicas e Magnéticas
de um Polímero de Coordenação de Cobre(II) Inédito
contendo Ácido Nalidíxico e 8-Hidroxiquinolina

Minas Gerais

2018

Alexandre Bizzotto de Carvalho

Propriedades Biológicas, Estruturais, Eletrônicas e Magnéticas
de um Polímero de Coordenação de Cobre(II) Inédito
contendo Ácido Nalidíxico e 8-Hidroxiquinolina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação Multicêntrico em Química como requisito
parcial para a obtenção do título de Mestre em Química
Inorgânica

Área de Concentração: Química Inorgânica

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Priscila Pereira Silva Caldeira

Minas Gerais

2018

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me fornecido resiliência e esta chance de realizar esse sonho.

À professora Priscila agradeço pela sua enorme dedicação, paciência e orientação, não somente nesta etapa de concretização e crescimento profissional, mas também pelos conselhos para a vida que levarei comigo sempre com muita estima, obrigado por tudo.

Sou grato à minha namorada, Ellen, que me incentivou e me deu força para seguir em frente e enfrentar as penosas dificuldades neste caminho.

Agradeço aos companheiros de laboratório do *campus* VI do CEFET-MG, Hudson, Bárbara, Andressa, Clara, Ingrid, Diogo, Fernanda, Ítalo, Ana Débora, Matheus, Jefferson, Gabriel, Raquel pelo companheirismo, e por tornar os momentos de trabalho mais agradáveis.

Aos professores do CEFET-MG, deixo meu agradecimento especial, aos

Professores Wallace, Eudes, Emerson, Raquel, Patterson e Patrícia, pelos momentos de aprendizado, que foram fundamentais para meu crescimento profissional.

Agradeço aos professores colaboradores deste trabalho: prof. Willian Xerxes pelas análises por difração de raios X por monocristal (UFMG), prof. Emerson Pedroso (CEFET-MG) pelo estudo das propriedades magnéticas (CEFET-MG), prof. Ildfonso Binatti (CEFET-MG) pela análise de espectrometria de massas, prof. Klaus Krambrock (UFMG) pela análise de RPE e prof^a Ívina de Souza (CEFET-MG) e a prof^a Elene Cristina Pereira (UFMG) pelos estudos das atividades biológicas. Obrigado a todos, sem o auxílio de vocês nada disso seria possível. Agradeço também aos técnicos da UFMG e do CEFET-MG, que auxiliaram em algumas análises deste trabalho.

Deixo aqui meu agradecimento aos meus familiares pelo companheirismo e força nos momentos difíceis.

Agradeço aos membros da banca pelas considerações e por terem aceito o convite para melhorar este trabalho.

Agradeço ao CEFET-MG e ao Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais pelo apoio e investimento.

Resumo

A neoplasia é uma patologia que acomete milhões de pessoas em todo o mundo. O *design*, o preparo e os estudos de atividade farmacológica de complexos metálicos têm sido vastamente explorados para o tratamento do câncer. Entre os compostos promissores como antineoplásicos estão os complexos à base de cobre. No presente trabalho realizou-se a síntese, caracterização estrutural, estudos físicos e espectroscópicos e avaliação da atividade antitumoral de um complexo inédito de cobre(II) com ligantes biologicamente relevantes, 8-hidroxiquinolina e ácido nalidíxico, da classe das quinolonas. A medida por difração de raios X por monocristal demonstrou que a estrutura do composto é um polímero de coordenação, $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$, que exhibe uma geometria piramidal de base quadrada para cada centro metálico. O ácido nalidíxico e a 8-hidroxiquinolina comportam-se como ligantes desprotonados que se ligam ao íon cobre(II) de maneira bidentada ocupando as quatro posições na base da pirâmide, enquanto a posição axial é composta por uma ponte carboxilato do tipo *anti-anti* presente no ácido nalidíxico caracterizando uma unidade dinuclear. Esta característica estrutural é distinta das anteriormente propostas para complexos com quinolonas descritas na literatura. As propriedades magnéticas do composto também foram investigadas, e demonstraram que existe um acoplamento antiferromagnético entre os íons cobre(II) que formam a cadeia polimérica. Em solução, o composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ existe como uma espécie mononuclear neutra. Estudos sobre a ligação com o ADN foram realizados, e o composto demonstrou possuir interações com os sulcos do ADN. A atividade antitumoral do composto preparado foi analisada e o mesmo demonstrou uma apreciável inibição do crescimento de células humanas de leucemia mielóide crônica(K562) com valor de IC_{50} inferior aos dos ligantes livres. Em doses similares, o composto não alterou a viabilidade de células normais (linhagem celular HaCaT).

Palavras chave: ácido nalidíxico, 8-hidroxiquinolina, polímero de coordenação, atividade antitumoral.

Abstract

The neoplasia is a pathology that affects millions of people throughout the world. The design, preparation and studies of the pharmacology of metallic complexes have been widely explored for cancer treatment. Among the promising antineoplastic agents, the copper-containing compounds have been drawn attention. This work describes the synthesis, structural characterization, physical properties, spectroscopic studies, and antitumoral activity of a novel copper(II) complex with biological relevant ligands. The chosen ligands, 8-hydroxyquinoline and nalidixic acid, belong the quinoline class. The single-crystal X ray diffraction analysis demonstrated that the compound structure is a coordination polymer, $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$, that exhibits a square base pyramidal geometry for each metallic center. The nalidixic acid and 8-hydroxyquinoline behave as bidentate deprotonated ligands binding to copper(II) ion in equatorial positions, while the axial position is composed by an *anti-anti* carboxylate bridge from nalidixic acid. This structural feature is unique for compounds containing nalidixic acid. In solution, the prepared compound exists as a neutral mononuclear species. By DNA interaction studies the compound has demonstrated that could bind to DNA by groove binding mode. The antitumoral activity of the prepared compound has been investigated in human chronic myelogenous leukemia cell line (K562). The compound presented cytotoxic activity higher than those obtained for free ligands. At similar doses, the compound does not alter the viability of human keratinocytes (HaCaT cell line).

Keywords: nalidixic acid, 8-hydroxyquinoline, coordination polymer, antitumoral activity.

Abreviaturas

ADP = Adenosina difosfato

ADN = Ácido Desoxirribonucléico

ndx = Ácido Nalidíxico

8-hql = 8-hidroxiquinolina

DMSO = Dimetilsulfóxido

IC₅₀ = Concentração inibitória mínima

IV = Infravermelho

ERO = Espécies reativas com oxigênio

ECA = Enzima conversora da Angiotensina

FDA = Food and Drug Administration

RPE = Ressonância Paramagnética Eletrônica

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1.1: Estrutura química do Captopril e estrutura da metaloenzima ECA..... | 2 |
| Figura 1.2: Compostos arsênicos sintetizados por Paul Ehrlich. Acima as estruturas propostas por Erlich e abaixo as estruturas propostas por Lloyd e colaboradores. | 3 |
| Figura 1.3: Estrutura química do <i>cis</i> -diaminodicloroplatina(II), mais conhecido como cisplatina..... | 5 |
| Figura 1.4: Comportamento da Cisplatina após aplicação intravenosa..... | 7 |
| Figura 1.5: Estruturas químicas dos fármacos à base de platina com atividade antitumoral. | 8 |
| Figura 1.6: Estrutura química das antraciclina..... | 9 |
| Figura 1.7: Reação de Haber-Weiss. | 10 |
| Figura 1.8: Complexo de cobre(II) com N-propilnorfloxacino e 1,10-fenantrolina. | 11 |
| Figura 1.9: Estruturas químicas dos complexos mononucleares de cobre(II) com quinolonas | 12 |
| Figura 1.10: Compostos de cobre com derivados da 1,10-fenantrolina. | 12 |
| Figura 1.11: Relação estrutura atividade entre as quinolonas. | 14 |
| Figura 1.12: Quinolonas de 2ª geração e posteriores..... | 15 |
| Figura 6.1: Representação da estrutura cristalina do Cu(ndx)(8-hql) e de seus precursores livres no formato ORTEP fornecida pelo programa Mercury 3.1..... | 25 |
| Figura 6.2: Extensão do polímero de coordenação em zigue zague com direção de crescimento ao longo do eixo cristalográfico <i>a</i> | 26 |
| Figura 6.3: Análise térmica [curva TG (linha preta) e DTA (linha vermelha)] do composto [Cu(ndx)(8-hql)] _n realizada em atmosfera de ar sintético com taxa de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ | 30 |
| Figura 6.4: Espectros vibracionais dos compostos ligantes livres e do composto preparado. . | 32 |
| Figura 6.5: Espectros eletrônicos em solução tampão pH= 7,2 em DMSO a 0,5% na concentração de 1x10 ⁻⁵ mol/L dos ligantes 8-hql, ndx e Cu(ndx)(8-hql)..... | 34 |
| Figura 6.6: Espectro ESI(+)-MS em solução MeOH:H2O (1:1) do Cu(ndx)(8-hql). | 35 |
| Figura 6.7: Distribuição isotópica fragmento [Cu(ndx) (8-hql) Na] ⁺ (<i>m/z</i> = 461). Acima a distribuição isotópica teórica e abaixo a distribuição isotópica experimental..... | 36 |
| Figura 6.8: Distribuição isotópica do fragmento binuclear [[Cu(ndx)] (8-hql) ₂ Na] ⁺ . Acima a distribuição isotópica teórica e abaixo a distribuição isotópica experimental..... | 37 |
| Figura 6.9: Acoplamento antiferromagnético entre dois centros metálicos criado pela polarização de spin de um ligante em ponte..... | 39 |

| | |
|---|----|
| Figura 6.10: Dependência da temperatura pelo produto χT mensurado com campo de 500 Oe. Dados experimentais são descritos pela linha com círculos e o modelo teórico é descrito pela linha sólida..... | 40 |
| Figura 6.11: Campo dependente da magnetização a 3K. | 41 |
| Figura 6.12: Estrutura cristalina do composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ e demonstração da incompatibilidade dos orbitais na conformação <i>anti-anti</i> | 42 |
| Figura 6.13: Transições permitidas ($\Delta m_s = +1$, $\Delta m_l = 0$) dão origem a estrutura hiperfina no RPE..... | 43 |
| Figura 6.14: Espectro de RPE de cobre(II) em solução aquosa congelada, demonstra simetria axial, com acoplamento hiperfino com o Cu ($I = 3/2$, quatro linhas hiperfinas para o componente g_{\parallel})..... | 44 |
| Figura 6.15: Espectro de RPE da amostra em pó composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ medida em (a) 300 K, 9,443 GHz e (b) em função da temperatura, 9,315 (GHz) | 45 |
| Figura 6.16: Efeitos de quantidade crescente do $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ na viscosidade relativa de CT-ADN a 25°C em tampão a pH 7,2, $[\text{ADN}] = 0,1 \text{ mM}$ | 49 |
| Figura 6.17: Espectro de absorção na região de 330 nm. | 51 |

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 3.1 - Reagentes químicos utilizados no presente trabalho..... | 18 |
| Tabela 6.1 - Dados cristalográficos – $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ | 27 |
| Tabela 6.2 - Distâncias interatômicas entre e os íons cobre(II) e os átomos dos ligantes..... | 28 |
| Tabela 6.3 - Ângulos interatômicos entre e os íons cobre(II) e os átomos dos ligantes..... | 28 |
| Tabela 6.4 - Porcentagens elementares do composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ | 29 |
| Tabela 6.5 – Valores de condutividade molar do solvente DMSO e $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ | 29 |
| Tabela 6.6 - Principais bandas dos ligantes livre e do composto preparado | 33 |
| Tabela 6.7 - Valores de IC50 dos compostos estudados. | 47 |

Sumário

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Introdução | 1 |
| 1.1 | Química Medicinal..... | 1 |
| 1.1.1 | Química Inorgânica Medicinal..... | 2 |
| 1.1.2 | A Neoplasia e o Desenvolvimento de Fármacos Antitumorais | 4 |
| 1.1.3 | Compostos de Cobre com Atividade Antitumoral | 10 |
| 1.2 | Quinolonas | 13 |
| 2 | Objetivos..... | 17 |
| 2.1 | Objetivos Específicos..... | 17 |
| 3 | Materiais | 18 |
| 3.1 | Reagentes e Solventes | 18 |
| 4 | Instrumentos e Métodos..... | 19 |
| 4.1 | Análise Elementar – CHN..... | 19 |
| 4.2 | Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho | 19 |
| 4.3 | Análise Térmica | 19 |
| 4.4 | Análise Condutimétrica | 19 |
| 4.5 | Espectroscopia de Absorção Atômica..... | 20 |
| 4.6 | Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-visível | 20 |
| 4.7 | Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray - ESI..... | 20 |
| 4.8 | Medidas de Difração de Raios X por Monocristal..... | 20 |
| 4.9 | Determinação da Temperatura de Fusão/Decomposição..... | 20 |
| 4.10 | Medidas Magnéticas | 21 |
| 4.11 | Ressonância Paramagnética Eletrônica - RPE..... | 21 |
| 4.12 | Testes de Citotoxicidade | 21 |
| 5 | Procedimentos Experimentais..... | 23 |
| 5.1 | Síntese – [Cu(ndx)(8-hql)] _n | 23 |

| | | |
|--------|--|----|
| 6 | Resultados e Discussão | 24 |
| 6.1 | Caracterização Físico-química do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ | 24 |
| 6.1.1 | Medida de Difração de Raios X por Monocristal | 24 |
| 6.1.2 | Análises Elementar, Condutimétrica e Ponto de Decomposição | 29 |
| 6.1.3 | Análise Térmica | 30 |
| 6.1.4 | Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho..... | 31 |
| 6.1.5 | Espectroscopia de Absorção Eletrônica na Região do Ultravioleta-visível. | 34 |
| 6.1.6 | Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray ESI-MS | 35 |
| 6.1.7 | Propriedades Magnéticas | 37 |
| 6.1.8 | Ressonância Paramagnética Eletrônica..... | 42 |
| 6.1.9 | Ensaio de Atividade Antitumoral..... | 46 |
| 6.1.10 | Medida de Viscosidade do ADN..... | 48 |
| 6.1.11 | Titulação Espectrofotométrica de Absorção Eletrônica..... | 49 |
| 7 | Conclusões | 52 |
| | Referências Bibliográficas..... | 53 |

1 Introdução

1.1 Química Medicinal

A Química Medicinal é uma área de conhecimento que envolve aspectos da química inorgânica, orgânica, físico-química, química quântica, bioquímica e química biológica em conjunto com as ciências médicas, biológicas e farmacêuticas. Os principais enfoques são a descoberta, planejamento e preparo de compostos com atividade farmacológica bem como a investigação dos prováveis mecanismos de ação desses compostos (LULLMAN *et al.*, 2008).

A Química Medicinal é praticada desde os primórdios da civilização. No Egito Antigo foram desenvolvidos textos como o papiro Ebers, um dos mais antigos tratados médicos conhecidos, que prescrevia a utilização de produtos naturais para o tratamento de enfermidades. A primeira síntese realizada com compostos isolados de fontes naturais foi em 1897. O químico alemão Felix Hoffmann modificou a molécula de ácido salicílico por um mecanismo de acetilação, com isto conseguiu diminuir consideravelmente os efeitos colaterais do ácido salicílico, consolidando assim a síntese do ácido acetilsalicílico e seu uso como fármaco com propriedades analgésicas e antipiréticas (LULLMAN *et al.*, 2008).

Posteriormente, Hermann Emil Fischer realizou um importante estudo sobre a interação de fármacos com receptores ou alvos biológicos. Seu estudo é notoriamente conhecido como modelo chave-fechadura. Esse modelo contribuiu para que Fischer fosse laureado com o prêmio Nobel de química em 1902. Suas investigações foram fundamentais para a consolidação de umas das bases da Química Medicinal, o estudo da relação entre a estrutura química e atividade farmacológica dos compostos químicos (HEIKESTEIN e CORY, 1966).

As bases da Química Medicinal são essenciais para auxiliar na elucidação dos mecanismos de resistência adquirida de microrganismos e neoplasias frente aos medicamentos já empregados atualmente (WILLIAMS, 2007). Também são importantes para auxiliar no planejamento de fármacos mais eficazes.

1.1.1 Química Inorgânica Medicinal

A Química Inorgânica Medicinal se baseia na síntese de metalofármacos e o estudo de suas atividades biológicas, dentre estas pode-se citar atividades frente a doenças negligenciadas como, chagas e malária, além de serem eficazes contra diversos tipos de microorganismos e tumores. O planejamento de ligantes orgânicos também é uma área de estudo bastante relevante na Química Inorgânica Medicinal, seja para quelatar metais em casos de intoxicação ou na busca pela cura de algumas patologias (CUSHMAN *et al.*, 1997).

A Química Inorgânica Medicinal também engloba o planejamento de ligantes orgânicos para inibição de metaloenzimas, ou seja, são dirigidos para inibir um metal no centro ativo de uma metaloenzima. Neste quesito, pode-se citar o composto Captopril, um agente anti-hipertensivo, sendo o primeiro fármaco desenvolvido utilizando-se princípios mecanísticos. Na Figura 1.1 está representada a estrutura química do captopril. Este fármaco é um inibidor da enzima conversora da angiotensina (ECA), uma metaloenzima que possui um átomo de zinco em sua estrutura (LULLMANN *et al.*, 2008). A ECA inativa o vaso depressor bradicinina e ativa o vasoconstritor angiotensina II, sendo responsável pelo aumento da pressão arterial. O captopril foi desenvolvido para ter um domínio peptidomimético e um domínio mercaptano para quelatar seletivamente o zinco da ECA (CUSHMAN *et al.*, 1997).



Figura 1.1: Estrutura química do Captopril e estrutura da metaloenzima ECA.
Fonte: <http://www.rcsb.org/structure/1O8A>.

Em meados de 1908, o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina foi concedido ao bacteriologista alemão Paul Ehrlich juntamente com o russo Elie Metchnikoff (HEIKESTEIN e CORY, 1966). Ehrlich desenvolveu relevantes estudos relacionados à imunologia e realizou a síntese do medicamento organoarsênico denominado Salvarsan que foi muito importante para o tratamento de sífilis. O Salvarsan foi um medicamento desenvolvido à base de arsênio trivalente, sendo o primeiro fármaco à base de metais catalogado. O desenvolvimento do

Salvarsan ocorreu pelo estudo da interação de diversos compostos de arsênio com os agentes causadores da sífilis, as espiroquetas. Ehrlich decidiu testar o composto obtido na 606ª síntese em coelhos infectados com sífilis, sendo constatada uma grande eficácia na redução da infecção. Posteriormente, a molécula de 606-Salvarsan foi modificada a fim de aumentar sua solubilidade, tornando possível o seu uso por via oral, contudo sua eficácia diminuiu consideravelmente. Esse composto arsênico foi denominado 914-Neosalvarsan (HEIKESTEIN e CORY, 1966).

Recentemente, Lloyd e colaboradores (LLOYD *et al.*, 2005) constataram que as estruturas do Salvarsan e Neosalvarsan se tratavam de pentâmeros e trímeros, respectivamente. Este fato foi relatado a partir de análises de espectrometria de massas. Na Figura 1.2 estão esboçados os compostos arsênicos discutidos.

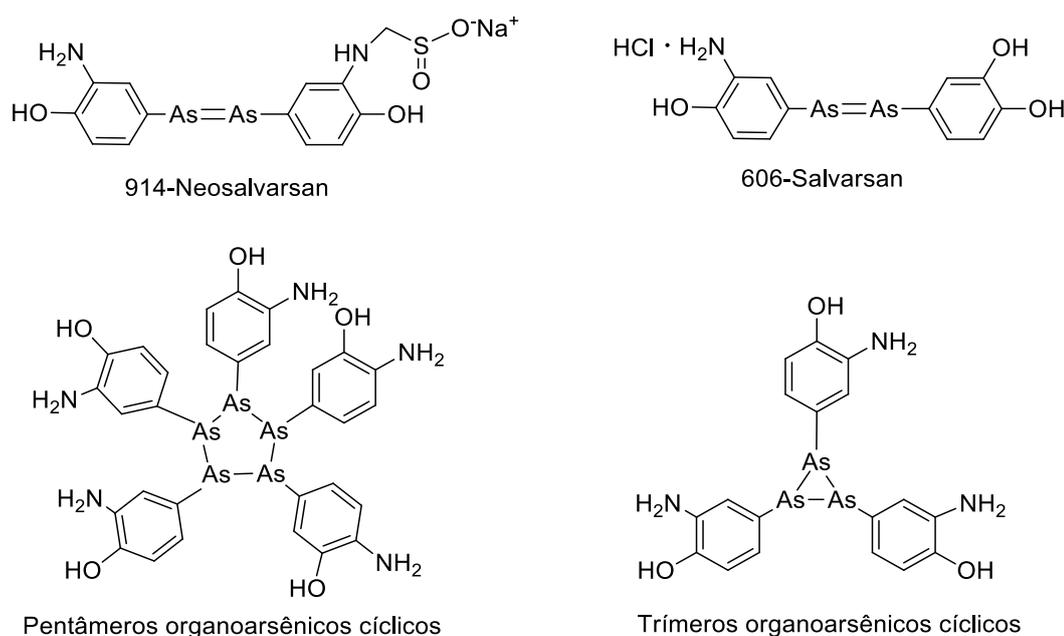


Figura 1.2: Compostos arsênicos sintetizados por Paul Ehrlich. Acima as estruturas propostas por Erlich e abaixo as estruturas propostas por Lloyd e colaboradores.

Paul Ehrlich, considerado o pai da quimioterapia, inspirou diversas pesquisas. A quimioterapia hoje é um ramo da medicina que tem salvado muitas vidas e aliviado o sofrimento dos enfermos (HEIKESTEIN e CORY, 1966).

1.1.2 A Neoplasia e o Desenvolvimento de Fármacos Antitumorais

A neoplasia é uma doença na qual as células se proliferam independentemente dos processos naturais do organismo. O tumor maligno é aquele cujo tecido tumoral invade de forma destrutiva o tecido saudável circunvizinho, visto que podem formar tumores secundários, denominados metástases. A cura exige a eliminação de todas as células malignas. Quando isso não é possível, são feitos esforços para reduzir o crescimento do tumor, e assim, prolongar a vida do paciente ou melhorar a sua qualidade de vida. (LULLMAN *et al.*, 2008).

A leucemia é um tipo de neoplasia do tecido hematopoiético, originário da medula óssea. Este tecido é responsável por suprir a necessidade constante de reposição e renovação das células mielóides e linfóides no organismo humano. De acordo com o grau de maturidade e a linhagem das células afetadas, a leucemia pode ser classificada como aguda ou crônica. A leucemia aguda se caracteriza pela proliferação de células imaturas na medula óssea, sangue periférico e outros órgãos. Se não for investigada, o óbito do paciente costuma ocorrer em um período de aproximadamente 6 meses após o diagnóstico. A leucemia crônica é configurada como a proliferação de células aparentemente maduras, diferentemente da leucemia aguda, esta enfermidade tem um curso lento, com um intervalo de 2 a 6 anos entre o diagnóstico e o surgimento da fase final da doença (FORD *et al.*, 1993).

A terapia da leucemia e outros tipos de neoplasias enfrenta o problema de que as células malignas são endógenas e carecem de propriedades metabólicas específicas, e assim acabam por desenvolver mecanismos de resistência aos medicamentos antitumorais. A resistência à quimioterapia é o maior obstáculo no tratamento de pacientes com câncer. Existe uma busca incessante por novos medicamentos que atuam no organismo de maneira distinta afim de modificar os mecanismos de interação dos fármacos com o organismo humano (JURANKA *et al.*, 1989).

Os estudos dos mecanismos de interação de fármacos com o ADN, tiveram seu ponto de partida depois durante a Segunda Guerra Mundial, observou-se que o uso do gás mostarda como armamento contra humanos causava alterações nos glóbulos brancos, vermelhos e plaquetas, devido a supressão mielóide e linfóide robusta. Neste período, os farmacologistas Alfred Gilman e Louis Goodman propuseram a síntese da mecloretamina. A mostarda nitrogenada causou um efeito antitumoral considerável em um paciente com linfoma não Hodgkin (STREBHARDT e ULLRICH, 2008).

Em 1953, a elucidação da estrutura dupla helicoidal do ácido desoxirribonucleico (ADN) por James Watson e Francis Crick, teve um impacto singular nas estratégias para o desenvolvimento de fármacos com ação antitumoral, o uso de análogos de bases nitrogenadas como a 5-fluoracila e 8-azaguanina interrompiam a replicação do ácido desoxirribonucleico. A descoberta de que a mostarda nitrogenada exerce seu efeito antitumoral por alquilação do ADN fez com que surgisse um desenvolvimento expressivo de fármacos tendo o ADN como alvo principal (STREBHARDT e ULLRICH, 2008).

Em 1965, o físico americano Barnett Rosenberg e colaboradores, realizaram um estudo da interação de um campo elétrico com soluções bacterianas de *E.coli*. Rosenberg observou que a divisão celular era inibida, e durante o processo, as células de *E.coli*, como não podiam se dividir, cresciam formando filamentos alongados. Iniciou-se então uma busca pelos possíveis agentes responsáveis pelo fenômeno, e as pesquisas mostraram que a platina do eletrodo se dissolvia no meio de cultura, que continha sais de amônio, para formar espécies complexas do metal. Levou-se em consideração a hipótese de formação do sal $(\text{NH}_4)_2[\text{PtCl}_6]$, que foi então sintetizado e testado nas mesmas condições da experiência inicial. Com as soluções pré preparadas, o fenômeno não se repetia, mas após alguns dias em repouso e expostas à luz, ao serem novamente testadas, as soluções causavam a filamentação das bactérias. Mais tarde mostrou-se que ocorria uma reação fotoquímica ocasionando a troca de Cl^- por NH_3 na esfera de coordenação da platina. O composto mais ativo foi o complexo *cis*-diaminodicloroplatina(II), sua estrutura química está representada na Figura 1.3.

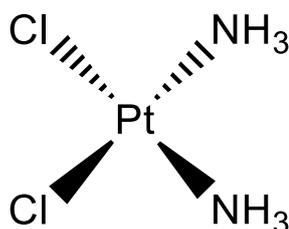


Figura 1.3: Estrutura química do *cis*-diaminodicloroplatina(II), mais conhecido como cisplatina.

Em 1968, Barnett Rosenberg cita: “O câncer testicular passou de uma doença que normalmente possuía uma letalidade de cerca de 80% dos pacientes, para uma que é próximo de 90% de cura. Este é provavelmente o desenvolvimento mais emocionante no tratamento de câncer que tínhamos nos últimos 20 anos. É agora a primeira escolha de tratamento nos cânceres de ovário, bexiga e osso” (ROSENBERG *et al.*, 1969).

A Cisplatina é um medicamento intravenoso com baixa solubilidade em água com acumulação hepática e renal no organismo humano. O mecanismo de ação da cisplatina é entendido primeiramente pela estabilidade do complexo na corrente sanguínea, onde existe uma alta concentração de íons cloreto o que corrobora para a cisplatina permaneça em sua forma neutra. A cisplatina penetra nas células por difusão passiva e ativa. Os complexos de platina possuem afinidades por proteínas responsáveis pelo transporte de cobre do meio extracelular para o meio intracelular, tais como as proteínas transportadoras de cobre de alta afinidade codificadas pelo gene CTR1, o qual se mostrou determinante na absorção e acumulação celular de complexos de platina, além do aparecimento de resistência (WANG e LIPPARD, 2005). Ainda que exerça sua atividade antitumoral através da coordenação na molécula de ADN, esse caminho é percorrido por apenas 1% das moléculas de cisplatina que perpassam a membrana celular, a coordenação ao ADN ocorre principalmente através dos átomos de nitrogênio de purinas, que não estão envolvidos em ligações de hidrogênio intermoleculares (WANG e LIPPARD, 2005).

Uma vez dentro das células, esse composto pode sofrer hidrólise. Existe um consenso de que ao penetrar no meio intracelular, a cisplatina sofre uma reação de troca de ligantes na qual os grupos cloreto, que são lábeis, são substituídos por moléculas de água. A concentração de íons cloreto no meio extracelular é da ordem de 100 mM enquanto que no meio intracelular ela é da ordem de 3-20 mM. Essa baixa concentração intracelular de íons cloreto, permite que ocorram hidrólises na cisplatina formando espécies que podem interagir covalentemente com o ADN como a espécie $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2]^{2+}$ como ilustrado na Figura 1.4 (GOMEZ-RUIZ *et al.*, 2012).

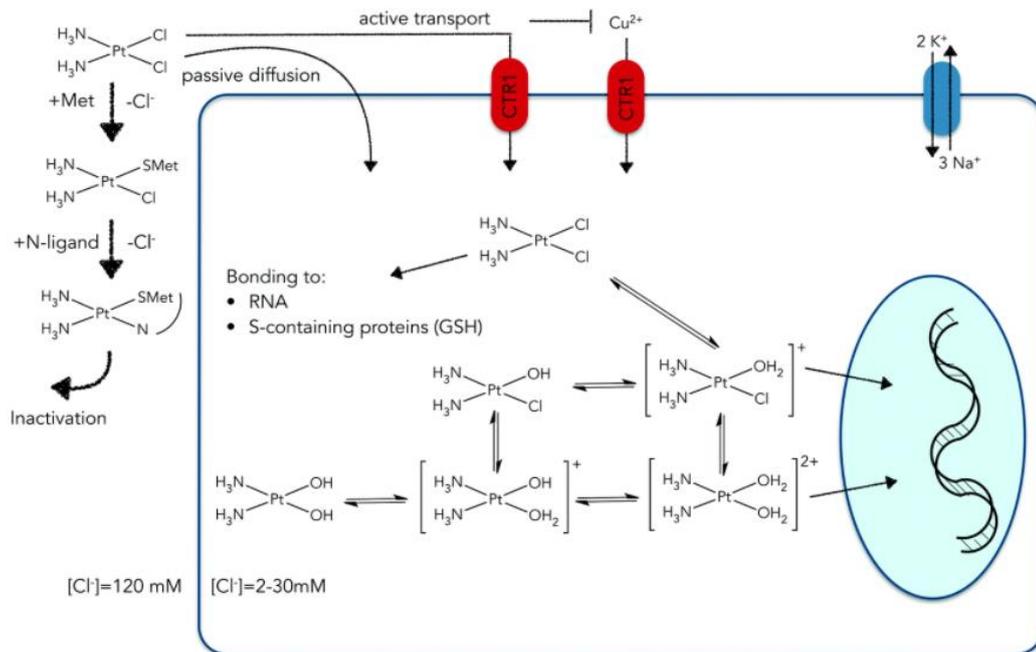


Figura 1.4: Comportamento da Cisplatina após aplicação intravenosa.
 Fonte: (HILDEBRANT *et al.*, 2016).

Na Figura 1.4 observa-se a interação no meio intracelular de complexos de platina com alguns tióis intracelulares como a metionina, essa interação faz com que a molécula de cisplatina fique indisponível para sofrer hidrólise e conseqüentemente a sua interação com as bases nitrogenadas do ADN fica incapacitada. A platina é considerada um ácido macio e portanto interage fortemente com bases macias como o caso do enxofre, que apresenta alta polarizabilidade e baixa eletronegatividade (GOMEZ-RUIZ *et al.*, 2012).

Devido ao aparecimento de resistência adquirida à cisplatina, sua alta toxidez e baixa solubilidade em meio aquoso, foram desenvolvidos uma série de compostos análogos à cisplatina visando reverter esses problemas. Na Figura 1.5 tem-se representados alguns fármacos à base de platina.

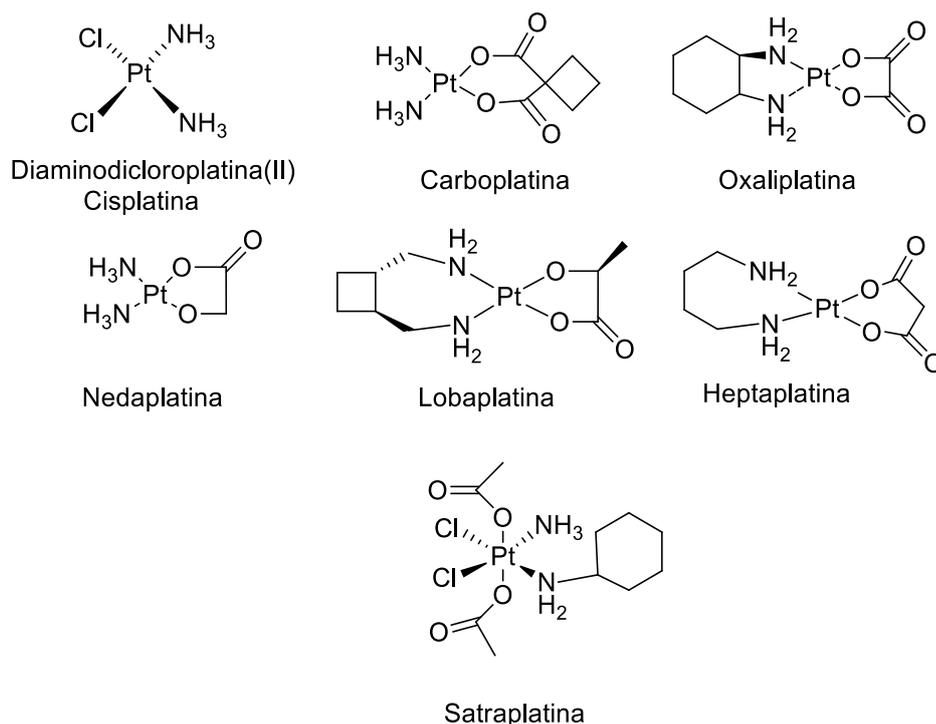


Figura 1.5: Estruturas químicas dos fármacos à base de platina com atividade antitumoral.
 Fonte: (MJOS *et al.*, 2011).

A carboplatina foi o segundo fármaco à base de platina a ser aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) em 1985. A carboplatina possui ligantes do tipo carboxilato que substituem os cloretos. Os carboxilatos conferem à carboplatina uma maior solubilidade em água em comparação à cisplatina. A carboplatina possui uma menor toxidez, no entanto mostra-se menos ativa contra alguns tipos de tumores como os de cabeça, bexiga e pescoço comparando-se com a cisplatina (PASSETO *et al.*, 2006).

A oxaliplatina se diferencia da cisplatina pela presença dos grupos abandonadores oxalato e diaminociclohexano. A oxaliplatina possui afinidade por adutos no ADN que são distintos aos adutos em que a cisplatina atua. Este fato faz com que as enzimas reparadoras de ADN não identifiquem a oxaliplatina fazendo com que este fármaco seja ativo contra linhagens de células resistentes à cisplatina (WHEAT *et al.*, 2010).

A Nedaplatina, Lobaplatina, Heptaplatina tem seu uso regulamentado apenas no Japão e na Coreia do Sul. A Satraplatina é um composto de platina(IV) que atua como um pró-fármaco, durante o metabolismo é reduzida à platina(II) que é o composto ativo. Atualmente a venda de compostos à base de platina correspondem a 6% do mercado total dos compostos anticâncer com lucros excedendo a 2 bilhões de dólares por ano (JAKUPEC *et al.*, 2008).

A cisplatina tem como principal modo de ação a capacidade de formar ligações covalentes com os átomos de nitrogênio das bases nitrogenadas do ADN, preferencialmente aos nitrogênios de duas guaninas adjacentes. A cisplatina também realiza outros tipos de ligação com o ADN, no entanto estas são mais facilmente reparáveis por mecanismos de regeneração de danos celulares (GOMEZ-RUIZ *et al.*, 2012).

Os compostos de platina que atualmente estão na clínica médica possuem algumas limitações, tais como atividade antitumoral apreciável em uma faixa limitada de tumores, aparecimento de resistência e efeitos colaterais indesejáveis (KELLAND *et al.*, 2007). Atualmente são estudados outros compostos à base de platina e também compostos com outros centros metálicos que possam eventualmente substituir a cisplatina e a carboplatina ou serem administrados simultaneamente (MJOS *et al.*, 2011).

Uma estratégia interessante para driblar os problemas encontrados com os compostos de platina é utilizar um ligante plano para que ocorra a intercalação do composto entre as bases nitrogenadas do ADN, ou seja, que atue por um mecanismo de ação distinto. As antraciclina são exemplos de fármacos que atuam por esse modo de ação. Na Figura 1.6 estão a Doxorubicina e Daunomicina que são denominados agentes intercalantes (MJOS *et al.*, 2011).

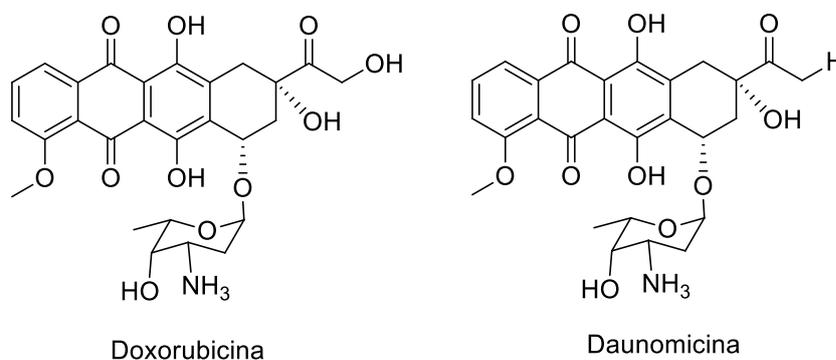


Figura 1.6: Estrutura química das antraciclina.

Fonte: (NETO e LAPIS, 2009).

A vetorização de compostos antitumorais também demonstra ser uma maneira eficaz no combate a algumas neoplasias e redução de efeitos colaterais. Esta vetorização dá-se pela presença de um agrupamento químico que se liga apenas no tumor de interesse evitando danos no restante do organismo. Um exemplo é o composto derivado da terpiridina com um estrógeno substituído, isto faz com que os receptores de estrógeno reconheçam o composto e vetorizem o fármaco até os tumores que necessitam de estrógeno para sua proliferação, como no caso do

tumor mamário. Existem também compostos de platina com bis-fosfonatos que são vetorizados até a hidroxiapatita, ou seja, ao tecido ósseo (SANCHEZ-CANO *et al.*, 2009).

1.1.3 Compostos de Cobre com Atividade Antitumoral

Para contornar os problemas relacionados à resistência que os tumores desenvolvem em relação aos compostos de platina. O preparo e os estudos de atividade farmacológica têm sido vastamente explorados para compostos contendo centros metálicos distintos da platina. Entre os compostos mais promissores como antineoplásicos estão os complexos contendo cobre como centro metálico. Os compostos de cobre também têm chamado a atenção dos pesquisadores como potenciais agentes antitumorais devido à capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio *in situ* o que causa a clivagem da fita de ADN e impede a replicação celular desordenada.

O cobre é um componente fundamental de muitas metaloenzimas. As metaloenzimas de cobre desempenham papel essencial em inúmeros processos bioquímicos, incluindo reações de oxirredução. Exemplos de metaloenzimas de cobre são: citocromo c oxidase, tirosinase e superóxido dismutase Zn-Cu (MASOUKA *et al.*, 1993).

As espécies reativas de oxigênio (ERO) são produzidas durante funções metabólicas normais, ou podem ser formadas por fatores externos como radiações ionizantes ou ação de íons metálicos ativos (CADENAS *et al.*, 2000). Um dos mecanismos que gera as espécies reativas de oxigênio pode ser representado pela reação de Haber-Weiss na Figura 1.7, que converte peróxido de hidrogênio ao radical hidroxil mais tóxico. Nos organismos vivos as reações redox de Fe^{2+}/Fe^{3+} e Cu^+/Cu^{2+} são as principais responsáveis pela formação das ERO (TOYOKUNI, 1996).

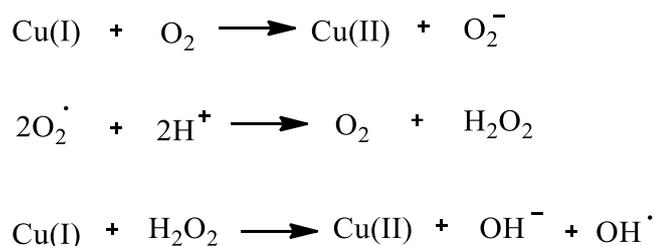


Figura 1.7: Reação de Haber-Weiss.
Fonte: (SIGMAN *et al.*, 1979).

O dano ao ADN induzido pelas ERO requer ativação de mecanismos de reparo para a sobrevivência celular. A adenosina difosfato (ADP) ribose e polímeros são sintetizados em resposta ao dano do ADN pela enzima Polimerase-1. A indução de carcinogênese é uma das consequências associadas a um ambiente pró oxidante dentro das células e sugere também que a progressão tumoral pode ser amparada por este mecanismo. Em contrapartida, o estresse oxidativo pode se revelar útil no tratamento de neoplasias, uma vez que a produção de ERO pode ser bem menos tolerável ao sensível equilíbrio redox das células tumorais com respeito às normais.

Em diversos casos, complexos de cobre(II) com fármacos que possuem átomos de nitrogênio mostraram atividade superior aos fármacos isolados. Um exemplo é o complexo de cobre(II) com o antibacteriano quinolônico N-propilnorfloxacino e 1,10-fenantrolina, este possui uma atividade antibacteriana aumentada em relação ao seu precursor livre. Sua estrutura química esta demonstrada na Figura 1.8 (KATSAROU *et al.*, 2008).

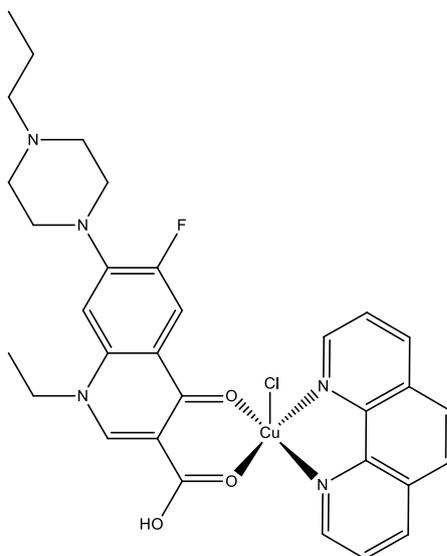


Figura 1.8: Complexo de cobre(II) com N-propilnorfloxacino e 1,10-fenantrolina.
Fonte: (KATSAROU *et al.*, 2008).

Os complexos de cobre(II) com medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais e outros ligantes doadores de nitrogênio como a bipyridina e a 1,10-fenantrolina, possuem atividade farmacológica superior aos seus precursores. Complexos mononucleares de cobre(II) com flumequina em combinação com bipyridina, cinoxacino e esparfloxacino foram relatados na literatura, as estruturas químicas dos respectivos complexos estão demonstrados na Figura 1.9 (CHALKIDOU *et al.*, 2012).

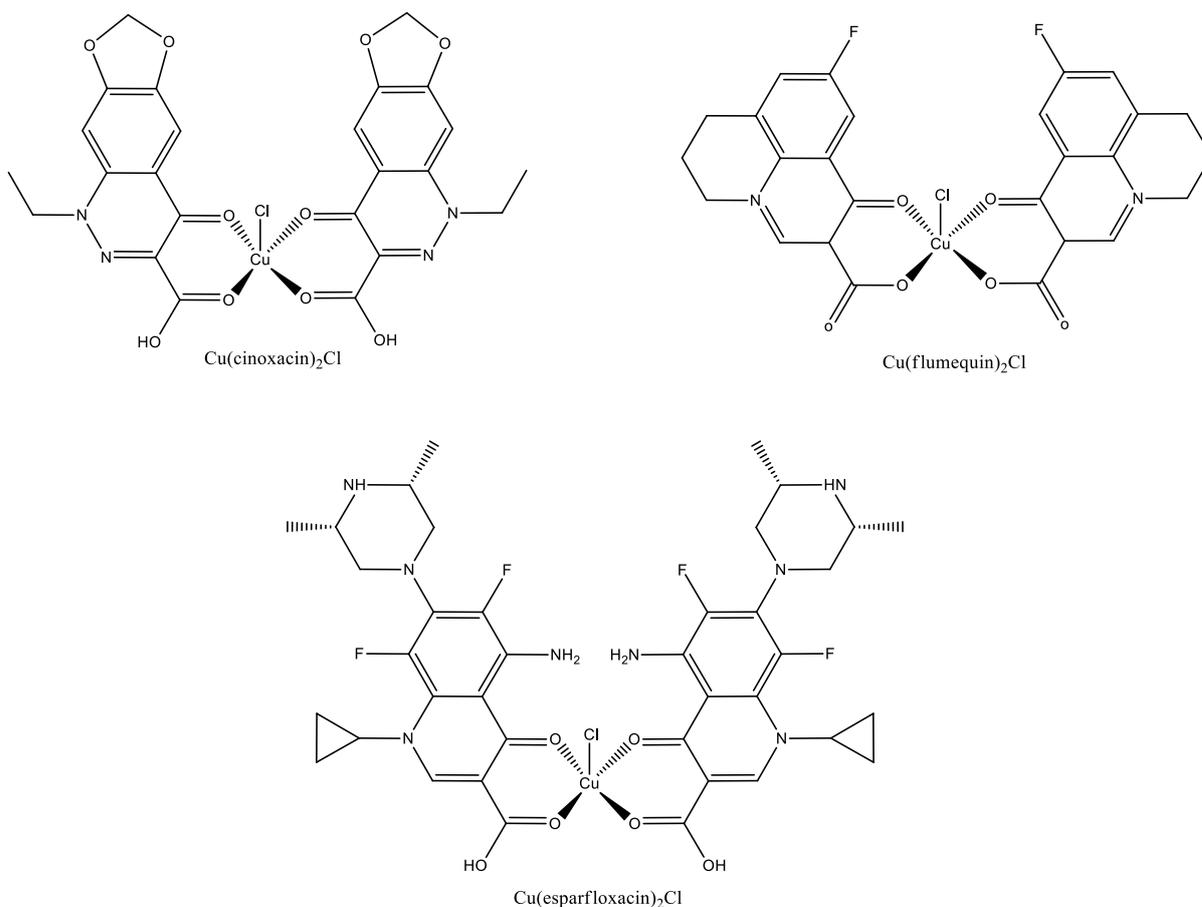


Figura 1.9: Estruturas químicas dos complexos mononucleares de cobre(II) com quinolonas

No que diz respeito aos compostos de cobre, foi relatado que o complexo bis-(1,10-fenantrolina)cobre(I), $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$, onde phen corresponde a 1,10-fenantrolina, (Figura 1.10), é capaz de induzir a produção de ERO com atividade *in vitro* em termos de degradação de ADN. O mecanismo de ação deste composto deriva da intercalação dos grupos planares da 1,10-fenantrolina com o ADN e a geração *in situ* de radicais hidroxil mediados pela presença de cobre(II) (SIGMA *et al.*, 1993).

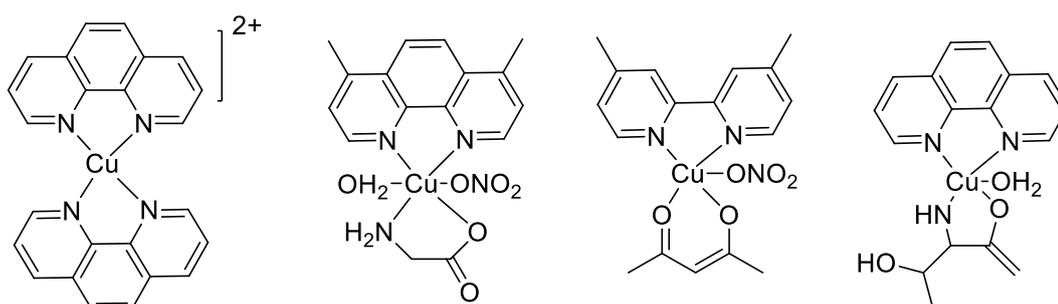


Figura 1.10: Compostos de cobre com derivados da 1,10-fenantrolina.

Fonte: (TARDITO e MARCHIO, 2009).

A utilização de compostos de cobre na terapia de neoplasias e quadros infecciosos gerados por bactérias pode ser uma estratégia pertinente para superar os mecanismos de resistência destas patologias (HAEILI *et al.*, 2014).

1.2 Quinolonas

A estratégia para preparo de compostos biologicamente ativos consiste em coordenar fármacos orgânicos a metais, visando aliar as atividades farmacológicas de ambos (MJOS e ORVIG, 2014). As combinações de fármacos com íons metálicos, provaram ser uma abordagem interessante para desenvolver novos medicamentos devido a algumas considerações importantes: pode superar a resistência a medicamentos; tem possibilidade de ampliar o espectro de ação de determinado fármaco; pode diminuir as doses necessárias, reduzindo os efeitos colaterais tóxicos, entre outros efeitos (MJOS e ORVIG, 2014). Entre as moléculas bioativas que podem ser aliadas a metais encontram-se as quinolonas.

Diferentemente de outros antibióticos obtidos a partir de fontes naturais, o primeiro composto químico da classe das quinolonas foi sintetizado por Lesher em 1962 (ROSALEEN *et al.*, 2012). Lescher e colaboradores descobriram acidentalmente o ácido nalidíxico como subproduto da síntese da cloroquina, este evento acarretou em novas sínteses de diversos compostos quinolônicos com amplo espectro em termos de atividade biológica.

A descoberta realizada por Lescher levou a estudos relacionados à estrutura e atividade biológica destes compostos a partir de modificações realizadas no anel quinolônico do ácido nalidíxico. Estas modificações visavam aumentar o espectro de atividade antibacteriana, e melhorar as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas das quinolonas (ANDRIOLE, 2005).

Na Figura 1.11 estão esboçados os sítios de substituição no anel quinolônico, diferentes grupos podem ser incorporados a estes sítios acarretando em atividades farmacológicas distintas (SOUZA *et al.*, 2004).

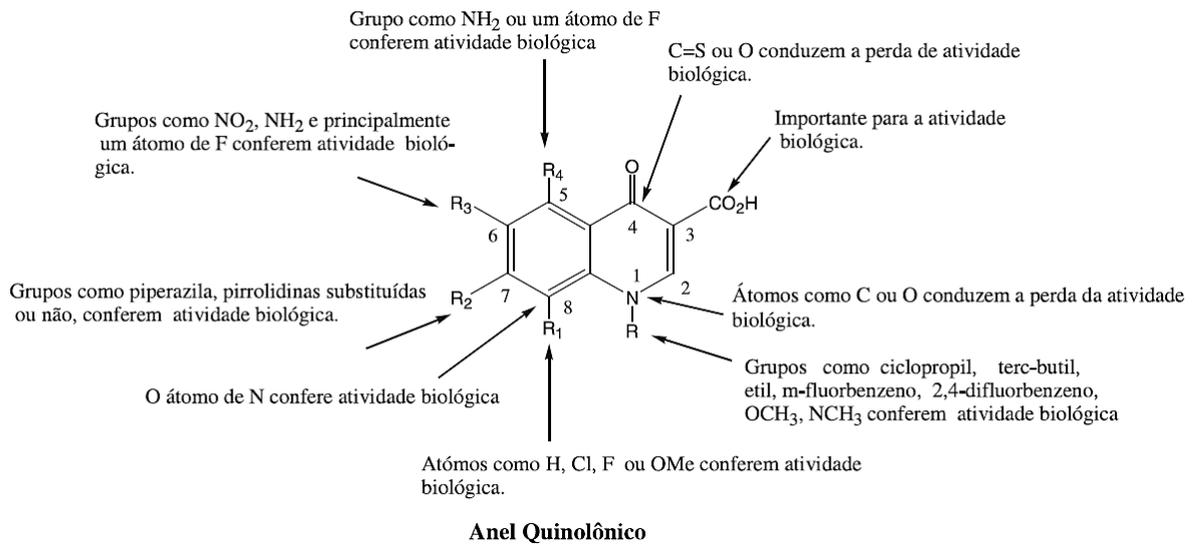


Figura 1.11: Relação estrutura atividade entre as quinolonas.
 Fonte: (SOUZA *et al.*, 2004).

Na Figura 1.12 são mostradas as estruturas das quinolonas de segunda geração e posteriores. Estes compostos contém o anel quinolônico com um flúor na posição 6 e uma amina cíclica na posição 7.

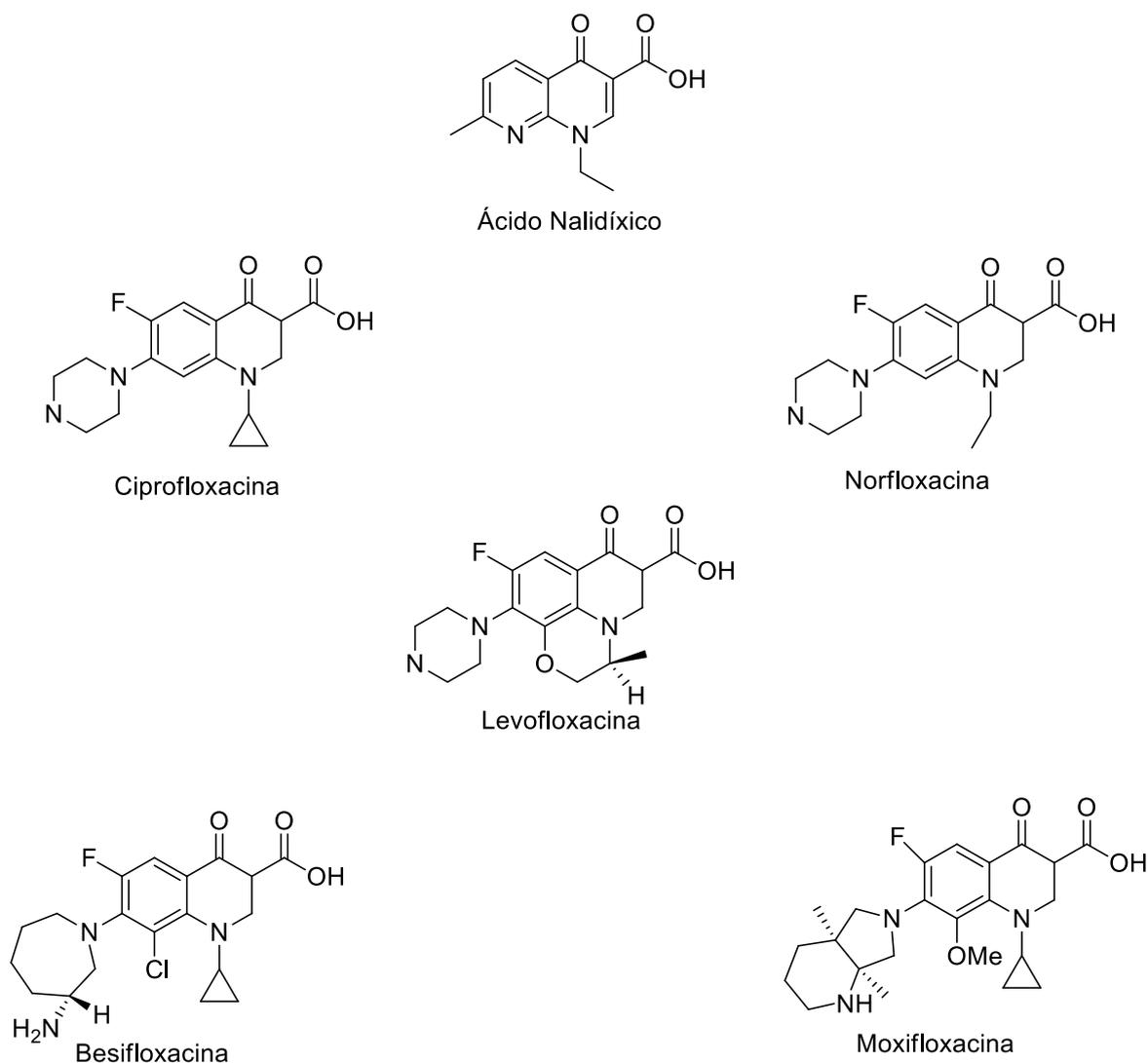


Figura 1.12: Quinolonas de 2ª geração e posteriores.

Fonte: (ROSALEEN *et al.*, 2012).

As fluoroquinolonas são análogos fluorados sintéticos do ácido nalidíxico, estas foram originalmente desenvolvidas em virtude de sua excelente atividade contra bactérias aeróbias Gram negativas. No entanto, apresentam atividade limitada contra microrganismos Gram positivos. A interação destes compostos com microrganismos é importante na classificação das fluoroquinolonas (ROSALEEN *et al.*, 2012).

A inserção de um átomo de flúor na posição C6 do anel quinolônico propiciou um aumento em cerca de 1000 vezes na atividade desses compostos frente a bactérias Gram negativas (ROSALEEN *et al.*, 2012).

O ácido nalidíxico foi introduzido na clínica médica em 1964, particularmente para a terapia de infecções urinárias provocadas por bactérias do tipo Gram negativas. As quinolonas bloqueiam a síntese de ADN bacteriano ao inibir a topoisomerase II (ADN girase) e a

topoisomerase IV das bactérias. A inibição da ADN girase impede o relaxamento do ADN superespiralado positivo, que é necessário para transcrição e replicação normais. A inibição da topoisomerase IV interfere na separação do ADN cromossômico nas células filhas durante a divisão celular (ROSALEEN *et al.*, 2012).

A natureza da amina cíclica, juntamente com a introdução de outros substituintes, influencia no espectro antibacteriano, bem como as propriedades físico-químicas e farmacocinéticas destes antibacterianos sintéticos. Os anéis de cinco e seis membros conferem maior atividade contra espécies Gram negativas (ROSALEEN *et al.*, 2012).

Diversas investigações sobre a biodisponibilidade das quinolonas foram realizadas, sendo que grande parte destes trabalhos foram focados na ciprofloxacina, um medicamento de enorme eficácia que se popularizou rapidamente. A estrutura geral das quinolonas possui grupos ionizáveis que podem afetar a biodisponibilidade destes compostos. O ácido carboxílico presente na posição 3, estando na forma de carboxilato, carregado negativamente, e o grupo amino ionizável na posição 7 permitindo que as quinolonas sejam amplamente ionizadas em todos os compartimentos fisiológicos. Apesar da predominância de espécies que são ionizadas no trato gastrointestinal, as quinolonas são bem absorvidas após a administração oral, com boa biodisponibilidade geral, no caso da ciprofloxacina 70% e levofloxacina 99% (BLONDEAU *et al.*, 1992).

As quinolonas de quarta geração são significativamente mais lipofílicas e, portanto, melhor absorvidas. Este fato pode ser entendido pela presença de grupos apolares na estrutura química que conferem menor solubilidade em água (PERLETTI *et al.*, 2009).

A absorção das quinolonas é conhecida por ser reduzida na presença de metais divalentes e trivalentes como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} e Fe^{3+} . Os grupos carbonil e carboxil das quinolonas funcionam como sítios de coordenação que acabam por quelatar os metais, fazendo com que sua biodisponibilidade diminua com a coadministração com produtos ricos em cátions metálicos, como preparações de antiácido e suplementos de ferro (ROSALEEN *et al.*, 2012).

2 Objetivos

O objetivo deste trabalho é sintetizar e caracterizar um composto inédito a partir da combinação do íon cobre(II) com ligantes que possuem atividade biológica.

2.1 Objetivos Específicos

Especificamente, pretende-se:

- 1- Sintetizar e caracterizar físico-quimicamente um novo composto de coordenação de cobre(II) com 8-hidroxiquinolina e ácido nalidíxico.
- 2- Estudar o efeito citotóxico do $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ em células tumorais.
- 3- Estudar a interação do $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ com a molécula de ADN.
- 4- Estudar as propriedades magnéticas do $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$.
- 5- Estudar as propriedades eletrônicas do $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$.

3 Materiais

3.1 Reagentes e Solventes

Os reagentes utilizados no presente trabalho não passaram por processos de purificação prévia. A Tabela 3.1 apresenta a relação dos solventes e reagentes utilizados nesse trabalho.

Tabela 3.1 - Reagentes químicos utilizados no presente trabalho.

| Nome do reagente ou solvente | Fórmula Química (MM) | Marca |
|---------------------------------------|----------------------------|---------------|
| Ácido nalidíxico | $C_{12}H_{12}N_2O_3$ | Sigma Aldrich |
| Dimetilsulfóxido | C_2H_6OS | Synth |
| 8-hidroxiquinolina | C_9H_7NO | Merck |
| Metanol | C_3OH | Neon |
| Nitrato de gálio(III) | $Ga(NO_3)_3$ | Sigma Aldrich |
| Álcool isopropílico | C_3H_8O | Merck |
| Perclorato de cobre(II) hexahidratado | $Cu(ClO_4)_2 \cdot 6 H_2O$ | Sigma Aldrich |
| Hidróxido de sódio | $NaOH$ | Qhemis |

4 Instrumentos e Métodos

4.1 Análise Elementar – CHN

As análises elementares de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas no Departamento de Química da UFMG. Os teores desses elementos no composto preparado foi realizada no equipamento Perkin Elmer - modelo 2400.

4.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos na região de 4000 a 400 cm^{-1} em um Espectrômetro IR Prestige 21 Shimadzu com ATR no CEFET (*Campus VI*). Os espectros foram obtidos a temperatura ambiente.

4.3 Análise Térmica

As medidas de variação de massa da amostra em função da temperatura foram realizadas utilizando uma termobalança Shimadzu DTG-60H presente no CEFET (*Campus VI*). As análises foram realizadas utilizando-se um fluxo de 50 mLmin^{-1} de ar sintético, numa razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$ na faixa de temperatura de 29°C a 900°C .

4.4 Análise Condutimétrica

A condutividade molar do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ foi obtida com o auxílio de um condutivímetro da marca Digimed usando uma constante de célula de $1,28 \text{ cm}^{-1}$. Foram feitas soluções de 10^{-3} mol/L do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ em DMSO ($\Lambda_M = 1,28 \mu\text{S/cm}$). As análises foram realizadas após a calibração do equipamento com solução de padrão condutimétrico da Digimed a temperatura ambiente.

4.5 Espectroscopia de Absorção Atômica

O teor de cobre foi determinado com o auxílio do espectrofotômetro de absorção atômica Hitachi - modelo Z8200 no Departamento de Química da UFMG.

4.6 Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-visível

Os espectros eletrônicos foram registrados em um espectrofotômetro Varian Cary 50 no CEFET nas instalações do *Campus* I. As análises foram realizadas em cubetas de quartzo com 10 milímetros de caminho óptico.

4.7 Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray - ESI

O espectro de massa foi registrado no equipamento Thermo Scientific LCQ Fleet na UFMG no modo positivo a 275 °C a partir de uma solução de MeOH:H₂O (9:1) do [Cu(ndx)(8-hql)]_n que foi continuamente bombeada por uma seringa (Hamilton 500 µL). O procedimento foi realizado em colaboração com o professor Ildelfonso Binatti do Departamento de Química do CEFET.

4.8 Medidas de Difração de Raios X por Monocristal

A determinação da estrutura cristalina descrita neste trabalho foi realizada em colaboração com o professor Willian Xerxes Coelho Oliveira, do Departamento de Química da UFMG. Nas medidas por difração de raios X utilizou-se um difratômetro Oxford Diffraction GEMINI-Ultra, situado no Laboratório de Cristalografia (LabCri) do Departamento de Física da UFMG.

4.9 Determinação da Temperatura de Fusão/Decomposição

A temperatura de fusão/decomposição do [Cu(ndx)(8-hql)]_n foi determinada em um aparelho de ponto de fusão modelo PFIII Digital Marte Científica.

4.10 Medidas Magnéticas

A determinação das propriedades magnéticas descritas neste trabalho foi realizada em colaboração com o professor Emerson Fernandes Pedroso do Departamento de Química do CEFET nas instalações do Departamento de Química da UFMG. Nas medidas utilizou-se um magnetômetro com sensor SQUID modelo S700 da Criogenic.

4.11 Ressonância Paramagnética Eletrônica - RPE

O espectrofotômetro de RPE utilizado foi Miniscope MS400 da Magnatech operando na frequência de banda-X (9,44 GHz). Essa análise foi realizada no Laboratório de Ressonância Paramagnética da UFMG no Departamento de Física em colaboração com o professor Klaus Wilhelm Heinrich Krambrock.

4.12 Testes de Citotoxicidade

Os ensaios biológicos foram realizados em colaboração com as professoras Elene Cristina Pereira Maia, Ívina Paula de Souza e Lídia Maria de Andrade no Departamento de Química na UFMG.

A linhagem celular foi adquirida do Banco Celular do Rio de Janeiro (número CR083 da coleção RJCB). Esta linhagem celular foi estabelecida a partir do fluido acumulado entre os pulmões e o tórax de uma paciente do sexo feminino de 53 anos de idade com leucemia mielóide crônica em uma crise de explosão. As células foram cultivadas em meio RPMI 1640 da marca (Sigma Chemical Co.) suplementado com 10% de soro fetal de vitelo da marca Cultilab a 37°C numa atmosfera umidificada a 5% de CO₂. As culturas crescem exponencialmente de 10⁵ células/mL em três dias. A viabilidade celular foi verificada pelo teste de exclusão com azul de Tripán. O número de células foi determinado pela análise do contador Coulter.

Para a avaliação da toxicidade, 1x10⁵ células/mL foram cultivadas durante 72 horas na ausência e na presença de uma gama de concentrações do Cu(ndx)(8-hql). A sensibilidade ao composto preparado foi avaliada pela concentração que inibe o crescimento celular em 50%,

IC₅₀. Os valores são a média das determinações em triplicata. As soluções de reserva foram preparadas em meio aquoso.

Os testes de viabilidade em células normais foram realizados em uma linhagem celular de queratinócitos humanos, HaCaT, que foi adquirida na Cell Lines Service (CLS, Alemanha). Para todas as experiências, as células foram cultivadas a 37 °C numa atmosfera de CO₂ a 5% humidificada, em meio DMEM-Hans F12 (LGC, Brasil), suplementado com 5% de soro bovino fetal (LGC, Brasil), 50 unidades mL⁻¹ de penicilina, 50 g mL⁻¹ de estreptomicina, todos da Gibco (Grand Island, NY). Antes do tratamento, 5 × 10⁴ células por poço foram plaqueadas numa placa de 24 poços. Vinte e quatro horas depois, as células foram tratadas com o composto preparado no intervalo de concentração de 1,5 a 10,0 μM. Após 72h após o tratamento, o meio foi removido, as células foram lavadas com PBS, descoladas usando tripsina e ressuspendidas em 1mL de meio de cultura. A viabilidade celular foi verificada pela exclusão de Trypan Blue.

5 Procedimentos Experimentais

5.1 Síntese – [Cu(ndx)(8-hql)]_n

O composto [Cu(ndx)(8-hql)]_n foi preparado vertendo-se lentamente 5 mL de uma solução metanólica de Cu(ClO₄)₂·6 H₂O (0,185 g, 0,5 mmol) em 20 mL de uma solução metanólica de ácido nalidíxico (0,116 g, 0,5 mmol) na qual havia sido previamente adicionadas 5 gotas de solução de hidróxido de sódio 5 mol/L. Posteriormente, foram adicionados à mistura resultante 5 mL de solução metanólica de 8-hidroxiquinolina (0,5 mmol, 0,072 g). O sistema foi mantido em agitação por 1 hora e então reservado. Após 5 dias observou-se a formação de cristais de coloração verde escuro que foram separados por filtração simples. Rendimento: 79%.

[Cu(ndx)(8-hql)]_n (1): Rendimento 79%. Cor: verde escuro. *M.p.* = 274 °C (decomposição). Valores calculados para [Cu(C₁₂H₁₁N₂O₃)(C₉H₆NO)] (438,92 g mol⁻¹): C, 57,46; H, 3,90; N, 9,57; Cu, 14,48; encontrado: C, 58,24; H, 3,68; N, 9,62; Cu, 14,38. $\Delta M = 2,3 \mu S \text{ cm}^{-1}$ em DMSO (não eletrólito). FTIR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 1637 $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{carboxilato}}$; 1612 $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{piridona}}$; 1559 $\nu(\text{C}=\text{N})_{8\text{-hq}}$; 523 $\nu(\text{Cu}-\text{O})$; 440 $\nu(\text{Cu}-\text{N})$. UV-vis (DMSO:H₂O) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$, (ϵ , 10³ M⁻¹ cm⁻¹): 254 (73,4), 334 (16,7), 667 (0,08). ESI-MS (MeOH:H₂O) sinal mais intenso em m/z 461 {[Cu(ndx)(8-hql)]Na}⁺. EPR: $g_{\parallel} = 2,04(2)$, $g_{\perp} = 2,38(2)$, $A_{\parallel}/h = 780(20)$ MHz, $A_{\perp}/h = 480(20)$ MHz, $\Delta B_{PP} = 200(20)$ G.

6 Resultados e Discussão

6.1 Caracterização Físico-química do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$

Para a caracterização do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$, foram realizadas medida de difração de raios X por monocristal, análise elementar, medidas de condutividade, medida da temperatura de fusão, espectroscopia vibracional e eletrônica, espectrometria de massas, estudo das propriedades magnéticas e ressonância paramagnética eletrônica.

6.1.1 Medida de Difração de Raios X por Monocristal

As técnicas de difração, particularmente as que usam raios X, são um dos métodos mais relevantes para a determinação estrutural de compostos. O método permite a determinação aproximada das posições dos átomos e íons que constituem um composto iônico ou molecular, e, assim, permite a descrição das estruturas em termos de detalhes tais como comprimento de ligação, ângulos e posições relativas de íons e moléculas numa célula unitária. Os dados estruturais obtidos são interpretados em termos de raios atômicos e iônicos, permitindo prever estruturas e explicar tendências em muitas propriedades (ATKINS *et al.*, 2008).

A análise dos dados de difração obtidos em monocristais é o método mais importante para a determinação das estruturas de sólidos inorgânicos. Se o cristal de um composto pode ser crescido com tamanho e qualidade suficientes, os dados fornecem informações definitivas sobre a molécula ou a estrutura da rede estendida (ATKINS *et al.*, 2008).

As medidas por difração de raios X por monocristal revelaram que o composto preparado é um polímero de coordenação que cristaliza em um sistema triclinico, com grupo espacial $P\bar{1}$. A estrutura molecular do composto está ilustrada na Figura 6.1. Pode-se notar que existem dois centros de cobre(II) independentes conectados por ponte *anti-anti* pelo grupo carboxilato.

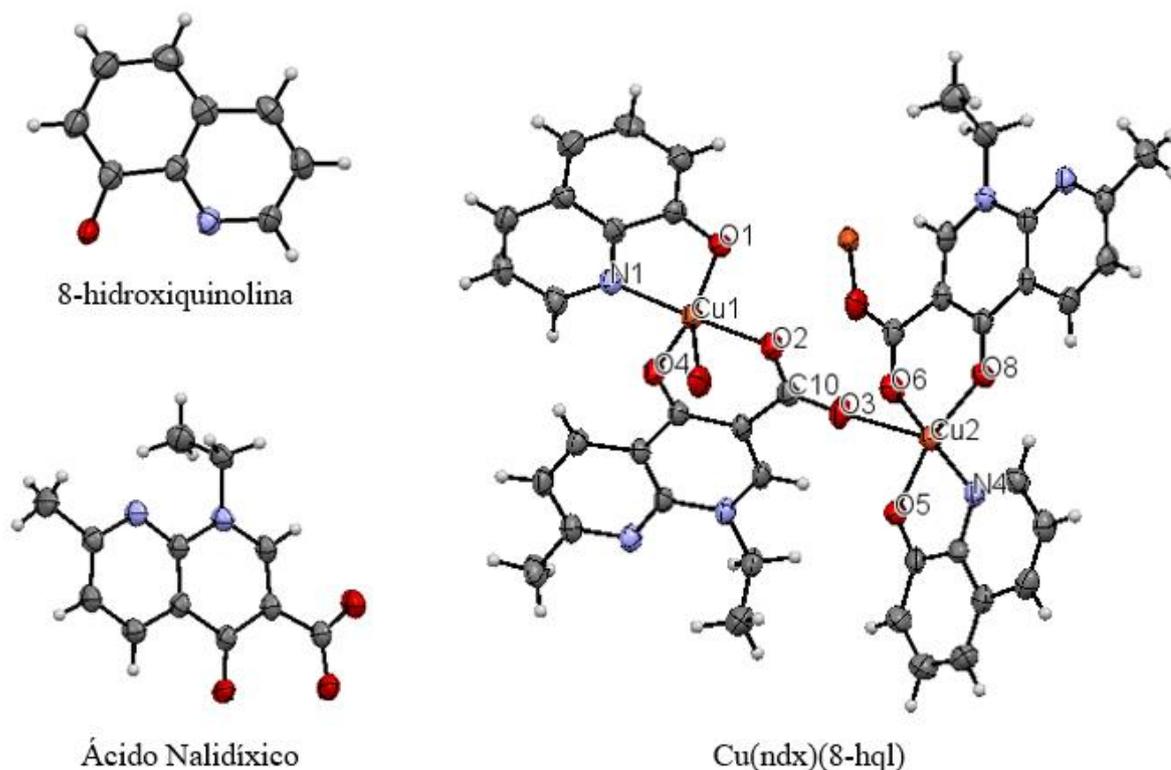


Figura 6.1: Representação da estrutura cristalina do $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ e de seus precursores livres no formato ORTEP fornecida pelo programa Mercury 3.1.

As quatro posições basais são ocupadas pelos ligantes aniônicos bidentados 8-hidroxiquinolinato e nalidixilato que formam com o átomo de cobre, respectivamente, anéis de cinco e seis membros. A 8-hql é coordenada ao átomo de cobre (Cu1) por meio do oxigênio fenolato (O1) e do nitrogênio piridínico (N1), enquanto o ndx se liga ao íon metálico (Cu1) via um átomo de oxigênio carboxilato (O2) e um oxigênio (O4) do grupo carbonílico. Os comprimentos de ligação basal não são muito regulares variando entre $1,914 \text{ \AA}$ [Cu1-O4] a $1,991 \text{ \AA}$ [$\text{Cu1} - \text{N1}$], para Cu2 variam entre $1,913$ a $2,002 \text{ \AA}$. O ânion nalidixilato atua como um ligante bidentado relativo ao átomo de Cu1 , coordenando via O2 e O4 um conjunto de átomos como uma ponte até o átomo Cu2 adjacente ao oxigênio carboxilato O3 , resultando em um modo de ligação do tipo tridentado.

O comprimento da ligação apical é maior que os comprimentos basais, sendo $2,541 \text{ \AA}$ para Cu1-O7ii e $2,520 \text{ \AA}$ para ligações Cu2-O3 , o que é esperado de acordo com o efeito Jahn Teller. Os complexos d^9 de cobre(II) costumam se desviar consideravelmente da geometria octaédrica perfeita, apresentando distorções tetragonais. Se a configuração eletrônica fundamental de um complexo não linear é orbitalmente degenerada e assimetricamente preenchida, o complexo sofrerá distorção, removendo a degenerescência e alcançando um

estado de energia menor. A distorção tetragonal de um octaedro regular corresponde a uma extensão ao longo do eixo z e uma compressão dos eixos x e y , levando à redução da energia do orbital $e_g(d_{z^2})$ e ao aumento da energia do orbital $e_g(d_{x^2-y^2})$ (ATKINS *et al.*, 2008).

A unidade mínima de estrutura polimérica está demonstrada na Figura 6.2. Nenhuma molécula de solvente de cristalização foi incorporada à estrutura cristalina do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$. A extensão do polímero de coordenação possui crescimento na direção do eixo cristalográfico a em zigue zague.

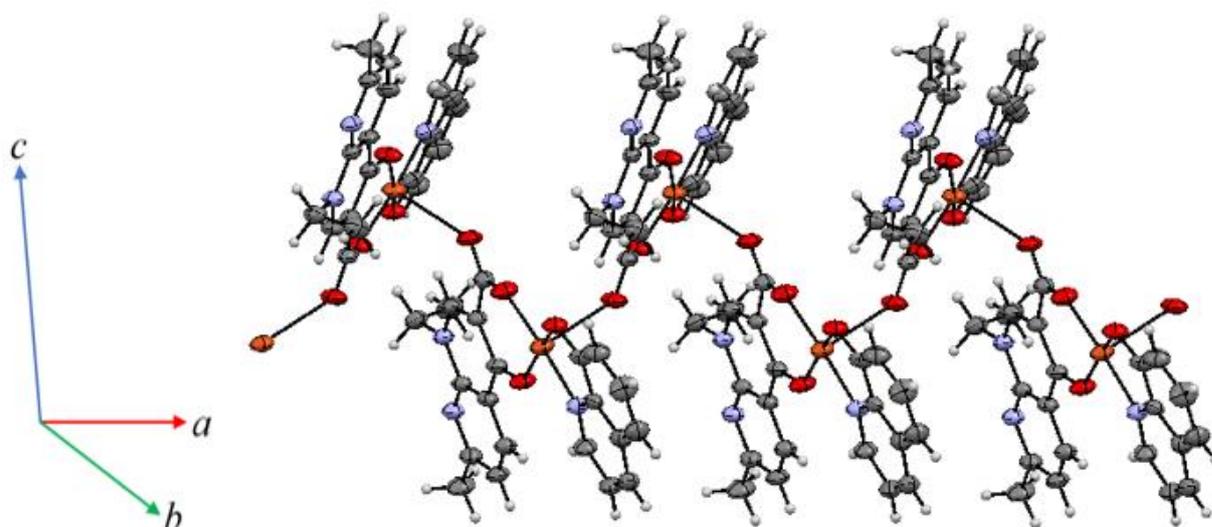


Figura 6.2: Extensão do polímero de coordenação em zigue zague com direção de crescimento ao longo do eixo cristalográfico a .

O parâmetro trigonal τ é igual a 0,19 e 0,15, para Cu1 e Cu2, respectivamente. O parâmetro trigonal τ varia de zero para geometria quadrática perfeita e 1 para geometria bipiramidal perfeita; os ângulos utilizados foram $\text{O1} - \text{Cu1} - \text{O4} = 165,3 (1)^\circ$, $\text{N1} - \text{Cu1} - \text{O2} = 176,4 (2)^\circ$, $\text{O5} - \text{Cu2} - \text{O8} = 165,6 (1)^\circ$ e $\text{N4} - \text{Cu2} - \text{O6} = 15,0$. Estes resultados demonstram que o $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ tem o íon cobre(II) com número de coordenação igual a cinco, adotando preferencialmente uma geometria de pirâmide de base quadrada (ADDISON *et al.*, 1984).

Os dados cristalográficos e condições de refinamento do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ estão descritos na Tabela 6.1.

Tabela 6.1 - Dados cristalográficos – [Cu(ndx)(8-hql)]_n

| | |
|--|--|
| Formula molecular | C ₂₁ H ₁₇ N ₃ O ₄ Cu |
| Massa molecular / g mol⁻¹ | 438,92 |
| Dimensões do cristal / mm | 0,52 × 0,32 × 0,12 |
| Sistema cristalino | Triclínico |
| Grupo espacial | P $\bar{1}$ |
| Temperatura / K | 298 (2) |
| Z | 4 |
| a / Å | 7,7252(3) |
| b / Å | 14,7548(5) |
| c / Å | 15,7701(4) |
| α / ° | 98,261(2) |
| β / ° | 90,032(2) |
| γ / ° | 93,629(3) |
| V / Å³ | 1775,23(10) |
| Z | 4 |
| ρ / kg m⁻³ | 1,642 |
| μ / mm⁻¹ | 1,267 |
| F(000) | 900 |
| Reflexões independentes coletadas | 7257 |
| Reflexões independentes coletadas com $I \geq 2\sigma(I)$ [R_{int}] | 5643 [0.030] |
| Qualidade de ajuste com F² (S) | 1,103 |
| R^a, wR^b [$I > 2\sigma(I)$] | 0,0674; 0,1944 |
| R^a, wR^b (todos dos dados) | 0,0853; 0,2095 |

$$^a R = \sum ||F_o| - |F_c|| / \sum |F_o|, \quad ^b wR = [\sum (|F_o|^2 - |F_c|^2)^2 / \sum |F_o|^2]^{1/2}$$

Os comprimentos e ângulos de ligação selecionados são relatados nas Tabela 6.2 e Tabela 6.3, respectivamente.

Tabela 6.2 - Distâncias interatômicas entre e os íons cobre(II) e os átomos dos ligantes.

| Comprimento de ligação (Å) | [Cu(ndx)(8-hql)]_n |
|--|-------------------------------------|
| Cu1–N1 _(8-hql) | 1,991(5) |
| Cu1–O1 _(8-hql) | 1,952(3) |
| Cu1–O2 _(ndx) | 1,925(4) |
| Cu1–O4 _(ndx) | 1,914(3) |
| Cu1–O7 _(ndx adjacente) | 2,541(4) |

Tabela 6.3 - Ângulos interatômicos entre e os íons cobre(II) e os átomos dos ligantes.

| Ângulos de ligação (°) | [Cu(ndx)(8-hql)]_n |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| N1–Cu1–O4 | 87,6(2) |
| N1–Cu1–O1 | 83,7(2) |
| O4–Cu1–O2 | 92,6(2) |
| O2–Cu1–O1 | 95,4(2) |
| N1–Cu1–O2 | 176,4(2) |
| O4–Cu1–O1 | 165,3(1) |
| O7–Cu1–O1 | 93,1(1) |
| O7–Cu1–O2 | 85,5(1) |
| O7–Cu1–O4 | 99,8(1) |
| O7–Cu1–N1 | 98,1(2) |

A soma dos ângulos de ligação N1–Cu1–O4 [87,6 (2) °], N1–Cu1–O1 [83,7 (2) °], O4–Cu1–O2 [92,6 (2) °] e O2–Cu1–O1 [95,4 (2) °] no plano basal em torno do íon de cobre(II) é de 359,4°. Isso confirma a presença do íon cobre com um desvio muito ligeiro do plano basal. O comprimento de ligação axial Cu1-O7 de 2,541(4) Å, é muito maior que os comprimentos das ligações equatoriais Cu-O [Cu1-O1 = 1,952 (3) Å, Cu1-O2 = 1,925 (4) Å, Cu1-O4 = 1,914 (3) Å] e comprimento Cu-N1 [1,991 (5) Å]. As proximidades nos valores dos comprimentos de ligação C10-O2 [1,268 (7) Å] e C10-O3 [1,235 (6) Å] no grupo carboxilato indicam arranjos

de ligação deslocalizados, em vez de ligações simples e duplas localizadas. O ângulo de ligação O2-C10-O3 é 123,0 (5)°.

6.1.2 Análises Elementar, Condutimétrica e Ponto de Decomposição

A Tabela 6.4 apresenta os teores de carbono, nitrogênio, hidrogênio e cobre do composto [Cu(ndx)(8-hql)]_n. Os teores de C, H, N e Cu foram obtidos para o [Cu(ndx)(8-hql)]_n e estão de acordo com a fórmula mínima proposta: C₂₁H₁₈CuN₃O₁₂. Quando submetido ao aquecimento, o composto inicia o processo de decomposição, se liquefazendo e mudando sua coloração em 273–275 °C.

Tabela 6.4 - Porcentagens elementares do composto [Cu(ndx)(8-hql)]_n.

| | %C | %H | %N | %Cu |
|---|---------|--------|--------|---------|
| | Exp | Exp | Exp | Exp |
| | (Calc) | (Calc) | (Calc) | (Calc) |
| C ₂₁ H ₁₈ CuN ₃ O ₁₂ MM = 439,92 g/mol | 58,24 | 3,68 | 9,62 | 14,38 |
| | (57,46) | (3,90) | (9,57) | (14,48) |

A análise condutimétrica do composto preparado foi realizada em uma solução de concentração 10⁻³ M em DMSO, a constante de célula com valor de 1,28/cm. Na Tabela 6.5 temos os valores de condutividade molar aferidos.

Tabela 6.5 – Valores de condutividade molar do solvente DMSO e [Cu(ndx)(8-hql)]_n.

| | |
|----------------|-------------|
| DMSO | 1,287 μS/cm |
| Cu(ndx)(8-hql) | 3,10 μS/cm |

A condutividade molar apresentou um valor baixo, o que indica que não existe a presença de eletrólitos, indicando que o [Cu(ndx)(8-hql)]_n é não eletrolítico. (GEARY, 1970).

6.1.3 Análise Térmica

A análise térmica do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ foi realizada em atmosfera de ar sintético e as curvas de TG e de DTA estão representadas na Figura 6.3.

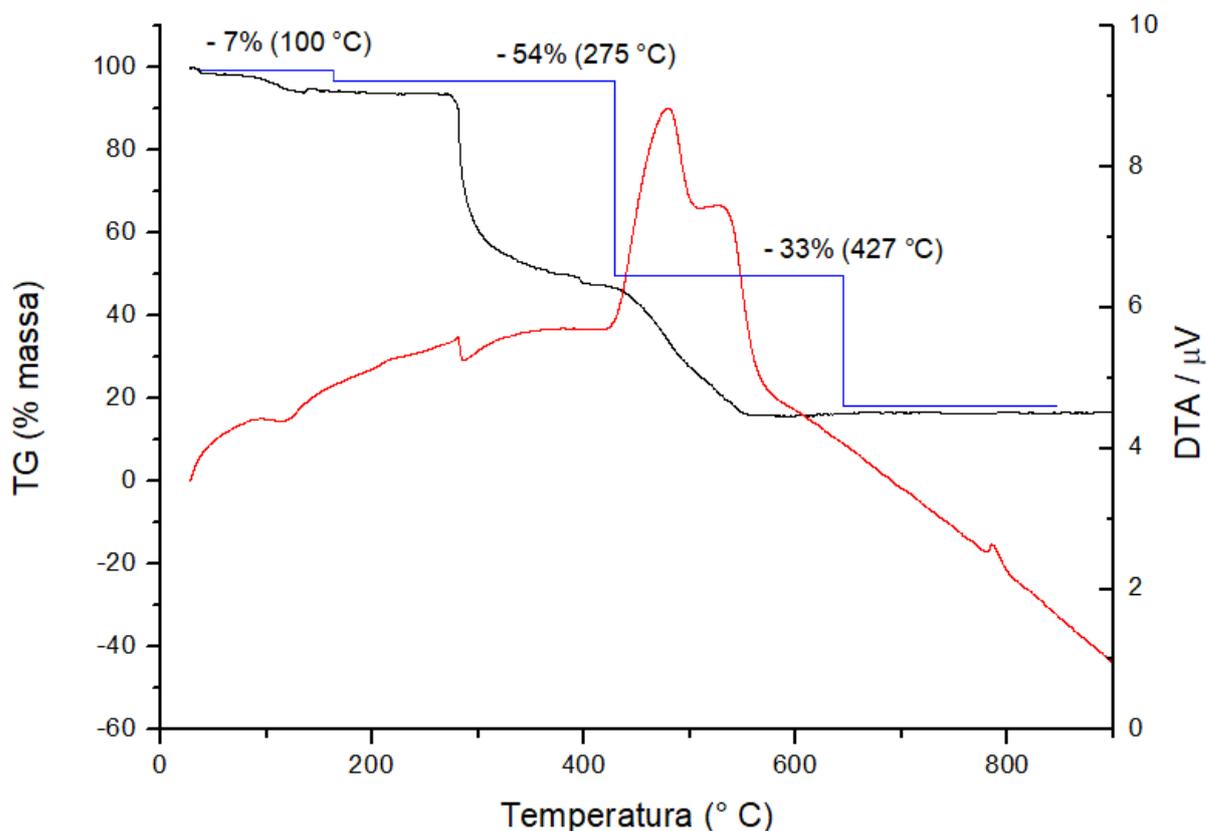


Figura 6.3: Análise térmica [curva TG (linha preta) e DTA (linha vermelha)] do composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ realizada em atmosfera de ar sintético com taxa de aquecimento de 10 °C min^{-1} .

A primeira perda de massa com percentual de 7%, inicia-se na temperatura de 100 °C e possivelmente está relacionada com a saída de moléculas de água que podem ter se incorporado ao composto quando exposta a umidade do ar.

A massa molar do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]$ é de $438,92\text{ g mol}^{-1}$, em 275 °C ocorre uma segunda perda de massa de 54%, esta pode ser relacionada com a degradação do ácido nalidíxico que possui uma massa molar de $232,23\text{ g mol}^{-1}$, o valor teórico desta perda é de 53%.

A terceira perda de massa ocorre em uma temperatura de 427 °C com um percentual de perda de massa de 33%, esta pode ser referenciada com a saída do ligante 8-hidroxiquinolina que possui uma massa molar de $145,16\text{ g mol}^{-1}$ o valor teórico desta perda é de 33%. O resíduo

de cerca 13% pode ser relacionado com a formação do óxido de cobre. Na análise da curva de DTA, observa-se uma curva com concavidade voltada para cima, relacionada a um processo endotérmico, possivelmente associada a perda de água e duas curvas com concavidades voltada para baixo características de processos exotérmicos que podem ser associadas as perdas de massa dos precursores do composto preparado.

6.1.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

A espectroscopia de absorção no infravermelho foi utilizada para confirmar o modo de ligação dos ligantes ao íon cobre(II) no composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$.

Os espectros dos ligantes livres e do composto preparado estão ilustrados na Figura 6.4.

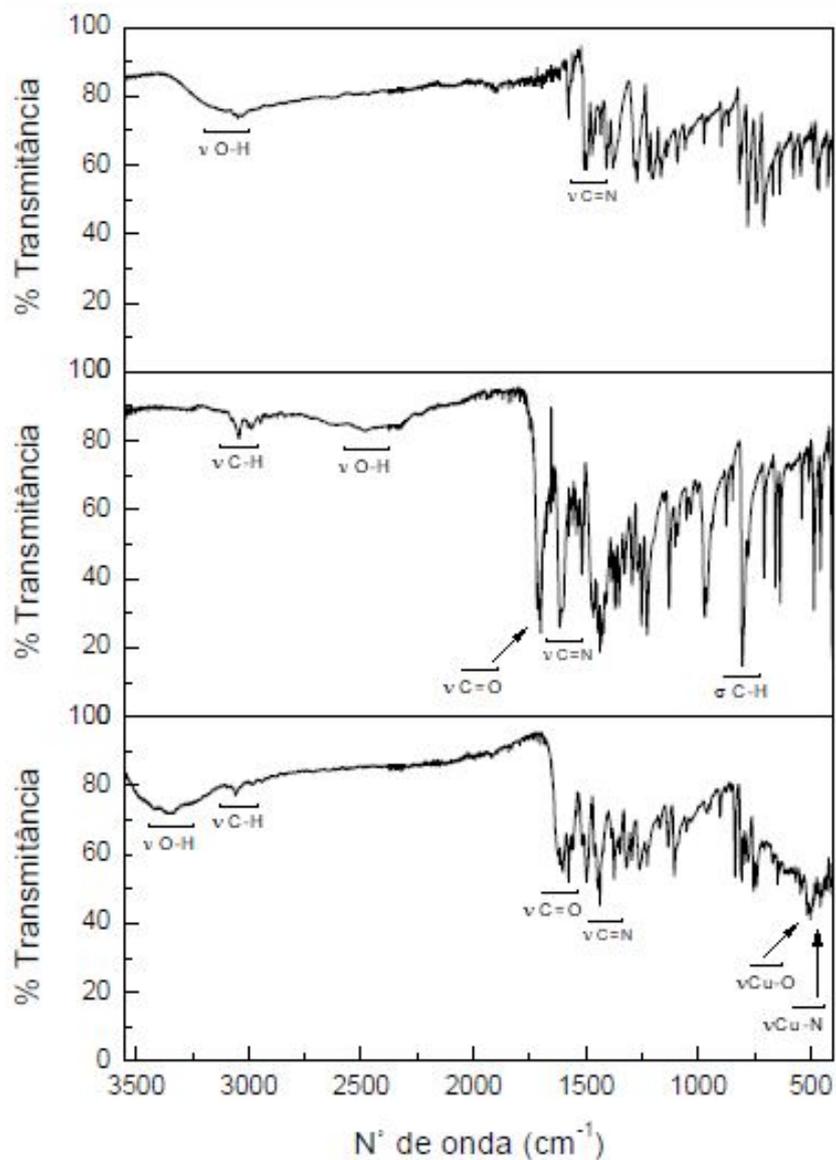


Figura 6.4: Espectros vibracionais dos compostos ligantes livres e do composto preparado.

Na Tabela 6.6 estão ilustrados os valores de número de onda das principais bandas encontradas nos ligantes livres e no composto preparado.

Tabela 6.6 - Principais bandas dos ligantes livre e do composto preparado

| Atribuições | Ndx | 8-hql | Cu(ndx)(8-hql) |
|-------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| ν O-H | 2489 cm^{-1} | 3109 cm^{-1} | 3344 cm^{-1} |
| ν C-H | 3045 cm^{-1} | - | 3059 cm^{-1} |
| ν C=O | 1712 cm^{-1} | - | 1612 cm^{-1} |
| ν C=N | 1434 cm^{-1} | 1576 cm^{-1} | 1559 cm^{-1} |
| ν Cu-O | - | - | 523 cm^{-1} |
| ν Cu-N | - | - | 440 cm^{-1} |

Estiramento (ν)

O primeiro espectro ilustrado na Figura 6.4 é referente ao ligante 8-hql livre, o mesmo exibe uma banda larga média centrada em 3109 cm^{-1} devido às vibrações de estiramento do grupo fenólico O-H. A faixa de vibração de estiramento C=N da piridina foi deslocada de um valor de 1576 cm^{-1} no ligante livre para 1559 cm^{-1} no complexo sugerindo uma coordenação com o íon cobre(II).

O segundo espectro ilustrado na Figura 6.4 está relacionado ao ligante ndx livre. O espectro exibe bandas de absorção em 2489 cm^{-1} e 1712 cm^{-1} , que devem ser atribuídas, respectivamente, ao modo de estiramento assimétrico dos grupos O-H e C=O do grupo carboxílico.

Na Figura 6.4 também está esboçado o espectro vibracional do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$, a ausência de um pico em 2489 cm^{-1} no espectro de absorção corrobora para a desprotonação do ácido nalidíxico e o deslocamento da banda da carbonila para um valor menor, 1637 cm^{-1} , indica o envolvimento do grupo carboxílico na coordenação do íon cobre(II). Além disso, a frequência vibracional correspondente ao estiramento da ligação C=O da porção piridona foi encontrada no espectro vibracional do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ em 1612 cm^{-1} , enquanto no ndx livre, esta é encontrada em 1616 cm^{-1} , sugerindo o envolvimento deste grupo na coordenação do metal.

Além disso, o espectro de absorção na região do infravermelho do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ também apresenta novas bandas em 523 cm^{-1} e 440 cm^{-1} , provavelmente devido à vibração de estiramento da ligação Cu-O e Cu-N, respectivamente (SHELBY *et al.*, 2014). A presença da banda OH justifica a possível absorção de água quando o composto preparado é exposto ao ar.

6.1.5 Espectroscopia de Absorção Eletrônica na Região do Ultravioleta-visível

Na Figura 6.5 estão os espectros eletrônicos dos ligantes e do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ em solução de DMSO a 0,5% em tampão pH 7,2.

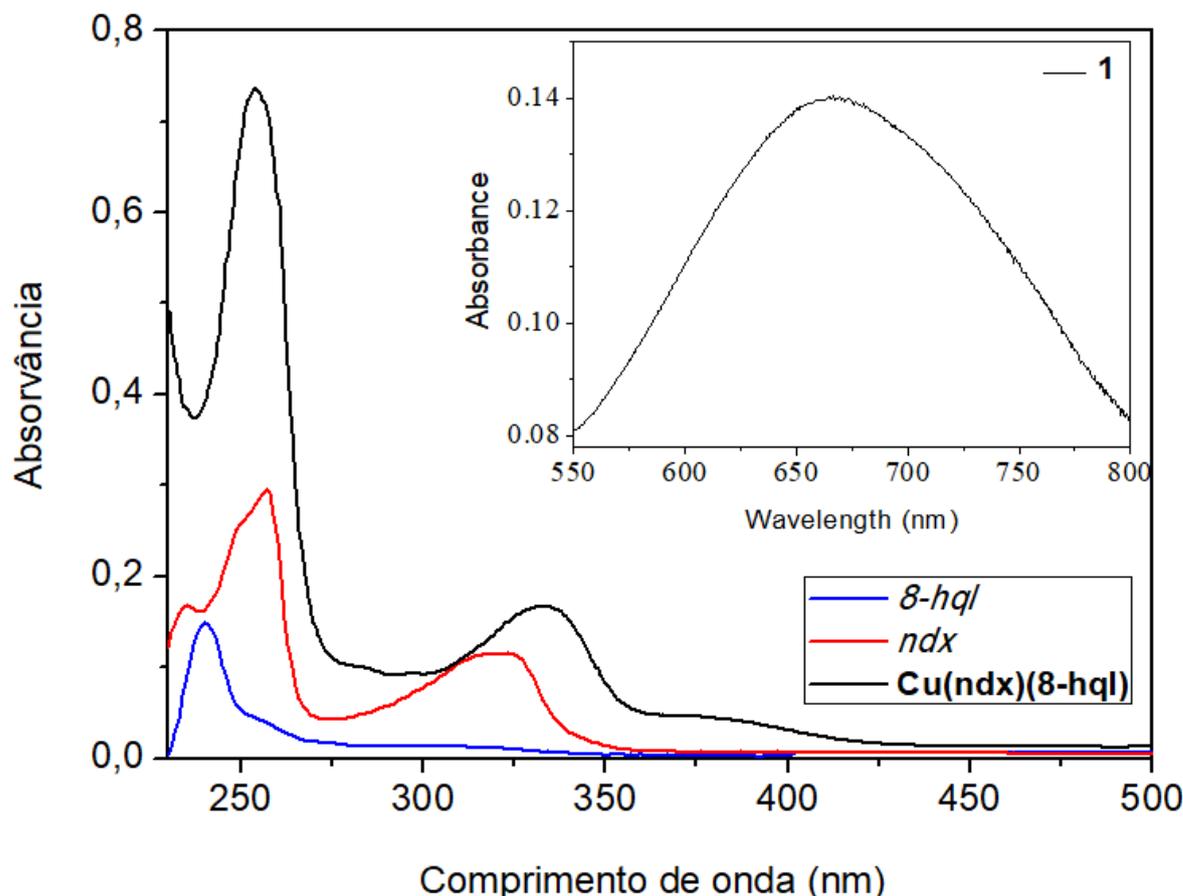


Figura 6.5: Espectros eletrônicos em solução tampão pH= 7,2 em DMSO a 0,5% na concentração de 1×10^{-5} mol/L dos ligantes 8-hql, ndx e $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$.

O espectro de absorção eletrônica do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ exibe duas bandas uma em 254 nm ($\epsilon = 4,5 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e outra em 334 nm ($\epsilon = 9,5 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A banda em 334 nm pode ser atribuída à transição eletrônica da ligação entre o metal e o ácido nalidíxico pela porção quinolônica, enquanto que a absorção intensa detectada em 254 nm pode ser associada às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$. O espectro eletrônico do ligante 8-hidroxiquinolina apresenta também uma absorção na região de 240 nm ($\epsilon = 1,48 \times 10^6 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) que pode ser atribuída à porção quinolônica envolvida na ligação com o íon cobre(II) (SABBATINI e GUARDIGLI, 1993; GALAUP *et al.*, 2001).

A transição d-d, que pode ser interpretada com uma transição do tipo $t_{2g} \rightarrow e_g$, promove um elétron do plano xy para a direção z já rica em elétrons, este tipo de transição ocorre tipicamente na região visível do espectro eletromagnético (ATKINS *et al.*, 2006). O $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ exibe uma banda larga na região de 600 a 800 nm como ilustrado na Figura 6.5. Esta absorção é resultado de transições d-d, que para o $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ está centrada na região de 667 nm. Complexos de cobre(II) podem adotar geometrias octaédrica tetragonalmente distorcida, quadrado planar, pirâmide de base quadrada e bipirâmide trigonal. O $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ possui uma geometria de pirâmide de base quadrada distorcida no estado sólido, no entanto propõe-se que a ligação axial é desfeita em solução, fazendo com que o $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ adote uma geometria quadrática planar (CIAMPOLINI e SACCONI, 1964).

6.1.6 Espectrometria de Massas com Ionização por Electrospray ESI-MS

O espectro de massas para o composto preparado está ilustrado na Figura 6.6.

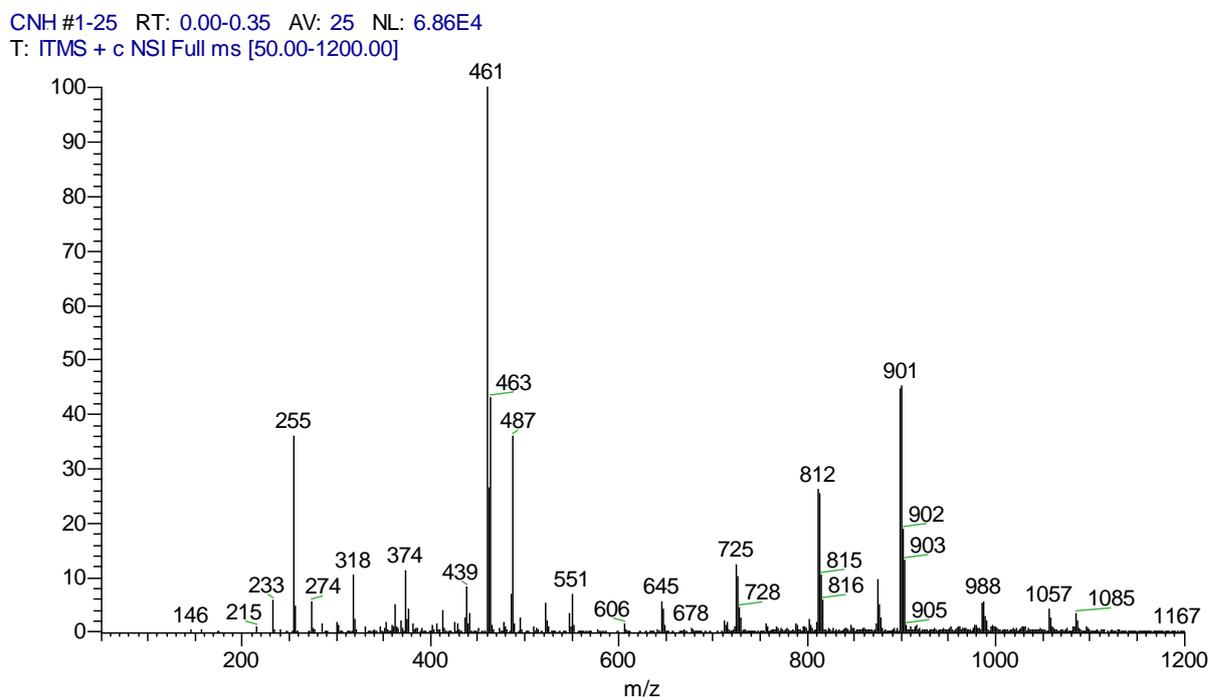


Figura 6.6: Espectro ESI(+)-MS em solução MeOH:H₂O (1:1) do $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$.

Avaliando o espectro de massas do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ verifica-se o principal sinal em m/z 461 pode ser atribuído à espécie $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql}) + \text{Na}]^+$ (m/z calculado 461,06). O pico

em m/z 901 é relacionado à espécie dimérica $\{[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_2\text{Na}\}^+$ com m/z calculada de 901,06.

Observa-se uma abundância relativa de aproximadamente 100% para o pico em m/z 461, constatando que o composto preparado quando em solução, se apresenta na forma monomérica. A maior distância da ligação axial Cu1–O7 de 2,541(4) Å, corrobora com o fato de que quando o $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ está em solução, a ligação carboxilato se rompe quebrando a estrutura polimérica, gerando espécies neutras monoméricas.

A distribuição isotópica teórica e experimental dos principais picos estão representados na Figura 6.7 e na Figura 6.8. Este estudo foi desenvolvido a partir do software ChemDraw 12.0. Os resultados indicam que as propostas de fragmentos para $m/z = 461$ e 901 estão em acordo com a distribuição isotópica do cobre.

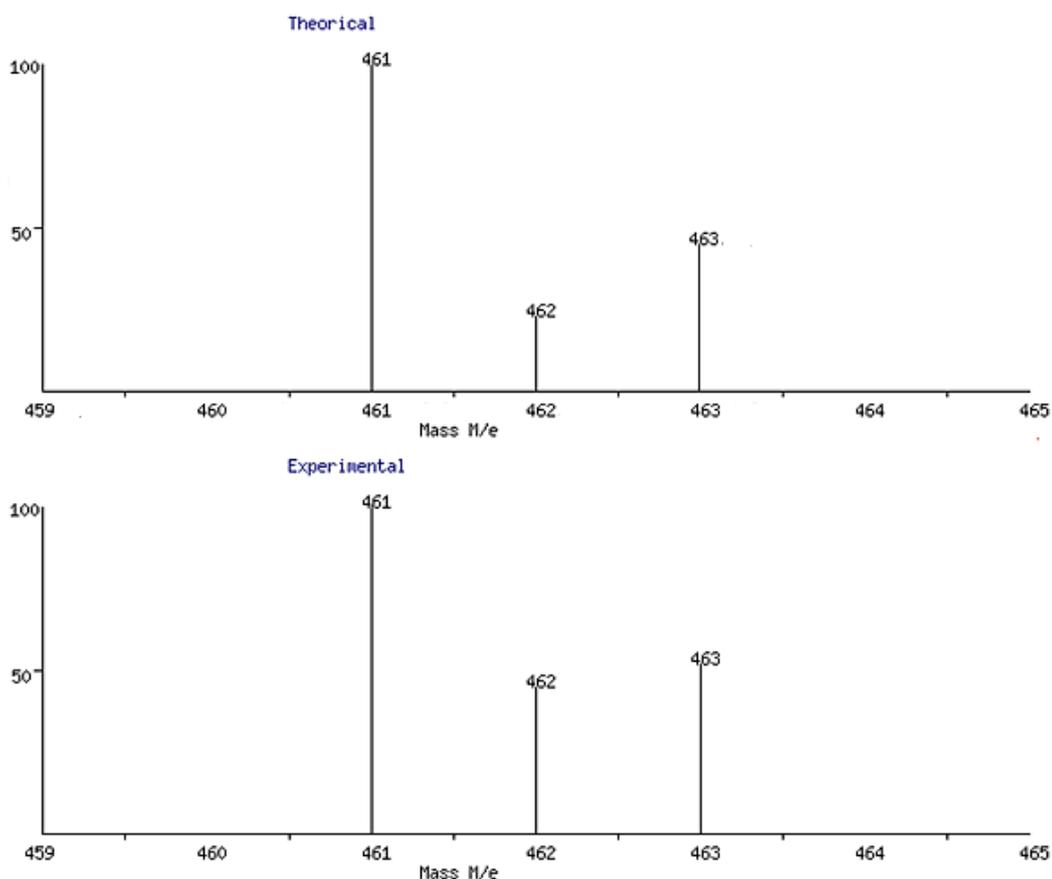


Figura 6.7: Distribuição isotópica fragmento $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})\text{Na}]^+$ ($m/z = 461$). Acima a distribuição isotópica teórica e abaixo a distribuição isotópica experimental

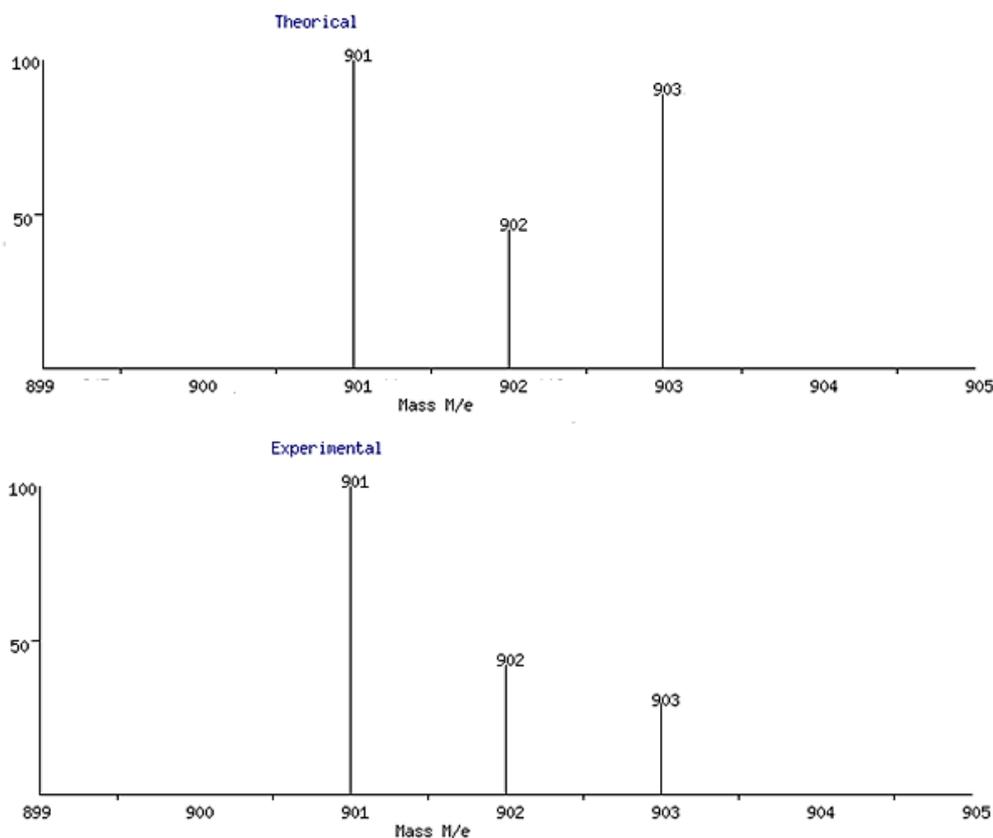


Figura 6.8: Distribuição isotópica do fragmento binuclear $[[\text{Cu}(\text{ndx})](8\text{-hql})_2\text{Na}]^+$. Acima a distribuição isotópica teórica e abaixo a distribuição isotópica experimental

6.1.7 Propriedades Magnéticas

O comportamento magnético da matéria está intimamente ligado a propriedades dos elétrons frente aos átomos. Os elétrons possuem momentos angulares típicos de uma partícula que gira em torno do próprio eixo e em torno do núcleo do átomo. Estes movimentos são denominados momento angular orbital de *spin*, S , e momento angular orbital intrínseco, L , respectivamente. O *momentum* é uma grandeza vetorial, assim os movimentos dos elétrons possuem vetores μ_s e μ_l , (ATKINS *et al.*, 2006).

Para uma compreensão dos estudos de propriedades magnéticas, necessita-se o entendimento do conceito de *susceptibilidade magnética*, que pode ser interpretado como um sinal do material quando submetido a um campo magnético H . A susceptibilidade magnética é definida como:

$$\chi = \frac{\partial M}{\partial H} = \frac{M}{H} \quad (2)$$

Na equação 2, M é denominado magnetização induzida, proveniente da aplicação de um campo magnético externo. Para valores muito pequenos de H , M adota uma variação linear onde os termos variação parcial assumem valores absolutos. Na presença do campo magnético, os dipolos magnéticos reagirão de modo a produzir um campo magnético induzido, que altera o campo aplicado.

Os compostos classificados como diamagnéticos são repelidos por um campo magnético, ou seja, a suscetibilidade magnética é muito pequena. Em contrapartida, os compostos paramagnéticos são atraídos. Propriedades como ferromagnetismo e antiferromagnetismo dependem de interações entre os spins dos elétrons de muitos átomos e originam-se do comportamento cooperativo de muitas células unitárias de um cristal (ATKINS *et al.*, 2006).

Em uma substância ferromagnética, os spins de centros metálicos diferentes encontram-se acoplados segundo um alinhamento paralelo que se mantém sobre milhares de átomos num domínio magnético. Em uma substância antiferromagnética, os spins vizinhos estão travados em um alinhamento antiparalelo e a amostra possui um pequeno momento magnético.

O antiferromagnetismo frequentemente é observado quando um material paramagnético é submetido a uma baixa temperatura e é indicado pelo decréscimo da suscetibilidade magnética com a diminuição da temperatura. O acoplamento de spin responsável pelo antiferromagnetismo geralmente ocorre por meio dos ligantes que participam por um mecanismo denominado de supertroca. Como ilustrado na Figura 6.9, o spin de um átomo metálico induz a uma pequena polarização de spin em um orbital ocupado de um ligante; esta polarização de spin resulta no alinhamento antiparalelo do spin no átomo metálico adjacente (ATKINS *et al.*, 2006).

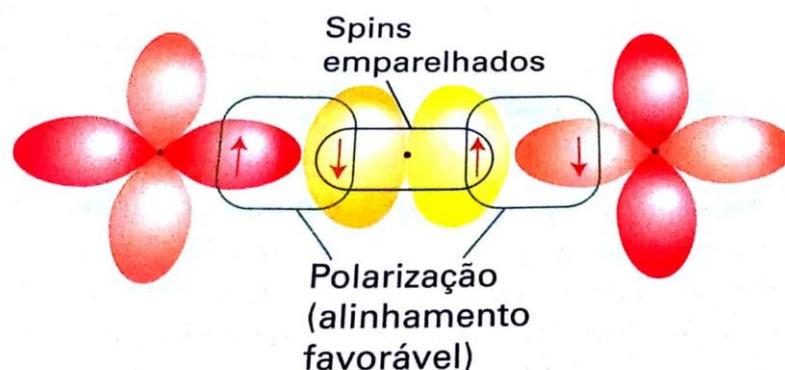


Figura 6.9: Acoplamento antiferromagnético entre dois centros metálicos criado pela polarização de spin de um ligante em ponte.
 Fonte: (ATKINS *et al.*, 2006).

No presente trabalho, foram realizados estudos de magnetização em função da temperatura e do campo magnético. Os resultados de magnetização estão mostrados na forma do produto χT em função da temperatura na Figura 6.10. A temperatura ambiente, o valor do produto χT é igual a $0,37 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$, muito próximo ao valor esperado para um átomo de cobre isolado ($0,4 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$). A dependência do produto χT em função da temperatura foi ajustada segundo um modelo de cadeia infinita de Spins $S=1/2$ a esta ilustrada na Figura 6.10. Foram obtidos $g=1,99$ e $J=-0,49 \text{ cm}^{-1}$, sendo g o fator giromagnético para o cobre(II) e J o acoplamento de supertroca entre os íons cobre(II) vizinhos. O fator de ajuste, definido por $R = \sum(\chi T_{Obs} - \chi T_{Teo})^2 / \sum(\chi T_{Obs})^2$, foi de $1,71 \times 10^{-5}$, o que comprova o ótimo ajuste entre os dados experimentais e teóricos. Estes valores são coerentes para pontes do tipo carboxilato (ABRAGAN *et al.*, 1986).

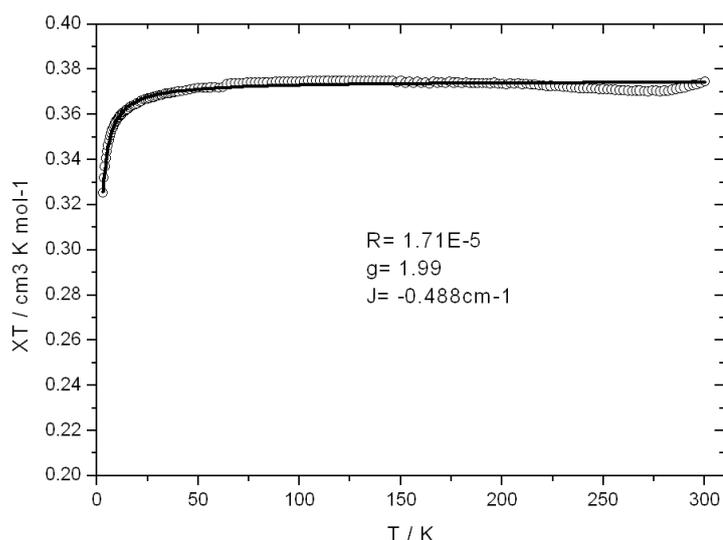


Figura 6.10: Dependência da temperatura pelo produto χT mensurado com campo de 500 Oe. Dados experimentais são descritos pela linha com círculos e o modelo teórico é descrito pela linha sólida.

Observa-se uma diminuição do produto χT com o resfriamento, chegando a um valor de $0,32 \text{ cm}^3 \text{ K mol}^{-1}$ a 3K como ilustrado na Figura 6.10. Esta diminuição está associada a um acoplamento antiferromagnético entre os íons cobre(II). Como a estrutura é composta por uma cadeia infinita de íons cobre(II), com a distância Cu–Cu de $6,04 \text{ \AA}$ que são unidos por pontes carboxilato do tipo anti-anti, é esperada uma interação antiferromagnética fraca, pois o spin do cobre(II) induz a uma pequena polarização de spin em um orbital ocupado de um grupo carboxilato em ponte, esta polarização de spin resulta no alinhamento antiparalelo do spin no cobre(II) adjacente (COLACIO *et al.*, 1999). O estado fundamental de uma cadeia infinita de íons cobre(II) acoplados antiferromagneticamente apresenta $S=0$, a isso decorre o fato do produto χT tende a zero a baixa temperatura.

As medidas da dependência da magnetização com o campo são mostradas em magnetons de Bohr por unidade de cobre(II) na Figura 6.11. A um campo de 7,5 kOe observa-se um valor de $0,83N \beta$, valor coerente com o fato de existir uma interação antiferromagnética fraca a baixa temperatura. Não foi possível se observar um efeito de saturação.

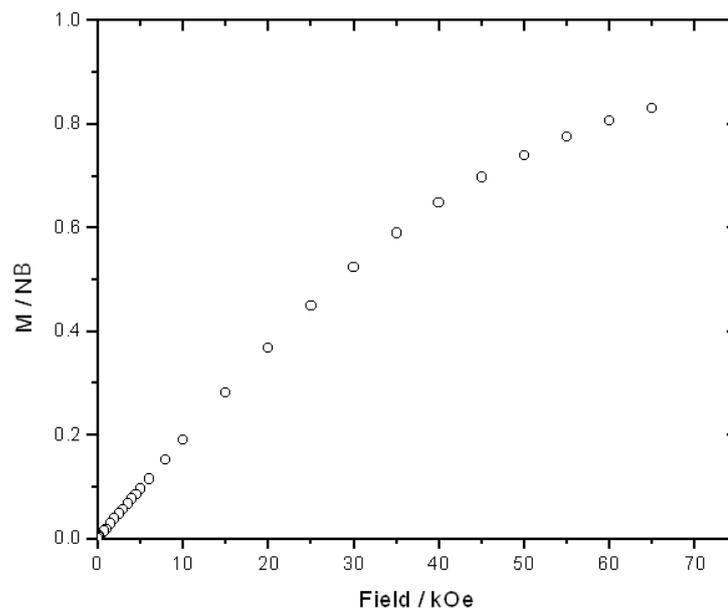


Figura 6.11: Campo dependente da magnetização a 3K.

Na Figura 6.12 está ilustrada a estrutura cristalina do $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ e a ponte carboxilato com conformação do tipo *anti-anti*. Um fator que explica o comportamento antiferromagnético fraco é a via de troca Cu1-O2-C10-O3-Cu2 , este tipo de interação envolve uma posição axial em um átomo de cobre com orbital dz^2 e outro átomo de cobre com orbital dx^2-y^2 em posição equatorial. Estes orbitais são incompatíveis para ter um bom acoplamento entre os centros de cobre.

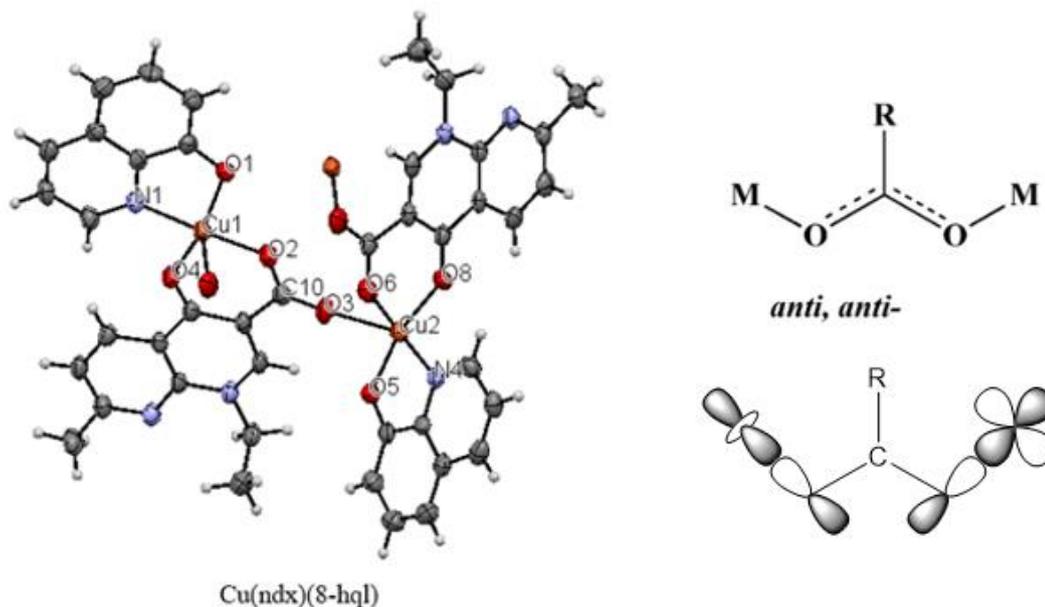


Figura 6.12: Estrutura cristalina do composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ e demonstração da incompatibilidade dos orbitais na conformação *anti-anti*.

6.1.8 Ressonância Paramagnética Eletrônica

A ressonância paramagnética eletrônica (RPE)   uma técnica para o estudo de espécies paramagnéticas tais como radicais orgânicos e elementos do grupo principal, com um enfoque em materiais que cont m elementos dos blocos *d* e *f*. O caso mais simples é para uma espécie que cont m um elétron desemparelhado. A aplica o de um campo magnético externo B_0 produz uma diferença de energia entre os estados $m_s = +\frac{1}{2}$ e $m_s = -\frac{1}{2}$ onde temos:

$$\Delta E = B_0 g \mu_b \quad (3)$$

Onde μ_b é o magnéton de Bohr e g é dito fator giromagnético. O método convencional para registrar um espectro de RPE é usar um espectr metro de onda contínua, no qual a amostra é irradiada com uma frequência de microondas constante, variando-se o valor do campo. A frequência padrão de ressonância utilizada para a maioria dos espectr metros   de aproximadamente 9 GHz.

O valor de g , para um elétron livre, $g = 2,0023$, mas este valor se altera pelo acoplamento spin-órbita. Para muitas espécies, particularmente os complexos de metais *d*, os valores de g podem ser anisotrópicos, ou seja, as condi es de ressonância dependem do ângulo que a espécie paramagnética faz com o campo aplicado (ATKINS *et al.*, 2006).

A estrutura hiperfina de um espectro é devida ao acoplamento magnético do spin do elétron com qualquer núcleo magnético presente. O acoplamento com um núcleo de spin I desdobra uma linha de RPE em $2I + 1$ linhas de mesma intensidade como demonstrado na Figura 6.13.

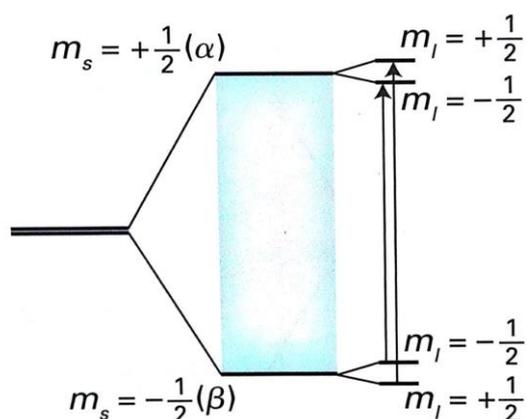


Figura 6.13: Transições permitidas ($\Delta m_s = +1$, $\Delta m_l = 0$) dão origem a estrutura hiperfina no RPE.
 Fonte: (ATKINS *et al.*, 2006).

Algumas vezes se faz uma distinção entre a estrutura hiperfina, devido ao acoplamento com o núcleo do átomo onde está o elétron desemparelhado, e o “acoplamento super-hiperfino”, que é o acoplamento com núcleo dos ligantes. O acoplamento super-hiperfino com um núcleo de um ligante é usado para medir a extensão da deslocalização eletrônica e a covalência nos complexos metálicos. Como um exemplo temos um espectro de RPE de uma solução congelada de um sal de cobre(II) na Figura 6.16, este ilustra os efeitos da anisotropia no valor de g e a estrutura hiperfina, o espectro é axial, mostrando que o ambiente eletrônico em torno do íon metálico e distinto para uma direção (g_{\parallel}) está sujeita a um acoplamento hiperfino particularmente forte com o núcleo de cobre com $I = 3/2$ (ATKINS *et al.*, 2006).

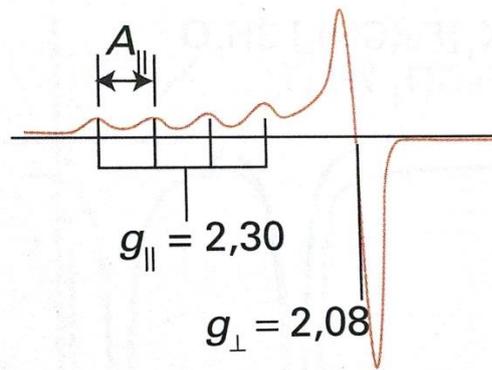


Figura 6.14: Espectro de RPE de cobre(II) em solução aquosa congelada, demonstra simetria axial, com acoplamento hiperfino com o Cu ($I = 3/2$, quatro linhas hiperfinas para o componente g_{\parallel}).

Fonte: (ATKINS *et al.*, 2006).

Uma substância é paramagnética quando cada átomo que a constitui possui um momento dipolar magnético não nulo. Portanto, na presença de um campo magnético externo, os momentos magnéticos de cada átomo assumem uma orientação preferencial, originando um momento magnético líquido na substância.

No presente trabalho, os espectros de RPE em pó do composto preparado estão ilustrados na Figura 6.15 e foram medidos em (a) 300 K, 9,443 GHz e (b) em função da temperatura, 9,315 (GHz).

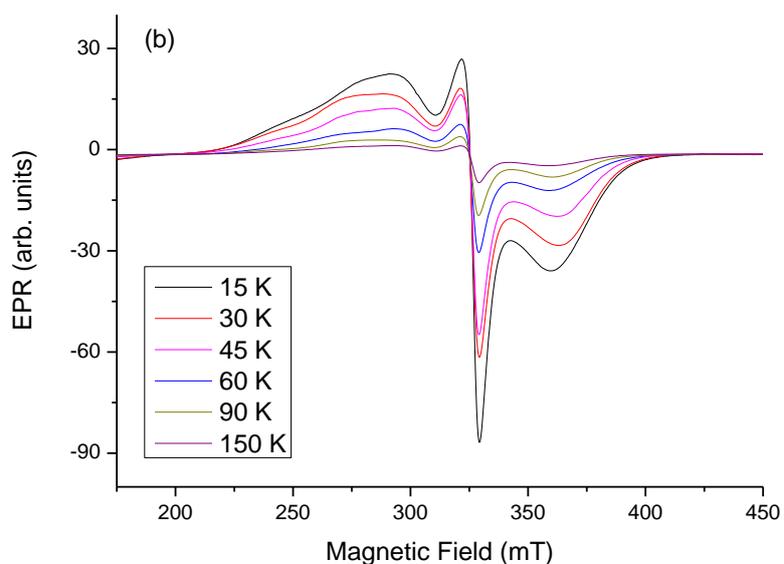
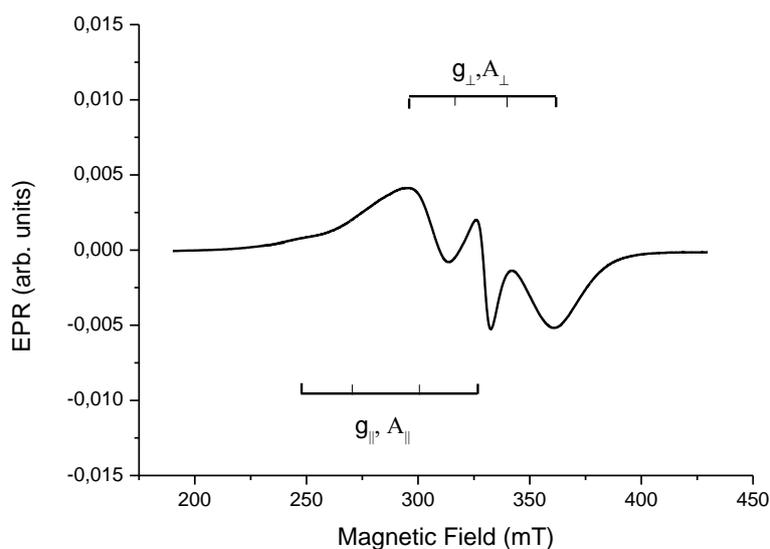


Figura 6.15: Espectro de RPE da amostra em pó composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ medida em (a) 300 K, 9,443 GHz e (b) em função da temperatura, 9,315 (GHz)

O espectro RPE representa íons de Cu^{2+} isolados em simetria axial típica de simetria octaédrica distorcida ou tetragonal com estado fundamental $d_{(x^2 - y^2)}$ e estados excitados $d_{(xy)}$, $d_{(xz)}$, e $d_{(yz)}$ (ABRAGAN *et al.*, 1986). O spin Hamiltoniano $H = \beta S g B + S A I$, contém elétron com interação Zeeman e hiperfina, desprezando a interação quadrupolo devido aos isótopos de cobre ^{63}Cu e ^{65}Cu com spin nuclear $I = 3/2$ (100% de abundância). A interação Zeeman consiste-se no deslocamento das linhas espectrais de um sistema em vários componentes pela ação de um campo magnético. Para o caso de $S=0$, como o estado fundamental de uma cadeia infinita de

íons cobre(II) acoplados antiferromagneticamente, cada linha espectral é desdobrada em três componentes, visto que o espectro foi observado de maneira perpendicular ao campo magnético.

As linhas RPE são largas provavelmente devido a interações de ligantes anisotrópicos não resolvidos e talvez também devido à interação leve de íons Cu^{2+} . Os parâmetros Hamiltonianos de spin são (300 K): $g_{\parallel} = 2,04$ (2), $g_{\perp} = 2,38$ (2), $A_{\parallel} / h = 780$ (20) MHz, $A_{\perp} / h = 480$ (20) MH.

Os espectros de RPE mostrados na figura 6.17 (b) indicam que alguns parâmetros do hamiltoniano de spin são dependentes da temperatura. Os parâmetros são consistentes com uma geometria quadrática plana de íons Cu^{2+} como observado para Cu^{2+} no $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ para o qual as distâncias de ligante no plano são de cerca de 1,91-1,99 Å e a distância do plano de saída é de cerca de 2,54 Å.

6.1.9 Ensaio de Atividade Antitumoral

O câncer é uma doença que acomete milhões de pessoas em todo mundo, e o desenvolvimento de fármacos antitumorais faz-se imprescindível para o controle desta patologia. O desenvolvimento de novos fármacos pode ser uma alternativa para o aumento de eficácia e diminuição dos efeitos colaterais no tratamento do câncer. Compostos químicos quinolônicos são bastante conhecidos por sua ampla atividade biológica como antifúngicos, antibacterianos, inibidores da replicação do vírus HIV e recentemente alguns compostos tem demonstrado importante atividade antitumoral (CHAN *et al.*, 2012). Derivados da 8-hidroxiquinolina exibiram atividade antitumoral frente a diversas linhagens de células cancerígenas (CHAN *et al.*, 2012). Derivados da 8-hql também demonstraram efeitos significativos contra doenças neurodegenerativas, no entanto o mecanismo de ação neste sentindo ainda continua desconhecido (CHAN *et al.*, 2012).

O ácido nalidíxico é um fármaco quinolônico já utilizado para o tratamento de infecções bacterianas, o seu mecanismo de ação baseia-se na inibição da síntese de ADN bacteriano, inibindo especificamente enzimas responsáveis pela síntese desta macromolécula.

A preparação de um complexo metálico utilizando o íon cobre(II), 8-hql e ndx, pode ter a vantagem de combinar as atividades farmacológicas destes ligantes e ainda explorar o mecanismo do íon $\text{Cu}(\text{II})$ para gerar EROs *in situ*.

O composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ foi testado frente a linhagem celular K562, um tipo de linhagem celular. Os valores de concentração inibitória mínima (IC_{50}) estão descritos na Tabela 6.7.

Tabela 6.7 - Valores de IC_{50} dos compostos estudados.

| Composto | $\text{IC}_{50}^* (\mu\text{M}) \pm \text{s.d.}$ |
|--|--|
| $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ | $6,0 \pm 0,2$ |
| ndx | >100 |
| 8-hql | $18,5 \pm 0,7$ |
| $[\text{Cu}(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)_2$ | $3,4 \pm 0,3$ |
| Carboplatina | $10,0 \pm 0,2$ |
| Cisplatina | $1,1 \pm 0,2$ |

* IC_{50} é a concentração necessária para inibir 50% do crescimento celular.

O ligante livre ndx não demonstrou atividade apreciável ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$), no entanto, o ligante 8-hql livre apresentou valor de IC_{50} considerável ($18,5 \pm 0,7 \mu\text{M}$). O $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ demonstrou uma atividade antiproliferativa com $\text{IC}_{50} = 6,0 \pm 0,2 \mu\text{M}$, um valor muito menor em comparação aos ligantes livres, o que denota uma atividade muito maior que o ndx livre e cerca de três vezes maior que a 8-hql livre. Este fato indica que a coordenação destes fármacos com íon cobre(II) foi importante para o aumento da atividade citotóxica.

O valor de IC_{50} do complexo preparado foi cerca de duas vezes maior em comparação com o complexo $[\text{Cu}(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)_2$. Apesar de ter tido um IC_{50} maior, o $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ pode ter a vantagem de ser menos tóxico ao organismo humano do que o complexo $[\text{Cu}(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)_2$, pois o mesmo apresenta em sua estrutura os grupos 1,10-fenantrolina que apesar de apresentarem considerável atividade antitumoral, mas possuem alta toxidez. O $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ demonstrou uma atividade antineoplásica melhor que a Carboplatina, um fármaco que já é comercializado como antineoplásico, demonstrando que o composto preparado possui uma atividade apreciável. O $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ demonstrou um valor de IC_{50} maior que o da Cisplatina, no entanto os valores se encontram na mesma ordem de magnitude. Os resultados do teste de citotoxicidade com as linhagens de células de leucemia mielóide crônica, corroboram com estudos anteriores onde a atividade antitumoral das quinolonas aumenta com a coordenação deste compostos a metais(WENZEL *et al.*, 2011). Além disso, a

avaliação citotóxica do composto preparado em células de queratinócitos humanos (linha de células HaCaT) não mostrou atividade citotóxica significativa até a concentração de 10 μM , sugerindo que o $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ não é altamente tóxico para células normais.

6.1.10 Medida de Viscosidade do ADN

Os experimentos de viscosidade são de grande importância para avaliação do tipo de interação estabelecido entre compostos e o ADN. Alguns compostos interagem com o ADN causando uma modificação em sua estrutura helicoidal, podendo acarretar no enrijecimento, alongamento e desenrolamento da dupla hélice. A mudança na estrutura do ADN leva a uma alteração da viscosidade da solução. (TUREL, 2011).

A intercalação de uma molécula que forma ligações covalentes coordenadas frente ao ADN, causa um decréscimo na viscosidade da solução, devido a distorção da dupla hélice que reduz o comprimento total de sua estrutura. Em contrapartida, um composto que promove intercalação com o ADN, causa um aumento da separação dos pares de bases nitrogenadas em locais onde ocorre a intercalação. Este fato faz com que ocorra um aumento no comprimento da molécula de ADN e por consequência acarreta em um aumento da viscosidade da solução. Os compostos que atuam nos sulcos do ADN não modificam o comprimento da molécula, logo a viscosidade da solução não sofre alterações significativas (TUREL, 2011).

Fatores como impedimento estérico e possibilidade de estabelecimento de ligação de hidrogênio entre o complexo e o ADN, podem ser determinantes no tipo de interação observada. A labilidade dos ligantes presentes no complexo afeta não somente sua capacidade de atingir o alvo farmacológico, como também a tendência na formação da ligação covalente com o ADN (TUREL, 2011).

Para o composto $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ observou-se apenas um ligeiro aumento na viscosidade da solução de DNA quando a proporção de complexo:ADN foi igual 1:1, como ilustrado na Figura 6.16.

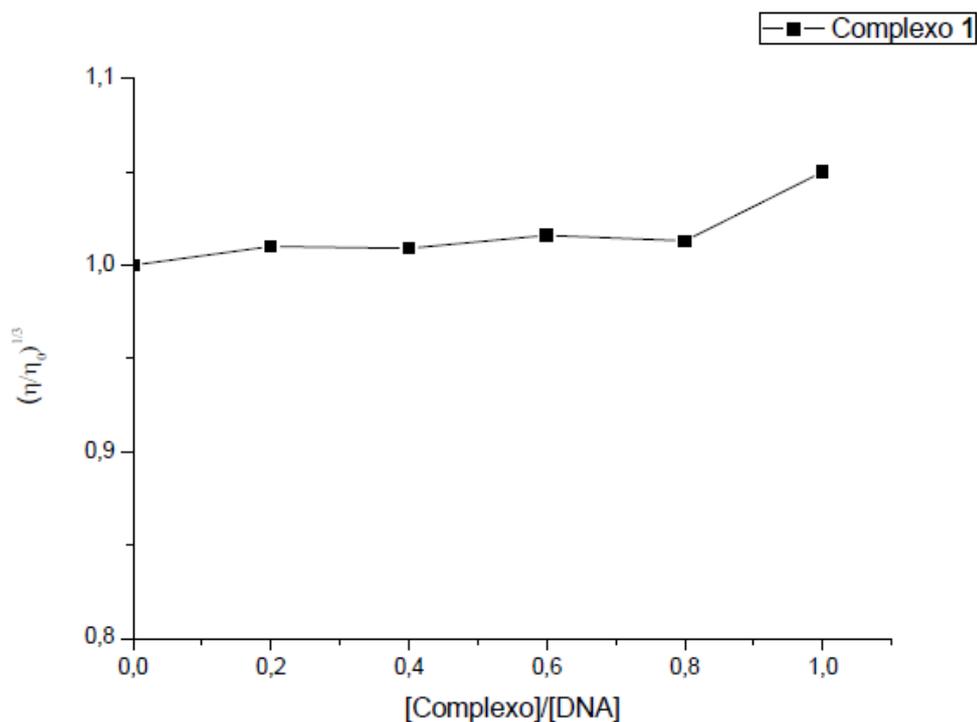


Figura 6.16: Efeitos de quantidade crescente do Cu(ndx)(8-hql) na viscosidade relativa de CT-ADN a 25°C em tampão a pH 7,2, [ADN] = 0,1 mM.

Considera-se que o composto [Cu(ndx)(8-hql)]_n interage nos sulcos do ADN pois a viscosidade da solução não teve modificações significativas.

6.1.11 Titulação Espectrofotométrica de Absorção Eletrônica

A titulação espectrofotométrica de absorção eletrônica é uma das técnicas mais utilizadas para o estudo da ligação entre um complexo metálico e o ADN. O espectro de absorção eletrônico do ADN apresenta uma banda intensa por volta de 260 nm, originária dos grupos presentes nas bases nitrogenadas. As bandas do complexo sofrem mudanças quando há algum tipo de interação entre eles e, portanto, ambas podem ser monitoradas neste tipo de análise (BARRA e NETO, 2015).

Quando ocorre a interação de um complexo com ADN por intercalação, o orbital π^* dos ligantes intercaladores pode interagir com o orbital π dos pares de bases do ADN e, assim, diminuir a transição $\pi-\pi^*$, resultando em batocromismo. Em contrapartida, o orbital π está parcialmente preenchido de elétrons, diminuindo a probabilidade das transições e, conseqüentemente, resultando em hipocromismo.

A intensidade da interação entre o complexo e o ADN pode ser conhecida através do cálculo da constante intrínseca de ligação K_b , de acordo com a equação de Wolfe-Shimer:

$$\frac{[ADN]}{(\varepsilon_a - \varepsilon_f)} - \frac{[ADN]}{(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} \quad (4)$$

Onde $[ADN]$ é a concentração adicionada de ADN; $\varepsilon_a = A_{\text{obs}}/[\text{complexo}]$; ε_f é o coeficiente de absorvidade molar do complexo livre e ε_b é o coeficiente de absorvidade molar do complexo ligado ao DNA. Assim a constante K_b é a razão entre os coeficientes angular e linear de um gráfico $[ADN]/(\varepsilon_a - \varepsilon_f)$ versus $[DNA]$ (LEELA *et al.*, 2015).

A magnitude do valor de K_b é imprevisível para se prever sobre o modo de interação dos compostos com o ADN. A magnitude do valor de K_b e a combinação de batocromismo e hipocromismo são características de intercalação, enquanto o hiperromismo é associado a outros tipos de interação, como atração eletrostática ou por ligação covalente (RAJENDIRAN *et al.*, 2007).

Os espectros obtidos estão ilustrados na Figura 6.17, os mesmos foram obtidos a partir de adições de alíquotas de 20 μL de solução de ADN com concentração de 10^{-4} mol L^{-1} a uma solução do composto $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ em uma concentração de 10^{-5} mol L^{-1} . A solução de $\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})$ foi preparada em 0,5% de DMSO devido ao fato do mesmo ser insolúvel na solução tampão de $\text{pH} = 7,2$ sem a presença de DMSO.

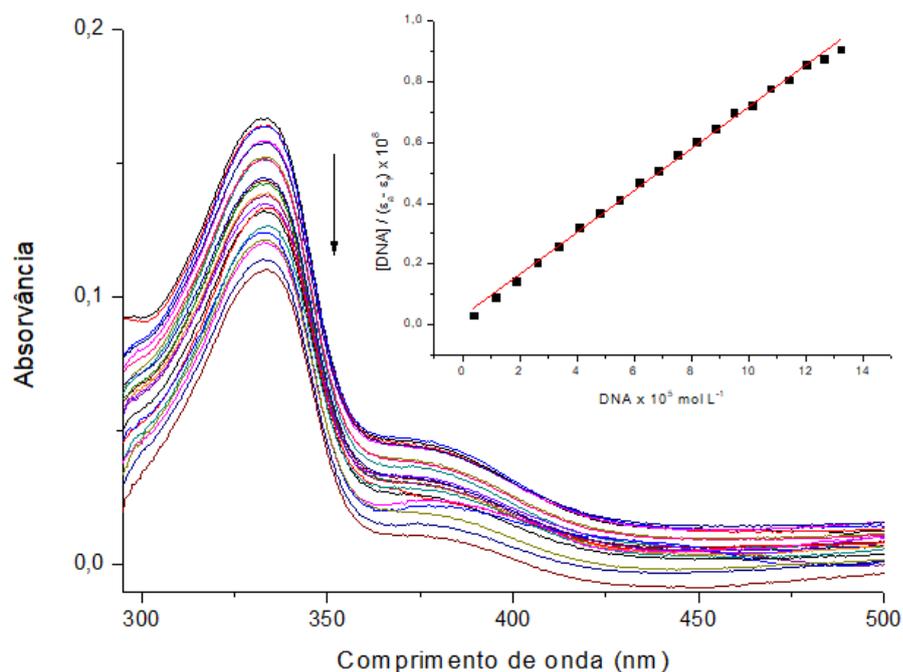


Figura 6.17: Espectro de absorção na região de 330 nm.

Pela análise dos espectros obtidos para o $[Cu(ndx)(8-hql)]_n$, observa-se um efeito de hipocromismo, e o valor de K_b calculado foi de $2,47 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ para a região de 0 a 330 nm. Este efeito hipocrômico e o valor de K_b da ordem de 10^5 são compatíveis com outros complexos de cobre(II) e quinolonas reportados na literatura, os valores de K_b constatados são de magnitude de 10^5 e 10^6 M^{-1} (LOGANATHAN *et al.*, 2017). Observa-se um deslocamento para região do vermelho, de 5 nm caracterizando um efeito batocrômico para a região de 330 nm. Intercalantes apresentam valores de K_b da ordem de 10^6 a 10^7 M^{-1} (LEELA *et al.*, 2015). Portanto, em acordo com os resultados de viscosidade, o $[Cu(ndx)(8-hql)]_n$ possivelmente atua ligando-se aos sulcos do ADN.

Não houve o aparecimento de ponto isobéstico na análise, ou seja, não existe um comprimento de onda onde a absorvância das medidas teve o mesmo valor, este fato indica que não existem espécies distintas em equilíbrio.

7 Conclusões

A partir dos dados obtidos pelas análises conclui-se que o composto preparado possui uma geometria piramidal de base quadrada e também trata-se de um polímero de coordenação unidimensional onde sua extensão ocorre devido à formação de uma coordenação fora do plano de um grupo carboxilato que já se encontra coordenado. Pelas análises foi possível concluir que a estrutura polimérica é rompida quando o $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ encontra-se em solução, formando espécies monoméricas possivelmente de geometria quadrática planar podendo ou não conter moléculas de solventes ocupando as posições axiais.

Os resultados da ressonância paramagnética eletrônica demonstraram parâmetros consistentes com uma geometria de quadrática planar, para o qual as distâncias dos ligantes no plano são de cerca 1,91-1,99 Å, sendo a distância entre plano de 2,54 Å. As análises das propriedades magnéticas do composto $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ demonstraram um acoplamento antiferromagnético fraco entre os íons cobre(II), este fato é reforçado pela análise de RPE onde observa-se um valor coerente com o fato de existir uma interação antiferromagnética fraca. Este tipo de comportamento é esperado de acordo com a conformação anti-anti da ponte carboxilato e interações dos orbitais *d* na simetria observada.

O $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ demonstrou uma atividade antineoplásica promissora. As análises titulométrica e de viscosidade com o ADN mostraram que possivelmente o $[\text{Cu}(\text{ndx})(8\text{-hql})]_n$ se liga aos sulcos de ADN interagindo com essa biomolécula de forma não-intercalativa, podendo esta ser a explicação para a atividade antitumoral. Estudos biológicos podem ser realizados futuramente para explorar em maior profundidade a atividade do composto preparado frente a bactérias resistentes aos antibióticos quinolônicos já existentes e tumores em modelos *in vivo*.

Referências Bibliográficas

ABRAGAN, A.; BLEANEY, B. “Ressonância Paramagnética de íons de transição”. Dover, Capítulo 7, 455-466. Nova Iorque. 1986.

ADDISON, A. W.; RAO, T. N.; REEDIJK, J.; VAN RIJN, J.; VERSCHOOR, G. C. “Synthesis, structure, and spectroscopic properties of copper (II) compounds containing nitrogen-sulphur donor ligands; the crystal and molecular structure of aqua[1,7-bis(N-methylbenzimidazol-2'-yl)-2,6-dithiaheptane]copper(II) perchlorate. **Dalton Transactions**. 1349-1356. 1989.

ANDRIOLE, V. T. The quinolones: Past, present, and future. **Clin. Infect. Dis.** 41(Suppl. 2), S113–S119. 2005

ATKINS, P.W.; SHRIVER, D. F.; OVERTON, T.L.; ROURK, E. J. P.; WELLER, M. T.; ARMSTRONG, F. A. “Inorganic Chemistry”. Fourth Edition, Artmed. P.204-205, 628- 630. 2006.

BERALDO, H. “Semicarbazonas e tiosemicarbazonas: o amplo perfil farmacológico e usos clínicos”. **Quím. Nova**, vol.27, 3. 2004.

BLONDEAU, J. M. “Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review”. **Clin Ther.**, 1999, 21, 3–40.

CADENAS, E.; DAVIES, K. J. A. “Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging”. **Free Rad. Biol. Med.** 2000, 29, 222- 230.

CARPENTIER, Y.; LIAUTAUD-ROGER, F.; LABBE, F.; LOIRETTE, M.; COLLERY, P.; CONINX, P. **Anticancer Res.** 1987 Jul-agosto; 7 (4b): 745-87

CHALKIDOU, E.; PERDIH, F.; TUREL, I.; KESSISSOGLU, D. P.; PSOMAS. L. “Copper(II) complexes with antimicrobial drug flumequine: structure and biological evaluation”. **J. Inorg. Biochem** 113 (2012) 55-65

CHITAMBAR, C.R.; NARASIMHAN, J.; GUY J., SEM D.S.; O'BRIEN, W.J; “Inhibition of ribonucleotide reductase by gallium in murine leukemic L1210 cells”; **Cancer Res** 51(1991) 6199–6201.

CIAMPOLINI, M.; SACCONI, L., Pseudo-tetrahedral Structure of Some a-Branched Copper(II) Chelates with Schiff Bases, **Journal of the Chemical Society**. (1964) 276–280.

COLLERY, P.; LECHENAULT, F.; CAZABAT, A.; JUVIN, E.; KHASSANOVA, L.; EVANGELOU, A.; KEPPLER, B. **Anticancer Res.** 2000 Mar-Apr; 20 (2A): 955-8.

COLACIO, E.; DOMÍNGUEZ-VERA, J.M.; GHAZI, M.; KIVEKÄS, R.; KLINGA M.; MORENO, J.M. "Singly anti-anti Carboxylate-Bridged Zig-Zag Chain Complexes from a Carboxylate-Containing Tridentate Schiff Base Ligand and $M(hfac)_2$ [$M = Mn(II), Ni(II),$ and $Cu(II)$]: Synthesis, Crystal Structure". **Eur. J. Inorg. Chem.** (1999) 441–445.

CHALKIDOU, E.; PERDIH, F.; TUREL, I.; KESSISSOGLU, D. P.; PSOMAS, L. "Copper complexes with antimicrobial drug flumequine: structure and biological evaluation". **J. Inorg. Biochem.** 113:55-65. 2012.

DEBNATH, A; MOGHA, N.K, MASRAM. D.T. "Metal complex of the First-Generation Quinolone Antimicrobial Drug Nalidixic Acid: Structure and its Biological Evaluation". **Appl Biochem Biotechnol.** 175(5):2659-2667. 2015.

Disponível em: http://www.crq4.org.br/quimica_viva__os_metais_e_a_saude_humana acesso em: 20/08/2017 às 22:15

Disponível em: <http://www.rcsb.org/structure/1O8A> acesso em: 20/08/2017 às 20:00

FENTON, H. J. H. Oxidation of tartaric acid in presence of iron. **J. Chem. Soc. Trans.** 1894, 65, 899-910.

FORD, A. M.; RIDGE, S. A.; CABRERA, M. E.; MAHMOUD, H.; STEEL, C. M.; CHAN, L. M.; GREAVES, M. "In utero rearrangements in the tritorax-related oncogene in infant leukemia. **Nature.** 363: 358-360.

GEARY, W.J. "The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds". **Coord. Chem. Rev.** (7) 81-122. 1971.

GUNASEKARAN, S.; NATARAJAN, R.K.; RATHIKHA, R.; SYAMALA, D. "Vibrational spectra and normal coordinate analysis of nalidixic acid". **Indian Journal of Pure and Applied Physics.** Vol 43 pp 503-508. 2005.

HAEILI, M.; MOORE, C.; DAVIS, C. J. C.; SHAH, J. B. S.; SHRESTHA, T. B.; ZHANG, S. H.; BOSSMANN, BENJAMIN, W. H.; KUTSCH, O.; WOLSCHELDORF, F. "Copper Complexation Screen Reveals Compounds with Potent Antibiotic Properties against

Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*” **Antimicrob Agents Chemother.** Jul; 58(7): 3727–3736. 2014.

HART, E. B.; STEENBOCK, H.; WADDELL, J.; ELVEHJEM, C. A. Iron in nutrition. VII. Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. **J. Biol. Chem.**, 77, 797-812. 1928.

HILDEBRANT, J.; HAFNER, N.; GORLS, H.; KRITSCH, D.; FERRARO, G.; DURST, M.; RUNNEBAUM, I. B.; MERLINO, A.; WEIGAND, W. “Platinum(II) O, S complexes as potential metallodrug against Cisplatin Resistance.” **Dalton Transactions**.p.2. 2016.

JAKUPEC, M.A.; RUDNEV, A.V.; FOTEEVA, L.S.; KOWOL, C.; BERGER, R.; ARION, V.B.; TIMERBAEV, A.R.; KEPPLER, B.K. **J Inorg Biochem.** Novembro; 100 (11): 1819-1826. 2006.

JURANKA, P. F.; ZASTAWNY, R. L.; LING, V. “P-glycoprotein: multidrug resistance and a super-family of membrane-associated transport proteins. **Faseb. J.** 3. 2583-2592.

KANEKO, Y.; THOENDEL, M.; OLAKANMI O.; BRITIGAN B.E.; P. K. SINGH. “The transition metal gallium disrupts *Pseudomonas aeruginosa* iron metabolism and has antimicrobial and antibiofilm activity”. **J. Clin. Invest.** 117, 877-888. 2007.

KATSAROU, M. E.; EFTHIMIADOU, E. K.; PSOMAS, L.; KARALIOTA, U. M.; VOURLIOMIS, D. “Novel complex of N-propyl-norfloxacin and 1,10-phenanthroline with enhanced antileukemic and DNA nuclease activities”. **J. Med. Chem.** 51(3). 470-8. 2008.

L.R. BERNSTEIN; “Mechanisms of therapeutic activity for gallium”; **Pharmacol. Rev.** 50 (1998) 665-682.

MASUOKA, J.; HEGENAUER, J.; VAN DYKE, B. R.; SALTMAN, P. “Intrinsic stoichiometric equilibrium constants for the binding of zinc (II) and copper(II) to the high affinity site of serum albumin”. **J. Biol. Chem.**, 268, 21533-21537. 1993.

MELNIK, G.; SCHWESINGER, W. H.; DOGOLO, L. C.; TENG, R.; VINCENT, J. **Am. J. Surgery**, 176(Suppl 6A), 14S–17S. 1998.

MJOS, K. D.; ORVIG, C. “Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry” **Chem. Rev.**, 2014, 114 (8), p. 4540–4563.

NETO, B. A. D.; LAPIS, A. M. "Recent Developments in the Chemistry of Deoxyribonucleic Acid (DNA) Intercalators: Principles, Design, Synthesis, Applications and Trends. **Molecules**, 14(5), 1725-1746. 2009.

PASETTO, L. M.; D'ANDREA, M.R. BRANDES, A.A.; ROSSI, E.; MONFARDINI, S. "The development of platinum compounds and their possible combination". **Critic. Rev. Oncol. Hematol**,60(1): p. 59-75.2006

PERLETTI, G.; WAGENLEHNER, F. M. E.; NABER, K. G.; MAGRI, V. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 2009, 33, 206–210.

ROSALENN, J.; GROUNDWATER, P.; TODD, W.; WORSLEY, A. "Antibacterial agents. Chemistry, Mode of action, Mechanisms of Resistance and Clinical Applications". **Wiley and sons**. P.40. 2012.

ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; JAMES, E.; MANSOUR, V. H. "Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents". **Nature** 222, 385–386 (26 April 1969).

SHEBL, M.; EL-GHAMRY, M. A.; KHALIL, S. M. E.; KISHK, M. A. A. "Molecular and Biomolecular Spectroscopy Mono- and binuclear copper (II) complexes of new hydrazone ligands derived from 4 , 6-diacetylresorcinol : Synthesis , spectral studies and antimicrobial activity". **Spectrochim Acta Part a Mol Biomol Spectrosc** 126:232–241. 2014

SOUZA, M. V. N.; ALMEIDA, M.V.; DA SILVA, A. D.; COURI, M. R. C. "Ciprofloxacina, uma importante fluorquinolona no combate ao antraz". **Rev. Bras. Farm**, 85(1): 13-18. 2004.

TARDITO, S.; MARCHIO. L. "Copper Compounds in Anticancer Strategies". **Current Medicinal Chemistry**, 2009, 16, 1325-1348.

THOMPSON, K.H.; BARTA, C.A.; ORVIG, C. *Chem Soc Rev.* 2006 Jun; 35 (6): 545-56.Gallium maltolate is a promising chemotherapeutic agent for the treatment of hepatocellular carcinoma. **Anticancer Res.** 2006; 26 (3A):1739–1743.

TOYOKUNI, S. Iron-induced carcinogenesis: The role of redox regulation. **Free Rad. Biol. Med.** 1996, 20, 553-566.

UAUY, R.; OLIVARES, M.; GONZALEZ, M. Essentiality of copper in humans. **Am. J. Clin. Nutr.** 1998, 67, 952S-959S.

VISTELLE, R.; COLLERY, P.; MILLART, H. “*In vivo* de distribuição de gálio em ratos saudáveis após administração oral e interações com ferro, de magnésio e de cálcio”. **Traço Elem Med.** 1989; 6 : 27-32.

WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. **Nat Rev Drug Discov**, v. 4, n. 4, p.307-320, 2005.

WAGNER, C. C.; GONZÁLEZ-BARÓ. A.C.; BARAN. E. J. “Vibrational spectra of the Ga(III) complexes with oxine and clioquinol”. **Spect.Chim.Act**, 79, 1762-1765. 2011.

WENZEL, M.; BERTRAND, B.; EYMIN, M.; COMTE, V.; HARVEY, J. A.; RICHARD, P.; GROESSEL, M.; ZAVA, O.; AMROUCHE, H.; HARVEY, P.D.; GENDRE, P.; PICQUET, M.; CASINI, A. “Multinuclear cytotoxic metallodrugs: psysicochemical characterization and biological properties of novel heteronuclear gold-titanium complexes”.**Inorg.Chem.** v.50, p.9472-9480, 2011.

WHEAT, N. J.; WALKER, S.; CRAIG, G. E.; OUN. R.”The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials”. **Dalton Transactions.** 39(35): 8116-27. 2010

WILLIAMS, G. M.; OLMSTED, J. A. “Chemistry”. 4 edition. 2007.