

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA DE
MINAS GERAIS

LORRANE DINIZ DE CARVALHO SILVA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE CITOTOXICIDADE DE
NOVOS COMPLEXOS DE COBRE(II) COM OS LIGANTES IMIDAZÓLICOS
TEOFILINA E IMIDAZOL

BELO HORIZONTE

2024

LORRANE DINIZ DE CARVALHO SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE CITOTOXICIDADE DE
NOVOS COMPLEXOS DE COBRE(II) COM OS LIGANTES IMIDAZÓLICOS
TEOFILINA E IMIDAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais no Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Ívina Paula de Souza

BELO HORIZONTE

2024

Silva, Lorrane Diniz de Carvalho.
S586s Síntese, caracterização e estudo de citotoxicidade de novos complexos de cobre(II) com os ligantes imidazólicos teofilina e imidazol / Lorrane Diniz de Carvalho Silva. – 2024.
77 f. : il.
Orientadora: Ívina Paula de Souza.
Dissertação (mestrado) – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2024.
Bibliografia.

1. Cobre - Síntese. 2. Teofilina. 3. Imidazol. 4. Ligantes (Bioquímica). 5. Complexos metálicos. 6. Atividade biológica I. Souza, Ívina Paula de. II. Título.

CDD: 572.518

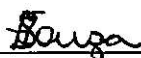
LORRANE DINIZ DE CARVALHO SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE CITOTOXICIDADE DE NOVOS
COMPLEXOS DE COBRE(II) COM OS LIGANTES IMIDAZÓLICOS TEOFILINA E
IMIDAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

Belo Horizonte, 02 de setembro de 2024.

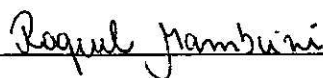
Aprovado pela Banca Examinadora:



Profa. Dra. Ivina Paula de Souza (Presidente)



Profa. Dra. Priscila Pereira Silva Caldeira



Profa. Dra. Raquel Vieira Mambrini



Prof. Dr. Flávio Santos Freitas

AGRADECIMENTOS

Sou grata primeiramente a Deus pela vida e por todas as oportunidades que tive no decorrer dessa jornada acadêmica. Nunca imaginei ser aluna de mestrado, mas Ele me conduziu até aqui.

Agradeço aos meus pais, Rogério (*in memoriam*) e Rosane, por tanto me apoiar, me impulsionar e me inspirar, sempre. Obrigada, mãe, por me acompanhar em cada apresentação de trabalho, estando sempre com carinha de felicidade ao me prestigiar. Eu amo muito vocês! Agradeço também a toda minha família, em especial às minhas avós Ana Lúcia e Maria Isabel, mulheres fortes que sempre me inspiraram e continuam me inspirando.

Agradeço ao Laboratório de Genética Bioquímica (LGB) da Universidade Federal de Minas Gerais, lugar em que fui servidora pública por quase 6 anos e que foi o maior incentivo para que eu escolhesse seguir a área da pesquisa e principalmente, que me encaminhou para a minha paixão: a Química. Agradeço aos meus antigos chefes do LGB, em especial o prof. Dr. Carlos Renato e agradeço também aos amigos do LGB: Prof. Dr. Erich, Adalberto, Amanda, Wesley e principalmente à Jéssica, pela amizade de sempre, pelos conselhos, pelo carinho e pela paciência de me ensinar os experimentos de biologia molecular que eu sempre achei que fossem impossíveis de aprender, e ao Darlan, por sempre me fazer rir e me ajudar a repetir os experimentos. Admiro muito vocês, os verdadeiros cientistas brasileiros!

Sou grata ao meu namorado, Raphael Lucas, por tanto me incentivar e se orgulhar tanto de mim, mesmo nas pequenas conquistas. Obrigada por ser meu amigo, meu companheiro de vida, que sempre está ali pra me consolar e se alegrar comigo. Espero ser pra você a mesma fortaleza que você é pra mim.

Um agradecimento mais que especial para a minha orientadora Prof. Dra. Ivina Paula de Souza. Você sempre foi uma inspiração e uma verdadeira mãe acadêmica. Não consigo imaginar se eu conseguiria chegar até aqui se não fosse o seu cuidado, a sua atenção, a sua dedicação, o seu incentivo e as suas palavras. Mesmo nos momentos em que eu me sentia bem pouco, você sempre trazia uma energia boa e palavras de incentivo. Muito obrigada pela oportunidade de ter sido orientada por você.

Agradeço e dedico este trabalho às minhas irmãs, Larissa Odilia e Ana Júlia, por sempre me fazerem uma pessoa melhor e me darem tanto amor. Vocês foram presentes de Deus para as nossas vidas e vocês são o motivo de eu nunca desistir.

E por último, agradeço imensamente a todos meus amigos!

RESUMO

Fármacos são compostos de extrema importância na manutenção da saúde humana, sendo assim a busca por novos fármacos é uma demanda social contínua frente aos desafios que surgem ao longo do tempo como a eclosão de novas doenças, a resistência aos tratamentos terapêuticos já existentes, e a inexistência de medicamentos eficazes no combate a determinadas enfermidades. Alguns complexos metálicos têm demonstrado eficácia no tratamento de uma série ampla de doenças e condições e isso tem ocasionado um interesse crescente nestes compostos para a utilização farmacêutica. Uma estratégia importante na obtenção de novos complexos metálicos consiste na síntese utilizando ligantes conhecidamente bioativos. Dessa forma, neste trabalho foram sintetizados e caracterizados dois novos complexos metálicos de cobre(II), ambos contendo os ligantes imidazólicos bioativos teofilinato (theo) e imidazol (imd), sendo eles: o complexo **1** ($[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{imd})_2]$) e o complexo **2** ($[\text{Cu}(\text{theo})(\text{H}_2\text{O})(\text{imd})_3](\text{Cl})\cdot\text{H}_2\text{O}$). Os dois novos compostos sintetizados foram caracterizados por análise elementar, absorção atômica, medidas condutimétricas, espectroscopia vibracional na região do infravermelho e espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta–visível. O complexo **1** também foi caracterizado por análise térmica e difração de raios X em pó (DRXP). A evaporação lenta de uma solução do complexo **2**, em metanol e água na proporção de 1:1, levou à formação de cristais que tiveram sua estrutura determinada por difração de raios X por monocristais (DRX). Através das caracterizações foi possível elucidar a estrutura química dos complexos desenvolvidos. Pela técnica de eletroforese em gel de agarose observou-se que o complexo **2** apresentou habilidade de clivar o DNA plasmidial. Testes citotóxicos dos complexos com células de leucemia mielóide crônica, K562, mostraram que os complexos metálicos desenvolvidos não possuem atividade antitumoral para essa linhagem celular.

Palavras-chave: Potencial Atividade Biológica, Complexos de Cobre, Teofilina, Imidazol, Ligantes imidazólicos.

ABSTRACT

Drugs are compounds of extreme importance in maintaining human health, therefore the search for new drugs is a continuous social demand in the face of challenges that arise over time, such as the outbreak of new diseases, resistance to existing therapeutic treatments, and the lack of effective medicines to combat certain illnesses. Some metal complexes have demonstrated efficacy in the treatment of a wide range of diseases and conditions and this has led to a growing interest in these compounds for pharmaceutical use. An important strategy for obtaining new metal complexes consists of synthesis using known bioactive ligands. In this work two new metallic copper(II) complexes were synthesized and characterized, both containing the bioactive imidazole ligands theophyllinate (theo) and imidazole (imd): complex **1** ($[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{imd})_2]$) and complex **2** ($[\text{Cu}(\text{theo})(\text{H}_2\text{O})(\text{imd})_3](\text{Cl})\cdot\text{H}_2\text{O}$). The two new complexes were characterized by elemental analysis, atomic absorption, conductimetric measurements, vibrational spectroscopy in the infrared region, and electronic spectroscopy in the ultraviolet–visible region. Complex **1** was also characterized by thermal analysis and powder X-ray diffraction (PXRD). Slow evaporation of a solution of complex **2** in methanol and water in 1:1 ratio led to formation of crystals whose structure was determined by single crystal X-ray diffraction (XRD). Through the characterizations, it was possible to elucidate the chemical structure of the developed complexes. By means of agarose gel electrophoresis, it was observed that complex **2** showed the ability to cleave plasmid DNA. Cytotoxic tests of the complexes with chronic myeloid leukemia cells, K562, showed that the developed metal complexes do not have antitumor activity for this cell line.

Keywords: Potential Biological Activity, Copper Complexes, Theophylline, Imidazole, Imidazole ligands.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 : Representação estrutural dos isômeros <i>cis</i> e <i>trans</i> -diaminodicloroplatina(II)..	16
Figura 2 : Representação esquemática da entrada da cisplatina em meio intracelular e mecanismo de hidrólise do composto para suas espécies ativadas com posterior ligação com o DNA nuclear	16
Figura 3 : Interações de derivados da cisplatina com as bases nitrogenadas guanina (a) e adenina (b).	17
Figura 4 : Adultos intrafitas do tipo <i>cis</i> -GG (a), <i>cis</i> -GNG (b), <i>cis</i> -GA (c), aduto monofuncional (d) e aduto interfitas (e).	18
Figura 5 : Mecanismo de produção de ERO's através do ciclo de reação a partir de oxigênio molecular e ascorbato utilizando íons cobre	20
Figura 6 : Representação esquemática da ação de compostos quelantes na cuproplasia (a) e da ação de compostos ionóforos na cuproptose.	21
Figura 7 : Estrutura química do composto em triagem clínica - Casiopeína-III-ia	23
Figura 8 : Estrutura química do composto Elesclomol– Cu(II)	23
Figura 9 : Representação da estrutura base das metilxantina (a) e estrutura química da teofilina (b).	24
Figura 10 : Estrutura química do complexo metálico Cu(theo) ₂ phen(H ₂ O)·5H ₂ O	25
Figura 11 : Estrutura química do complexo metálico [Cu(theo) ₂ (H ₂ O) ₃]	26
Figura 12 : Estrutura química do imidazol	26
Figura 13 : Substâncias que contém o anel imidazólico em sua estrutura	27
Figura 14 : Complexos metálicos contendo derivados de imidazol. Em (a) tem-se a estrutura química do complexo de platina(II) e em (b) tem-se a estrutura base dos complexos de cobre(II)	28
Figura 15 : Representação para desprotonação do ligante Htheo pelo NaOH, reação em solução aquosa	37
Figura 16 : Representação para o preparo do complexo 1, [Cut(theo) ₂ (H ₂ O)(imd) ₂], em H ₂ O	38
Figura 17 : Imagem sem escala do complexo 1 seco	38
Figura 18 : Representação para o preparo do complexo 2, [Cut(theo)(imd) ₃ (H ₂ O)]Cl·H ₂ O, em H ₂ O e MeOH	39
Figura 19 : Imagem sem escala dos cristais azuis de complexo 2, restando ainda solvente não evaporado	40

Figura 20 : Espectros vibracionais na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) dos complexos 1 e 2 e dos ligantes livres Htheo e imd reunidos em um único gráfico ..	44
Figura 21 : Estrutura química do isômero da teofilina: isomeria anular associada à transferência de prótons de N7 para N9	45
Figura 22 : Espectro UV-Vis da (a) Htheo e (b) do complexo $[\text{Mn}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_4]$ em baixas concentrações	46
Figura 23 : (a) Espectros eletrônicos de soluções, em EtOH, do complexo 1 (linha verde —), do complexo 2 (linha azul —) e seus ligantes, teofilina (linha tracejada ---) e imidazol (linha preta contínua —), na concentração $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Imagem ampliada na região de 245–350 nm	47
Figura 24 : Espectro eletrônico da solução $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do Complexo 1, em DMSO e H_2O	48
Figura 25 : (a) Espectros eletrônicos de soluções do Complexo 2 e do ligante Htheo, em DMSO e H_2O , ambas na concentração de $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Imagem ampliada na região de 245–350 nm	49
Figura 26 : Análise térmica [curva TG (linha preta) e DTG (linha vermelha)] do Complexo 1 realizada em atmosfera de N_2 com taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$	51
Figura 27 : Representação da unidade estrutural determinada para o complexo 2 $[\text{Cu}(\text{theo})(\text{imd})_3(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$	52
Figura 28 : Representação das ligações de hidrogênio no cristal do complexo 2	52
Figura 29 : Difratoograma característico do complexo 1	55
Figura 30 : Modificações nos difratogramas de Difração de Raios X em Pó (DRXP) devido à mudança de estrutura cristalina do composto: Furosemida comercial, Forma I, Forma II, Forma III, Forma IV e Forma V	56
Figura 31 : Ilustração de uma bactéria mostrando DNA cromossômico e plasmídeos (sem escala)	57
Figura 32 : Representação esquemática das 3 formas (FI, FII e FIII) do DNA plasmidial e de como essas formas se apresentam em um gel de agarose de eletroforese	58
Figura 33 : Mecanismo de clivagem hidrolítica do DNA, ilustrando o ataque nucleofílico do oxigênio e ruptura da ligação fosfodiéster	59
Figura A1 : Espectro vibracional na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) do complexo 1 obtido por ATR-FTIR.....	76

Figura A2: Espectro vibracional na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) do complexo 2 obtido por ATR-FTIR.....	76
Figura A3: Espectro vibracional na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) do ligante livre Htheo obtido por ATR-FTIR	77
Figura A4: Espectro vibracional na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) do ligante livre imd obtido por ATR-FTIR.....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 : Valores de IC ₅₀ para alguns complexos de cobre(II) com ligantes teofilinato e ligante Htheo em linhagem de células de leucemia mieloide crônica K562	26
Tabela 2 : Exemplos de compostos derivados de imidazol e sua respectiva atividade farmacológica	29
Tabela 3 : Dados gerais dos reagentes e solventes utilizados nos procedimentos e preparações	32
Tabela 4 : Dados obtidos para as análises elementares e condutimétricas dos complexos de cobre(II) contendo os ligantes teofilinato e imidazol	43
Tabela 5 : Atribuição de frequências (cm ⁻¹) na região do infravermelho (4000 – 400 cm ⁻¹) dos ligantes livres imd e Htheo e dos complexos 1 ([Cu(theo) ₂ (imd) ₂ (H ₂ O)]) e 2 ([Cu(theo)(imd) ₃ (H ₂ O)](Cl)·H ₂ O)	44
Tabela 6 : Dados de decomposição térmica do complexo 1	50
Tabela 7 : Dados Cristalográficos e Refinamento para determinação da estrutura do	53
Tabela 8 : Comprimentos de ligação, em Å, para os átomos na esfera de coordenação do íon cobre(II) na estrutura do complexo 2. Os desvios são mostrados entre parênteses	53
Tabela 9 : Ângulos de ligação, em °, para os átomos na esfera de coordenação do íon cobre(II) na estrutura do complexo 2. Os desvios são mostrados entre parênteses ..	54
Tabela 10 : Ligação de hidrogênio (Å, °)	54
Tabela 11 : Tabela dos parâmetros de rede obtidos a partir do refinamento dos dados de Difração de Raios X de Pó referentes ao complexo 1	55
Tabela 12 : Dados cristalográficos dos ligantes (a) Imidazol, (b) Teofilina e do (c) Complexo [Cu(theo) ₂ (H ₂ O) ₃]·2H ₂ O	56

ABREVIATURAS

ν – Frequência de estiramento

ATR – Reflectância total atenuada (*attenuated total reflectance*)

CEFET-MG – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais

CHN – Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio

Cisplatina – *cis*-diaminodicloroplatina(II) – $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$

DMSO – Dimetilsulfóxido – $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DRX – Difração de raios-X

DRXP – Difração de raios-X em pó

DTG – Termogravimetria derivada

Eb – Brometo de etídio

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

ERO's – Espécies reativas de oxigênio

EtOH – Etanol – $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

FDA – Food and Drug Administration

FI – Forma 1 (superenovelada)

FII – Forma 2 (circular aberta)

FIII – Forma 3 (linear)

FTIR – Infravermelho por transformada de Fourier (*Fourier transform infrared*)

Htheo – Teofilina – 1,3-dimetil-7H-purina-2,6-diona – $\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$

imd – Imidazol – $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$

IV – Infravermelho

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

LGB – Laboratório de Genética Bioquímica

MeOH – Metanol – CH_3OH

NHGRI — Instituto Nacional de Pesquisa do Genoma Humano (*National Human Genome Research Institute*)

Pb — Pares de base

phen — 1,10-fenantrolina

pROCK — pROCKGFPNeo

RNA — Ácido ribonucleico

TAE — Tampão tris/acetato–EDTA

TG — Termogravimetria

theo — Teofilinato — 1,3-dimetil-purina-2,6-diona — $(C_7H_7N_4O_2)^-$

UFMG — Universidade Federal de Minas Gerais

UV–Vis — Ultravioleta e visível

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 COMPOSTOS INORGÂNICOS NA MEDICINA	15
1.2 APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DO COBRE	18
1.3 APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DA TEOFILINA	24
2. OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3. MATERIAIS E REAGENTES	32
3.1 REAGENTES E SOLVENTES	32
4. INSTRUMENTOS E MÉTODOS	33
4.1 ANÁLISE ELEMENTAR – CHN	33
4.2 ABSORÇÃO ATÔMICA	33
4.3 ANÁLISES CONDUTIMÉTRICAS	33
4.4 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	34
4.5 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL	34
4.6 ANÁLISE TÉRMICA	34
4.7 MEDIDAS CRISTALOGRÁFICAS DE MONOCRISTAL	35
4.8 MEDIDAS CRISTALOGRÁFICAS DE POLICRISTAIS	35
4.9 INTERAÇÕES COM DNA DE PLASMÍDEO	35
5. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	37
5.1 SÍNTESE DOS COMPLEXOS	37
5.2 CLIVAGEM OXIDATIVA DE DNA DE PLASMÍDEO	40
5.3 TESTES DE CITOTOXICIDADE NA LINHAGEM CELULAR K562	41
6. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE COBRE(II) COM OS LIGANTES IMIDAZÓLICOS TEOFILINA E IMIDAZOL	42
6.1 ANÁLISE ELEMENTAR, ABSORÇÃO ATÔMICA E MEDIDAS DE CONDUTIMETRIA	42
6.2 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO	43
6.3 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL	46
6.4 ANÁLISE TÉRMICA	50
6.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X DE MONOCRISTAIS – DRX	51

6.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS X de PÓ – DRXP	54
7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA E INTERAÇÃO COM ALVOS CELULARES DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE COBRE(II) COM OS LIGANTES IMIDAZÓLICOS TEOFILINA E IMIDAZOL	57
7.1 CLIVAGEM OXIDATIVA DE DNA DE PLASMÍDEO	57
7.2 ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS COMPOSTOS NA LINHAGEM K562	63
8. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	64
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
APÊNDICE A.....	76

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento dos fármacos está intimamente associado à história da humanidade, visto que o tratamento de algumas doenças só foi possível via administração de medicamentos e teve como consequência a ampliação da expectativa de vida dos seres humanos. Sendo assim, o uso dos fármacos se tornou imprescindível como opção terapêutica para algumas doenças e condições, podendo ser usados para: a cura, o diagnóstico, a prevenção e o alívio dos sintomas (MIKOVSI *et al.*, 2019; FERRARI; LIMBERGER, 2021).

No entanto, os fármacos já disponíveis no mercado podem possuir uma série de limitações associadas: (i) efeitos adversos; (ii) interações com outros fármacos; (iii) toxicidade elevada; (iv) resistência da doença à medicação utilizada, podendo ser intrínseca ou adquirida no decorrer do tratamento; (v) surgimento de novas doenças (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2020; HUEMER *et al.*, 2020; LOBO *et al.*, 2021; SOARES *et al.*, 2024). Dessa maneira, o desenvolvimento de novos fármacos se torna uma tarefa constante para os pesquisadores.

O avanço tecnológico tem incentivado a comunicação entre as mais variadas áreas de conhecimento que têm relação com a descoberta de novos medicamentos: química, farmácia, medicina, biologia molecular, bioinformática, etc. E, nesse contexto de descoberta, pesquisas envolvendo metalofármacos (fármacos que possuem metais em sua composição, como o fármaco cisplatina que é utilizado para o tratamento de diversos tipos de cânceres e que possui platina em sua composição) têm mostrado grande potencial: a interação entre compostos orgânicos que já são fármacos, com um íon metálico, pode gerar um novo composto com propriedades distintas do composto orgânico originário, conferindo uma série de novas aplicações (COHEN, 2007; MIKOVSKI, 2019; KUMAR *et al.*, 2020; MIRANDA, 2021).

Neste trabalho foram preparados e caracterizados dois novos complexos metálicos de cobre(II) contendo os ligantes imidazólicos teofilina e imidazol, na tentativa de desenvolver novos complexos metálicos com potencial atividade biológica.

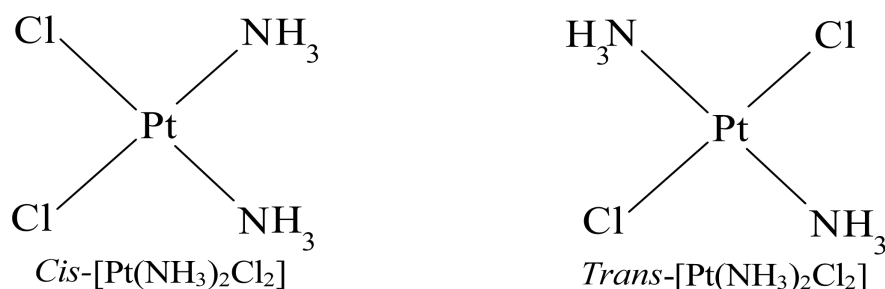
1.1 COMPOSTOS INORGÂNICOS NA MEDICINA

Na medicina, há um interesse especial por compostos inorgânicos que possuem metais em sua composição. Isso porque, em meados do século XX, foram empregados compostos de ouro para o tratamento da tuberculose e, também, foram empregados compostos de arsênio para o tratamento da sífilis. Assim, por se mostrar como alternativa terapêutica para doenças com elevado índice de mortalidade para a época, os compostos inorgânicos passaram a ser cada vez mais investigados (BERALDO, 2005; MIKOVSKI, 2019).

Ainda que alguns compostos de ouro possuam atividade farmacológica contra algumas doenças (artrite reumatoide, principalmente), no contexto do tratamento das doenças de alta mortalidade citadas, os compostos de ouro e de arsênio tiveram sua utilização descontinuada devido à descoberta da penicilina, que era mais eficiente no combate à tuberculose e à sífilis e possuía menores efeitos colaterais (GONTIJO *et al.*, 2005; MIKOVSKI, 2019; SINGH; SHARMA; BHARTI, 2023). No entanto, o cenário mudou mais uma vez para os compostos inorgânicos quando em 1965, Rosenberg e sua equipe descobriram a atividade biológica da cisplatina (*cis*-diaminodicloroplatina(II)) ao realizar ensaios que envolviam a aplicação de uma diferença de potencial sobre uma cultura de bactérias *Escherichia coli*, com a finalidade de estudar o efeito do campo elétrico alternado sobre a cultura dessas bactérias. Foi observado que o crescimento celular era mantido, mas havia a inibição da divisão celular, mesmo após cessar a aplicação do campo elétrico. A equipe de estudos identificou que eram formados produtos oriundos da eletrólise dos eletrodos de platina. Esses, em presença de cloreto de amônio do meio de cultura das células, levava a produção de compostos de coordenação de platina(II). Depois de investigar esses compostos de platina(II), observou-se que a *cis*-diaminodicloroplatina(II) era a responsável pelos efeitos inibitórios analisados (ROSENBERG *et al.*, 1965; JAMIESON *et al.*, 1999; HO *et al.*, 2003).

Os experimentos iniciais de Rosenberg (1965) já indicavam a possível utilização de compostos de platina como agentes antitumorais. Em 1968, ele administrou os dois isômeros, *cis* e *trans* do diaminodicloroplatina(II), Figura 1, em camundongos portadores do tumor sólido sarcoma-180, um tumor usado em ensaios farmacológicos. Com esses experimentos, ele verificou que o isômero *trans* não possuía atividade biológica para combater o tumor, diferentemente do isômero *cis*, que inibiu completamente o desenvolvimento do tumor em 36 dias. O uso da cisplatina como medicamento foi aprovado em 1978 pela FDA – *Food and Drug Administration* – nos Estados Unidos (ROSENBERG *et al.*, 1965; WILTSHAW, 1979).

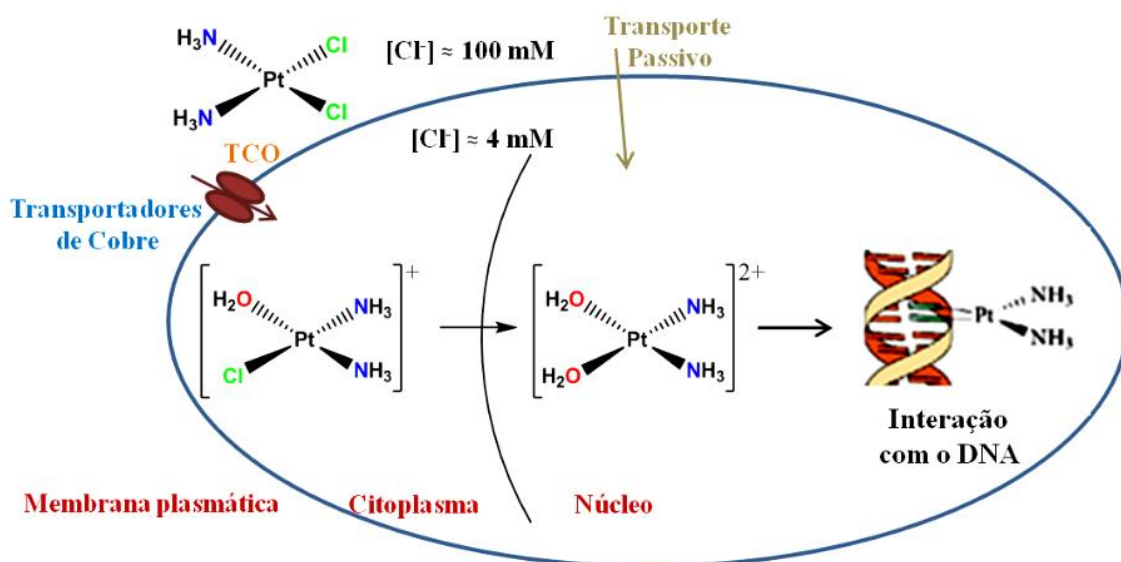
Figura 1: Representação estrutural dos isômeros *cis* e *trans*-diaminodichloroplatina(II)



Fonte: Adaptado de Hottes (2013).

A cisplatina e seus derivados podem interagir com diversos alvos biológicos, como por exemplo RNA (ácido ribonucleico), proteínas, moléculas contendo tiol, etc. No entanto, o principal alvo biológico desses compostos é o DNA (ácido desoxirribonucleico) (FONTES *et al.*, 2005). O mecanismo de ação da cisplatina, no interior das células, consiste em sucessivas reações de hidrólise, de modo que sejam formadas as espécies ativadas $[\text{PtCl}(\text{H}_2\text{O})(\text{NH}_3)_2]^+$ e $[\text{Pt}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{NH}_3)_2]^{2+}$, que reagem mais rapidamente com os alvos celulares (Figura 2) (NEVES; VARGAS, 2011).

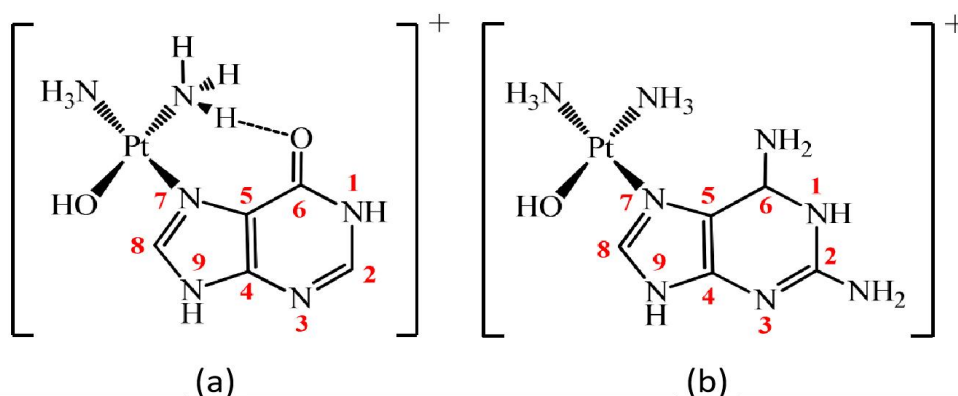
Figura 2: Representação esquemática da entrada da cisplatina em meio intracelular e mecanismo de hidrólise do composto para suas espécies ativadas com posterior ligação com o DNA nuclear



Fonte: Neves e Vargas (2011).

No DNA, os derivados da cisplatina tendem a se ligar ao nitrogênio que se encontra na posição 7 (N7) das purinas (bases nitrogenadas adenina e guanina). Devido à interação do tipo ligação de hidrogênio que ocorre envolvendo o ligante amônia do composto com o átomo de oxigênio da guanina, a ligação complexo-guanina é mais estável que a ligação complexo-adenina, o que torna preferencial a interação da cisplatina com a guanina (Figura 3).

Figura 3: Interações de derivados da cisplatina com as bases nitrogenadas guanina (a) e adenina (b).

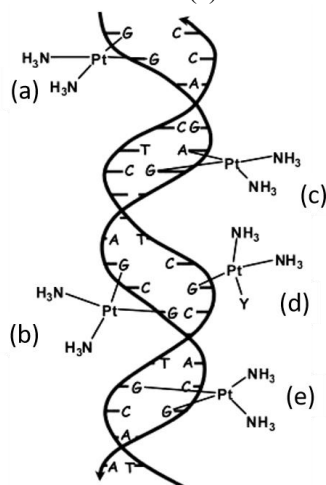


Fonte: Souza (2018).

A cisplatina e seus derivados formam diversos adutos com o DNA (Figura 4). Esses adutos podem ser definidos como produtos da adição direta do complexo ao DNA, formando uma só estrutura. Os adutos podem ser (i) intrafita, quando a ligação se dá em apenas uma fita de DNA ou (ii) interfita, quando o complexo se liga simultaneamente às duas fitas de DNA. Quando ocorre o aduto intrafita, o complexo pode interagir com duas guaninas adjacentes (*cis*-GG, 47-50% dos adutos formados), duas guaninas não adjacentes (*cis*-GNG, 23-28% dos adutos formados) ou uma guanina e uma adenina adjacentes (*cis*-GA, 8-10% dos adutos formados). No caso dos derivados da cisplatina, pode haver ainda o aduto monofuncional, no qual o complexo se liga a apenas uma base nitrogenada do DNA (JAMIESON *et al.*, 1999; WOŹNIAK; BŁASIAK, 2002; SOUZA, 2018).

A formação destes adutos causa distorção da estrutura helicoidal do DNA, causando danos. Há mecanismos celulares que tentam realizar o reparo desses danos. Caso a célula não consiga estabelecer nenhum mecanismo de reparo aos danos no DNA, o processo de replicação e transcrição celular será comprometido, ocasionando a morte celular. (BORGES; LINDEN; WANG, 2007; BASU; KRISHNAMURTHY, 2010; SOUZA, 2018).

Figura 4: Adultos intrafitas do tipo cis-GG (a), cis-GNG (b), cis-GA (c), aduto monofuncional (d) e aduto interfitas (e).



Fonte: Pizarro *et al.* (2009).

Os compostos inorgânicos contendo metais possuem grande potencial na aplicação médica devido às suas características: (i) há vários metais que são essenciais para o organismo humano; (ii) possibilidade de variação nos estados de oxidação, favorecendo a solubilização dos compostos em meio fisiológico; (iii) os metais, por serem comumente catiônicos, podem interagir com vários alvos biológicos, como proteínas e DNA; (iv) a interação de um composto orgânico com o metal pode modificar as propriedades físico-químicas desse composto, podendo assumir formas mais ativas dentro dos organismos vivos (ORVIG *et al.*, 1999).

Desta maneira, vários compostos metálicos têm sido utilizados nos últimos anos nas mais diversas aplicações, podendo citar o uso de compostos para suplementação vitamínica, uso de compostos para diagnóstico por imagem e fármacos das mais variadas classes terapêuticas (TORRES, 2016).

O interesse pelos complexos metálicos para administração farmacêutica cresce continuamente em virtude do surgimento de novas doenças; da resistência associada aos tratamentos já existentes, como os tratamentos dos cânceres e infecções bacterianas, no geral; além da ausência de tratamentos eficazes para algumas doenças.

1.2 APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DO COBRE

O cobre, Cu, metal de transição da primeira série do bloco *d*, possui número atômico 29 e massa atômica 63,54 u., e está localizado no grupo 11. É comumente encontrado na

natureza disperso no solo em suas formas minerais, ligado principalmente ao enxofre. As plantas absorvem o cobre do solo em sua forma iônica, cobre(II), através de suas raízes. E são elas as principais fontes de cobre incorporado pelos seres humanos.

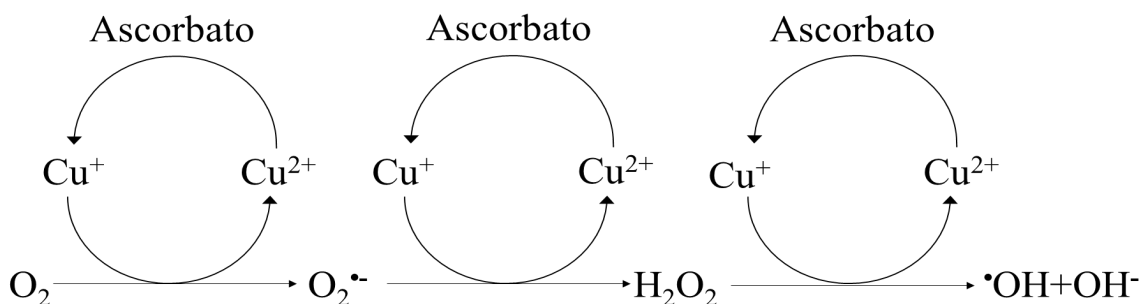
No organismo dos seres humanos, o cobre desempenha algumas funções fisiológicas fundamentais através de enzimas denominadas cuprodependentes ou cuproenzimas. As principais enzimas cuprodependentes são: (i) citocromo c oxidase (enzima responsável pelo transporte de elétrons, envolvida na respiração celular); (ii) Cu/Zn superoxidase dismutase (SOD - realiza a desintoxicação de radicais livres); (iii) lisil oxidase (LOX - papel importante na síntese de tecido conjuntivo); (iv) tirosinase (auxilia na síntese de melanina); (v) ceruloplasmina (responsável pela homeostase do ferro através da conversão de ferro(II) em ferro(III)); e (vi) dopamina β-hidroxilase (papel na síntese do neurotransmissor noradrenalina) (PEDROSA; COZZOLINO, 1999; GUPTE; MUMPER, 2009; DENOYER; CLATWORTHY; CATER, 2018).

Devido às funções desempenhadas pelo cobre no corpo humano, ele é classificado como micronutriente essencial. Essa classificação se deve à necessidade de pequenas quantidades de cobre para a manutenção dos organismos dos seres humanos. A carência de cobre pode gerar alguns distúrbios e doenças como por exemplo, anemia microcítica hipocrômica; defeitos na estrutura óssea e piora da artrite reumatoide; miocardiopatia (doença que causa alterações no músculo cardíaco); alterações mentais progressivas; entre outras. Já na situação inversa, quando o cobre encontra-se em excesso, pode ocorrer oxidação aumentada da vitamina A e grande redução da vitamina C; distúrbios no aprendizado; depressão e fadiga, de dores musculares e até a Doença de Wilson. O excesso de íons cobre pode se acumular no sangue, reduzindo as reservas de zinco do cérebro (HORDYJEWSKA; POPIOŁEK; KOCOT, 2014; LEITE, 2018).

A transição entre os estados de oxidação 1+ e 2+ torna o cobre bastante versátil em reações de transferência de elétrons, já que a oxidação e redução do cobre pode ocorrer em condições fisiológicas (apenas para ilustrar: $\text{Cu}^{2+}(\text{aq}) + \text{e}^{-} \rightarrow \text{Cu}^{+}(\text{aq}) \quad \varepsilon^{\circ} = 0,158 \text{ V}$) (OLIVERI, 2020). Um processo importante que envolve a presença de íons cobre é a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO's) (IAKOVIDIS; DELIMARIS; PIPERAKIS, 2011). Estas espécies são geradas a partir da redução do oxigênio molecular, O_2 , ou de derivados dos produtos de redução, podendo resultar em espécies reativas e instáveis. Quando os níveis de cobre estão em desequilíbrio no corpo, tanto excesso quanto deficiência, há maior geração de ERO's.

Algumas ERO's conhecidas são: (i) radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$); (ii) radical hidroxilo ($HO^{\bullet}$) — apontada como a ERO mais reativa — ; (iii) radical hidroperoxila ($HO_2^{\bullet}$); (iv) peróxido de hidrogênio (H_2O_2) — menos reativo e pode ser degradado por enzimas presentes no corpo humano, como a catalase — ; (v) oxigênio singlete (1O_2). As ERO's podem gerar danos a lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e outras biomoléculas (DENOYER; CLATWORTHY; CATER, 2018; SILVA; GONÇALVES, 2010). Para que o cobre mantenha o ciclo equilibrado de geração de ERO's, é necessário a presença de um agente redutor, como o ascorbato, um sal mineral obtido da vitamina C. Uma representação esquemática da geração de ERO's é mostrada na Figura 5.

Figura 5: Mecanismo de produção de ERO's através do ciclo de reação a partir de oxigênio molecular e ascorbato utilizando íons cobre



Fonte: Adaptado de Puentes-Díaz *et al.* (2023)

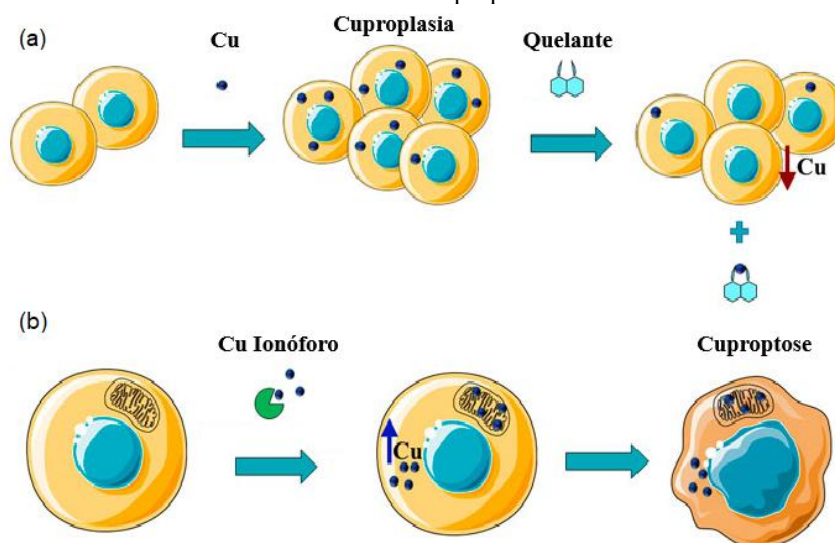
Diversos estudos têm sido conduzidos para elucidar a relação do cobre com determinadas doenças, de modo a possibilitar a descoberta de novos tratamentos terapêuticos. Alguns trabalhos mostraram que há alterações nos níveis de cobre encontrados nos tecidos tumorais (apresentam níveis mais elevados) em comparação aos tecidos normais (KUO *et al.*, 2002; BASU *et al.*, 2013; REHMAN; HUSNAIN, 2013; OLIVERI, 2022). Esse perfil foi observado em alguns cânceres como câncer de mama, de tireoide, de colo do útero, de ovário, de pulmão, de pâncreas, de próstata, gástrico, oral e de bexiga (KUO *et al.*, 2002; BASU *et al.*, 2013; REHMAN; HUSNAIN, 2013; OLIVERI, 2022). Há evidências que o cobre desempenha papel fundamental na gênese, gravidade e progressão do câncer. Sendo assim, o cobre pode ser a chave para o desenvolvimento de novos medicamentos, em especial os quimioterápicos antineoplásicos (ISHIDA *et al.*, 2013; KRASNOVSKAYA *et al.*, 2020; LELIÈVRE *et al.*, 2020; SHANBHAG *et al.*, 2021; GE *et al.*, 2021; OLIVERI, 2022).

As moléculas orgânicas que possuem atividade biológica podem ser classificadas em dois grupos principais: quelantes e ionóforos. As moléculas quelantes são capazes de formar ligações com íons metálicos, reduzindo sua concentração em meio intracelular, funcionando como uma espécie de agente sequestrador do íon metálico de interesse. Já as moléculas ionóforas são capazes de transportar íons metálicos através da membrana celular, aumentando a concentração desses íons no interior das células.

Quando o íon metálico em questão é o cobre, os agentes quelantes tem como objetivo a redução dos íons cobre no interior celular, se ligando aos íons cobre existentes no interior da célula e transportando-os para o meio externo. Quando os íons cobre estão em excesso no meio intracelular, as células podem apresentar características anormais como a neoplasia (crescimento desordenado de células) e hiperplasia (aumento do volume das células). Quando esses processos estão associados ao cobre no interior da célula, estes processos podem ser chamados de cuproplasia. Assim, compostos quelantes visam recuperar o funcionamento normal das células.

Já os ionóforos, por facilitar o transporte de íons do meio extracelular para o meio intracelular, têm como objetivo aumentar a concentração de cobre intracelular, especialmente nas mitocôndrias, induzindo à morte celular por apoptose, ou cuproptose, por ser um processo cuprodependente. (DING; LIND, 2009; OLIVERI, 2020; STEINBRUECK *et al.*, 2020; OLIVERI, 2022). A representação da atuação dos compostos quelantes e ionóforos associados aos processos cuprodependentes está ilustrada na Figura 6.

Figura 6: Representação esquemática da ação de compostos quelantes na cuproplasia (a) e da ação de compostos ionóforos na cuproptose.

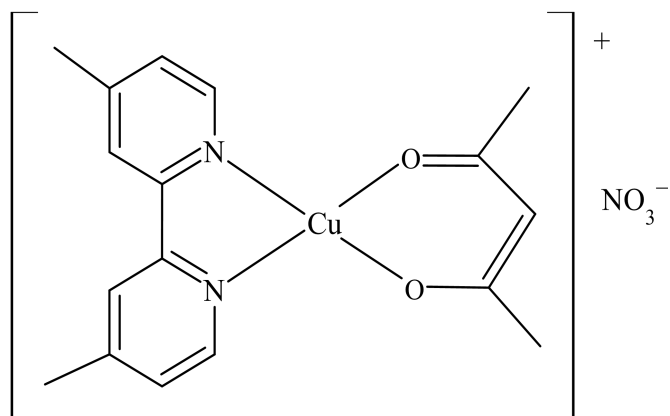


Fonte: Adaptado de Oliveri (2022)

Quando se compara compostos quelantes aos ionóforos, é possível que os ionóforos sejam mais seletivos, devido a diferentes fatores como: (i) maior concentração de cobre nos tecidos cancerígenos; (ii) os níveis elevados de ERO's nas células cancerígenas, deixando-as mais suscetíveis ao aumento de estresse oxidativo e (iii) o direcionamento de receptores superexpressos nessas células (OLIVERI, 2022). Alguns complexos de cobre, por já possuir este íon metálico em sua estrutura, se comportam como ionóforos, aumentando ainda mais a concentração de cobre no meio intracelular, caso consiga atravessar a membrana da célula. Assim, a estratégia de obtenção de novos complexos de cobre vem ao encontro de novas alternativas de compostos com propriedades antitumorais, que possuem como objetivo a morte celular por apoptose (OLIVERI, 2020).

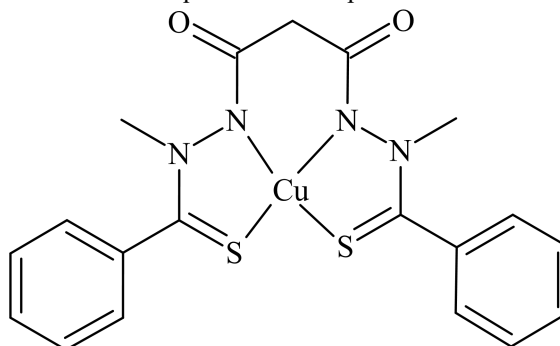
Outro aspecto interessante dos complexos de cobre com atividade biológica envolve as múltiplas vias de ação que o cobre pode desempenhar no organismo humano. Essa característica é importante, pois pode contornar a resistência aos tratamentos que algumas doenças, como os cânceres e as infecções bacterianas, possibilitando, assim, melhor eficácia terapêutica (RUIZ-AZUARA; BRAVO-GOMEZ, 2010; ZEHRA; TABASSUM; ARJMAND, 2021).

Alguns complexos de cobre têm apresentado elevado potencial farmacológico em testes *in vitro* e *in vivo* para intervenção terapêutica em diversas doenças. Pode-se destacar um complexo de cobre(II) da classe das casiopeínas: Casiopeína III-ia, Figura 7. As casiopeínas são compostos cuja fórmula geral é $[Cu(N-N)(O-O)]NO_3$ e $[Cu(N-N)(N-O)]NO_3$, no qual N-N é 2,2'-bipiridinas ou 1,10-fenantrolinas com ou sem substituintes, O-O é acetilacetonato ou salicilaldeídos e N-O podem ser aminoácidos ou peptídeos (SANTINI *et al.*, 2013; FIGUEROA-DEPAZ *et al.*, 2022). Em 2014, a Casiopeína III-ia foi submetida a ensaios clínicos (testes em etapas mais avançadas, já em seres humanos) como medicamento para o tratamento de leucemia mieloide aguda. Até o momento ela ainda se encontra na fase I da triagem clínica, não tendo sido publicados novos resultados referentes a estes testes. (RUIZ-AZUARA *et al.*, 2014; DAVILA-MANZANILLA *et al.*, 2017; AGUILAR-JIMÉNEZ *et al.*, 2023). A Casiopeína III-ia provoca danos ao DNA através da fragmentação e oxidação das bases nitrogenadas, indicando que seu mecanismo de ação seja por geração de espécies reativas de oxigênio (ERO's) após redução do cobre(II) (TABTI *et al.*, 2017).

Figura 7: Estrutura química do composto em triagem clínica - Casiopeína-III-ia

Fonte: Adaptado de Santini *et al.* (2013).

Outro complexo de cobre(II) que apresenta relevância é o Elesclomol – Cu(II), Figura 8. Ele foi submetido aos ensaios clínicos de fase I para tratamento de leucemia mieloide aguda recidiva ou refratária e apresentou um perfil de segurança muito favorável, no entanto, não se obteve resultados satisfatórios na dose máxima avaliada de 400 mg m⁻² (HEDLEY *et al.*, 2016; TABTI *et al.*, 2017).

Figura 8: Estrutura química do composto Elesclomol– Cu(II)

Fonte: Adaptado de Tabti *et al.*, 2017

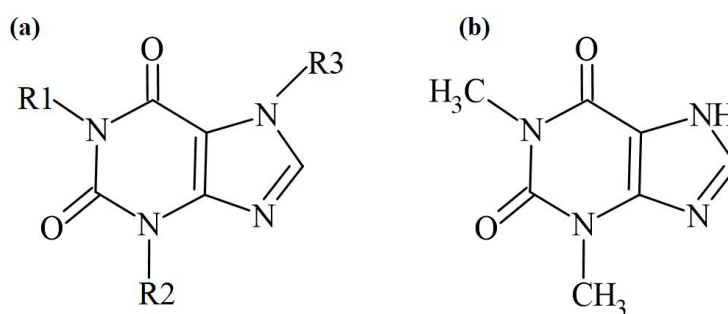
Apesar do teste clínico com o complexo Elesclomol–Cu(II) não ter sido promissor para o tratamento da leucemia mieloide aguda, este fato não é impeditivo para que ele seja testado como tratamento para outras doenças e condições, especialmente porque ele apresentou bom perfil de segurança na administração. Além disso, os demais testes clínicos dos compostos contendo cobre, independentemente dos resultados, ampliam o conhecimento sobre a homeostase desse metal no organismo humano, e fornece maior conhecimento sobre a otimização dos compostos de cobre para uso como medicamentos em várias doenças.

1.3 APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DA TEOFILINA

A teofilina faz parte de uma classe de substâncias orgânicas chamada de alcaloides purínicos ou metilxantinas. As metilxantinas são encontradas naturalmente em alimentos como chás (chá-da-índia, chá verde, chá preto, etc.), café, guaraná e cacau, além dos derivados desses alimentos (WALLER; SAMPSON, 2018). A estrutura base das metilxantinas e a teofilina estão representadas na Figura 9.

O nome da teofilina pela IUPAC é 1,3-dimetil-7H-purina-2,6-diona, no entanto, os nomes mais utilizados são teofilina ou 1,3-dimetilxantina. A teofilina possui ações vasodilatadoras, anti-inflamatórias e imunomoduladoras, já possuindo uma formulação comercial destinada ao tratamento e prevenção de broncoespasmos associado à asma ou a outras doenças obstrutivas crônicas (WALLER; SAMPSON, 2018; SANITÁRIA; FARMACOPEIA, 2019; BULA, 2023).

Figura 9: Representação da estrutura base das metilxantina (a) e estrutura química da teofilina (b).



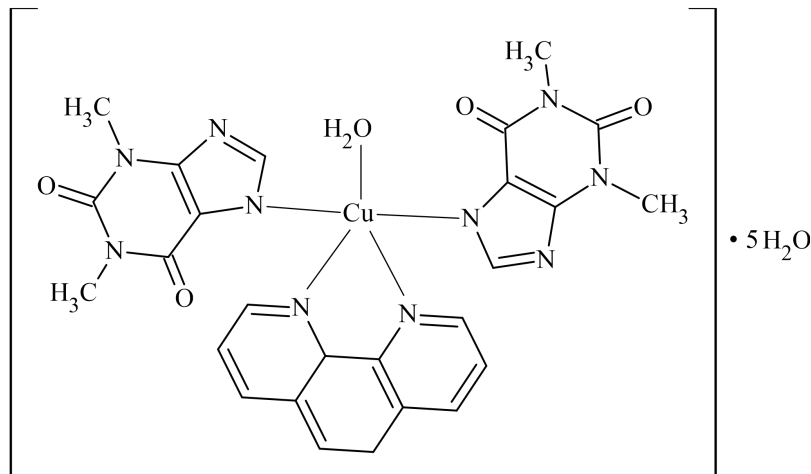
Fonte: Autoria própria. Ilustração produzida com auxílio do programa ChemSketch ACD/Labs versão livre 2023.1.2 (2023).

Estudos têm demonstrado que a teofilina possui potencial antitumoral, ação em doenças neurodegenerativas, além de potencial ação antifúngica (WALLER; SAMPSON, 2018; BARBOSA, 2022). Experimentos *in vitro* mostraram que a teofilina apresenta atividade citotóxica em células MDA-MB-231 (adenocarcinoma mamário) (SLOTKIN; SEIDLER, 2000; GORDON *et al.*, 2022). Além disso, a teofilina induziu apoptose e suprimiu a proliferação celular em linhagens de células de cânceres de mama (HeLa e MCF-7) e não causou efeitos deletérios em células de tecido mamário normal (MCF-10A) (CHANG *et al.*, 2017; GORDON *et al.*, 2022).

Apesar do potencial da teofilina como fármaco contra diversas doenças, ela possui uma faixa plasmática terapêutica estreita ($10 - 20 \mu\text{g mL}^{-1}$) e toxicidade grave ocorre em níveis plasmáticos acima de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ (ou em doses acima de 10 mg kg^{-1}), o que faz com que seu uso isolado seja bastante cauteloso (JOURNEY; BENTLEY, 2023; GORDON *et al.*, 2022).

Assim, com a finalidade de otimizar o potencial terapêutico da teofilina, tem-se desenvolvido novos compostos derivados de teofilina, em especial complexos metálicos. Complexos de cobre e teofilinato (theo, corresponde à teofilina desprotonada) têm mostrado potencial atividade biológica contra células tumorais (GORDON *et al.*, 2022). Um complexo ternário contendo cobre, dois ligantes teofilinato e um ligante 1,10-fenantrolina (phen), Figura 10, mostrou ser eficiente em testes com células de cânceres de mama (MCF-7 e MDA-MB-231), pulmão (A549), colorretal (HT-29), pancreático (MIA PaCa-2) e do sistema nervoso central (SF-268 e SH-SY5Y) (GORDON *et al.*, 2022).

Figura 10: Estrutura química do complexo metálico $\text{Cu}(\text{theo})_2\text{phen}(\text{H}_2\text{O}) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

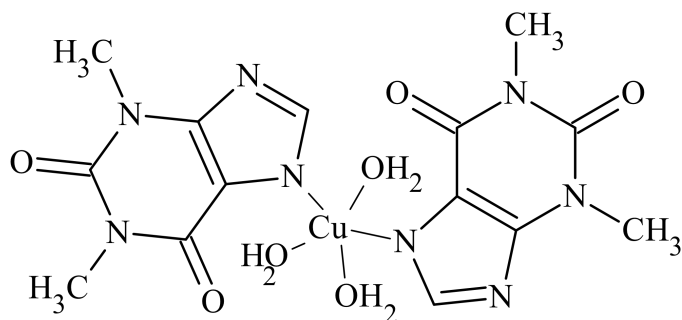


Fonte: Adaptado de Gordon (2022).

Sahlabadi e colaboradores investigaram a citotoxicidade de um nanocomplexo de cobre(II) em uma linhagem de células de leucemia mieloide crônica (K562). Este nanocomplexo consistia no complexo $[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$ (Figura 11) com caráter cristalino e tamanho nanométrico, ou seja, foram utilizados nanocristais do complexo nos testes *in vitro*. O estudo indicou que o nanocomplexo apresentava efeito inibidor no crescimento celular do câncer estudado, principalmente na comparação com o complexo em tamanho não

manométrico e com o ligante teofilina livre, Htheo, (Tabela 1) (SAHLABADI *et al.*, 2018). Dessa forma, os efeitos potenciais dos complexos de cobre e teofilinato têm se mostrado numerosos e promissores no desenvolvimento de novos fármacos.

Figura 11: Estrutura química do complexo metálico $[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$



Fonte: Adaptado de Sahlabadi *et al.*, 2018.

Tabela 1: Valores de IC_{50} para alguns complexos de cobre(II) com ligantes teofilinato e ligante Htheo em linhagem de células de leucemia mieloide crônica K562

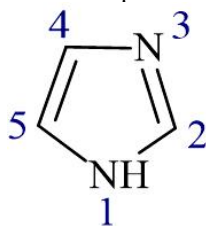
Composto	Período de Incubação	IC_{50}
$[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	48 horas	$34,5 \mu\text{mol L}^{-1}$
$[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_3]$ nanocomplexo	48 horas	$11,7 \mu\text{mol L}^{-1}$
Htheo	48 horas	$153,2 \mu\text{mol L}^{-1}$

Fonte: Adaptado de Sahlabadi *et al.*, 2018.

1.4 APLICAÇÕES BIOLÓGICAS DO IMIDAZOL

O imidazol, fórmula molecular $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$, Figura 12, é um composto orgânico aromático planar heterocíclico de cinco membros contendo dois nitrogênios não adjacentes hibridizados sp^2 . Seu nome pela IUPAC é 1,3-diazol e ele é classificado como um alcaloide.

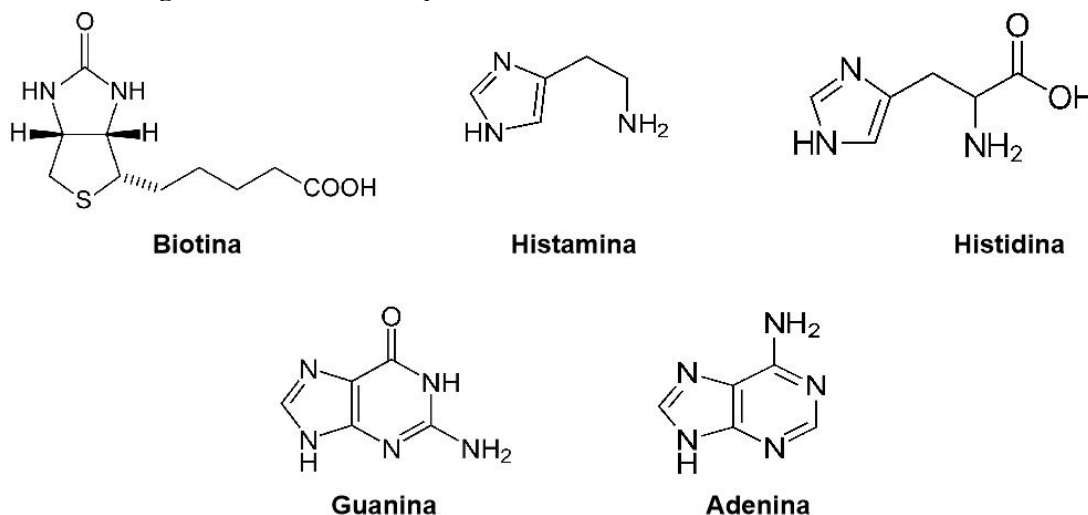
Figura 12: Estrutura química do imidazol



Fonte: Autoria própria. Ilustração produzida com auxílio do programa ChemSketch ACD/Labs versão livre 2023.1.2 (2023).

A estrutura base do imidazol é encontrada em várias biomoléculas endógenas como por exemplo, a biotina, a histamina, a histidina e as bases purinas (adenina e guanina), Figura 13 (SERDALIYEVA *et al.*, 2022; BELTRAN-HORTELANO *et al.*, 2020). Essa estrutura base do imidazol é chamada de anel imidazólico.

Figura 13: Substâncias que contém o anel imidazólico em sua estrutura



Fonte: Adaptado de Aguiar (2021).

O anel imidazólico contém dois pares de elétrons não compartilhados, sendo um deslocalizado, ou seja, participante do sistema π aromático, e outro não deslocalizado. Por esse motivo, ambos os átomos de nitrogênio possuem valores diferentes de pKa: um apresenta valor de 14,9, tipo pirrol, e o outro apresenta valor de 7, tipo piridina. Essa característica confere ao imidazol propriedades anfotéricas (BELTRAN-HORTELANO *et al.*, 2020).

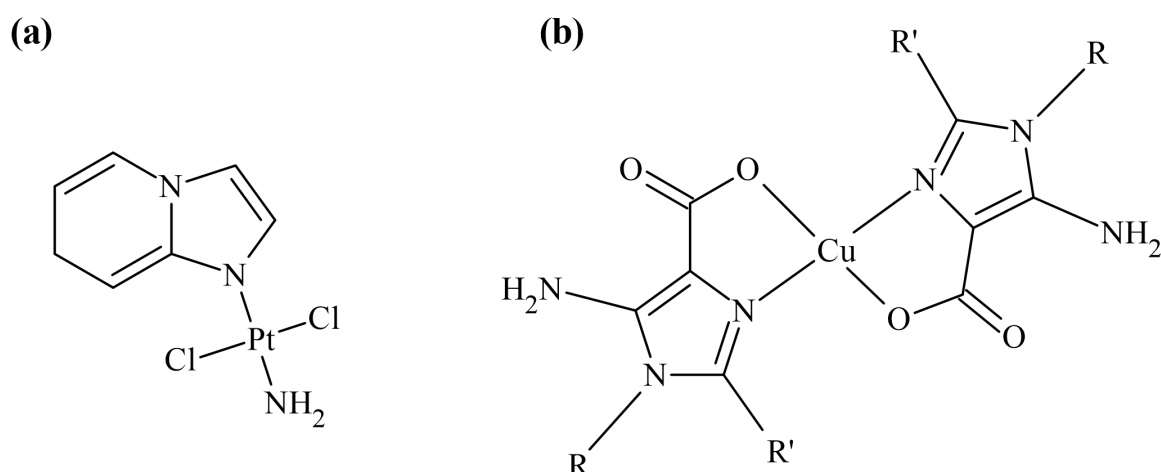
O anel imidazólico pode interagir com várias espécies, podendo ser cátions, ânions, bem como outras biomoléculas. Os derivados de imidazol são compostos que possuem em sua estrutura pelo menos um anel imidazólico e essa associação com outros grupamentos químicos pode conferir a esses novos compostos efeitos farmacológicos.

Existem vários compostos que são derivados do imidazol. Esses derivados são bastante promissores do ponto de vista farmacológico devido à ampla gama de aplicação na medicina, podendo possuir atividade: (i) antifúngica, (ii) antibacteriana, (iii) anti-inflamatória, (iv) antiviral, (v) antitumoral, (vi) antiparasitário, (vii) anti-histamínico e (viii) inibição enzimática, Tabela 2 (ZHENG; MA; ZHANG, 2020).

Alguns destes compostos já são fármacos comercializados, como por exemplo o antibiótico Metronidazol; os antifúngicos Bifonazol e Eberconazol; o antitumoral Dacarbazina e os antiparasitários Nimorazol e Benznidazol (LIU *et al.*, 2014).

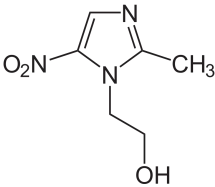
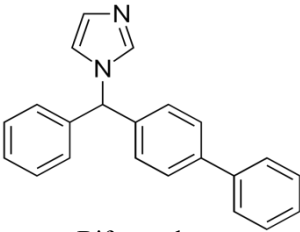
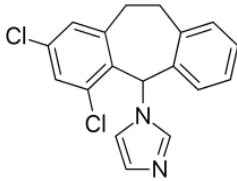
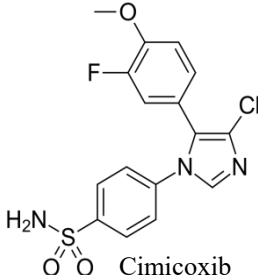
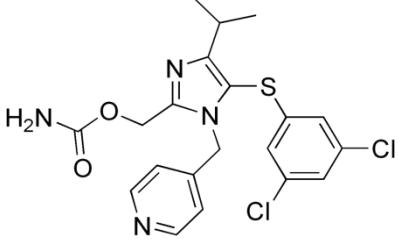
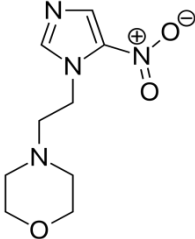
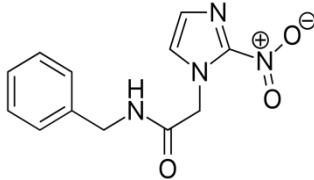
Vários estudos têm sido realizados com a finalidade de obter novos compostos derivados do imidazol que sejam mais eficientes que os já comercializados, ou que possuam novas aplicações terapêuticas. Em testes *in vitro* em células A2780^{cisR}, uma linhagem de células de câncer de ovário, resistente à cisplatina, o complexo metálico *trans*-{imidazol(1,2- α)piridina}(amina)dicloroplatina(II) (Figura 14 (a)) se mostrou significativamente mais ativo que a cisplina. (HUQ *et al.*, 2004; NARASIMHAN; SHARMA; KUMAR, 2010). E em testes com células B16F10, uma linhagem de células de melanoma, os complexos metálicos bis(5-amino-1-benzilimidazol-4-carboxilato de etila)cobre(II) e bis(5-amino-1-benzil-2-metilimidazol-4-carboxilato de etila)cobre(II) mostraram ter efeitos antiproliferativos no crescimento destas células. (SANDBHOR *et al.*, 2004; NARASIMHAN; SHARMA; KUMAR, 2010). Além disso, os testes com os estes compostos sugeriram que a redução do cobre(II) em complexos e sua posterior interação com tióis celulares pode ser um dos mecanismos para sua atividade antitumoral (NARASIMHAN; SHARMA; KUMAR, 2010). A estrutura básica dos complexos de cobre(II) são apresentadas na Figura 14 (b).

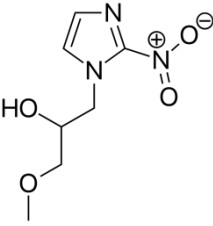
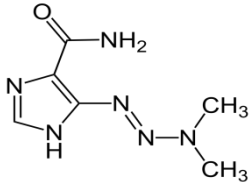
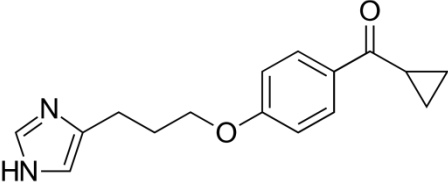
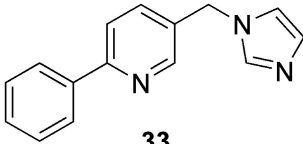
Figura 14: Complexos metálicos contendo derivados de imidazol. Em (a) tem-se a estrutura química do complexo de platina(II) e em (b) tem-se a estrutura base dos complexos de cobre(II)



Fonte: Adaptado de Narasimhan, Sharma e Kumar (2010).

Tabela 2: Exemplos de compostos derivados de imidazol e sua respectiva atividade farmacológica

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	ESTRUTURA QUÍMICA
Antibacteriana	 Metronidazol
Antifúngica	 Bifonazol  Eberconazol
Anti-inflamatória	 Cimicoxib
Antiviral	 Capravirine
Antiparasitária	 Nimorazol  Benznidazol

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	ESTRUTURA QUÍMICA
Antitumoral	 Misonidazole  Dacarbazina
Anti-histamínica	 Ciproxifan
Inibização enzimática	 33 Composto 33

Fonte: Adaptado de Zheng, Ma e Zhang (2020).

2. OBJETIVOS

Obter complexos metálicos de cobre(II) com os ligantes biologicamente ativos imidazol e teofilinato, caracterizá-los, estudar a interação do compostos obtidos com o DNA de plasmídeo pROCKGFPNeo e realizar testes citotóxicos em uma linhagem de células tumorais de leucemia mieloide crônica, a K562.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 – Preparar complexos de cobre(II) contendo imidazol e teofilinato;
- 2 – Caracterizar os compostos obtidos a partir de diferentes técnicas:
 - análise elementar;
 - absorção atômica;
 - análise condutimétrica;
 - espectroscopia vibracional na região do infravermelho;
 - espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível;
 - análise termogravimétrica;
 - medidas cristalográficas por difração de raios X (em monocristal e em pó).
- 3 – Estudar a interação dos compostos com DNA de plasmídeo;
- 4 – Avaliar a citotoxicidade dos compostos obtidos em uma linhagem de células tumorais.

3. MATERIAIS E REAGENTES

3.1 REAGENTES E SOLVENTES

Para a preparação das soluções utilizadas nas sínteses dos complexos metálicos foi utilizada água deionizada tratada em aparelho da Millipore, modelo Direct-Q® 3, com resistividade de aproximadamente 18,2 MΩ·cm a 25 °C.

Todos os reagentes e solventes utilizados neste trabalho foram de grau analítico, adquirido da Sigma®, Merck®, Neon, Dinâmica ou Êxodo, e nenhum deles passou por purificação prévia. A Tabela 3 apresenta informações sobre os reagentes e solventes utilizados neste trabalho.

Tabela 3: Dados gerais dos reagentes e solventes utilizados nos procedimentos e preparações

Reagente/Solvente	Fórmula Química	Marca
Sulfato de cobre(II) pentahidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ MM = 249,68 g mol ⁻¹	Merck
Cloreto de cobre(II) dihidratado	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ MM = 170,48 g mol ⁻¹	Merck
Imidazol	$\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$ MM = 68,08 g mol ⁻¹	Neon
Teofilina	$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$ MM = 180,16 g mol ⁻¹	Sigma
Hidróxido de sódio	NaOH MM = 40,00 g mol ⁻¹	Merck
Etanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ MM = 46,07 g mol ⁻¹	Dinâmica
Metanol	CH_3OH MM = 32,04 g mol ⁻¹	Êxodo
Dimetilsulfóxido	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ MM = 78,13 g mol ⁻¹	Sigma
pROCKGFPNeo	8031pb	Extraído e cedido pelo Laboratório de Genética Bioquímica da UFMG

4. INSTRUMENTOS E MÉTODOS

4.1 ANÁLISE ELEMENTAR – CHN

A caracterização dos compostos por análise elementar de carbono, hidrogênio e oxigênio (CHN) foi realizada no Departamento de Química da UFMG (Universidade Federal de Minas Gerais). A dosagem desses elementos nos compostos preparados foi realizada no equipamento Perkin Elmer – modelo 2400. As amostras foram enviadas sólidas, sem nenhum preparo prévio.

4.2 ABSORÇÃO ATÔMICA

O teor de cobre em cada um dos compostos foi determinado com auxílio do espectrofotômetro de absorção atômica Hitachi – modelo Z8200 do Departamento de Química da UFMG. As amostras foram enviadas como soluções e para obter essas soluções foi utilizado o protocolo de abertura de amostras fornecido pelo Departamento de Química da UFMG:

- (i) Pesa-se uma quantidade de amostra, respeitando o limite máximo de 0,0120 g;
- (ii) Realiza-se a solubilização dessa amostra com um pequeno volume (menor que 10 mL) de uma solução previamente preparada de HNO_3 20%, de modo a possibilitar a decomposição dos ligantes orgânicos presentes nos complexos – usualmente aquece-se a amostra até a completa solubilização;
- (iii) Completa-se o volume da solução obtida em (ii) com água deionizada em balão volumétrico, até que a solução final possua 10,00 mL. Transfere-se a solução obtida para um tubo falcon para enviá-la para o laboratório de análises de absorção atômica.

4.3 ANÁLISES CONDUTIMÉTRICAS

A condutividade dos compostos foi obtida com auxílio de um condutivímetro da marca Digimed, modelo DM 31, constante de célula $0,96 \text{ cm}^{-1}$, equipamento do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, CEFET-MG / *Campus Nova Suíça*.

Foram feitas soluções 10^{-3} mol L⁻¹ dos complexos, em etanol (EtOH) ($\Lambda = 2,48 \mu\text{S cm}^{-1}$). As análises foram realizadas após a calibração do equipamento com solução padrão de cloreto de potássio ($\Lambda = 147 \mu\text{S cm}^{-1}$) da Dinâmica à temperatura de 25 °C.

4.4 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos pelo método de reflectância total atenuada (ATR) na região de 4000 a 400 cm⁻¹ em um Espectrômetro IR Prestige 21 Shimadzu com acessório ATR no CEFET-MG / *Campus Gameleira*.

4.5 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL

Os espectros eletrônicos foram registrados em um espectrofotômetro na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) faixa do ultravioleta, 200 ~ 800 nm, bivolt, modelo K37-uvvis da marca Kasvi, no CEFET-MG / *Campus Gameleira*. As análises foram realizadas em cubetas de quartzo com 1,0 centímetro de caminho óptico. Os complexos de cobre(II) foram dissolvidos primeiramente em EtOH e posteriormente em uma mistura de solventes contendo DMSO:H₂O, na proporção de, 1:90 para o Complexo **1** e 1:9 para o Complexo **2**. Esta diferença nas proporções de DMSO:H₂O para os dois complexos foi devido à baixa solubilidade do complexo **1** no solvente DMSO.

4.6 ANÁLISE TÉRMICA

A análise termogravimétrica, TG, foi realizada utilizando uma termobalança Shimadzu DTG-60H do CEFET-MG / *Campus Gameleira*. O ensaio foi realizado utilizando-se um fluxo de 50 mL min⁻¹ de N₂, numa razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ na faixa de temperatura de 25 a 900 °C, com massa inicial de 4,004 mg para o complexo **1**.

4.7 MEDIDAS CRISTALOGRÁFICAS DE MONOCRISTAL

Os dados de difração de raios X em monocristal do complexo **2** foram coletados utilizando um difratômetro Rigaku Sinergy-S tubo de cobre (CuK_α $\lambda = 1,24025 \text{ \AA}$), e a medida foi realizada à temperatura ambiente. Essa etapa de caracterização foi feita com o equipamento localizado no Departamento de Física da UFMG. Os dados foram tratados previamente no software CrysAlisPro (RIGAKU, 2014), trabalhando na coleta das reflexões medidas pela difração de raios X por monocristais, na determinação do grupo espacial, na integração e na redução dos dados, além de eventuais correções por absorção e da geração de arquivos necessários para o refinamento estrutural. Para a resolução da estrutura, o Olex2 (DOLOMANOV et al., 2019) foi utilizado, em conjunto com o pacote de programas cristalográficos SHELX (SHELDRICK, 2015). As figuras foram feitas no software Mercury (MACRAE et al., 2020).

4.8 MEDIDAS CRISTALOGRÁFICAS DE POLICRISTAIS

Os dados de difração de raios-X em pó do complexo **1** foram coletados utilizando um difratômetro de alta resolução da PANalytical, modelo Empyrean II, tubo de cobre (CuK_α $\lambda = 0,15406 \text{ \AA}$), tensão de 45 kV, corrente de 40 mA, pertencente ao Laboratório de Cristalografia (LabCri) do Departamento de Física da UFMG. A faixa de varredura (2θ) foi de 2 a 90° com intervalo de 0,02°, tempo de integração por ponto de 300 segundos e duração da medida de 35 minutos, utilizando o acessório “FACA”, com o intuito de reduzir o background, e o detector PIXcel^{3D} 2x2, usado para uma ampliada cobertura angular. As figuras foram criadas com o programa X’Pert Highscore Plus, versão 3.0 (2009).

4.9 INTERAÇÕES COM DNA DE PLASMÍDEO

Para a clivagem do DNA de plasmídeo foi realizado experimento por eletroforese em gel de agarose utilizando uma cuba acrílica fabricada sob medida para o Laboratório de Genética Bioquímica e uma fonte de alimentação básica para eletroforese, E–C modelo

EC570. Os géis de agarose foram visualizados e registrados em sistema de fotodocumentação da Bio-Rad, modelo Gel DocTM EZ Imager e Gel DocTM EZ Documentation System.

5. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5.1 SÍNTESE DOS COMPLEXOS

[Cu(theo)₂(H₂O)(imd)₂] – Aquabis(imidazol)bis(teofilinato)cobre(II) – Complexo 1

No preparo do complexo **1**, fez-se uma suspensão de teofilina (C₇H₈N₄O₂), Htheo, em água deionizada (0,360 g, 2 mmol, em 3 mL de H₂O). Manteve-se essa suspensão sob aquecimento (banho-maria a 70 °C) por alguns instantes. Em seguida, adicionou-se uma solução aquosa de NaOH (0,080 g, 2 mmol, dissolvidos em 2,5 mL de H₂O), até que fosse formada uma solução incolor, denominada solução 1, equação química representada na Figura 15. Deixou-se a solução 1 em aquecimento por alguns instantes. Preparou-se uma solução a partir da mistura de duas outras soluções: uma solução de CuSO₄·5H₂O (0,250 g, 1 mmol, dissolvidos em 2,5 mL de H₂O) em uma solução de imidazol, imd, (0,136 g, 2mmol, dissolvidos em 2,5 mL de H₂O). A solução resultante apresentou cor azul royal intensa e foi denominada solução 2. Adicionou-se a solução 1 à solução 2 lentamente e sob agitação manual. Houve mudança de coloração da solução, denominada solução 3. A solução 3 foi mantida sob aquecimento (banho-maria a 70 °C) por 10 minutos, agitando-se periodicamente. Após esse período, desligou-se o aquecimento e deixou a mistura ser resfriada lentamente, até atingir a temperatura de 40 °C. Colocou-se a mistura no banho de gelo por 15 minutos. O precipitado verde oliva (Figura 17) foi filtrado à vácuo, lavado com água deionizada gelada e mantido em dessecador. A proposta de reação para o complexo **1** encontra-se na Figura 16.

O rendimento encontrado para essa reação foi de 71%. Esse valor pode ser devido à solubilidade do complexo em meio aquoso, não levando à precipitação de toda a massa esperada.

Figura 15: Representação para desprotonação do ligante Htheo pelo NaOH, reação em solução aquosa

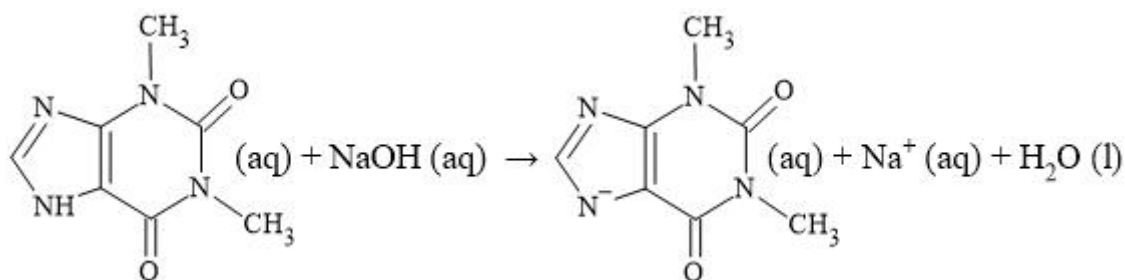
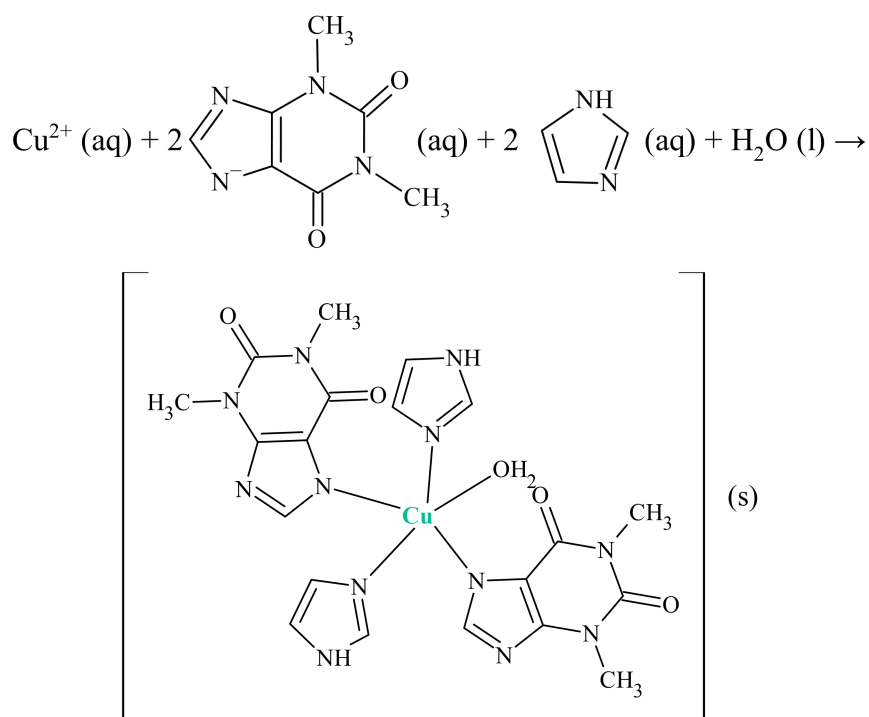


Figura 16: Representação para o preparo do complexo **1**, [Cut(theo)₂(H₂O)(imd)₂], em H₂O



Fonte: Autoria própria. Ilustração produzida com auxílio do programa ChemSketch ACD/Labs versão livre 2023.1.2 (2023).

Figura 17: Imagem sem escala do complexo **1** seco

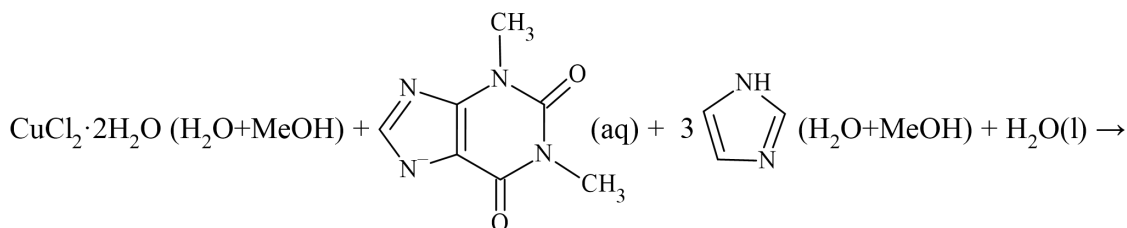


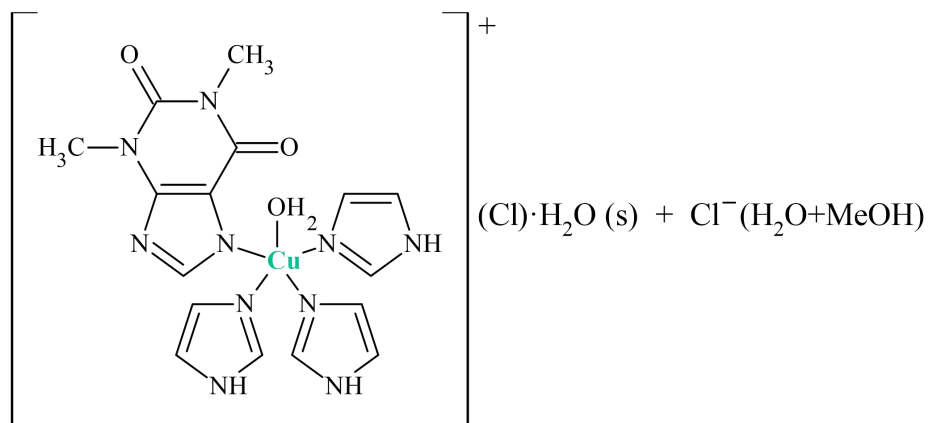
b) $[\text{Cu}(\text{theo})(\text{H}_2\text{O})(\text{imd})_3](\text{Cl}) \cdot \text{H}_2\text{O}$ – Cloreto de aquatris(imidazol)teofilinatocobre(II) monohidratado – Complexo **2**

Preparou-se uma suspensão de Htheo em água deionizada de maneira similar ao procedimento para o complexo **1**, alterando apenas a massa de HTheo utilizada (0,090 g, 0,5 mmol, em 2,5 mL de H_2O) e de NaOH (0,020 g, 0,5 mmol, dissolvidos em 2,5 mL de H_2O), resultando em uma solução denominada solução 1. Deixou-se a solução 1 em aquecimento por alguns instantes. Preparou-se uma solução a partir da mistura de duas outras soluções: uma solução de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,085 g, 0,5 mmol, dissolvidos em 1,5 mL de H_2O com 1,5 mL de metanol (MeOH)) em uma solução de imd (0,1021 g, 1,5 mmol, dissolvidos em 1,5 mL de H_2O com 1,5 mL de MeOH). Essa solução resultante apresentou cor azul royal intensa e foi denominada solução 2. Adicionou-se, lentamente e sob agitação manual, a solução 1 à solução 2. Houve mudança de coloração da solução, denominada solução 3. A solução 3 foi colocada em placa de Petri plástica e foi deixada em ambiente com pouca luz e ausência de vibrações perceptíveis por aproximadamente 1 semana. Foram obtidos cristais azuis (Figura 19). O complexo **2** foi obtido, então, por lenta evaporação de solvente. A proposta de reação para o complexo **2** encontra-se na Figura 18.

O rendimento encontrado para essa reação foi de 41%. Esse valor pode ser explicado devido à formação de produtos secundários na reação, que foram caracterizados por DRX e identificados como sendo $[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Figura 18: Representação para o preparo do complexo **2**, $[\text{Cu}(\text{theo})(\text{imd})_3](\text{Cl}) \cdot \text{H}_2\text{O}$, em H_2O e MeOH





Fonte: Autoria própria. Ilustração produzida com auxílio do programa ChemSketch ACD/Labs versão livre 2023.1.2 (2023).

Figura 19: Imagem sem escala dos cristais azuis de complexo **2**, restando ainda solvente não evaporado



5.2 CLIVAGEM OXIDATIVA DE DNA DE PLASMÍDEO

O complexo **2** foi analisado quanto à sua capacidade em promover a clivagem do DNA de plasmídeo, pROCK — pROCKGFPNeo —, frente a um agente redutor, L-ascorbato de sódio, por eletroforese em gel de agarose. Os ensaios foram realizados em volume total de 20 μL , contendo: 1 μL (20 mmol L^{-1}) de L-ascorbato de sódio; 0,5 μL (25 mmol L^{-1}) de NaCl; 400 ng de DNA de plasmídeo super-helicoidal (pROCK); concentrações variadas do complexo testado (7,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$; 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 15,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$); e volume completado com tampão HEPES a 80 mmol L^{-1} , pH = 7,2.

A solução do complexo foi preparada em DMSO. As amostras foram incubadas a 37 °C por 30 minutos. O corante de DNA (ThermoScientific, R0611) contendo 10 mmol L⁻¹ de tampão TRIS-HCl; 0,03% azul de bromofenol; 0,03% xileno cianol FF; 60% glicerol; e 60 mmol L⁻¹ EDTA foi adicionado a cada amostra (2,0 µL) e aplicadas em um gel de agarose (1,2 %) contendo 2,0 µL de brometo de etídio (Eb). A eletroforese foi realizada a 70 V por 1 hora em tampão TRIS acetato-EDTA (1×TAE). O gel de agarose foi fotografado com o auxílio do transiluminador Gel Doc™ EZ Imager da Bio-Rad.

5.3 TESTES DE CITOTOXICIDADE NA LINHAGEM CELULAR K562

A sensibilidade das células de leucemia mieloide crônica, linhagem K562, aos compostos, foi avaliada pelo parâmetro IC₅₀, que consiste na concentração necessária para inibir o crescimento celular em 50%. Para isto, 1,0×10⁵ células mL⁻¹ foram incubadas durante 72 horas na ausência e na presença de várias concentrações dos complexos testados. Após este período, as células foram contadas e o valor de IC₅₀ foi determinado com o auxílio do programa computacional OriginPro8, sendo os dados analisados com ajuste sigmoidal (Boltzmann). A viabilidade celular foi verificada por exclusão com azul de tripan e o número de células foi determinado por análise na câmara 43 de Neubauer. A solução estoque do complexo **1** foi preparada com DMSO e H₂O. A solução estoque de complexo **2** foi preparada em DMSO. Para os ensaios, estas soluções foram diluídas em água desionizada de modo que a concentração de solvente orgânico nos ensaios com células não ultrapassasse 0,5%. Testes controle foram realizados incubando-se as células com o solvente orgânico na maior concentração utilizada e foi verificado que ele não afeta o crescimento nem a viabilidade celular nas condições destes estudos. A faixa de concentração utilizada foi de 10 µmol L⁻¹ a 100 µmol L⁻¹ para os complexos.

6. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE COBRE(II) COM OS LIGANTES IMIDAZÓLICOS TEOFILINA E IMIDAZOL

O complexo **1** foi caracterizado por absorção atômica, análise elementar, medidas condutimétricas, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta–visível, análise térmica e difração de raios X em pó.

Já o complexo **2** foi caracterizado por absorção atômica, análise elementar, medidas condutimétricas, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta–visível e difração de raios X em monocristais.

Foram realizadas pesquisas em banco de dados, como SciFinder®, em revistas científicas e em literatura no geral a respeito dos complexos obtidos ou de complexos contendo cobre(II) e os ligantes teofilinato e imidazol, simultaneamente, e as buscas não mostraram quaisquer resultados a respeito dos complexos, indicando se tratar de compostos inéditos.

6.1 ANÁLISE ELEMENTAR, ABSORÇÃO ATÔMICA E MEDIDAS DE CONDUTIMETRIA

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram obtidos por análise elementar e mostraram valores experimentais próximos aos calculados para os compostos. O teor de cobre das amostras, obtido por absorção atômica, também foi semelhante aos valores calculados. A Tabela 4 apresenta os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e cobre, bem como os valores de condutividade das soluções $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em EtOH, para os complexos. As fórmulas mínimas estimadas foram: $\text{CuC}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_{12}\text{O}_5$, para o complexo **1**, e $\text{CuC}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_{10}\text{O}_4\text{Cl}$, para o complexo **2**.

Os valores das condutividades das soluções indicam que **1** é não eletrolítico e que **2** é eletrólito 1:1 (GEARY, 1971). Estes resultados indicam que Cl^- atua como contra-íon na solução do complexo **2**.

Tabela 4: Dados obtidos para as análises elementares e condutimétricas dos complexos de cobre(II) contendo os ligantes teofilinato e imidazol

	% C Exp. (Calc.)	% H Exp. (Calc.)	% N Exp. (Calc.)	% Cu Exp. (Calc.)	$\Lambda / \mu\text{S cm}^{-1}$
1 - $[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{imd})_2]$ MM = 576,03 g mol ⁻¹	42,78 (41,70)	3,75 (4,20)	29,54 (29,18)	10,50 (11,03)	3,2
2 - $[\text{Cu}(\text{theo})(\text{H}_2\text{O})(\text{imd})_3](\text{Cl})\cdot\text{H}_2\text{O}$ MM = 518,43 g mol ⁻¹	34,65 (37,07)	3,42 (4,47)	25,08 (27,02)	11,34 (12,26)	21,8

6.2 ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Foi realizada a análise espectroscópica na região do infravermelho (IV) para os dois complexos preparados e para os ligantes livres utilizados neste trabalho. O objetivo foi identificar a formação dos novos complexos, bem como o sítio de coordenação, através dos deslocamentos das bandas de grupos característicos nos complexos em relação dos ligantes livres, uma vez que o espectro vibracional na região do infravermelho fornece informações estruturais sobre a molécula e ele é característico de um dado composto (PAVIA *et al.*, 2010; BARBOSA, 2013). Os espectros de absorção na região do IV dos complexos **1** e **2** e dos ligantes livres estão apresentados nas Figuras A1, A2, A3 e A4, presentes no “APÊNDICE A” deste trabalho. A Figura 20 reúne os espectros vibracionais dos ligantes livres e dos complexos, na região infravermelho média, de 4000 cm⁻¹ a 400 cm⁻¹. Na Tabela 5 estão apresentadas algumas atribuições das principais frequências, em cm⁻¹, encontradas no espectro característico dos ligantes livres e dos complexos metálicos. As atribuições foram identificadas com base em trabalhos previamente publicados (TRIVEDI *et al.*, 2015; ALAMANOVA *et al.*, 2021; LI; KOBAYASHI, 2016; AL-SALMAN *et al.*, 2021; MARIAN *et al.*, 2010; GORDON *et al.*, 2022).

Figura 20: Espectros vibracionais na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) dos complexos **1** e **2** e dos ligantes livres Htheo e imd reunidos em um único gráfico

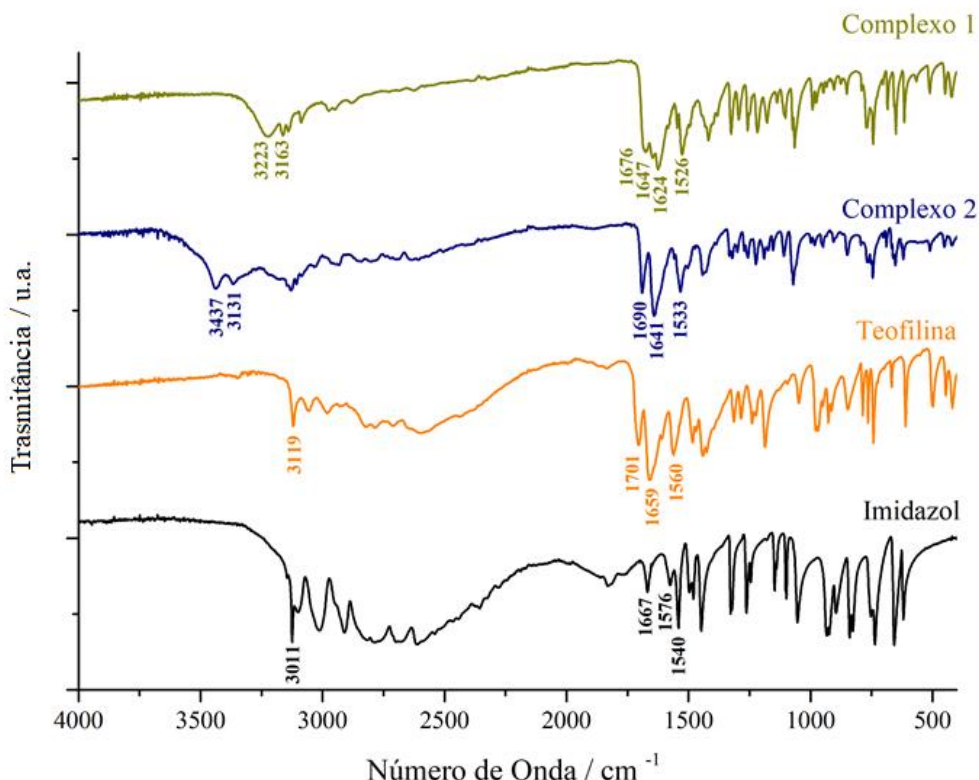


Tabela 5: Atribuição de frequências (cm^{-1}) na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) dos ligantes livres imd e Htheo e dos complexos **1** ($[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{imd})_2(\text{H}_2\text{O})]$) e **2** ($[\text{Cu}(\text{theo})(\text{imd})_3(\text{H}_2\text{O})](\text{Cl}) \cdot \text{H}_2\text{O}$)

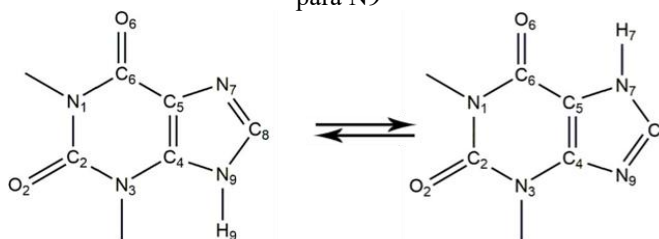
Composto	Frequências dos Estiramentos em cm^{-1}						
	$\nu(\text{O} - \text{H})$	$\nu(\text{C} - \text{H})$	$\nu(\text{C} = \text{O})$	$\nu(\text{C} = \text{N})$	$\nu(\text{C} = \text{C})$	$\nu(\text{N} - \text{H})$	$\nu(\text{C} - \text{N})$
Imidazol	-	2785	-	1667	1576 1540	3011	1479 1447
Teofilina	-	3057 (alquil) 2783 977 (alqueno)	1701 1659	1440	1482	3119 1560	1239
Complexo 1	3223	2974	1676 1647	1624	1526	3163	1257
Complexo 2	3437	2932	1690	1641	1533	3131	1256

Analisando os espectros de absorção na região do infravermelho dos complexos **1** e **2**, foi possível observar que ambos eram bastante distintos dos espectros de seus ligantes livres, o que evidencia a formação dos novos compostos. Em ambos foi verificada uma banda mais

alargada na região de $3450\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ que foi atribuída ao estiramento O—H da molécula de água coordenada ao cobre(II) nos complexos.

Também foi possível observar o deslocamento de algumas bandas características de grupamentos funcionais, como a da carbonila (C=O) presente na teofilina, que foi deslocada de $1701\text{--}1659\text{ cm}^{-1}$ para $1676\text{--}1647\text{ cm}^{-1}$ no complexo **1** e para 1690 cm^{-1} no complexo **2**. Esse deslocamento é uma forte evidência de complexação pelo nitrogênio N7 da Htheo, Figura 21 (JIN *et al.*, 2019; GORDON *et al.*, 2022). A complexação nesse sítio desloca a nuvem eletrônica para a proximidade do nitrogênio da ligação adjacente, que por sua vez, se liga ao íon metálico cobre(II). Assim, a ligação N—metal, enfraquece a ligação adjacente C=O da theo e desloca a banda para uma região de mais baixa energia (menor frequência) no espectro de IV.

Figura 21: Estrutura química do isômero da teofilina: isomeria anular associada à transferência de prótons de N7 para N9



Fonte: Adaptado de Jin *et al.* (2019).

Outra evidência que pode ser associada à complexação com o imd se refere à existência e ao fortalecimento da ligação N—H no espectro dos complexos se comparado ao espectro dos ligantes. A Htheo foi inicialmente desprotonada para a complexação, logo, se a reação ocorreu com a complexação apenas do ligante theo ao centro metálico, não haveria no espectro de IV bandas relacionadas à ligação direta de nitrogênio com hidrogênio (GORDON *et al.*, 2022). Além disso, se comparado ao espectro do imd, houve deslocamento da banda, de 3011 cm^{-1} para 3163 cm^{-1} no complexo **1** e para 3131 cm^{-1} no complexo **2**. Nesse caso, houve o fortalecimento da ligação N—H devido ao deslocamento da nuvem eletrônica para a proximidade da ligação N—metal. Assim, há o deslocamento da banda para regiões maior energia (NAUMOV; JOVANOVSKI, 1999).

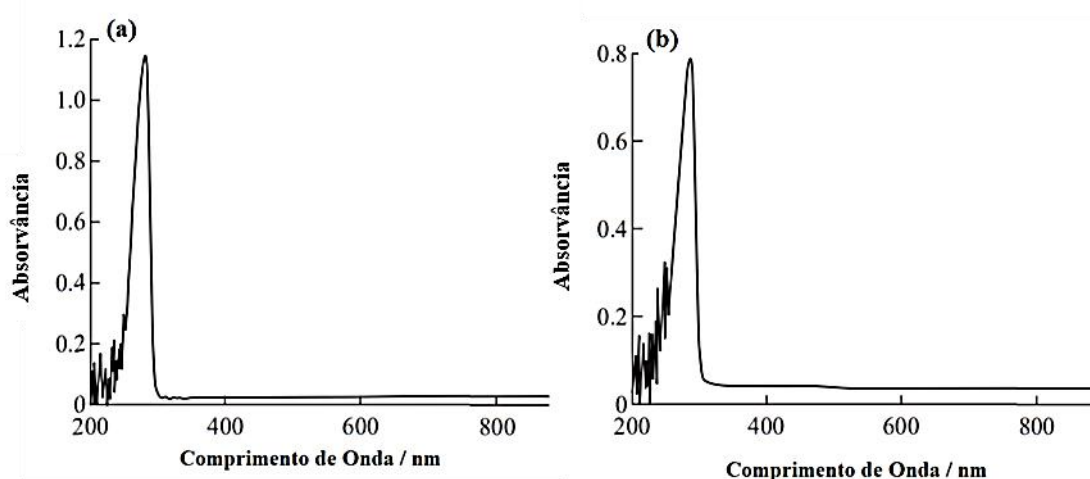
6.3 ESPECTROSCOPIA ELETRÔNICA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA–VISÍVEL

Com o objetivo de estudar o comportamento dos complexos **1** e **2** em solução foram realizados estudos de espectroscopia na região do ultravioleta e visível (UV–Vis). Os espectros de absorção registrados para os complexos e seus ligantes na concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, usando como solvente EtOH, encontram-se na Figura 23 (a).

Os espectros de absorção eletrônica dos complexos **1** e **2** foram similares ao do ligante livre teofilina, Htheo. Na Figura 23 (b), é apresentado o espectro ampliado na região de 245–350 nm. O espectro da Htheo mostra uma banda de máxima absorção em 270 nm e uma banda de menor intensidade na região de 314 nm. Essas bandas são devido às transições $n \rightarrow \pi^*$ (para 314 nm) e $\pi \rightarrow \pi^*$ (para 270 nm) (SAHLABADI *et al.*, 2018; ISMAIL *et al.*, 2020; GORDON *et al.*, 2022).

Nos espectros dos complexos **1** e **2** também foram encontradas uma única banda de máxima absorção em aproximadamente 270 nm. Apesar do deslocamento do máximo de absorção ser uma das características indicativas de complexação, para os complexos que contém o ligante theo, esse comportamento de manutenção do máximo de absorção na região de 270 nm é mantido (Figura 22) (AZEVEDO, 2021; PAVIA, *et. al.*, 2010; SAHLABADI *et al.*, 2018; ISMAIL *et al.*, 2020).

Figura 22: Espectro UV-Vis da (a) Htheo e (b) do complexo $[\text{Mn}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_4]$ em baixas concentrações

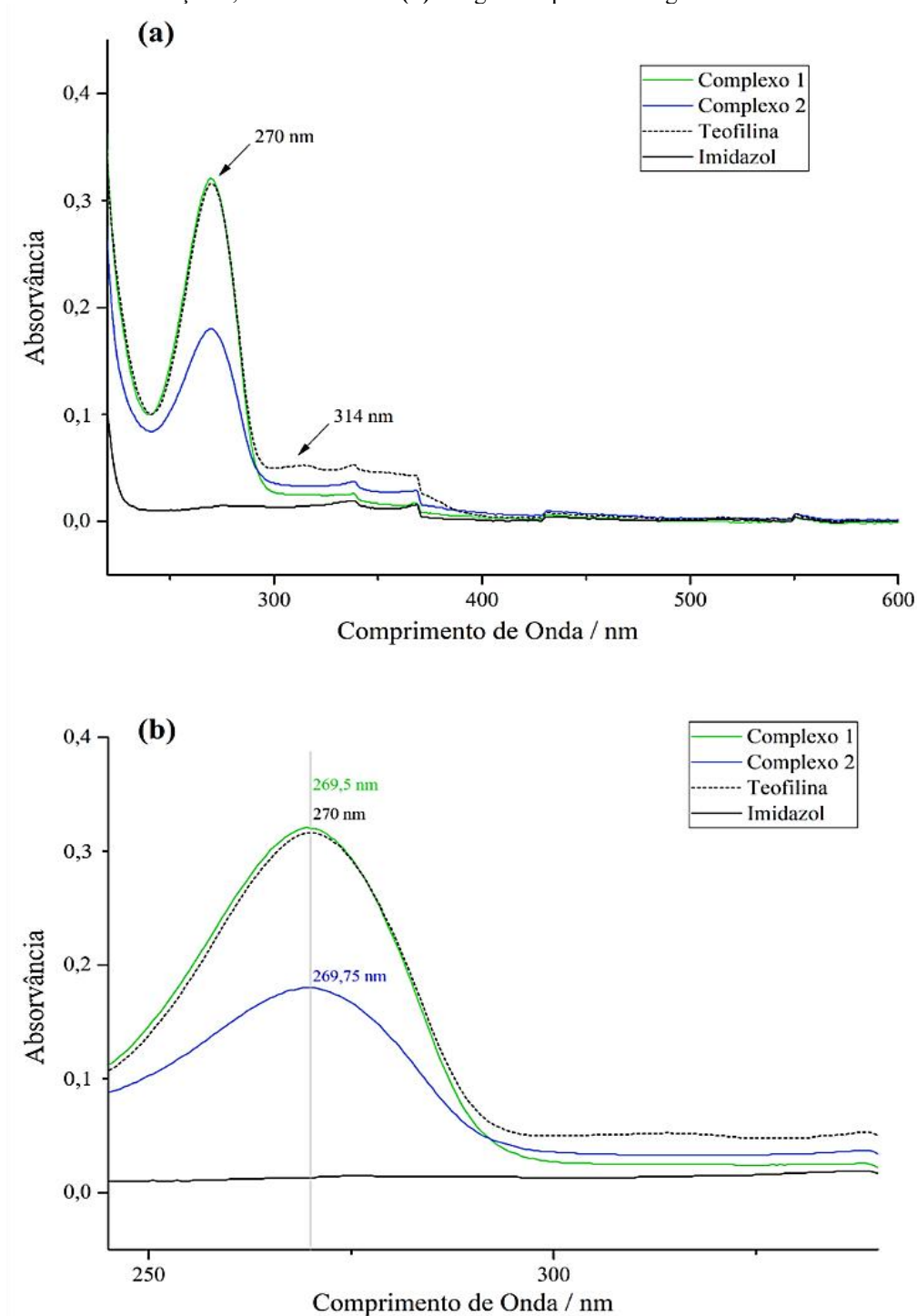


Fonte: Ismail *et al.* (2020).

Pode-se discutir também que, caso houvesse a saída do ligante theo da esfera de coordenação, seria esperado que a intensidade das bandas seguisse uma relação entre concentração de teofilinato encontrado nos complexos e a teofilina livre. Essa relação é

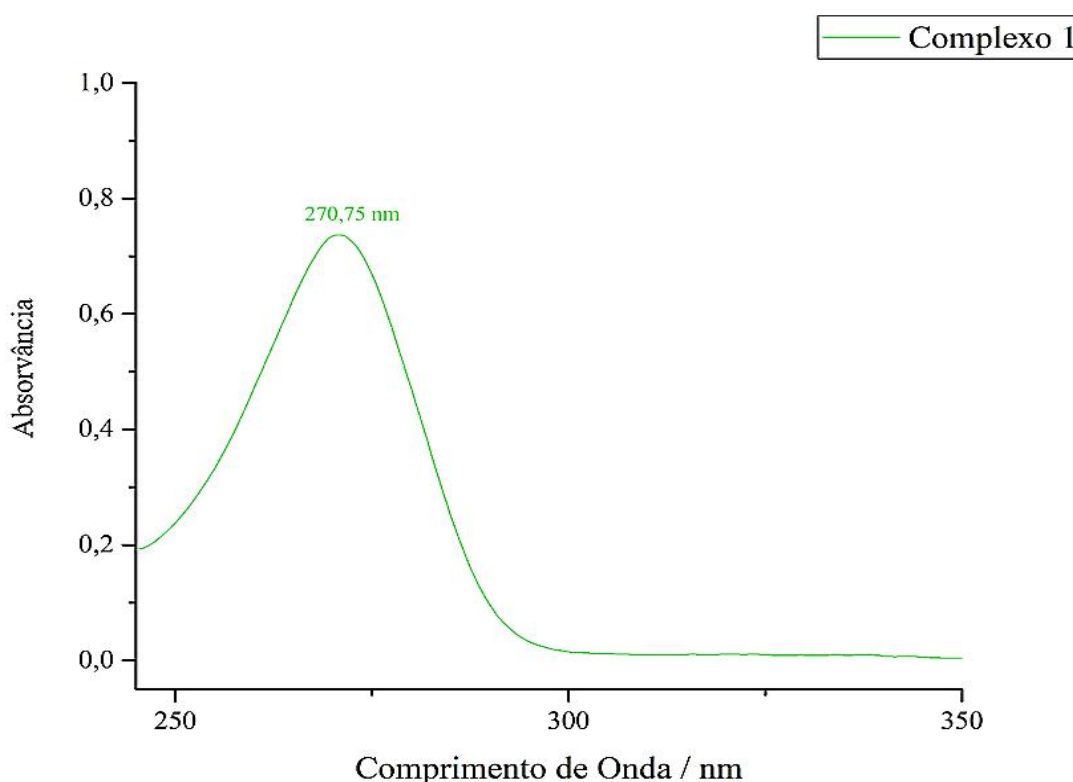
descrita pela Lei de Lambert-Beer: $A = \alpha lc$, onde A é a absorbância; α é a absorbtividade molar da substância; l é o caminho óptico e c é a concentração da substância. Assim, a banda mais intensa seria a do complexo **1** e a solução do ligante livre Htheo e do complexo **2** apresentariam a mesma intensidade. Essa relação não ocorreu.

Figura 23: (a) Espectros eletrônicos de soluções, em EtOH, do complexo **1** (linha verde —), do complexo **2** (linha azul —) e seus ligantes, teofilina (linha tracejada ---) e imidazol (linha preta contínua —), na concentração $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. (b) Imagem ampliada na região de 245–350 nm



Para avaliar se o solvente poderia ter influenciado nas bandas de absorção dos complexos e ligante Htheo, repetiu-se o experimento, porém, utilizando DMSO e H₂O como solventes. Neste experimento, foram feitas soluções estoques dos complexos em DMSO, na concentração de $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de complexo **1**, usando a proporção DMSO:H₂O de 5:2; e $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de complexo **2** em DMSO, sendo que essas soluções foram ressuspensas em H₂O, até que chegassem na concentração de $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Os espectros de absorção gerados encontram-se na Figuras 24 e 25. Os espectros estão sendo apresentados separados, pois as linhas de base geradas para os espectros foram diferentes devido às concentrações distintas de DMSO e H₂O.

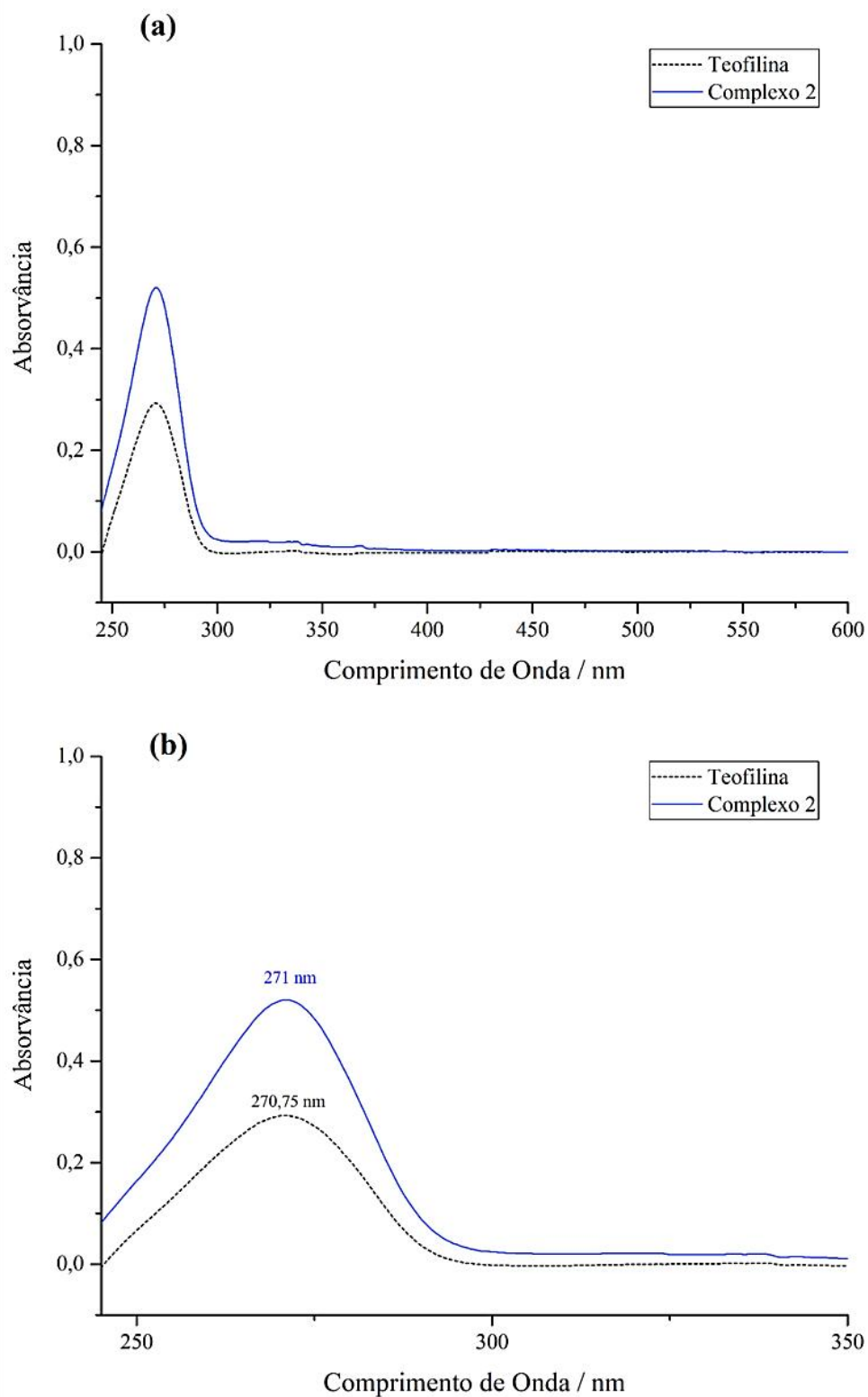
Figura 24: Espectro eletrônico da solução $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do Complexo **1**, em DMSO e H₂O



Mais uma vez não houve deslocamento do comprimento de onda da banda de absorção máxima entre ligante livre e complexos (manteve-se em 270 nm) e para o ligante a banda de absorção máxima em 314 nm não apareceu. Além disso, o ligante apresentou absorvância menor que o complexo **2**, comportamento chamado deslocamento hipercrômico. Conclui-se, então, que essa é uma característica do complexo e não parece ter relação com a liberação do ligante em solução, quando se solubiliza os complexos, corroborando, desta maneira, com os

resultados obtidos pela análise condutimétrica para os complexos **1** (não eletrolítico) e **2** (eletrólito 1:1).

Figura 25: (a) Espectros eletrônicos de soluções do Complexo **2** e do ligante Htheo, em DMSO e H₂O, ambas na concentração de $1,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. (b) Imagem ampliada na região de 245–350 nm



6.4 ANÁLISE TÉRMICA

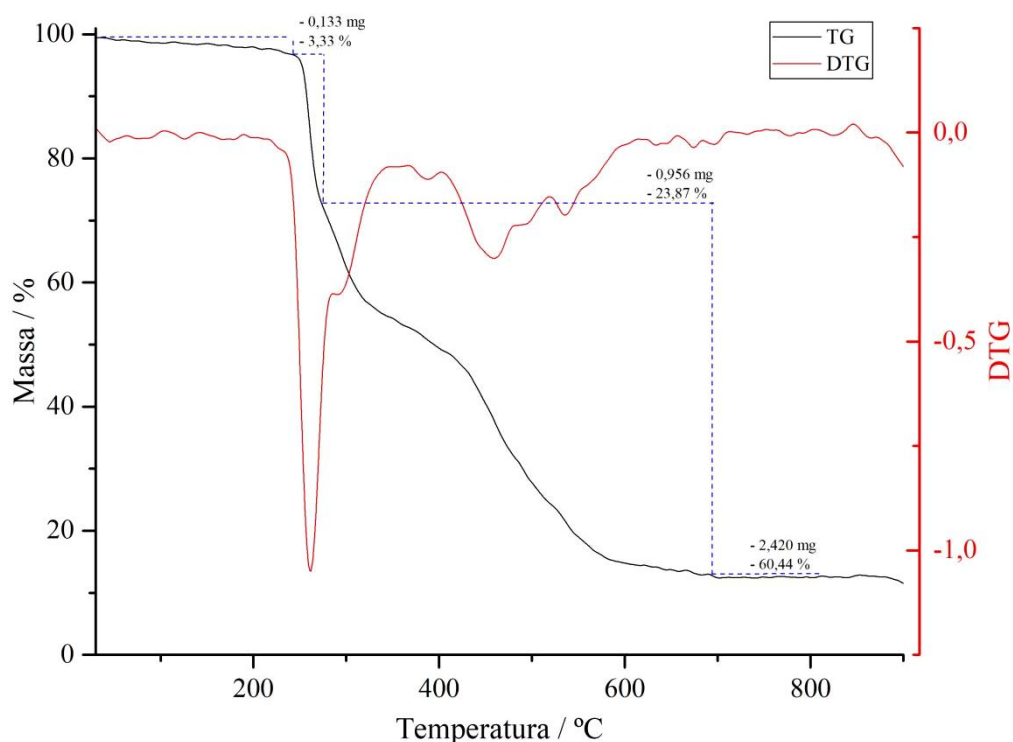
A curva termogravimétrica do complexo **1**, Figura 26, mostra o comportamento térmico desse composto, a uma taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e em atmosfera de N_2 . A curva indica uma perda de massa entre a temperatura ambiente do início do experimento, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, até a temperatura de $243\text{ }^{\circ}\text{C}$. Essa perda de massa, de 3,33%, sugere a eliminação de água de coordenação da estrutura do complexo, devido à temperatura observada ter sido superior a $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (GORDON *et al.*, 2022; TAŞDEMİR *et al.*, 2016; ABID, AL, RASHEED, 2016). Pela curva de TG e de DTG é possível observar outra perda de massa na faixa de $251\text{ }^{\circ}\text{C}$ — $372\text{ }^{\circ}\text{C}$, de 23,87 % sugerindo perda das moléculas de imd. Vale ressaltar que o ligante theo encontra-se desprotonado na esfera de coordenação, íon teofilinato, assim, a interação dele com os íons de cobre(II) é mais forte e a eliminação ocorre em uma faixa de temperatura mais elevada.

A análise da curva TG, Figura 26, revela mais uma perda de massa significativa, 60,44%, na faixa de temperatura de $273\text{ }^{\circ}\text{C}$ — $689\text{ }^{\circ}\text{C}$, atribuída a perda de theo. Este comportamento térmico parece ser característico dos complexos metálicos contendo teofilinato e indica que a decomposição de theo ocorre em mais de uma etapa: a primeira na faixa de $273\text{ }^{\circ}\text{C}$ — $360\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a segunda na faixa de $430\text{ }^{\circ}\text{C}$ — $689\text{ }^{\circ}\text{C}$ (HAMDANI *et al.*, 2019). As perdas teóricas e experimentais foram bastante próximas (erro menor que 3%). O resíduo final foi atribuído à formação do óxido do metal, CuO. A porcentagem do resíduo final é de 12,36%, valor próximo ao calculado, 13,80%. O resultado termogravimétrico está de acordo com o obtido pela análise elementar de CHN e de absorção atômica para a estequiometria do composto. As perdas de massa, em %, com suas respectivas faixas de temperatura, e os produtos intermediários, estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Dados de decomposição térmica do complexo **1**

Composto	Faixa de Temperatura em $^{\circ}\text{C}$	Perda de Massa em %		Produtos Intermediários e Final
		Experimental	Calculada	
$[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{imd})_2]$	25 — 243	3,33	3,13	$[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{imd})_2]$
$[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{imd})_2]$	251 — 273	23,87	23,64	$[\text{Cu}(\text{theo})_2]$
$[\text{Cu}(\text{theo})_2]$	273 — 689	60,44	62,20	CuO

Figura 26: Análise térmica [curva TG (linha preta) e DTG (linha vermelha)] do Complexo **1** realizada em atmosfera de N₂ com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹



6.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X DE MONOCRISTAIS – DRX

A lenta evaporação dos solventes (H₂O e MeOH) levou a formação de pequenos cristais aciculares de coloração azul royal do complexo **2**. Cada unidade estrutural de **2** é formado por dois ligantes nitrogenados diferentes, um íon cloreto e duas moléculas de água, sendo uma de coordenação e a outra de cristalização. A geometria do íon cobre no composto é pirâmide de base quadrada, estando coordenado a 4 átomos de N dos ligantes e um átomo de O de uma das moléculas de água (Figura 27).

As medidas de difração de raios X indicaram, tratar-se de estrutura monoclinica, pertencente ao grupo espacial P21/n. Como previsto, a teofilina, encontrava-se desprotonada e o cloreto atua como contra-íon do composto. As moléculas de água formam uma rede tridimensional pelo estabelecimento de ligações de hidrogênio no composto, Figuras 28. Os dados cristalográficos coletados e o refinamento desses dados são mostrados na Tabela 7. As Tabelas 8 e 9 apresentam os ângulos e comprimentos de ligação na esfera de coordenação do cobre para o complexo. A Tabela 10 apresenta as ligações de hidrogênio presentes no cristal do complexo.

Figura 27: Representação da unidade estrutural determinada para o complexo 2
 $[\text{Cu}(\text{theo})(\text{imd})_3(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$

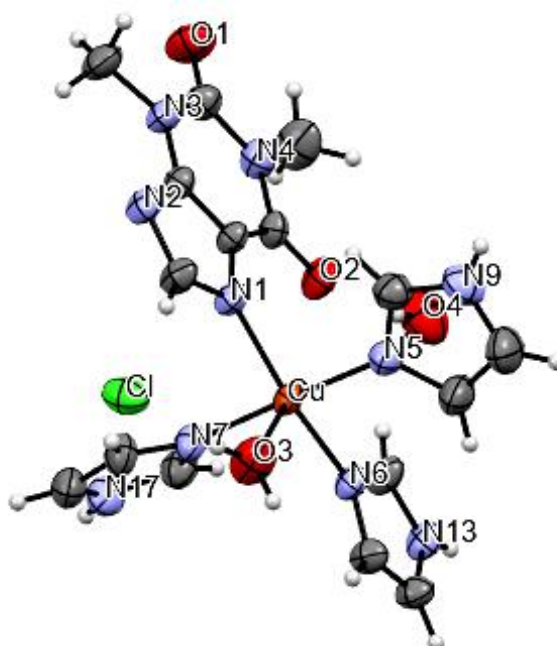


Figura 28: Representação das ligações de hidrogênio no cristal do complexo 2

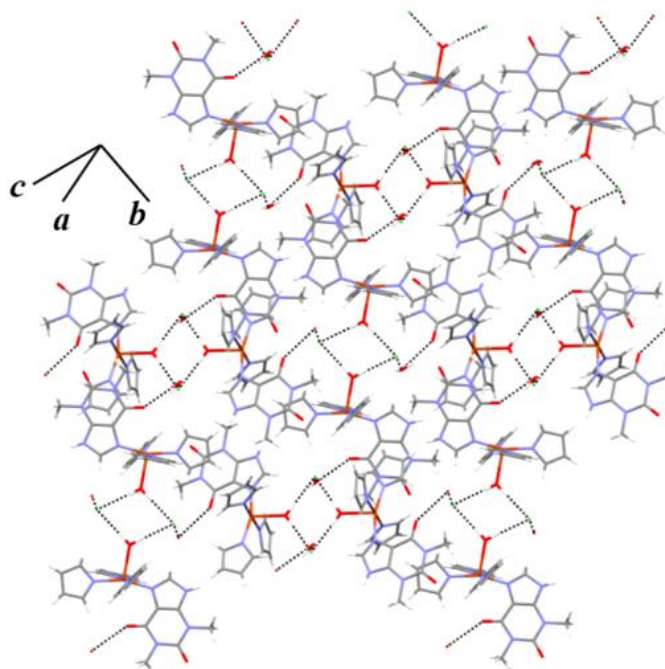


Tabela 7: Dados Cristalográficos e Refinamento para determinação da estrutura do complexo **2**

Cristal	Complexo 2
Fórmula empírica	C ₁₆ H ₂₃ N ₁₀ O ₄ ClCu
Massa molar / g mol ⁻¹	513,44
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P21/n
Temperatura / K	301(2)
a / Å	8.6758(1)
b / Å	14.1750(1)
c / Å	18.1638(1)
$\alpha, \beta, \gamma / ^\circ$	90, 99.145(1), 90
V / Å ³	2205.38
Z	4
Radiação	CuK α (1.54184 Å)
μ / mm ⁻¹	2.877
Medida/ reflexões independentes	91110 / 4755
Reflexões observadas / R _{int}	4505 / 0.0526
Parâmetros	292
R _{obs} / R _{all}	0.0461 / 0.0475
wR _{abs} / wR _{all} / S	0.1422 / 0.1433 / 1.043
$\Delta\rho_{\max}, \Delta\rho_{\min} / e \text{ Å}^{-3}$	0.077

Tabela 8: Comprimentos de ligação, em Å, para os átomos na esfera de coordenação do íon cobre(II) na estrutura do complexo **2**. Os desvios são mostrados entre parênteses

Identificação	Comprimento / Å
Cu-N1	1,994(2)
Cu-N5	2,008(2)
Cu-N6	1,998(2)
Cu-N7	2,022(2)
Cu-O3	2,356(2)

Tabela 9: Ângulos de ligação, em °, para os átomos na esfera de coordenação do íon cobre(II) na estrutura do complexo **2**. Os desvios são mostrados entre parênteses

Identificação	Ângulo / °
N1-Cu-N6	161,96(9)
N1-Cu-N5	91,52(9)
N6-Cu-N5	90,53(9)
N1-Cu-N7	89,41(9)
N6-Cu-N7	89,12(9)
N5-Cu-N7	178,03(10)
N1-Cu-O3	96,28(9)
N6-Cu-O3	101,68(9)
N5-Cu-O3	89,07(10)
N7-Cu-O3	89,10(9)

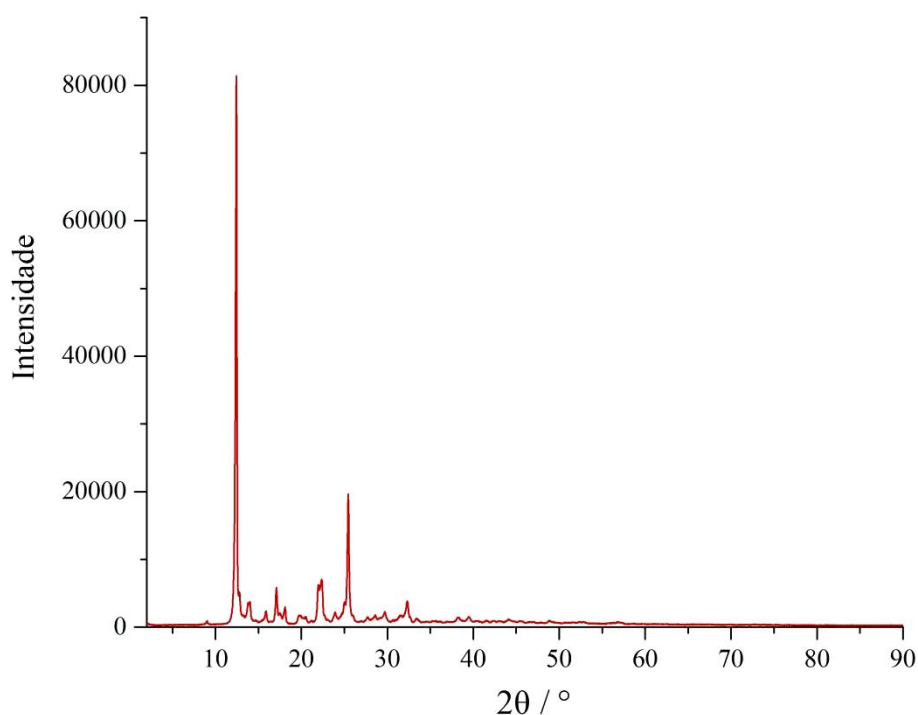
Tabela 10: Ligação de hidrogênio (Å, °)

Ligações de hidrogênio				
D-H...A	D...A / Å	D-H / Å	H...A / Å	D-H...A / °
O3-H3A...Cl	3,185(2)	0,85	2,34	175
O3-H3B...Cl	3,221(3)	0,85	2,37	173
O4-H4A...Cl	3,218(3)	0,89	2,72	149
O4-H4B...O2	2,867(4)	0,87	2,04	161

6.6 DIFRAÇÃO DE RAIOS X de PÓ – DRXP

A investigação cristalográfica de difração de raios X (DRX) em monocristal é a fonte mais precisa de informações sobre a estrutura dos complexos (RAMAN; MAHALAKSHMI, 2014). Para o complexo **1**, não foram obtidos monocristais para a utilização da técnica de DRX, o que tornou o método de difração de raios X de pó ou em policristais (DRXP) uma opção interessante para obter informações a respeito do composto.

O difratograma referente ao complexo **1**, Figura 29, mostra picos finos e bem definidos, indicando se tratar de uma amostra cristalina. Através de um refinamento inicial utilizando o programa X'Pert Highscore Plus, versão 3.0 (2009), encontrou-se algumas informações cristalográficas da célula unitária do complexo **1**. Estes dados estão apresentados na Tabela 11.

Figura 29: Difratoograma característico do complexo **1****Tabela 11:** Tabela dos parâmetros de rede obtidos a partir do refinamento dos dados de Difração de Rios X de
Pó referentes ao complexo **1**

[Cu(theo)₂(imd)₂(H₂O)]	Parâmetros de Rede			
	a / Å	b / Å	c / Å	Volume / Å³
	6,72 (3)	8,54 (4)	21,5 (2)	939,06
	α / °	β / °	γ / °	Sistema Cristalino
	67,1 (9)	70,5 (9)	56,7 (2)	Triclínico

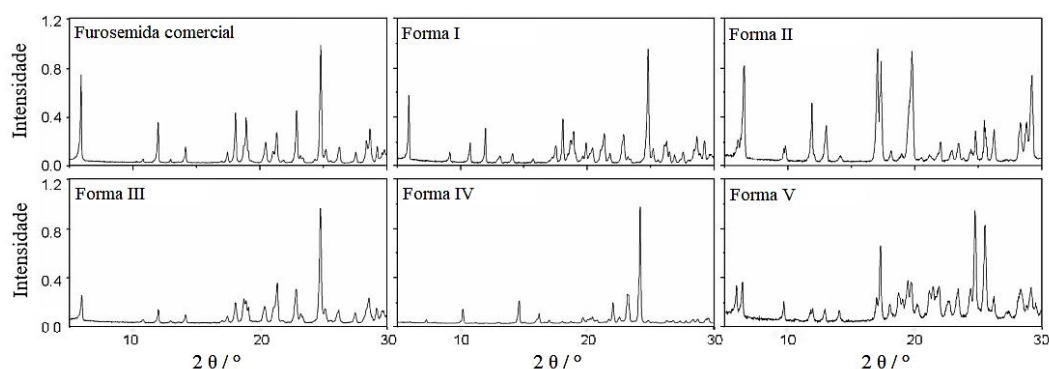
A partir dos dados encontrados, foi possível comparar os dados cristalográficos do complexo **1** com o dos ligantes e com o de um outro complexo já relatado em outros trabalhos por Gordon e seus colaboradores (2022). Este complexo usado para comparação possuía apenas teofilinato e H₂O como ligantes, cuja fórmula química é [Cu(theo)₂(H₂O)₃]·2H₂O, e dessa forma, ele poderia ser o produto da reação de preparo realizada. Os dados dos ligantes e do complexo [Cu(theo)₂(H₂O)₃]·2H₂O são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Dados cristalográficos dos ligantes (a) Imidazol, (b) Teofilina e do (c) Complexo $[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

(a)	Imidazol	Grupo Espacial:	P 21/c (14)		
		a / Å	b / Å	c / Å	
		7,582(2)	5,371(2)	9,790(3)	
		α / °	β / °	γ / °	
		90	118,98	90	
(b)	Teofilina	Grupo Espacial:	P 21/c (14)		
		a / Å	b / Å	c / Å	
		7,8935(6)	12,9087(7)	15,9055(8)	
		α / °	β / °	γ / °	
		90	104,214	90	
(c)	Complejo [Cu(theo) ₂ (H ₂ O) ₃]·2H ₂ O	Grupo Espacial:	P 21/c (14)		
		a / Å	b / Å	c / Å	
		12,3774(5)	11,9374(4)	13,7874(5)	
		α / °	β / °	γ / °	
		90	97,968(2)	90	

A diferença entre os dados cristalográficos por si só não é indicativo de que complexo **1** seja um produto diferente entre os ligantes e entre o complexo $[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{H}_2\text{O})_3] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Isto porque, quando há diferença nas formas cristalinas de um composto, há diferenças em seus dados cristalográficos e, conseqüentemente, diferenças em seus difratogramas, como ilustrado na Figura 30 (GE *et al.*, 2009). No entanto, este resultado juntamente com os outros métodos de caracterização desenvolvidos no decorrer desse trabalho, corroboram com a proposta de preparo bem-sucedido do complexo **1**.

Figura 30: Modificações nos difratogramas de Difração de Raios X em Pó (DRXP) devido à mudança de estrutura cristalina do composto: Furosemida comercial, Forma I, Forma II, Forma III, Forma IV e Forma V



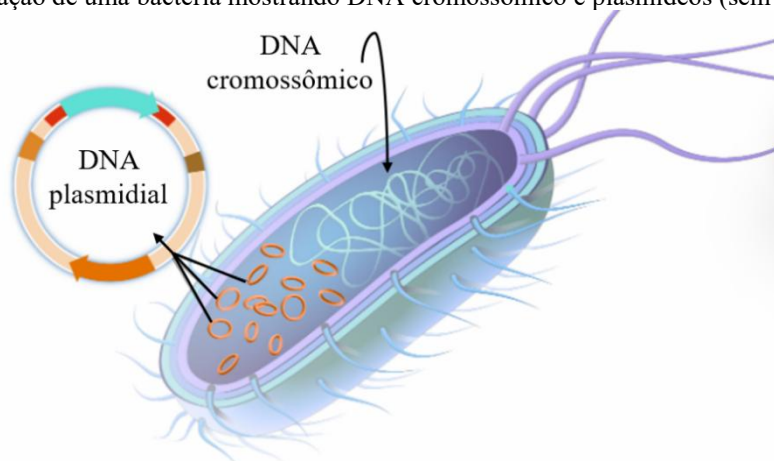
Fonte: Adaptado de Ge *et al.* (2009).

7. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA E INTERAÇÃO COM ALVOS CELULARES DE COMPLEXOS TERNÁRIOS DE COBRE(II) COM OS LIGANTES IMIDAZÓLICOS TEOFILINA E IMIDAZOL

7.1 CLIVAGEM OXIDATIVA DE DNA DE PLASMÍDEO

O DNA plasmidial é molécula pequena circular de dupla fita encontrada em bactérias e alguns outros organismos microscópicos, como algumas leveduras. O DNA plasmidial é capaz de se replicar independentemente do genoma da célula, ou seja, o DNA de plasmídeo é um material extracromossômico (Figura 31) (OPAL; POP-VICAS, 2015; MERESHCHUK; CHEW; DOBSON, 2020; DEWAN; UECKER, 2023; NHGRI, 2024).

Figura 31: Ilustração de uma bactéria mostrando DNA cromossômico e plasmídeos (sem escala)

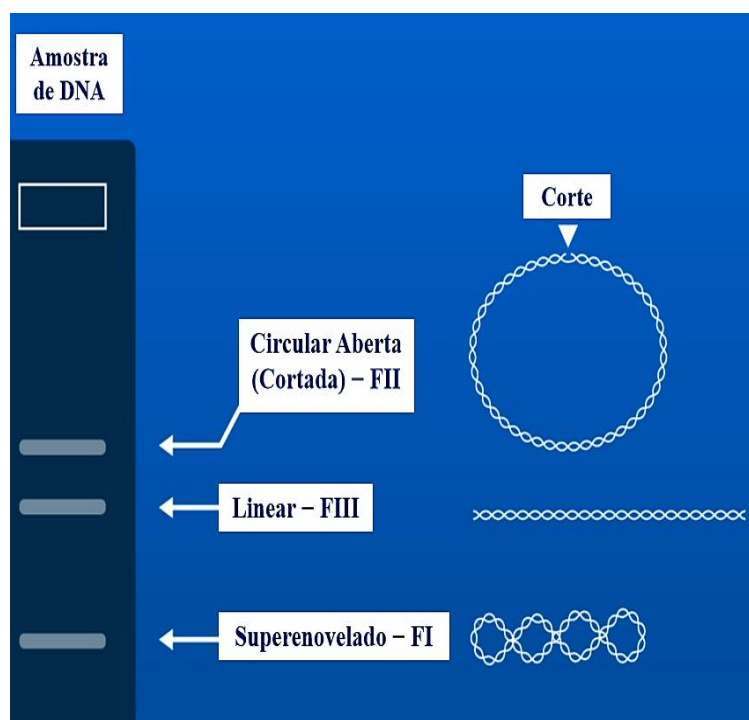


Fonte: Adaptado de National Human Genome Research Institute (NHGRI) (2024).

Através da eletroforese em gel de agarose é possível estudar a habilidade de um complexo em promover danos oxidativos ao DNA de plasmídeo. Alguns agentes possuem a capacidade de interagir com o DNA plasmidial, convertendo sua forma intacta, que é superenovelada (FI), para as formas circular aberta (FII) ou linear (FIII). A forma FIII ocorre quando o dano ao DNA do plasmídeo é mais severo, podendo ser uma quebra dupla ou duas quebras simples nas fitas do DNA (NAVARRO *et al.*, 2003). Desta forma, as formas FII e FIII existem quando há algum dano no DNA plasmidial, sendo possível a utilização do gel de agarose para identificar se os compostos químicos são capazes de provocar danos ao DNA.

As formas FI, FII e FIII da estrutura do DNA do plasmídeo migram com diferentes velocidades pelo gel de agarose. FI percorre o gel de agarose mais rapidamente, FIII é a forma de velocidade intermediária e a FII é a forma que percorre o gel mais lentamente. A Figura 32 exemplifica como as formas migram pelo gel de agarose e ilustra cada uma das formas estruturais do DNA plasmidial.

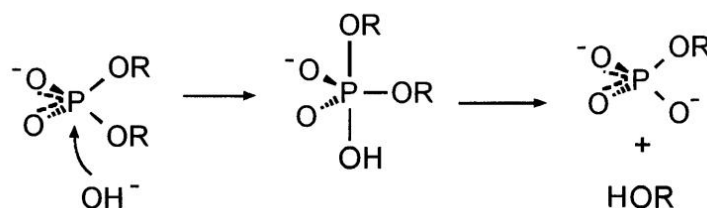
Figura 32: Representação esquemática das 3 formas (FI, FII e FIII) do DNA plasmidial e de como essas formas se apresentam em um gel de agarose de eletroforese



Fonte: Program (2021).

Os complexos metálicos possuem dois mecanismos de clivagem do DNA: hidrolítico e oxidativo. Na hidrólise, quando há moléculas de água ou hidroxilas coordenadas ao centro metálico do complexo, pode ocorrer o ataque nucleofílico do oxigênio destes ligantes ao fosfato ligado à pentose, rompendo a ligação fosfodiéster do DNA (KRÄMER, 1999). Tal mecanismo está ilustrado na Figura 33.

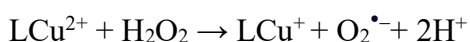
Figura 33: Mecanismo de clivagem hidrolítica do DNA, ilustrando o ataque nucleofílico do oxigênio e ruptura da ligação fosfodiéster



Fonte: Krämer(1998).

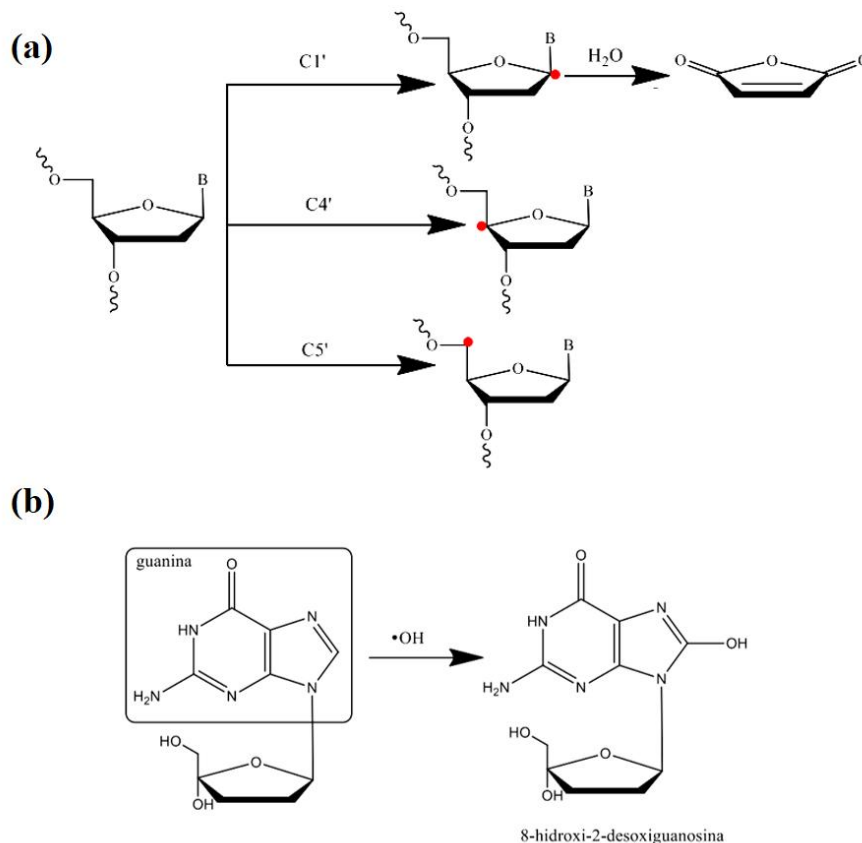
Já no processo oxidativo, ocorre a produção de radicais livres a partir de uma reação de oxirredução entre o centro metálico do complexo e o oxigênio, em condições fisiológicas. Esses radicais livres atacam, prioritariamente, as pentoses — ribose (RNA) ou desoxirribose (DNA) —, atacando também as bases nitrogenadas do DNA, especialmente as guaninas, Figura 34 (SIGMAN, 1990; WENDE; LÜDTKE; KULAK, 2014).

O cobre é um metal de transição que apresenta relativa facilidade em alternar de estados de oxidação em condições fisiológicas. Os complexos de cobre(II), com diferentes ligantes, podem apresentar reações tipo Fenton, no qual há a geração de radicais livres na presença de um correagente, como o H_2O_2 (JOHNSON; NAZHAT; SAADALLA-NAZHAT, 1988; PIM *et al.*, 2013; PHAM *et al.*, 2013; MCGIVERN; AFSHARPOUR; MARMION, 2018).



Para que se inicie o ciclo de geração de espécies reativas de oxigênio (ERO's), é necessário que o cobre(II) seja reduzido para cobre(I) ou que cobre(II) seja oxidado para cobre(III). No primeiro caso, a reação ocorre na presença de um agente redutor, como o L-ascorbato de sódio e no segundo caso, ocorre na presença de agentes oxidantes, como o peróxido de hidrogênio. Assim, quando se inicia as reações de oxirredução, inicia-se, também, a geração de ERO's (MCGIVERN; AFSHARPOUR; MARMION, 2018).

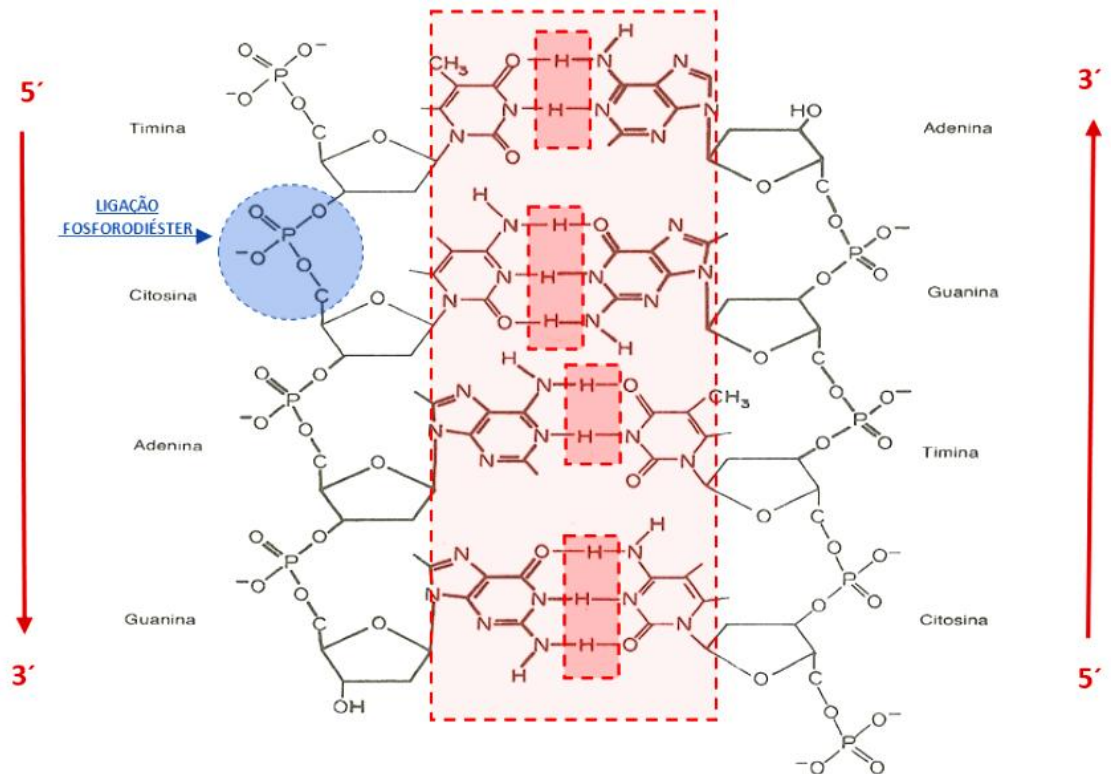
Figura 34: (a) Espécies reativas de oxigênio são responsáveis pela oxidação do carbono C1' da desoxirribose do DNA, induzindo a cisão da fita. Também podem ser oxidados os carbonos da posição C4' e C5'. Na ilustração, a reação foi induzida pelo complexo metálico $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$; (b) Oxidação na porção guanina do DNA formando 8-hidróxi-2-desoxiguanosina



Adaptado de: Barreiros, David, David, 2006; Ramos, 2021; Wende, Lüdtke; Kulal, 2014.

Entre os dois mecanismos de ruptura do DNA, o mais estudado para complexos metálicos é o oxidativo. Além da facilidade com que se acontece as reações de oxirredução de alguns íons metálicos em condições fisiológicas, a hidrólise do DNA é uma reação difícil de se reproduzir, devido à estabilidade do DNA frente à hidrólise: o grupo OH do fosfato do DNA fica carregado negativamente em meio fisiológico (Figura 35), repelindo possíveis nucleófilos (HEGG; BURSTYN, 1996). Dessa maneira, escolheu-se estudar a clivagem oxidativa do DNA.

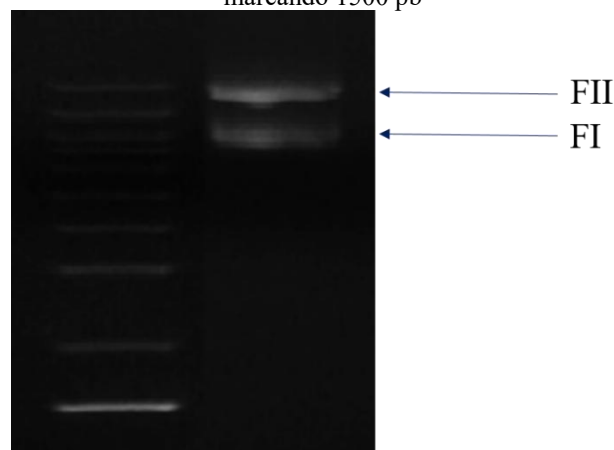
Figura 35: Estrutura do DNA, evidenciando a ligação fosfodiéster com carga negativa



Fonte: Moraes Neto (2021)

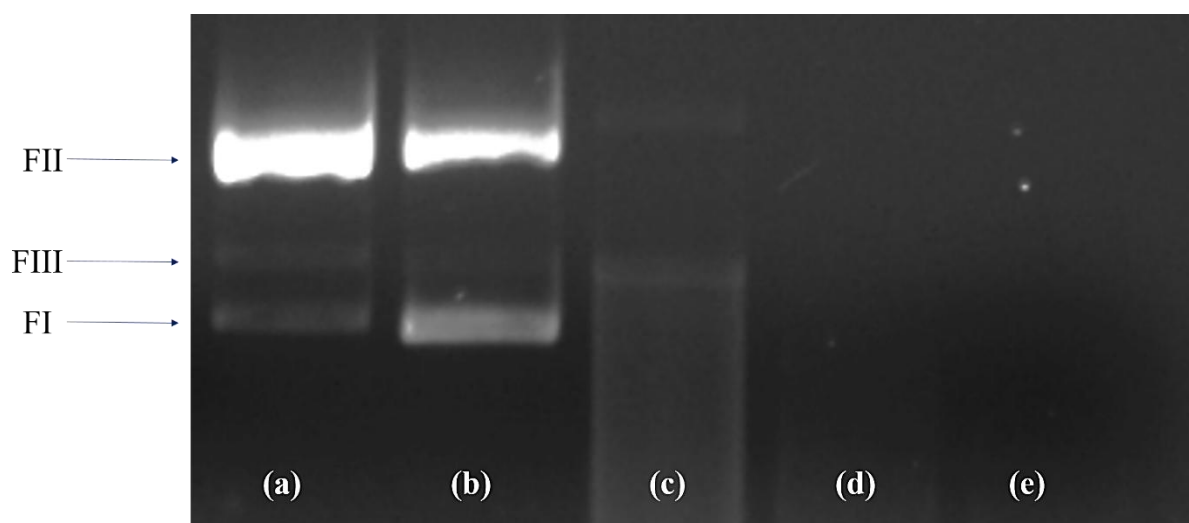
Para os ensaios de clivagem oxidativa do DNA, foi utilizado o DNA do plasmídeo pROCKGFPNeo, dupla fita superenovelado, com 8031pb. O experimento foi realizado primeiramente sem a presença dos complexos, para que se verificasse a viabilidade do DNA testado e, assim ter o teste controle. A Figura 36 mostra o resultado da eletroforese em gel de agarose do DNA plasmidial (pROCK) sob condições fisiológicas.

Figura 36: Gel 1,2 % de agarose contendo o DNA de plasmídeo, pROCK, situado à direita, após 30 minutos de incubação, a 37°C, pH = 7,2. À esquerda está o padrão de peso molecular com a banda inferior (mais intensa) marcando 1500 pb



Para o experimento foram realizados 3 controles: (i) realizado separadamente, as amostras foram incubadas a 37 °C por 30 minutos em tampão HEPES, pH 7,2 (denominado Controle Geral), Figura 37. O objetivo desse controle era simular o comportamento do DNA plasmidial em condições fisiológicas e avaliar sua qualidade; (ii) o segundo controle (denominado Controle I) foi realizado incubando a amostra a 37 °C com todas as soluções utilizadas, com exceção do complexo e do solvente DMSO, Figura 37 (a). O objetivo era avaliar se alguma das soluções interagem com o DNA do plasmídeo; (iii) o terceiro controle (denominado Controle II) foi realizado incubando a amostra a 37 °C com todas as soluções utilizadas, com exceção do complexo e o objetivo era avaliar se o DMSO interagia com o DNA do plasmídeo e o resultado encontra-se na Figura 37 (b).

Figura 37: Clivagem oxidativa de DNA de plasmídeo, pROCK, após 30 minutos de incubação, a 37°C, pH = 7,2, 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ L-ascorbato de sódio e 25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ NaCl, na ausência e na presença de concentrações crescentes do complexo 2: (a) ausência de complexo 2; (b) ausência de complexo 2 e presença de DMSO (3 μL); (c) 7,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de complexo 2; (d) 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de complexo 2; (e) 15,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de complexo 2



Pela análise dos controles, foi possível perceber que no Controle I, da Figura 37 (a), o DNA foi mais degradado que no Controle Geral. Esse resultado sugeria que ou L-ascorbato de sódio ou o cloreto de sódio podiam estar interagindo com o DNA. Woolley *et al.* (1987) mostrou em seu trabalho que altas concentrações de ascorbato de sódio era capaz de promover danos ao DNA plasmidial *in vitro*.

Ao se comparar o Controle I com o Controle II, percebe-se que há redução da degradação do DNA (a banda correspondente à forma FI está mais intensa no Controle II que no Controle I). Este resultado evidenciou que o L-ascorbato de sódio é o componente mais provável de estar interagindo com o DNA plasmidial: o L-ascorbato de sódio possui pKa de

11,6 e o DMSO possui pKa de 35,1 (MATTHEWS *et al.*, 1975). Sendo assim, é possível que o DMSO esteja neutralizando parte do L-ascorbato de sódio, reduzindo a degradação ao DNA utilizado no experimento.

Os controles realizados evidenciaram que o L-ascorbato de sódio estava superdimensionado para o experimento, o que indicava que os resultados precisariam ser analisados com cautela. Na concentração de $7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ é possível observar que há o desaparecimento da banda da forma FI, restando apenas as bandas relativas às formas FII e FIII. Já na concentração $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $15,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ há a degradação total do DNA plasmidial, não sendo possível observar mais nenhuma banda. O experimento comprova que o composto realiza a clivagem oxidativa do DNA, no entanto, não é possível afirmar a concentração exata que ocorre a degradação total do DNA, apenas que isso ocorre a uma concentração superior a $7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$.

7.2 ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS COMPOSTOS NA LINHAGEM K562

A determinação das concentrações necessárias para inibir em 50% o crescimento celular, IC_{50} , foi realizada de acordo com o procedimento descrito na parte experimental (Seção 5.3). Os resultados obtidos revelaram que os complexos 1 e 2 não apresentam atividade antitumoral frente às células de leucemia mielóide crônica, linhagem K562, até a concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. Isto significa que, ao ser realizada a contagem das células na cultura que não continha nenhuma concentração de complexo e a contagem das células das culturas que continham concentrações variadas dos complexos, não foi notada nenhuma diferença significativa entre elas. Ainda assim, seria interessante a verificação da citotoxicidade dos complexos em outras linhagens de células tumorais ou outras aplicações biológicas dos complexos aqui estudados.

8. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Neste trabalho foram preparados e caracterizados dois complexos inéditos de cobre(II). O complexo **1** foi caracterizado por análise elementar, absorção atômica, medidas condutimétricas, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica na região ultravioleta-visível, análise termogravimétrica e difração de raios X em pó. As diferentes técnicas de caracterização corroboraram para a estrutura proposta para esse composto: $[\text{Cu}(\text{theo})_2(\text{imd})_2(\text{H}_2\text{O})]$. A análise termogravimétrica indica uma molécula de água de coordenação, tendo sido comprovada pela banda de estiramento de O–H no espectro vibracional. A termogravimetria também corrobora com a análise elementar e de absorção atômica, indicando que o cobre se apresenta coordenado a duas moléculas de teofilinas desprotonadas e duas moléculas de imidazol. A análise condutimétrica indica que o composto é não eletrólito.

O complexo **2** foi caracterizado por análise elementar, absorção atômica, medidas condutimétricas, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica na região ultravioleta-visível e difração de raios X em monocristal. As diferentes técnicas de caracterização permitiram inferir que a estrutura para esse composto é $[\text{Cu}(\text{theo})(\text{imd})_3(\text{H}_2\text{O})]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$. O complexo apresenta geometria pirâmide de base quadrada, é um eletrólito 1:1, com Cl^- como contra-íon. Há também uma molécula de água de cristalização nesse composto.

O complexo **2** é capaz de interagir com o DNA de plasmídeo, provocando danos que foram visualizados por eletroforese de gel de agarose. Ambos os complexos foram testados quanto a citotoxicidade em uma linhagem de células tumorais, leucemia de mieloide crônica – K562, e não apresentaram atividade citotóxica até $100 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Para o complexo **1**, pretende-se realizar DRX por monocristal: este complexo já foi preparado novamente e obteve-se cristais maiores, sendo possível a realização técnica de DRX para obter dados mais robustos a respeito de sua estrutura química. Também pretende-se realizar, tanto para o complexo **1** quanto para o complexo **2**, análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de modo a analisar o tamanho dos grãos dos cristais formados.

Para ambos os complexos deseja-se continuar os estudos de citotoxicidade, estudando a capacidade dos compostos em promover clivagem oxidativa ao DNA plasmidial, utilizando um outro protocolo com DNA plasmidial comercial, o pUC19. Projeta-se, também, testar a atividade dos complexos em uma linhagem celular selvagem de *Trypanosoma cruzi* (DM28).

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABID, K.; AL, S.; RASHEED, A.. Synthesis, Characterization, Thermal study and Biological Evaluation of Transition Metal Complexes Supported by ONNNO – Pentadentate Schiff Base Ligand. **American Journal of Chemistry**, [S.L.], v. 6 (1), p. 1-7, 2016. DOI: 10.5923/j.chemistry.20160601.01.

AGUIAR, D. F.. **Síntese de novos derivados de 3-aril-5-adamantano-1,2,4-oxadiazol e N'-hidróxi-carboximidamida-2-amino-1,4-naftoquinonas com potencial atividade citotóxica e antitumoral**. 2021. 183 f. Tese (Doutorado) - Curso de Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, Ufrpe, Recife, 2021. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/8994/2/Deivson%20Ferreira%20Aguiar.pdf>. Acesso em: 26 set. 2013.

AGUILAR-JIMÉNEZ, Z. *et al.* The Importance of Being Casiopeina as Polypharmacological Profile (Mixed Chelate–Copper (II) Complexes and Their In Vitro and In Vivo Activities). **Inorganics**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 394, 7 out. 2023. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/inorganics11100394>.

AIZENSTEIN, M.L.; TOMASSI, M.H.. Problemas relacionados a medicamentos; reações adversas a medicamentos e erros de medicação: a necessidade de uma padronização nas definições e classificações. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [S.L.], v. 2, n. 32, p. 169-173, mar. 2011. Disponível em: <file:///C:/Users/User/Downloads/341-Article%20Text-1033-1-10-20190916.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2024.

ALAMANOVA, E. *et al.* Coordination Polymer of Cobalt (II) Nitrate with Imidazole: synthesis, properties and crystal structure. **Journal Of Crystallization Process And Technology**, [S.L.], v. 10, n. 01, p. 1-9, jan. 2021. Scientific Research Publishing, Inc.. <http://dx.doi.org/10.4236/jcpt.2021.101001>.

AL-SALMAN, H.N.K. *et al.* Theophylline Determination in Pharmaceuticals Using a Novel High-performance Liquid Chromatographic Process. **Neuroquantology**, [S.L.], v. 19, n. 7, p. 196-208, 11 ago. 2021. NeuroQuantology Journal. <http://dx.doi.org/10.14704/nq.2021.19.7.nq21103>.

AZEVEDO, E. de M.. **Química de coordenação**. Curitiba: Editora Bagai, 2021. 133 p. Disponível em: <https://educapes.capes.gov.br/bitstream/capes/601716/2/Editora%20BAGAI%20-%20Qu%C3%ADmica%20de%20Coordena%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 16 jan. 2024.

BARBOSA, L. C. de A.. **Espectroscopia no Infravermelho Na Caracterização de Compostos Orgânicos**. Viçosa: Editora Ufv, 2013.

BARBOSA, P. F.. **Potencial antifúngico do composto CTP, contendo cobre(II) coordenado a 1,10-fenantrolina e teofilina, sobre espécies de Candida não-albicans resistentes ao fluconazol**. 2022. 73 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Ufrj, Rio de Janeiro, 2022. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/bitstream/11422/20629/1/PFBarbosa.pdf>. Acesso em: 28 set. 2023.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, [S.L.], v. 29, n. 1, p. 113-123, fev. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000100021>.

BASU, A.; KRISHNAMURTHY, S.. Cellular Responses to Cisplatin-Induced DNA Damage. **Journal Of Nucleic Acids**, [S.L.], v. 2010, p. 1-16, 2010. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.4061/2010/201367>.

BASU, S. *et al.* Heavy and Trace Metals in Carcinoma of the Gallbladder. **World Journal Of Surgery**, [S.L.], v. 37, n. 11, p. 2641-2646, 14 ago. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1007/s00268-013-2164-9>.

BELTRAN-HORTELANO, I. *et al.* The role of imidazole and benzimidazole heterocycles in Chagas disease: a review. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 206, p. 112692, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112692>.

BERALDO, H. Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal. **Química nova na escola**, [S.L.], n. 6, p. 4, jul. 2005. <http://qnesc.sbq.org.br/online/cadernos/06/a03.pdf>

BORGES, H. L.; LINDEN, R.; WANG, J. Y.. DNA damage-induced cell death: lessons from the central nervous system. **Cell Research**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 17-26, 18 dez. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/cr.2007.110>.

BRITO, M. A. de; CORDEIRO, B. C.. Necessidade de novos antibióticos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [S.L.], v. 48, n. 4, p. 247-249, ago. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1676-24442012000400002>.

BULA. **Teofilina**. Disponível em: <https://consultaremedios.com.br/teofilina/bula>. Acesso em: 28 set. 2023.

CHANG, Y. L. *et al.* Theophylline exhibits anti-cancer activity via suppressing SRSF3 in cervical and breast cancer cell lines. **Oncotarget**, [S.L.], v. 8, n. 60, p. 101461-101474, 3 out. 2017. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.21464>.

COHEN, S. M. New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry. **Current Opinion In Chemical Biology**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 115-120, abr. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.01.012>.

DAVILA-MANZANILLA, S. G. *et al.* Synergistic effects between a copper-based metal Casiopeína III-ia and cisplatin. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 129, p. 266-274, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.01.045>.

DENOYER, D.; CLATWORTHY, S.A. S.; CATER, M. A.. Copper Complexes in Cancer Therapy. **Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents**, [S.L.], p. 469-506, 5 fev. 2018. De Gruyter. <http://dx.doi.org/10.1515/9783110470734-022>.

DEWAN, I.; UECKER, H.. A mathematician's guide to plasmids: an introduction to plasmid biology for modellers. **Microbiology**, [S.L.], v. 169, n. 7, p. 1-23, 28 jul. 2023. Microbiology Society. <http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.001362>.

DING, W. Q.; LIND, S. E.. Metal ionophores – An emerging class of anticancer drugs. **Iubmb Life**, [S.L.], v. 61, n. 11, p. 1013-1018, 26 out. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/iub.253>.

DOLOMANOV, O. V. *et al.* OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. **J. Appl. Cryst.**, v. 42, n. 2, p. 339-341, 2009.

FERRARI, L. M.; LIMBERGER, J. B.. Medicamentos na prática clínica de pacientes oncológicos em cuidados paliativos. **Disciplinarum Scientia | Saúde**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 315–332, 2021. Disponível em: <https://periodicos.ufn.edu.br/index.php/disciplinarumS/article/view/3682>. Acesso em 30 jun. 2024.

FERREIRA, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D.. Medicamentos e tratamentos para a Covid-19. **Estudos Avançados**, [S.L.], v. 34, n. 100, p. 7-27, dez. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-4014.2020.34100.002>.

FIGUEROA-DEPAZ, Y. *et al.* Casiopeinas of Third Generations: synthesis, characterization, cytotoxic activity and structure: activity relationships of mixed chelate compounds with bioactive secondary ligands. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 11, p. 3504, 30 maio 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27113504>.

FONTES, A. P. S. *et al.* A química inorgânica na terapia do câncer. **Cadernos temáticos de química nova na escola**, [S.L.], n. 6, p.1, 2005. <http://qnesc.sbq.org.br/online/cadernos/06/a05.pdf>

GE, E. J. *et al.* Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia. **Nature Reviews Cancer**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 102-113, 11 nov. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41568-021-00417-2>.

GE, M. *et al.* Polymorphic Forms of Furosemide Characterized by THz Time Domain Spectroscopy. **Bulletin Of The Korean Chemical Society**, [S.L.], v. 30, n. 10, p. 2265-2268, 20 out. 2009. <http://dx.doi.org/10.5012/BKCS.2009.30.10.2265>.

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 81–122, 1971.

GONTIJO, B. *et al.* Arsênio: uma revisão histórica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 80, n. 1, p. 91-95, fev. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962005000100014>.

GORDON, A. T. *et al.* Synthesis and anticancer evaluation of copper(II)- and manganese(II)-theophylline mixed ligand complexes. **Polyhedron**, [S.L.], v. 214, p. 115649, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2022.115649>.

GUPTE, A.; MUMPER, R. J.. Elevated copper and oxidative stress in cancer cells as a target for cancer treatment. **Cancer Treatment Reviews**, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 32-46, fev. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ctrv.2008.07.004>.

HAMDANI, H. E. *et al.* Synthesis, structural, spectral, and anticancer activity by computational molecular docking studies of the complexes $[M(II)(Th)_2(H_2O)_4]$ $M(II) = Cd(II), Ni(II), Mn(II)$ and $Cu(II)$; Th: theophyllinate. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1181, p. 627-635, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.01.025>.

HEDLEY, D. *et al.* A phase I study of elesclomol sodium in patients with acute myeloid leukemia. **Leukemia & Lymphoma**, [S.L.], v. 57, n. 10, p. 2437-2440, 5 fev. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/10428194.2016.1138293>.

HEGG, E. L.; BURSTYN, J. N.. Copper(II) Macrocycles Cleave Single-Stranded and Double-Stranded DNA under Both Aerobic and Anaerobic Conditions. **Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 35, n. 26, p. 7474-7481, 1 jan. 1996. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ic960384n>.

HO, Y. P. *et al.* Platinum-based anticancer agents: innovative design strategies and biological perspectives. **Medicinal Research Reviews**, [S.L.], v. 23, n. 5, p. 633-655, 30 maio 2003. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/med.10038>.

HORDYJEWSKA, A.; POPIOŁEK, Ł.; KOCOT, J.. The many “faces” of copper in medicine and treatment. **Biometals**, [S.L.], v. 27, n. 4, p. 611-621, 20 abr. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10534-014-9736-5>.

HOTTES, S.. **Novos complexos de platina(II) e cobre(II) derivados de oximas 1,2,3-triazólicas como potenciais agentes antitumorais e protótipos de pró-drogas biorredutíveis**. 2013. 143 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Pontícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

HUEMER, M. *et al.* Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. **Embo Reports**, [S.L.], v. 21, n. 12, p. 1-24, 3 dez. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.15252/embr.202051034>.

HUQ, F. *et al.* Studies on activities, cell uptake and DNA binding of four trans-planaramineplatinum(II) complexes of the form: $trans-ptl(nh_3)cl_2$, where $l=2$ -hydroxypyridine, imidazole, 3-hydroxypyridine and imidazo(1,2- α)pyridine. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.L.], v. 98, n. 8, p. 1261-1270, ago. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2004.05.014>.

IAKOVIDIS, I.; DELIMARIS, I.; PIPERAKIS, S. M.. Copper and Its Complexes in Medicine: a biochemical approach. **Molecular Biology International**, [S.L.], v. 2011, p. 1-13, 15 jun. 2011. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.4061/2011/594529>.

ISHIDA, S. *et al.* Bioavailable copper modulates oxidative phosphorylation and growth of tumors. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 110, n. 48, p. 19507-19512, 11 nov. 2013. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1318431110>.

ISMAIL, A. H. *et al.* Nanoscale Synthesis of Metal(II) Theophylline Complexes and Assessment of Their Biological Activity. **Nano Biomedicine And Engineering**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 139-147, 16 abr. 2020. Tsinghua University Press. <http://dx.doi.org/10.5101/nbe.v12i2.p139-147>.

ISMAIL, A. H. *et al.* Synthesis, Characterization, Spectroscopic and Biological Studies of Zn(II), Mn(II) and Fe(II) Theophylline Complexes in Nanoscale. **Nano Biomedicine And Engineering**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 253-261, 18 set. 2020. Tsinghua University Press. <http://dx.doi.org/10.5101/nbe.v12i3.p253-261>.

JAMIESON, E. R. *et al.* Structure, Recognition, and Processing of Cisplatin–DNA Adducts. **Chemical Reviews**, [S.L.], v. 99, n. 9, p. 2467-2498, 14 ago. 1999. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cr980421n>.

JIN, L. *et al.* Coordination behavior of theophylline with Au(III) and electrochemical reduction of the complex. **Electrochimica Acta**, [S.L.], v. 304, p. 168-174, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2019.02.118>.

JOURNEY, Jonathan D.; BENTLEY, Thomas P.. **Theophylline Toxicity**. [S.L.]: Statpearls Publishing Llc, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532962/>. Acesso em: 19 jan. 2024.

JOHNSON, G. R. A.; NAZHAT, N. B.; SAADALLA-NAZHAT, R. A.. Reaction of the aquacopper(I) ion with hydrogen peroxide. Evidence for a CuIII(cupryl) intermediate. **Journal Of The Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases**, [S.L.], v. 84, n. 2, p. 501, 1988. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/f19888400501>.

KRÄMER, R.. Bioinorganic models for the catalytic cooperation of metal ions and functional groups in nuclease and peptidase enzymes. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.L.], v. 182, n. 1, p. 243-261, fev. 1999. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545\(98\)00235-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545(98)00235-5)

KRASNOVSKAYA, O. *et al.* Copper Coordination Compounds as Biologically Active Agents. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 11, p. 3965, 31 maio 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21113965>.

KUMAR, M. *et al.* Role of Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. **Advances In Metallodrugs**, [S.L.], p. 71-113, 12 jun. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/9781119640868.ch3>.

KUO, H. W. *et al.* Serum and Tissue Trace Elements in Patients with Breast Cancer in Taiwan. **Biological Trace Element Research**, [S.L.], v. 89, n. 1, p. 1-12, 2002. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1385/bter:89:1:1>.

LEITE, F.. **Cobre: riscos da carência e excesso. Riscos da Carência e Excesso.** 2018. Disponível em: <https://www.prescrita.com.br/cobre-carencia-e-excesso/#:~:text=A%20defici%C3%Aancia%20do%20%C3%ADon%20de,s%C3%ADndrome%20de%20Kwashior%20C%20les%C3%B5es%20pancre%C3%A1ticas%2C>. Acesso em: 25 set. 2023.

LELIÈVRE, P. *et al.* The Multifaceted Roles of Copper in Cancer: a trace metal element with dysregulated metabolism, but also a target or a bullet for therapy. **Cancers**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 3594, 1 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers12123594>.

LI, K.; KOBAYASHI, T.. A FT-IR spectroscopic study of ultrasound effect on aqueous imidazole based ionic liquids having different counter ions. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 28, p. 39-46, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.06.030>.

LIU, C. *et al.* Discovery of New Imidazole Derivatives Containing the 2,4-Dienone Motif with Broad-Spectrum Antifungal and Antibacterial Activity. **Molecules**, [S.L.], v. 19, n. 10, p. 15653-15672, 29 set. 2014. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules191015653>.

LOBO, R. E. D. *et al.* INTERAÇÃO MEDICAMENTOSA EM PACIENTES COM Câncer: revisão integrativa da literatura / drug interaction in cancer patients. **Brazilian Journal Of Development**, [S.L.], v. 7, n. 3, p. 32289-32303, 2021. Brazilian Journal of Development. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv7n3-784>.

MACRAE, C. F. *et al.* Mercury 4.0: from visualization to analysis, design and prediction. **J. Appl. Cryst.**, v. 53, pt. 1, p. 226-235, 2020.

MARIAN, E. *et al.* Synthesis, spectroscopic behavior and scanning electron microscopy of new complexes of theophylline with some transitional metals ions. **Farmacía**, [S.L.], v. 58, n. 6, p. 749-757, jun. 2010.

MATTHEWS, W. S. *et al.* Equilibrium acidities of carbon acids. VI. Establishment of an absolute scale of acidities in dimethyl sulfoxide solution. **Journal Of The American Chemical Society**, [S.L.], v. 97, n. 24, p. 7006-7014, nov. 1975. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ja00857a010>.

MCGIVERN, T.J.P.; AFSHARPOUR, S.; MARMION, C.J.. Copper complexes as artificial DNA metallonucleases: from sigman π s reagent to next generation anti-cancer agent?. **Inorganica Chimica Acta**, [S.L.], v. 472, p. 12-39, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2017.08.043>.

MERESHCHUK, A.; CHEW, J. S. K.; DOBSON, M. J.. Use of Yeast Plasmids: transformation and inheritance assays. **Methods In Molecular Biology**, [S.L.], p. 1-13, 6 set. 2020. Springer US. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-0716-0868-5_1.

MIKOVSKI, D. *et al.* Química Medicinal E A Sua Importância No Desenvolvimento De Novos Fármacos. **Revista Saúde E Desenvolvimento**, [S.L.], v. 12, n. 13, p. 29-43, 2019. Disponível em:

<https://www.revistasuninter.com/revistasauade/index.php/saudeDesenvolvimento/article/view/997>. Acesso em: 30 jun. 2024

MIRANDA, V. M.. Medicinal inorganic chemistry: an updated review on the status of metallodrugs and prominent metallodrug candidates. **Reviews In Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 29-52, 9 mar. 2021. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/revic-2020-0030>.

MORAES NETO, A.. **Dos nucleotídeos aos marcadores de DNA**: a biotecnologia mais próxima das pessoas. a biotecnologia mais próxima das pessoas. 2021. Disponível em: <https://blog.varsomics.com/dos-nucleotideos-aos-marcadores-de-dna-a-biotecnologia-mais-proxima-das-pessoas/>. Acesso em: 11 jan. 2024.

NAKATA, K. C. de F.. **Manual sobre medicamentos**: acesso e uso. Mato Grosso: Secretaria de Estado da Saúde do Estado de Mato Grosso, 2014. Disponível em: https://www.tjmt.jus.br/intranet.arq/downloads/Manual/Manual_Sobre_Medicamentos_SES_MT.pdf. Acesso em: 20 jan. 2024.

NARASIMHAN, B.; SHARMA, D.; KUMAR, P.. Biological importance of imidazole nucleus in the new millennium. **Medicinal Chemistry Research**, [S.L.], v. 20, n. 8, p. 1119-1140, 6 nov. 2010. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00044-010-9472-5>.

NAVARRO, M *et al.* Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against *Leishmania mexicana* of [Cu(dppz)₂]BF₄. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.L.], v. 97, n. 4, p. 364-369, 1 dez. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0162-0134\(03\)00290-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0162-0134(03)00290-3).

NAUMOV, P.; JOVANOVSKI, G.. Infrared study of the binuclear cadmium(II) imidazole saccharinato complex: Comparison with the copper(II) compound. **Acta Chim. Slov.**, [S.L.], v. 46, n. 3, p. 389-404, 1999.

NEVES, A. P.; VARGAS, M. D.. Platinum(II) Complexes in Cancer Therapy. **Revista Virtual de Química**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 196-209, 5 set. 2011. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20110023>.

NHGRI, National Human Genome Research Institute. **Plasmid**. 2024. Disponível em: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Plasmid#:~:text=Definition,copies%20of%20the%20inserted%20gene..> Acesso em: 07 set. 2024.

OLIVERI, V.. Biomedical applications of copper ionophores. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.L.], v. 422, p. 213474, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213474>.

OLIVERI, V.. Selective Targeting of Cancer Cells by Copper Ionophores: an overview. **Frontiers In Molecular Biosciences**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-14, 4 mar. 2022. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmolb.2022.841814>.

OPAL, S. M.; POP-VICAS, A.. Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance in Bacteria. **Mandell, Douglas, And Bennett'S Principles And Practice Of Infectious Diseases**, [S.L.], p. 235-251, 2015. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-1-4557-4801-3.00018-7>.

ORVIG, C. *et al.* Medicinal Inorganic Chemistry: introduction. **Chemical Reviews**, [S.L.], v. 99, n. 9, p. 2201-2204, 30 jul. 1999. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cr980419w>.

PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à Espectroscopia**. 4. ed. [S.L.]: Cengage Learning, 2010.

PEDROSA, L. de F. C.; COZZOLINO, S. M. F.. Alterações metabólicas e funcionais do cobre em diabetes mellitus. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 213-224, dez. 1999. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52731999000300002>.

PHAM, A. Ninh *et al.* Fenton-like copper redox chemistry revisited: hydrogen peroxide and superoxide mediation of copper-catalyzed oxidant production. **Journal Of Catalysis**, [S.L.], v. 301, n. 1, p. 54-64, maio 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcat.2013.01.025>.

PIM, W. D. do *et al.* A pH-triggered bistable copper(ii) metallacycle as a reversible emulsion switch for biphasic processes. **Chemical Communications**, [S.L.], v. 49, n. 92, p. 10778, 2013. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c3cc46242k>.

PIOSIK, J. *et al.* Methylxanthines (caffeine, pentoxifylline and theophylline) decrease the mutagenic effect of daunomycin, doxorubicin and mitoxantrone. **Acta Biochimica Polonica**, [S.L.], v. 52, n. 4, p. 923-926, 11 jul. 2005. Polskie Towarzystwo Biochemiczne (Polish Biochemical Society). http://dx.doi.org/10.18388/abp.2005_3408.

PIZARRO, A. M. *et al.* Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes. **Biochimie**, [S.L.], v. 91, n. 10, p. 1198-1211, out. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2009.03.017>.

PROGRAM, A. S.. **How to Interpret Agarose Gel Data: the basics**. The Basics. 2021. Disponível em: How to Interpret Agarose Gel Data. Acesso em: 11 jan. 2014.

PUENTES-DÍAZ, N. *et al.* Computational Evaluation of the Potential Pharmacological Activity of Salen-Type Ligands in Alzheimer's Disease. **Journal Of Alzheimer'S Disease**, [S.L.], p. 1-14, 15 jul. 2023. IOS Press. <http://dx.doi.org/10.3233/jad-230542>.

RAMAN, N.; MAHALAKSHMI, Rajkumar. Bio active mixed ligand complexes of Cu(II), Ni(II) and Zn(II): synthesis, spectral, xrd, dna binding and cleavage properties. **Inorganic**

Chemistry Communications, [S.L.], v. 40, p. 157-163, fev. 2014. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.inoche.2013.12.012>.

RAMOS, L. M. S.. **Síntese e avaliação do potencial antitumoral dos complexos de cobre(II) e níquel(II) contendo ligantes de interesse biológico**. 2021. 206 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

REHMAN, S.; HUSNAIN, S. M.. A Probable Risk Factor of Female Breast Cancer: study on benign and malignant breast tissue samples. **Biological Trace Element Research**, [S.L.], v. 157, n. 1, p. 24-29, 20 nov. 2013. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12011-013-9865-7>.

RIGAKU, O. D. **Rigaku Oxford Diffraction**, Technol. UK Ltd, Yarnton, Oxford, UK, 2014.

ROSENBERG, B. *et al.* Inhibition of Cell Division in Escherichia coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. **Nature**, [S.L.], v. 205, n. 4972, p. 698-699, fev. 1965. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/205698a0>.

RUIZ-AZUARA, L.; BRAVO-GOMEZ, M. E.. Copper Compounds in Cancer Chemotherapy. **Current Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 17, n. 31, p. 3606-3615, 1 nov. 2010. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/092986710793213751>.

RUIZ-AZUARA, L. *et al.* Abstract CT408: phase i study of one mixed chelates copper(ii) compound, casiopeína casiiiiia with antitumor activity and its mechanism of action. **Cancer Research**, [S.L.], v. 74, n. 19, p. 408-408, 1 out. 2014. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/1538-7445.am2014-ct408>.

SAHLABADI, M. *et al.* A nanocomplex of Cu(II) with theophylline drug: synthesis, characterization, and anticancer activity against K562 cell line. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1155, p. 450-456, mar. 2018. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.11.029>.

SANDBHOR, U. *et al.* Antimelanomal activity of the copper(II) complexes of 1-substituted 5-amino-imidazole ligands against B16F10 mouse melanoma cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S.L.], v. 14, n. 11, p. 2877-2882, jun. 2004. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.03.041>.

SANITÁRIA, Agência Nacional de Vigilância; FARMACOPEIA, Coordenação da. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: Anvisa, 2019. 18 p. Disponível em: <http://buscajuventude.ibict.br:8080/jspui/handle/anvisa/1461>. Acesso em: 28 set. 2023.

SANTINI, C. *et al.* Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents. **Chemical Reviews**, [S.L.], v. 114, n. 1, p. 815-862, 8 out. 2013. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/cr400135x>.

SERDALIYEVA, D. *et al.* Review of pharmacological effects of imidazole derivatives. **Journal Of Clinical Medicine Of Kazakhstan**, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 11-15, 22 jun. 2022. JSC National Scientific Medical Research Center.
<http://dx.doi.org/10.23950/jcmk/12117>.

SHANBHAG, V. C. *et al.* Copper metabolism as a unique vulnerability in cancer. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Molecular Cell Research**, [S.L.], v. 1868, n. 2, p. 118893, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118893>.

SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallographica. Section C: Structural Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 3-8, 2015.

SIGMAN, D. S.. Chemical nucleases. **Biochemistry**, [S.L.], v. 29, n. 39, p. 9097-9105, 2 out. 1990. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/bi00491a001>.

SILVA, A. A. da; GONÇALVES, R. C.. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 40, n. 4, p. 994-1002, 26 mar. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782010005000037>.

SINGH, N.; SHARMA, R.; BHARTI, R.. Gold complexes and their effect on antiarthritic activity and anticancer activity. **Materials Today: Proceedings**, [S.L.], v. 81, p. 876-881, 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.270>.

SLOTKIN, T. A.; SEIDLER, F. J.. Antimitotic and Cytotoxic Effects of Theophylline in MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells. **Breast Cancer Research And Treatment**, [S.L.], v. 64, n. 3, p. 259-267, dez. 2000. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1023/a:1026508605951>.

SOARES, L. T. *et al.* Novos medicamentos para o tratamento da tuberculose pulmonar. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 1-9, 29 jan. 2024. Revista Eletronica Acervo Saude. <http://dx.doi.org/10.25248/reas.e14126.2024>.

SOUZA, I. P. de. **Síntese e caracterização de complexos de cobre, gálio e nióbio, estudos de suas citotoxicidades e interações com alvos celulares**. 2018. 217 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2018. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SFSA-B9HPK6/1/tese_final____vina_paula_de_souza.pdf. Acesso em: 07 set. 2023.

STEINBRUECK, A. *et al.* Transition metal chelators, pro-chelators, and ionophores as small molecule cancer chemotherapeutic agents. **Chemical Society Reviews**, [S.L.], v. 49, n. 12, p. 3726-3747, 2020. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c9cs00373h>.

TAŞDEMİR, E. *et al.* Supramolecular complexes of Co(II), Ni(II) and Zn(II) p-hydroxybenzoates with caffeine: synthesis, spectral characterization and crystal structure. **Journal Of Molecular Structure**, [S.L.], v. 1119, p. 472-478, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.05.006>.

TABTI, R. *et al.* Progress in Copper Complexes as Anticancer Agents. **Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 07, n. 05, p. 875-879, set. 2017. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0444.1000445>.

TORRES, L. B.. **A química inorgânica como oportunidade para criar e empreender na medicina**. 2016. Disponível em: http://www.inct-inofar.ccs.ufrj.br/inofar2009/release_sbq_hberaldo2016.html. Acesso em: 07 set. 2023.

TRIVEDI, M. K. *et al.* Spectroscopic Characterization of Biofield Treated Metronidazole and Tinidazole. **Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 5, n. 7, p. 340-344, jul. 2015. OMICS Publishing Group. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-0444.1000283>.

VIDAL, G. G. *et al.* Doença de Wilson: revisão de literatura. **Revista Neurociências**, [S.L.], v. 32, p.1-26, 2024. Disponível em: <https://periodicos.unifesp.br/index.php/neurociencias/article/view/15878/11692>. Acesso em 01 ago. 2024.

WALLER, D. G.; SAMPSON, A. P.. Asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Medical Pharmacology And Therapeutics**, [S.L.], p. 193-209, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-7020-7167-6.00012-9>.

WENDE, C.; LÜDTKE, C.; KULAK, N.. Copper Complexes of N-Donor Ligands as Artificial Nucleases. **European Journal Of Inorganic Chemistry**, [S.L.], v. 2014, n. 16, p. 2597-2612, 14 maio 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ejic.201400032>.

WILTSHAW, E. Cisplatin in the Treatment of Cancer: The first Metal Anti-Tumour Drug. **Platinum Metals Rev.**, [S.L.], 23, (3), 90, 1979. <https://technology.matthey.com/article/23/3/90-98/>

WOOLLEY, P. V. *et al.* Ascorbate potentiates DNA damage by 1-methyl-1-nitrosourea in vivo and generates DNA strand breaks in vitro. **Carcinogenesis**, [S.L.], v. 8, n. 11, p. 1657-1662, 1987. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/8.11.1657>.

WOŹNIAK, K.; BŁASIAK, J.. Recognition and repair of DNA-cisplatin adducts. **Acta Biochimica Polonica**, [S.L.], v. 49, n. 3, p. 583-596, 19 jul. 2002.

ZEHRRA, S.; TABASSUM, S.; ARJMAND, F.. Biochemical pathways of copper complexes: progress over the past 5 years. **Drug Discovery Today**, [S.L.], v. 26, n. 4, p. 1086-1096, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2021.01.015>.

ZHENG, X.; MA, Z.; ZHANG, D.. Synthesis of Imidazole-Based Medicinal Molecules Utilizing the van Leusen Imidazole Synthesis. **Pharmaceuticals**, [S.L.], v. 13, n. 3, p. 37, 3 mar. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ph13030037>.

APÊNDICE A

Figura A1: Espectro vibracional na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) do complexo **1** obtido por ATR-FTIR

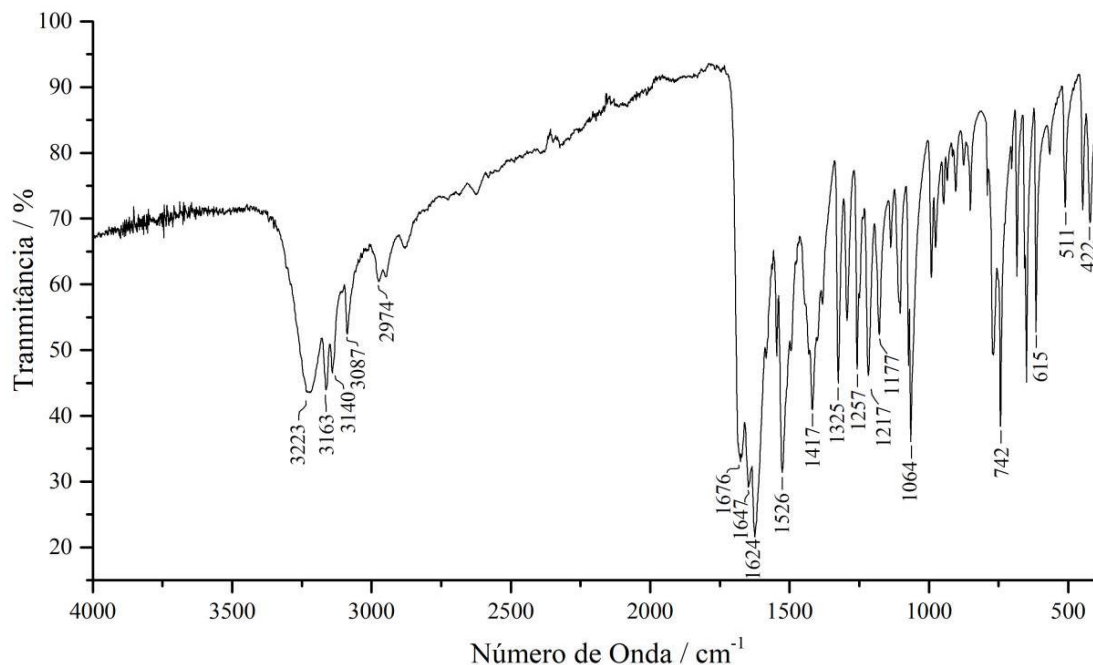


Figura A2: Espectro vibracional na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) do complexo **2** obtido por ATR-FTIR

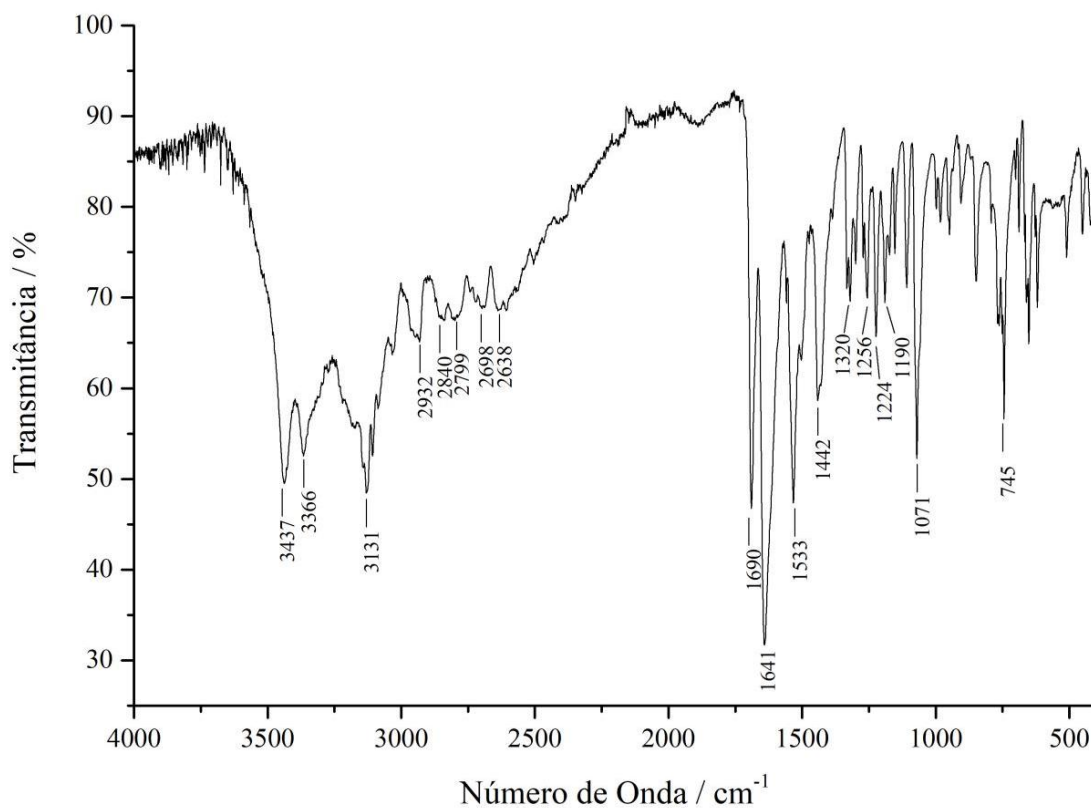


Figura A3: Espectro vibracional na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) do ligante livre Htheo obtido por ATR-FTIR

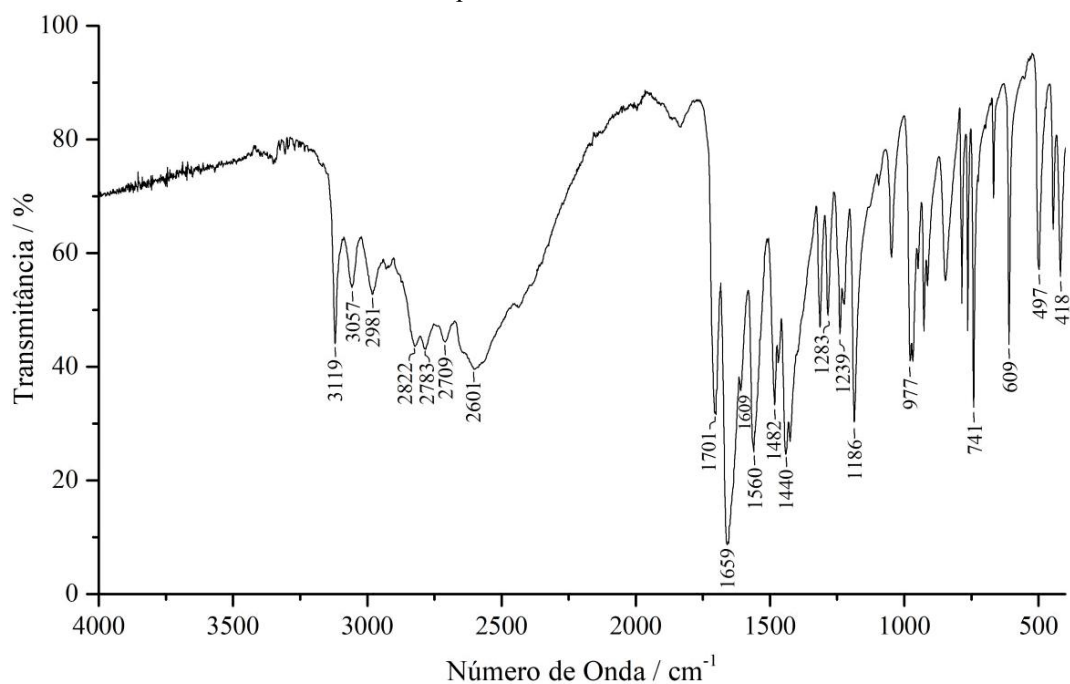


Figura A4: Espectro vibracional na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) do ligante livre imd obtido por ATR-FTIR

