



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**GABRIEL ALENCAR JULIÃO CABRAL**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM COMPLEXO DE CU(II) COM  
DERIVADO SULFURADO DE FENANTROLINA.  
ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E ADSORÇÃO SOBRE OURO**

**FORTALEZA**

**2023**

GABRIEL ALENCAR JULIÃO CABRAL

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM COMPLEXO DE CU(II) COM DERIVADO  
SULFURADO DE FENANTROLINA.  
ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E ADSORÇÃO SOBRE OURO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Izaura Cirino Nogueira Diógenes.

Coorientador: Dr. Adolfo Ignacio Barros Romo.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A353s Cabral, Gabriel Alencar Juliao.

Síntese e caracterização de um complexo de  $\text{Cu(II)}$  com derivado sulfurado de fenantrolina. Estudos de interação com DNA e adsorção sobre ouro / Gabriel Alencar Juliao Cabral. – 2023.  
64 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Izaura Cirino Nogueira Diógenes.

Coorientação: Prof. Dr. Adolfo Ignacio Barros Romo.

1. Base de Schiff. 2. Complexo de cobre. 3. Espécies reativas de oxigênio. I. Título.

CDD 540

---

GABRIEL ALENCAR JULIÃO CABRAL

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM COMPLEXO DE CU(II) COM DERIVADO  
SULFURADO DE FENANTROLINA. ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA E  
ADSORÇÃO SOBRE OURO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovada em: 31/07/2023.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Izaura Cirino Nogueira Diógenes (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra<sup>ª</sup>. Idalina Maria Moreira de Carvalho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista  
Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR)

Aos meus pais, Adeildo e Najila.

À minha companheira, Livia.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e paciência e capacidade para realização de minhas atividades e obrigações.

Aos meus pais, Adeildo Cabral da Silva e Najila Rejanne Alencar Julião Cabral, pela educação, valores, compreensão, todo o carinho e amor.

À minha noiva Lívia, pelo companheirismo, incentivo, amor, carinho e colaboração fundamental na estruturação desse trabalho, por ser uma pessoa incrível, compreensiva.

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará e a todos que trabalham em sua administração pela disponibilidade e apoio institucional prestado.

À Prof<sup>ª</sup> Izaura Diógenes, pelo apoio e orientação durante esses anos do mestrado. Seus ensinamentos foram fundamentais para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Ao Dr. Adolfo Romo, que esteve em contato comigo durante esses anos em que estive no Laboratório de Bioinorgânica, sendo crucial para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Aos membros da banca avaliadora, Prof. Dr. Alzir Batista, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>a</sup> Idalina Carvalho e Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>a</sup> Izaura Diógenes pela disposição em participar da avaliação deste trabalho e pelas valiosas sugestões que serão apresentadas para torná-lo mais concreto.

Aos meus amigos do Laboratório de Bioinorgânica que me ensinaram as técnicas para utilizar os equipamentos, paciência e disposição: Demócrito, Weleson, Walysson Wellinson, Caian, Geângela, Mayara, Suesley, Herique, Dieric. Em especial, agradeço ao Monilson, Lucas e Mario, por toda dedicação, profissionalismo e paciência na realização dos experimentos. Obrigada a todos pelo convívio, apoio, questionamentos e discussões sempre tão produtivas.

Ao Centro Nacional de Processamento de Alto desempenho da Universidade Federal do Ceará (CENAPAD-UFC) pelos cálculos teóricos.

À Universidade Federal do Ceará (UFC) por me oportunizar um aperfeiçoamento gratuito e de excelência.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

Os compostos de coordenação começaram a ser estudados na quimioterapia no fim da década de 1960 a partir da descoberta da atividade antitumoral do complexo *cis*-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], denominado cisplatina. Os efeitos colaterais causados por metalofármacos a base de platina, contudo, motivaram o estudo de novos complexos utilizando diferentes centros metálicos. Nesse sentido, complexos de cobre contendo ligantes aromáticos vêm sendo amplamente estudados por associar a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) com a capacidade dos ligantes de intercalação com DNA, tornando possível a clivagem do DNA e consequentemente a morte celular. Inserido nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar uma base de Schiff com propriedades intercalantes, o composto (*E*)-*N*-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il)metanimina (fen-Bz-Sme), e o complexo [Cu(fen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>), além de estudar a interação do complexo com o DNA e sua capacidade gerar ERO. A molécula inédita fen-Bz-Sme foi caracterizada por ressonância magnética nuclear (RMN), difração de raios-X, espectrometria de massa e espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis, além disso foi realizado, também, estudos de cálculos teóricos, utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT *density functional theory*). O complexo [Cu(fen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) foi caracterizado por espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis e do IV, além de técnicas eletroquímicas como voltametria cíclica e ressonância de plásmons de superfície (SPR – *Surface Plasmon Resonance*). Dessa forma, foi possível observar a capacidade do íon complexo [Cu(fen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> se adsorver em superfície de ouro devido ao seus ligantes sulfurados. Adicionalmente, os experimentos de interação com DNA, monitorados por espectroscopia de absorção eletrônica, apresentaram constante de associação (K<sub>b</sub>) de 8,73 x 10<sup>5</sup> mol L<sup>-1</sup>, com indícios de processo de intercalação e interação por sulco maior do DNA. O experimento de competitividade entre o brometo de etídio (BE) e o íon complexo demonstrou a capacidade de intercalação do último, apresentando uma constante de Stern-Volmer de 4,2 x 10<sup>4</sup>. Estudos de eletroforese em gel com DNA plasmídeo pBR322 demonstraram a capacidade do composto em clivar DNA por meio da geração de espécies reativas de oxigênio. Desta forma, foi possível obtenção de um complexo de cobre capaz de ser adsorvido em ouro, além de clivar DNA.

**Palavras-chave:** base de Schiff; complexo de cobre; espécies reativas de oxigênio.

## ABSTRACT

Coordination compounds began to be studied in chemotherapy at the end of the 1960s after the discovery of the antitumor activity of the cis-[PtCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] complex, called cisplatin. The side effects caused by platinum-based metallopharmaceuticals, however, motivated the study of new complexes using different metal centers. In this sense, copper complexes containing aromatic ligands have been widely studied for associating the production of reactive oxygen species (ROS) with the ability of ligands to intercalate with DNA, making possible DNA cleavage and, consequently, cell death. Inserted in this context, the objective of this work was to synthesize and characterize a Schiff base with intercalating properties, the compound (E)-N-(4-(methylthio)phenyl)-1-(1,10-phenanthroline-5-yl) metanimine (phen-Bz-Sme), and the complex [Cu(phen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>), in addition to studying the interaction of the complex with DNA and its ability to generate ROS. The unprecedented molecule phen-Bz-Sme was characterized by nuclear magnetic resonance (NMR), X-ray diffraction, mass spectrometry, and electronic spectroscopy in the UV-Vis region. The density functional theory (DFT density functional theory). The [Cu(phen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) complex was characterized by electronic spectroscopy in the UV-Vis and Infrared regions, in addition to electrochemical techniques such as cyclic voltammetry and surface plasmon resonance (SPR). Thus, it was possible to observe the ability of the complex ion [Cu(phen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> to adsorb onto the gold surface due to its sulfur ligands. Additionally, the DNA interaction experiments, monitored by electronic absorption spectroscopy, showed an association constant (K<sub>b</sub>) of 8.73 x 10<sup>5</sup> mol L<sup>-1</sup>, with evidence of an intercalation process and interaction by the major groove of the DNA. The competition experiment between ethidium bromide (EB) and the complex ion demonstrated the intercalation capacity of the latter, presenting a Stern-Volmer constant of 4.2 x 10<sup>4</sup>. Gel electrophoresis studies with plasmid pBR322 DNA demonstrated the capacity of the compound to cleave DNA through the generation of reactive oxygen species. In this way, it was concluded that it was possible to obtain a new copper complex capable of being adsorbed to the gold surface, in addition to cleaving DNA by oxidative pathways.

**Keywords:** Schiff base; copper complex; reactive oxygen species.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura tridimensional do DNA e estruturas planares das bases nitrogenadas adenina, citosina, guanina e timina .....	11
Figura 2	– Intercalação do composto brometo de etídio entre as bases nitrogenadas do DNA .....	13
Figura 3	– Estruturas das moléculas intercaladoras 1,10-fenantrolina; pirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina e Dipirido[3,2-a:2',3'c]fenazin .....	14
Figura 4	– Estrutura do complexo [Pt(Cl <sub>2</sub> )(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ], primeiro composto inorgânico utilizado no tratamento de câncer .....	15
Figura 5	– Esquema de síntese de uma imina genérica a partir de um aldeído e uma amina .....	17
Figura 6	– Representação de modo de ligação “on-top” prevista teoricamente para a quimissorção de enxofre sobre ouro. As distâncias Au-Au são fixadas em 2.884 Å. Os comprimentos de ligação estão em Å e os ângulos de ligação estão em grau .....	18
Figura 7	– Esquema simplificado da reação para produção do ligante fen-Bz-Sme .....	23
Figura 8	– Mecanismo de reação proposto para a síntese da base de Schiff fen-Bz-Sme .....	24
Figura 9	– Estrutura proposta para o íon complexo [Cu(fen-Bz-Sme) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sup>+</sup> ] .....	25
Figura 10	– Espectros de RMN <sup>1</sup> H a 300 MHz em CDCl <sub>3</sub> para os compostos 1,10-fenantrolina-4-carbaldeído (A) e (E)-N-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il)metanimina (B) .....	31
Figura 11	– Espectro de RMN bidimensional COSY para o composto fen-Bz-Sme em CDCl <sub>3</sub> .....	33

Figura 12	– Espectros de RMN $^{13}\text{C}$ a 300 MHz em $\text{CDCl}_3$ para o composto fen-Bz-Sme .....	33
Figura 13	– Espectro de RMN bidimensional HSQC para o composto fen-Bz-Sme em $\text{CDCl}_3$ .....	35
Figura 14	– Espectro de massas obtido para o composto fen-Bz-SMe utilizando metanol como fase móvel .....	36
Figura 15	– Estrutura ORTEP do monocristal da molécula fen-Bz-Sme com 50% de probabilidade de elipsoide. Os átomos de hidrogênios foram omitidos para maior clareza .....	37
Figura 16	– Representação da célula unitária do cristal do ligante fen-Bz-Sme .....	37
Figura 17	– Espectros UV-Vis experimental ( $8 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) (linha preta sólida) e teórico (linha vermelha tracejada) da molécula fen-Bz-Sme em metanol. Cálculo realizado em nível de teoria TDA-DFT/ $\omega\text{B97X-D/6-311++g(d,p)}$ ..	39
Figura 18	– Espectros UV-Vis do íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ ( $7,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) (preto) e da molécula fen-Bz-SMe ( $6,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) (vermelho) em acetonitrila .....	41
Figura 19	– Espectros vibracionais na região do infravermelho em pastilha de KBr para o complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ .....	42
Figura 20	– Voltamograma cíclico de um eletrodo de carbono vítreo a $100 \text{ mV s}^{-1}$ em acetonitrila contendo TBA $\text{PF}_6$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ .....	44
Figura 21	– Voltamograma cíclico a $75 \text{ mV s}^{-1}$ do eletrodo de ouro em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ após 2h de imersão em uma solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ .....	45
Figura 22	– Voltamogramas cíclicos do eletrodo de ouro modificado com o íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura. Pt e Ag/AgCl foram usados como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente .....	46
Figura 23	– Representação gráfica de corrente versus velocidade de varredura obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos ilustrados na Figura 22 .....	46

Figura 24 – Variação de ângulo SPR em função do tempo durante a adsorção do íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ sobre ouro (I) e com ancoramento das nanopartículas de ouro .....	47
Figura 25 – Titulação espectroscópica do íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$ de concentração $4,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , com alíquotas de $50 \mu\text{L}$ de DNA ( $4,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) .....	49
Figura 26 – Espectro de fluorescência de BE ( $\lambda_{\text{exc}} = 480 \text{ nm}$ ) na presença de CT-DNA com adições sucessivas de $5,6 \mu\text{L}$ de uma solução $0,35 \text{ mmol L}^{-1}$ do íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ em tampão PBS $2 \text{ mmol L}^{-1}$ e pH 7,4.	51
Figura 27 – Gráfico I0/I vs [complexo] ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) com $R^2 = 0,98333$ .....	52
Figura 28 – Clivagem do DNA pBR322 ( $20 \mu\text{M}$ ) na presença do complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ( $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) na ausência e na presença de AA e $\text{H}_2\text{O}_2$ . Poços 1 e 4: apenas DNA pBR322. Poço 2: DNA pBR322 + Cu. Poço 3: DNA pBR322+ AA + Cu. Poço 5: DNA + $\text{H}_2\text{O}_2$ . Poço 6: DNA + $\text{H}_2\text{O}_2$ +Cu. *Cu = $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$ .....	53

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Deslocamentos químicos de RMN $^1\text{H}$ dos compostos fen-CHO e fen-Bz-Sme em $\text{CDCl}_3$ .....	32
Tabela 2	– Deslocamentos químicos de RMN $^{13}\text{C}$ do composto fen-Bz-Sme em $\text{CDCl}_3$ .....	34
Tabela 3	– Dados cristalográficos da molécula fen-Bz-Sme .....	37
Tabela 4	– Comprimentos e ângulos de ligação selecionados experimentais (Exp.) e teóricos (Calc.) para o ligante fen-Bz-Sme .....	38
Tabela 5	– Valores de comprimentos de onda ( $\lambda$ , em nm), constante de força do oscilador (f), contribuição majoritária (percentual entre parênteses), isosuperfícies dos orbitais naturais de transição (NTO), percentual de contribuição e caráter da transição .....	40
Tabela 6	– Atribuição de sinais dos modos vibracionais do espectro infravermelho para o complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ .....	47
Tabela 7	– Constantes de ligação ao DNA (Kb) para diferentes complexos metálicos de cobre .....	53

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>1.1</b>	<b>Interação com o DNA</b> .....	11
<b>1.2</b>	<b>Compostos de coordenação no tratamento do câncer</b> .....	14
<b>1.3</b>	<b>Base de Schiff (Imina)</b> .....	16
<b>1.4</b>	<b>Adsorção de moléculas sobre superfícies condutoras</b> .....	18
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	11
<b>1.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	20
<b>1.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	20
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	21
<b>3.1</b>	<b>Materiais</b> .....	21
<b>3.2</b>	<b>Síntese dos ligantes</b> .....	21
<b>3.2.1</b>	<i>Síntese do composto 1,10-fenantrolina-4-carbaldeído</i> .....	21
<b>3.3</b>	<b>Síntese do complexo [Cu(fen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)</b> .....	24
<b>3.3.1</b>	<i>Síntese do sal nitrato de cobre(II)</i> .....	24
<b>3.3.2</b>	<i>Síntese do complexo [Cu(fen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)</i> .....	25
<b>3.4</b>	<b>Difração de raios-X em monocristal</b> .....	25
<b>3.5</b>	<b>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear</b> .....	26
<b>3.6</b>	<b>Espectrometria de massas</b> .....	26
<b>3.7</b>	<b>Espectros eletrônicos de absorção nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis)</b> .....	26
<b>3.8</b>	<b>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)</b> .....	27
<b>3.9</b>	<b>Estudo teórico</b> .....	27
<b>3.10</b>	<b>Condutimetria</b> .....	27
<b>3.11</b>	<b>Medidas eletroquímicas</b> .....	28
<b>3.12</b>	<b>Ressonância de plásmons de superfície (SPR – Surface Plasmon Resonance)</b> .....	28
<b>3.13</b>	<b>Interação com DNA</b> .....	28
<b>3.13.1</b>	<i>Titulação de DNA (monitorado por espectroscopia de absorção eletrônica)</i> .....	28
<b>3.13.2</b>	<i>Estudo de intercalação com brometo de etídio (EB)</i> .....	29
<b>3.13.3</b>	<i>Ensaio de clivagem com o plasmídeo pBR322</i> .....	30
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	31

4.1	Espectroscopia de RMN .....	31
4.2	Espectroscopia de massas .....	35
4.3	Difração de raios-X de monocristal .....	36
4.4	Espectroscopia eletrônica de absorção nas regiões do UV-vis .....	38
4.4.1	<i>Ligante fen-Bz-Sme</i> .....	38
4.4.2	<i>Complexo [Cu(fen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sup>+</sup></i> .....	41
4.5	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho .....	42
4.6	Condutimetria .....	43
4.7	Caracterização eletroquímica .....	43
4.8	Caracterização eletroquímica do eletrodo de ouro modificado com o íon complexo [Cu(fen-Bz-Sme) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sup>+</sup> .....	44
4.8.1	<i>Voltametria cíclica</i> .....	44
4.8.2	<i>Estudo gravimétrico da adsorção do íon complexo [Cu(fen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sup>+</sup> sobre ouro</i> .....	47
4.9	Estudo de interação do íon complexo [Cu(fen-Bz-Sme) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sup>+</sup> com DNA .....	48
4.9.1	<i>Estudo de constante de afinidade do íon complexo [Cu(fen-Bz-Sme)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sup>+</sup> com DNA</i> .....	48
4.9.2	<i>Estudo de competição com brometo de etídio (EB)</i> .....	51
4.10	Ensaio de clivagem do DNA por eletroforese em gel de agarose .....	53
5	CONCLUSÃO .....	55
	REFERÊNCIAS .....	56

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das principais causa de morte e barreira para o aumento da expectativa de vida no mundo<sup>1</sup>. De acordo com estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>2</sup>, em 2019, o câncer foi a primeira ou segunda principal causa de morte de pessoas abaixo dos 70 anos em 112 dos 183 países pesquisados. Um estudo feito a cada 2 anos pela OMS, estimou cerca de 19,3 milhões de novos casos e 10 milhões de mortes por câncer em todo o mundo em 2020<sup>3</sup>. Nesse contexto, diversos estudos, em diferentes áreas das ciências, vêm sendo desenvolvidos buscando melhorias e inovações para o tratamento do câncer. Dentre essas áreas há a química medicinal que combina conhecimentos de química e farmacologia para identificar, sintetizar e desenvolver agentes químicos com uso terapêutico.

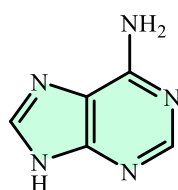
### 1.1 Interação com o DNA

Devido aos avanços científicos sobre o papel e o conhecimento acerca da ação fisiológica do ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês *deoxyribonucleic acid*), foram desenvolvidos agente sintéticos (drogas)<sup>4,5</sup> com capacidade de interromper ou modificar a replicação da dupla fita, especialmente em relação ao reconhecimento e às interações posteriores. A interação droga-DNA é classificada quanto à localização, se nos sulcos maiores ou menores<sup>6</sup> (Figura 1) e quanto às ligações com as bases nitrogenadas (Figura 1), se covalente ou não-covalente.

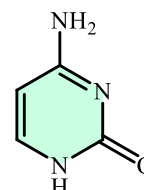
Figura 1- Estrutura tridimensional do DNA e estruturas planares das bases nitrogenadas adenina, citosina, guanina e timina.



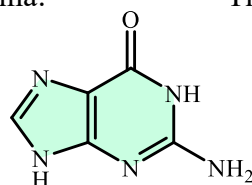
Adenina:



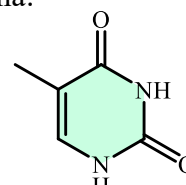
Citosina:



Guanina:



Timina:



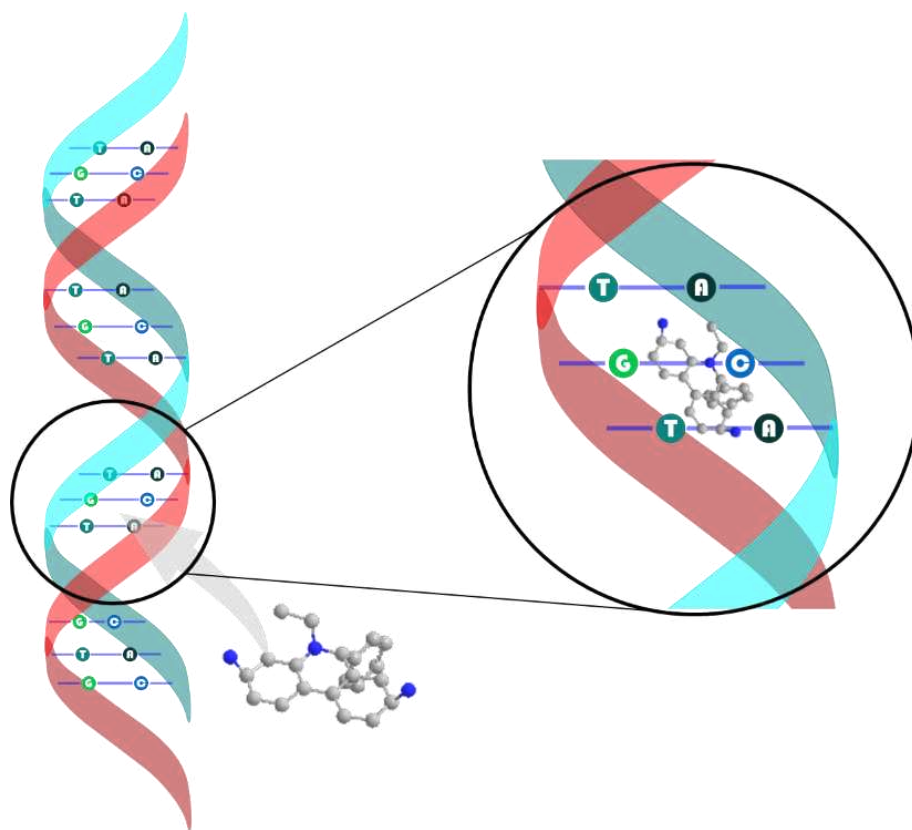
Fonte: Autor

A molécula de DNA vem sendo, portanto, o principal alvo de potenciais metalofármacos desenvolvidos para o tratamento de câncer em razão da capacidade de interação direta<sup>7-9</sup>. Alguns compostos de coordenação podem interagir com DNA por interações covalentes ou não-covalentes. Essas interações covalentes ocorrem quando o complexo metálico se liga diretamente às bases nitrogenadas ou grupamento fosfato do DNA<sup>10,11</sup>, ocasionando a formação de adutos DNA-metal, os quais provocam modificações na estrutura conformacional, resultando na desestabilização da molécula e, conseqüentemente, na morte celular. Esse mecanismo pode ser observado no composto *cis*-diaminodichloroplatina (II) (cisplatina), o qual tem a capacidade de interagir com o DNA por meio de uma ligação direta entre o centro metálico de platina e nitrogênio 7 da guanina<sup>12</sup>.

As interações não covalentes são: interações com os sulcos, inserção e intercalação. As ligações com os sulcos ocorre por interações hidrofóbicas, van der Waals e eletrostática<sup>13</sup>. A torção da dupla fita e a geometria da base criam uma cavidade maior (sulco maior) e uma menor (sulco menor) que apresentam diferentes características estruturais e químicas, como a exposição de grupos funcionais específicos, tais como grupos amina, fosfato ou hidroxila, que podem interagir com compostos de metais de transição. Outra forma é por inserção e que o complexo metálico é inserido entre as bases do DNA causando desestabilização e alterações de emparelhamento<sup>14</sup>. A terceira forma é por intercalação. Complexos metálicos que apresentam ligantes orgânicos aromáticos e rígidos costumam interagir com o DNA por intercalação devido ao empilhamento  $\pi$ - $\pi$  com os anéis aromáticos das bases<sup>15,16</sup>. De forma geral, a intercalação é a inserção de uma molécula entre as fitas de DNA, no meio dos pares de bases consecutivas<sup>17</sup>, tal como ocorre com o composto brometo de etídio, um intercalador já muito reportado na literatura<sup>18</sup> (Figura 2). Essa intercalação, por sua vez, pode ocasionar mudanças estruturais no DNA, tais como alongamento, enrijecimento e desenrolamento da dupla fita<sup>19</sup>. Tais modificações alteram a ação da enzima DNA polimerase afetando o processo de replicação do material genético, promovendo a clivagem e, por conseguinte, a morte celular por vias apoptóticas<sup>20,21</sup>.



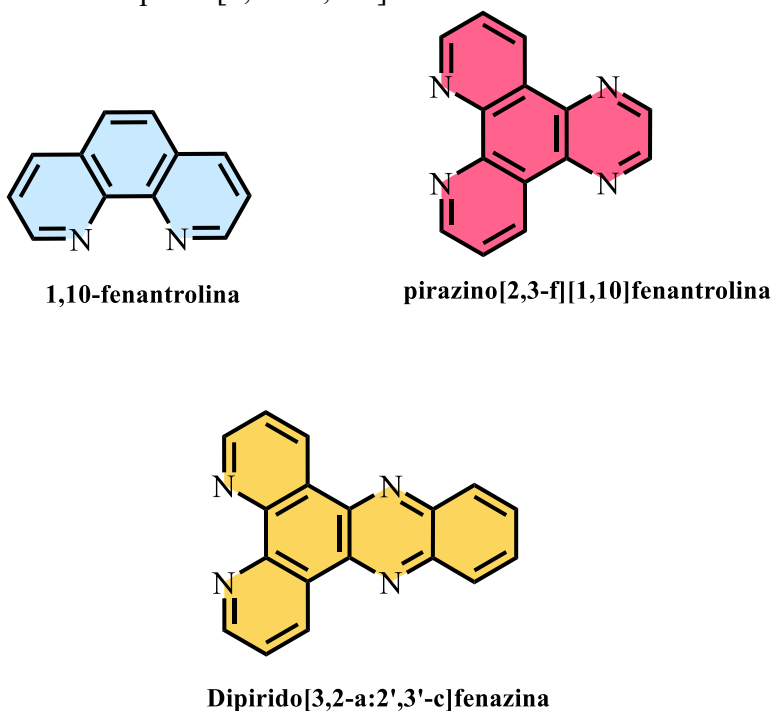
Figura 2 - Intercalação do composto brometo de etídio entre as bases nitrogenadas do DNA



Fonte: Autor

Nesse contexto, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) representam uma classe de moléculas capazes de intercalar, uma vez que apresentam estruturas rígidas e planas, com elevada densidade de elétrons  $\pi$ . A coordenação de HPAs (ou derivados) a metais de transição torna-se uma estratégia para produzir compostos de coordenação denominados metalintercaladores<sup>14</sup>. Alguns complexos metálicos podem causar a clivagem de DNA, consequentemente a morte celular, por mecanismo hidrolítico e/ou oxidativo. No mecanismo oxidativo ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio a partir de reações redox no centro metálico, essas espécies podem causar o rompimento da fita do DNA<sup>22</sup>, todavia essas espécies geradas apresentam um tempo de vida muito curto. Por essa razão, o uso de metalintercaladores torna-se interessante, uma vez que o fato desses compostos estarem intercalados ao DNA fazem com que essas espécies reativas sejam geradas dentro do DNA. Dentre os ligantes HPAs, a molécula 1,10-fenantrolina (fen)<sup>23</sup> e seus derivados têm sido amplamente utilizados devido à capacidade de intercalação. A Figura 3 ilustra alguns exemplos de ligantes intercaladores clássicos<sup>19</sup>: 1,10-fenantrolina; pirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina e dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina.

Figura 3 - Estruturas das moléculas intercaladoras 1,10-fenantrolina, pirazino[2,3-f][1,10]fenantrolina e dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina



Fonte: Auto

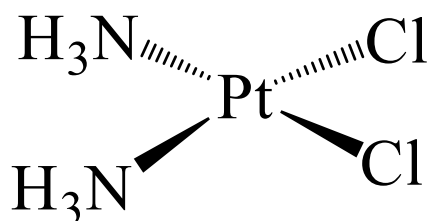
Dwyer e colaboradores<sup>24</sup>, observaram, em 1950, que o composto  $[\text{Ru}(\text{fen})_3]^{2+}$  apresentava intercalação no DNA. Posteriormente, diversos estudos observaram que outros complexos apresentavam capacidade de intercalação<sup>14,19</sup>.

Foi observado, também, que a geometria dos complexos interfere na sua capacidade de intercalar citando-se, por exemplo, o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen})_2]^+$ , de geometria tetraédrica, que não intercala enquanto o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{bpy})_2]^{2+}$ , que é quadrado planar, experimenta intercalação<sup>25</sup>.

## 1.2 Compostos de coordenação no tratamento do câncer

Os compostos de coordenação começaram a ser estudados na quimioterapia no final do ano de 1960, a partir do descobrimento da atividade antitumoral do complexo  $[\text{Pt}(\text{Cl}_2)(\text{NH}_3)_2]$ , denominado cisplatina<sup>10</sup> (Figura 4), que atua, principalmente, em tumores nos testículos, ovários e bexiga.

Figura 4 - Estrutura do complexo  $[\text{Pt}(\text{Cl}_2)(\text{NH}_3)_2]$ , primeiro composto inorgânico utilizado no tratamento de câncer.



Fonte: Autor

Há relatos, todavia, de resistência celular a essa droga, além de efeitos colaterais severos<sup>26,27</sup>, podendo-se citar nefrotoxicidade e neurotoxicidade. As respostas fisiológicas negativas, infelizmente, não são exclusividade dos metalofármacos. A literatura médica vem relatando os efeitos deletérios da maioria dos quimioterápicos (se não de todos), sejam orgânicos ou inorgânicos, sobre células saudáveis resultando em reações indesejadas, tais como zumbidos, diminuição da audição, anemia, náuseas, vômitos, diarreia, diminuição do apetite, perda de paladar, convulsões, câimbras musculares, aumento da pressão arterial e inchaço do rosto<sup>28</sup>. Nesse contexto, a Química Inorgânica vem atuando na produção de novos complexos utilizando diferentes centros metálicos e ligantes com o objetivo de oferecer à sociedade, metalofármacos mais eficazes e que causem menos efeitos colaterais<sup>29,30</sup>. Dentre os compostos de coordenação estudados, destacam-se os complexos de cobre, uma vez que, por serem metais endógenos, podem ser menos tóxicos às células saudáveis<sup>31,32</sup>.

O cobre é um elemento essencial para a execução de inúmeras funções biológicas relevantes para o metabolismo celular sendo indispensável em diversas reações metaloenzimáticas<sup>33</sup>. Devido aos diferentes estados de oxidação e as diferentes geometrias que esses complexos podem apresentar, os mesmos são estudados em diferentes campos, tais como na química supramolecular<sup>34</sup> e na bioinorgânica<sup>32</sup>. Essas alterações na geometria estão relacionadas<sup>35</sup> à mudança de configuração do centro metálico de cobre que passa de  $[\text{Ar}]3d^{10}$  no íon  $\text{Cu}^+$  para  $[\text{Ar}]3d^9$  no íon  $\text{Cu}^{2+}$ . Dessa forma, complexos de cobre(I) tetracoordenados apresentam, normalmente, geometria tetraédrica<sup>35,36</sup>, enquanto complexos de cobre(II), costumam apresentar geometria quadrada planar<sup>37</sup>.

A ação antitumoral de complexos de cobre vem sendo atribuída à capacidade de geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) com potencial para destruir células

cancerosas<sup>32,38-40</sup>. Essa propriedade, aliada à capacidade de intercalação de moléculas aromáticas, tais como a fen e seus derivados, permite, em princípio, uma ação antitumoral localizada. Assim, complexos de cobre(II) contendo bases heterocíclicas têm sido explorados em virtude de suas fortes interações com o DNA, por meio de associações de superfície ou intercalação<sup>41-43</sup> e potencial atividade de clivagem de DNA através de ações oxidativas<sup>44-46</sup>. O mecanismo de formação de EROs por complexos de cobre envolve reações do tipo Fenton e/ou de Haber-Weiss<sup>33,47</sup> onde se tem a redução do cobre(II) a cobre(I) gerando radicais hidroxil ( $\text{HO}^\bullet$ ) e superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ )<sup>48</sup>. Essas espécies, por sua vez, podem reagir com diferentes macromoléculas tais como ácidos nucleicos, proteínas ou lipídios constituintes da membrana celular, causando danos oxidativos no interior das células. Um esquema simplificado dessas reações é apresentado nas Equações 1 a 5<sup>49</sup>.

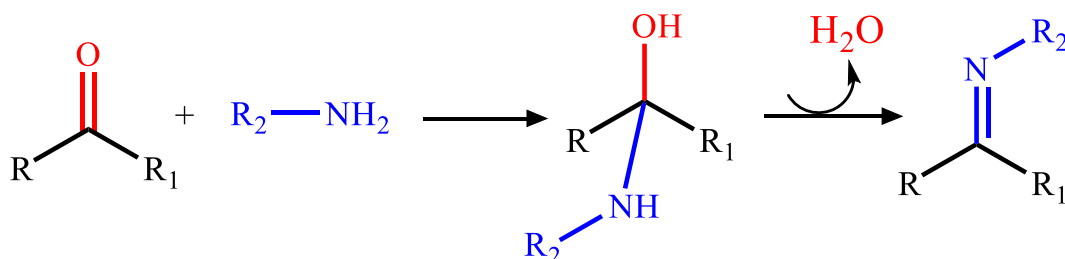


Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos com a finalidade de sintetizar novos ligantes derivados da molécula 1,10-fentantrolina passíveis de coordenação a metais de transição para produção de metalodrogas mais eficientes em relação à degradação de DNA e, possivelmente, ao tratamento do câncer<sup>50-57</sup>. Uma das modificações realizadas é a formação de uma base de Schiff, uma vez que estas mantêm a conjugação  $\pi$  do sistema garantindo assim, a capacidade de intercalação. Dessa forma, complexos de cobre(II) contendo bases de Schiff têm sido explorados com foco em atividades antibacteriana e antiproliferativa, sendo tais propriedades atribuídas tanto ao centro metálico como aos ligantes imínicos<sup>58,59</sup>.

### 1.3 Base de Schiff (Imina)

O químico alemão Hugo Schiff sintetizou uma nova classe de compostos orgânicos, denominados bases de Schiff ou Imina, que apresentaram potencial para aplicação antiviral e quimioterápica<sup>60,61</sup>. As bases de Schiff são sintetizadas a partir de uma amina primária e de um composto carbonílico que, ao reagirem, formam um intermediário aminoálcool seguido pela eliminação de água e geração da base de Schiff<sup>62</sup>, conforme esquema ilustrado na Figura 5.

Figura 5 - Esquema de síntese de uma imina genérica a partir de um aldeído e uma amina.



Fonte: Autor

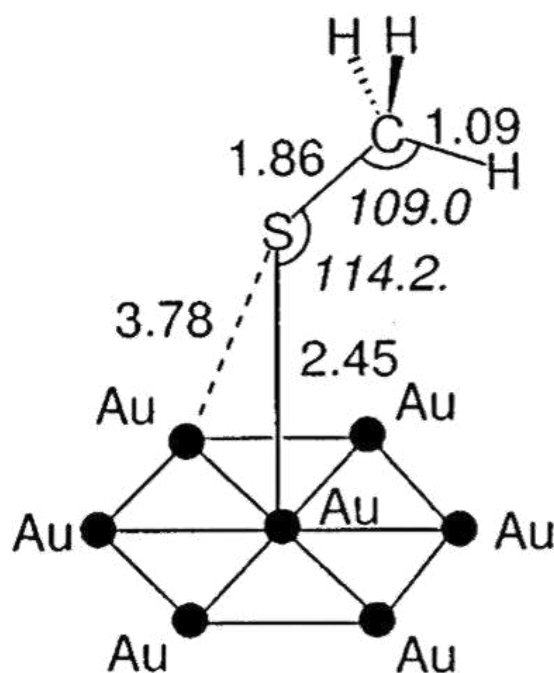
As bases de Schiff constituem uma das classes de compostos orgânicos mais amplamente utilizadas como intermediários sintéticos. É importante ressaltar que esse grupo de compostos apresenta um importante papel na química de coordenação, formando complexos estáveis com diversos metais de transição, tal como o cobre<sup>63</sup>. Além disso, as bases de Schiff apresentam uma ampla gama de atividades biológicas, como antibacteriana, antifúngica e antitumoral<sup>64</sup>. Há relatos na literatura de intensificação da atividade biológica de bases de Schiff após coordenação a centros metálicos<sup>65</sup>.

É importante ressaltar que a base de Schiff pode ser utilizada como uma “ponte” entre duas moléculas, ou seja, ela pode ser utilizada para unir duas moléculas com propriedades diferentes. Por exemplo, pode ser adicionado à uma molécula quelante um biomarcador ou um fragmento que permita a adsorção sobre superfícies metálicas. De fato, a inserção de grupos funcionais contendo átomos de enxofre em bases de Schiff têm permitido a heterogeneização da produção de EROs. Os complexos  $[\text{Cu}(4\text{-mbpy-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$  e  $[\text{Cu}(2\text{CP-Bz-SMe})]^{2+}$ , por exemplo, mantiveram suas capacidades de produção de HO• após imobilização sobre ouro<sup>66,52</sup>. A possibilidade de geração de EROs em meio heterogêneo oferece novos caminhos terapêuticos na medida em que, a princípio, pode-se levar o composto diretamente à molécula alvo e produzir radicais de modo controlado através da aplicação de potencial ou de um campo magnético. A capacidade de adsorver esses compostos em superfícies de ouro pode destacar-se como uma estratégia promissora, possibilitando sua utilização em sistemas de liberação direcionada. A adsorção em catodos de ouro não apenas preserva a integridade do composto, mas também facilita seu transporte até locais específicos, como tumores, proporcionando um veículo eficaz para a terapia antitumoral. A habilidade de direcionar o complexo para a região alvo, combinada com a potencial geração controlada de EROs, destaca-se como uma abordagem inovadora e viável para tratamentos futuros.

#### 1.4 Adsorção de moléculas sobre superfícies condutoras

Uma forma de realizar estudos focados, principalmente, nos processos redox de uma espécie é por meio da adsorção desta em uma superfície condutora, formando monocamadas automontadas, SAMs (do inglês *Self-Assembled Monolayers*)<sup>67,68</sup>. A SAM é formada por agregados moleculares ordenados adsorvidos espontaneamente sobre uma superfície metálica. Dentre esses agregados, cita-se as SAMs de compostos organossulfurados sobre superfícies de ouro devido à reconhecida afinidade entre átomos de enxofre e ouro<sup>67,68</sup>. A ligação entre os átomos de enxofre e ouro apresenta caráter, predominantemente, sigma ( $\sigma$ ) com contribuição  $\pi$  para adsorções em sítios “on-top”<sup>69</sup>, conforme ilustração na Figura 6.

Figura 6 - Representação de modo de ligação “on-top” prevista teoricamente para a quimissorção de enxofre sobre ouro. As distâncias Au-Au são fixadas em 2.884 Å. Os comprimentos de ligação estão em Å e os ângulos de ligação estão em grau.



Fonte: modificado de *J. Phys. Chem. B* **106**, 12727–12736 (2002).

Medidas eletroquímicas, como voltametria cíclica, e de ressonância de plásmons de superfície (SPR, do inglês *Surface Plasmon Resonance*), são frequentemente empregadas no estudo de processos de adsorção de moléculas sulfuradas sobre ouro. Considerando o exposto, o presente trabalho apresenta a síntese e a caracterização de um complexo homoléptico de cobre(II) contendo um ligante sulfurado derivado da molécula 1,10-fenantrolina objetivando a intercalação ao DNA e a geração de espécies reativas de oxigênio em meios homogêneo e heterogêneo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho consiste na síntese e caracterização da base de Schiff (*E*)-*N*-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il)metanimina (fen-Bz-Sme) e do composto de cobre  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  para estudos de geração de espécies reativas de oxigênio e atividade nuclease em relação à molécula de DNA.

### 2.2 Objetivos específicos

1. Sintetizar e caracterizar a base de Schiff (*E*)-*N*-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il)metanimina (fen-Bz-Sme);
2. Sintetizar e caracterizar o composto  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ;
3. Estudar a adsorção do complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  sobre superfícies de ouro.
4. Estudar a capacidade de produção de espécies reativas de oxigênio do composto  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$
5. Estudar a interação do composto  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  com DNA

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Materiais

Os reagentes 4-metil-1,10-fenantrolina, 4-(metiltio)anilina,  $\text{SeO}_2$  (99,8%), trifetilfosfina ( $\text{PPh}_3$ ), hexafluorofosfato de tetrabutylamônio (TBA), cloreto de potássio (KCl), fosfato de potássio dibásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), hidróxido de potássio (KOH), amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (tris-base), cloridrato de tris (tris-HCl), ácido acético glacial, solução de brometo de etídio (BE), DNA-CT (calf thymus), DNA superenovelado plasmidial pBR322, catalase, D-manitol, superóxido dismutase (SOD), peróxido de hidrogênio, ácido ascórbico, de procedência Sigma Aldrich, 1,10-fenantrolina (98%, Combi-Blocks), GelRed (Biotium), cobre em pó (MERCK), ácido nítrico 65% (Dinâmica), dioxano (TEDIA), clorofórmio (Synth), acetonitrila (J.T.Baker), cloreto de metileno (diclorometano) (Synth) e Celite® (Synth) foram utilizados sem purificação prévia. O solvente metanol (TEDIA), utilizado na síntese dos ligantes, passou por uma etapa de secagem com o uso de peneira molecular 4Å, de procedência Sigma Aldrich, recém ativada em um forno mufla Quimis microprocessado modelo Q318M24 a 450 °C durante 4 horas. Os demais solventes orgânicos, de procedência Synth, foram utilizados tal como adquiridos. Os solventes utilizados nas análises de ressonância magnética nuclear (RMN), DMSO- $d_6$  e  $\text{CDCl}_3$ , de procedência Cambridge Isotope Laboratories, Inc., possuem tetrametilsilano (TMS) em sua composição e foram utilizados tal como adquiridos. A água utilizada no preparo das soluções aquosas foi purificada utilizando o equipamento de ultrapurificação de água Direct Q® 3UV com bomba MILLIPORE.

#### 3.2 Síntese dos ligantes

##### 3.2.1 Síntese do composto 1,10-fenantrolina-4-carbaldeído

O composto de partida, 1,10-fenantrolina-4-carbaldeído (fen-CHO), foi sintetizado a partir da reação de oxidação da molécula 4-metil-1,10-fenantrolina, de acordo com o procedimento descrito na literatura<sup>70</sup>. Resumidamente: a um balão de fundo redondo de 100 mL contendo  $5,5 \times 10^{-3}$  mol de dióxido de selênio ( $\text{SeO}_2$ ) (610 mg) foram adicionados 10 mL de uma solução de dioxano/água (96:4), seguida de adição gotejante de  $2,6 \times 10^{-3}$  mol de 4-metil-1,10-fenantrolina (500 mg) dissolvidos em 40 mL da solução de dioxano/água. A reação foi mantida sob agitação e refluxo por 4 h. Ao final, observou-se a formação de um precipitado

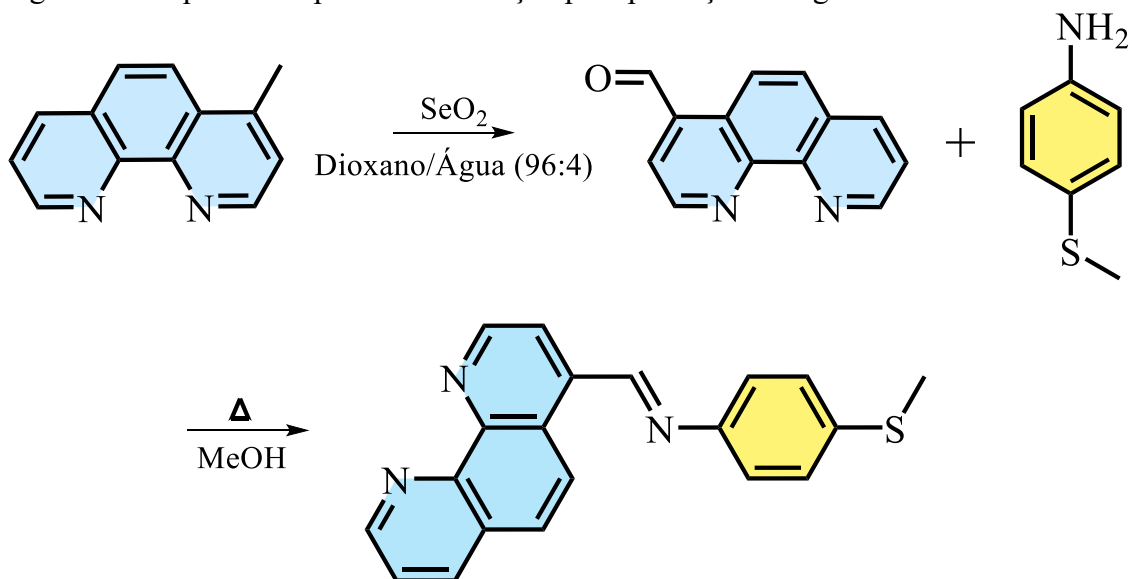


cinza e uma solução amarelada. A solução foi filtrada com um funil de placa porosa e 10 g de Celite® e o resíduo cinza lavado com 100 mL da solução de dioxano/água a fim de extrair uma segunda fração da mistura reacional. Essas frações foram reunidas e rotoevaporadas, obtendo-se um sólido de cor amarela. Este, por sua vez, foi misturado com 5 g de Celite® e extraído com 200 mL de CHCl<sub>3</sub>. Depois da remoção do solvente, foram obtidos 119,09 mg (22% de rendimento) do composto 1,10-fenantrolina-4-carbaldeído.

### ***3.2.1 Síntese do composto (E)-N-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il) metanimina (fen-Bz-Sme)***

A síntese do ligante (E)-N-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il) metanimina (fen-Bz-Sme) foi realizada a partir do composto precursor fen-CHO, seguindo protocolos reportados na literatura para moléculas similares<sup>71,72</sup>. A um balão de fundo redondo de 100 mL contendo  $2 \times 10^{-4}$  mol de fen-CHO (52,7mg) dissolvidos em 50 mL de metanol anidro, foram adicionados  $2,5 \times 10^{-4}$  mol de 4-(metiltio)anilina (31,47 µL), quatro gotas de ácido acético glacial e 5 g de peneira molecular 4Å. Após 24 horas de agitação a 105 °C, a solução foi filtrada a quente objetivando retirar a peneira molecular. O filtrado foi rotoevaporado para remoção do solvente e o sólido amarelo obtido foi purificado usando-se uma coluna cromatográfica com resina Sephadex®, resultando em 67,2 mg (68% de rendimento). A Figura 7 apresenta um esquema simplificado para a obtenção do ligante fen-Bz-Sme.

Figura 7 – Esquema simplificado da reação para produção do ligante fen-Bz-Sme.

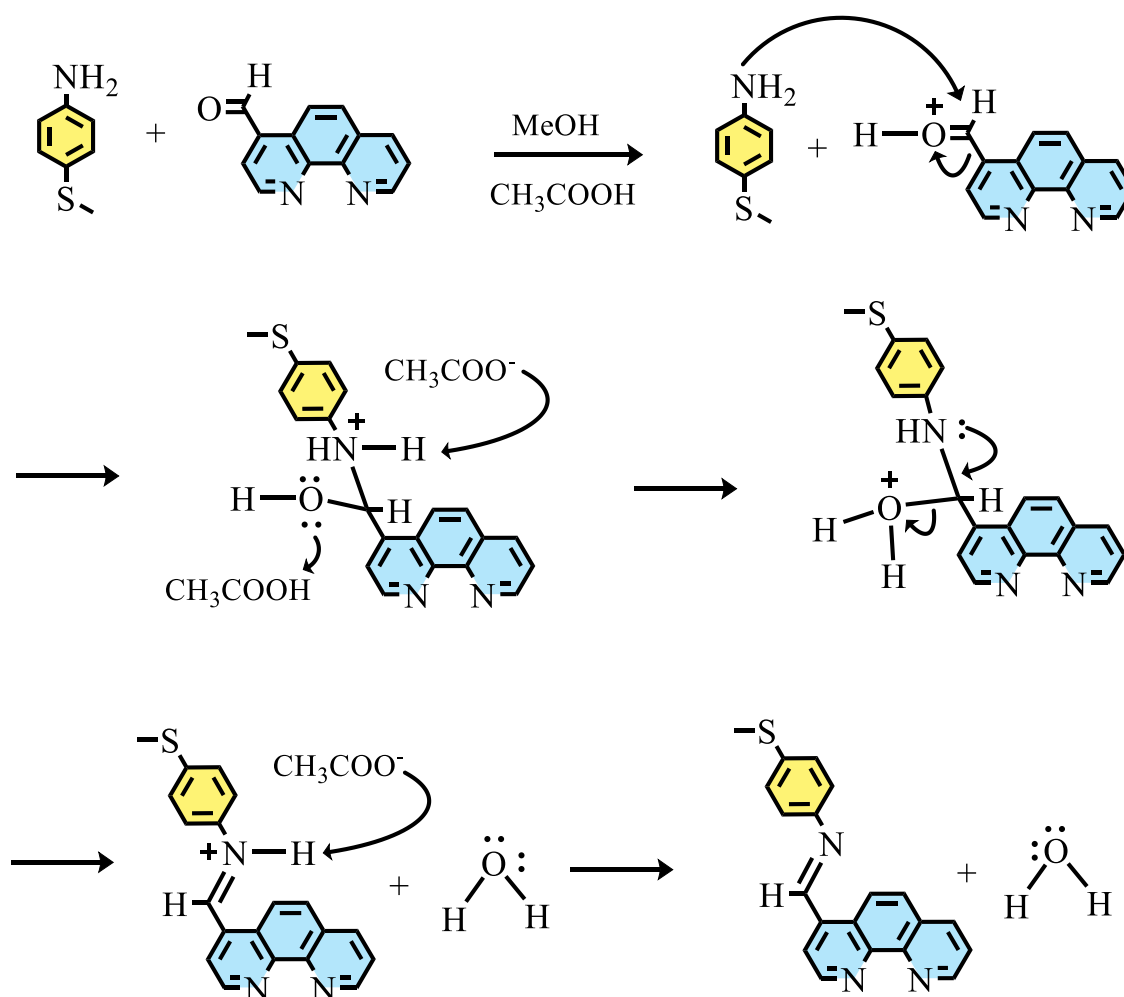


Fonte:

Autor

A Figura 8 apresenta uma proposta de mecanismo para a obtenção dessa molécula onde se tem, inicialmente, uma adição nucleofílica do nitrogênio da molécula 4-(metiltio)anilina ao carbono da carbonila da molécula de 1,10-fenantrolina-4-carbaldeído gerando um intermediário hemiaminal. Essa espécie, por sua vez, é convertida à molécula (E)-N-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il)metanimina com liberação de água.

Figura 8 - Mecanismo de reação proposto para a síntese da base de Schiff fen-Bz-Sme.

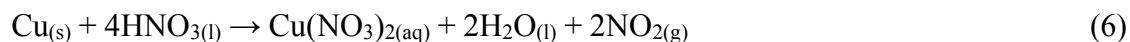


Fonte: Autor

### 3.3 Síntese do complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$

#### 3.3.1 Síntese do sal nitrato de cobre(II)

O esquema reacional para a produção do complexo de partida  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  se inicia com a reação de formação do sal de nitrato de cobre(II) demonstrada na Equação (6).

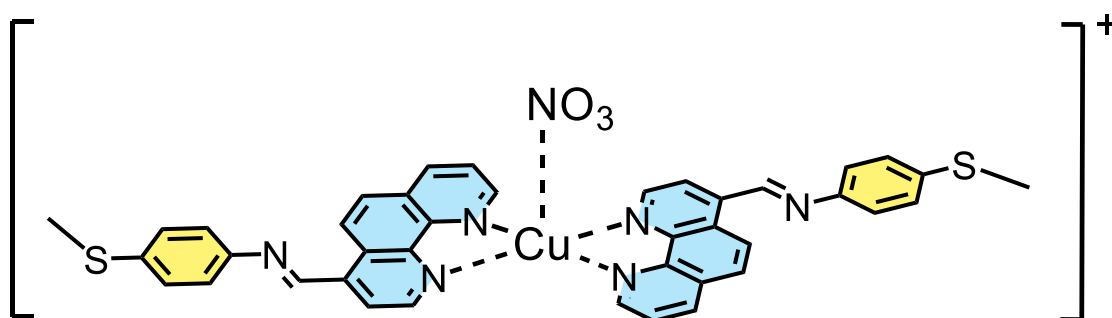


Em um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados 6,35 g de cobre em pó e 26 mL de  $\text{HNO}_3$ . Após 1 hora de agitação, a temperatura ambiente, a solução foi rotoevaporadas para remoção do solvente, obtendo-se 11,92 g de cristais azuis (95% de rendimento).

#### 3.3.2 Síntese do complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$

O complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  foi sintetizado a partir do sal  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ . Em um balão de fundo redondo de 50 mL contendo 0,15 mmol de  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  (28,1 mg), foram adicionados 20 mL de acetonitrila. Em seguida, 0,30 mmol de (fen-Bz-Sme) (100 mg), dissolvidos em 15 mL de acetonitrila, foram adicionados ao balão. A solução foi mantida sob agitação por 2 horas quando houve a mudança da coloração azul clara da solução para um azul escuro. Ao final desse período, a solução foi evaporada sob pressão reduzida, obtendo-se 62,9 mg de um sólido preto (64% de rendimento). A Figura 9 apresenta a possível estrutura para o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ .

Figura 9 - Estrutura proposta para o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ .



Fonte: Autor

### 3.4 Difração de raios-X em monocristal

A análise por difração de raios-X de monocristal foi realizada em um difratômetro para amostras policristalinas modelo DMAXB – Rigaku gerador de raios-X de 2kW, e tubos de raios-X (Cu, Mo e Co), localizado no Laboratório de Raios-X do Departamento de Física da UFC. As coletas de dados foram realizadas a 100 K usando um criostato Oxford Cryostream acoplado ao difratômetro. O software APEX 4 foi utilizado para a determinação da célula unitária e coleta de dados<sup>73</sup>. Usando o programa de interface Olex 2<sup>74</sup> para a suíte SHELX, a estrutura foi resolvida pelo método de faseamento intrínseco implementado no ShelXT<sup>75</sup>, permitindo a localização da maioria dos átomos não hidrogênio. Átomos de hidrogênio foram inseridos seguindo critérios geométricos e tratados usando o modelo de equitação.

### 3.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) unidimensional de hidrogênio (<sup>1</sup>H) e bidimensional COSY foram obtidos em um espectrômetro Bruker AVANCE DPX 300, localizado no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética

Nuclear (CENAUREMN), a 300 MHz para o núcleo de  $^1\text{H}$ , utilizando clorofórmio e DMSO deuterados como solvente e tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência. Os espectros de RMN unidimensional de carbono ( $^{13}\text{C}$ ) e bidimensional HSQC foram obtidos em um espectrômetro Carver B500 Bruker Avance III HD, localizado na Universidade de Illinois Urbana-Champaign, a 500 MHz para o núcleo de  $^{13}\text{C}$ , utilizando clorofórmio deuterado como solvente e tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência. Realizou-se o processamento dos espectros através do software MestreNova da Mestrelab research S.L. Os experimentos na Universidade de Illinois Urbana-Champaign, nos Estados Unidos, foram realizados pelo Dr Adolfo I. B. Romo.

### 3.6 Espectrometria de massas

Os espectros de massa foram obtidos em metanol em um equipamento Waters Q-TOF Ultima ESI com ionização por elétron spray HRESI (*High Resolution Electrospray ionization*) no modo de íons positivos, localizado na universidade de Illinois, em Urbana-Champaign, EUA. A voltagem capilar foi calibrada em +3,5 kV, o fluxo de gás  $\text{N}_2$  em  $5 \text{ L min}^{-1}$  a  $300 \text{ }^\circ\text{C}$  e o gás nebulizador a 30 psi. Os experimentos na Universidade de Illinois Urbana-Champaign, nos Estados Unidos, foram realizados pelo Dr. Adolfo I. B. Romo.

### 3.7 Espectros eletrônicos de absorção nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos de absorção nas regiões do UV-Vis foram obtidos em um equipamento UV-Vis-NIR Cary 5000 Varian utilizando uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico. As medidas das absorbâncias foram efetuadas por meio de leitura direta dos espectros usando-se, como branco, o respectivo solvente.

### 3.8 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos a partir de amostras dispersas em pastilhas de brometo de potássio (KBr), utilizando-se um espectrofotômetro de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da ABB Bomem FTLA 2000-102 com janela espectral de  $400$  a  $4000 \text{ cm}^{-1}$ .

### 3.9 Estudo teórico

Os cálculos apresentados neste estudo foram realizados pelo Professor Tércio de Freitas Paulo utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT, *density functional theory*).

Todos os cálculos foram processados com o conjunto de programas Gaussian 16<sup>79</sup>. As geometrias no estado fundamental foram otimizadas por DFT com o funcional híbrido B3LYP (correlação de troca corrigida pelo gradiente de Becke em conjunto com o funcional de correlação Lee-Yang-Parr com três parâmetros). Para o ligante fen-Bz-Sme, foi empregado o conjunto de bases 6-311++G(d,p). As análises de frequência vibracional foram realizadas não sendo determinadas frequências imaginárias, confirmando, assim, a obtenção de que as moléculas estão em um mínimo de energia potencial. A fim de se obter maior concordância entre os resultados experimentais e teóricos foi utilizado um fator de correção de 0,9679 para os números de onda calculados, considerando o nível de teoria utilizado<sup>80</sup>. Para considerar o efeito do solvente, no caso do metanol, aplicou-se o modelo de solvatação implícita que usa o formalismo de equações integrais para o método de polarização contínua (IEF-PCM, *Polarizable Continuum Model (PCM) using the integral equation formalism variant*)<sup>81</sup>. A partir das estruturas otimizadas, as energias das transições foram determinadas usando a extensão da DFT dependente do tempo utilizando a aproximação de Tamm-Dancoff (TDA-DFT)<sup>76-78</sup> usando os conjuntos misto de bases mencionados acima e o funcional corrigido de longo alcance  $\omega$ B97X-D.<sup>81</sup> Para extrair os dados dos arquivos de saída dos calculas, utilizou-se o programa gaussSum e multwfn.

### 3.10 Condutimetria

As medidas de condutividade molar foram obtidas utilizando o equipamento QUIMIS modelo Q795M2. As medidas foram realizadas em acetonitrila com controle de temperatura. O valor de condutividade molar foi obtido a partir da média dos valores obtidos para as concentrações de 1,0; 0,5 e 0,25 mmol L<sup>-1</sup>.

### 3.11 Medidas eletroquímicas

A caracterização eletroquímica dos compostos sintetizados foi realizada utilizando-se um sistema eletroquímico potenciostato/galvanostato BAS Epsilon E2 818, a temperatura ambiente, utilizando uma célula convencional de três eletrodos, sendo fio de Pt, Ag/AgCl (Bas, KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup>) e carbono vítreo ou ouro como eletrodos auxiliar, de referência e de trabalho, respectivamente. O eletrodo de carbono foi submetido a um processo de polimento com alumina e lavado com água destilada, antes da leitura. Para o eletrodo de ouro, o procedimento de limpeza envolveu etapas químicas e físicas na seguinte ordem de execução: (i) imersão do eletrodo em solução “piranha” (3x H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> / 1x H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por 120 segundos; (ii) polimento em alumina seguido

de lavagem com água destilada; (iii) varreduras cíclicas (20 ciclos a  $0,5 \text{ V s}^{-1}$ ) de  $-0,4$  a  $-1,8$  V em solução  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  de KOH e (iv) varreduras cíclicas (50 ciclos a  $0,5 \text{ V s}^{-1}$ ) de  $-0,4$  a  $1,8$  V em meio ácido,  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , a fim de proporcionar uma superfície morfológicamente reprodutível. As medidas eletroquímicas com carbono vítreo foram realizadas em acetonitrila contendo tetrabutilamônio hexafluorofosfato ( $\text{TBAPF}_6$ ,  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Utilizou-se ferroceno como padrão de correção de potencial, o par redox ferroceno ( $\text{Fc}^{+/0}$ ) apresentou potencial de meia-onda ( $E_{1/2}$ ) de  $0,52 \text{ V vs Ag/AgCl}$ . As medidas eletroquímicas com eletrodo de ouro foram realizadas utilizando-se, como eletrólito suporte, uma solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de cloreto de potássio (KCl) em água.

### 3.12 Ressonância de plásmons de superfície (SPR – *Surface Plasmon Resonance*)

O estudo de variação de massa durante o monitoramento do processo de adsorção do complexo de Cu(II) foi realizado por ressonância de plásmons de superfície (SPR – *Surface Plasmon Resonance*). Foi utilizado um equipamento da AUTOLAB, modelo ESPRIT Eco Chemie B. V., Utrecht, Netherlands e discos de ouro de  $25 \text{ mm}$  de diâmetro e  $48 \text{ nm}$  de espessura sobre base de vidro BK7®. Utilizou-se água com solvente para as medidas realizadas.

### 3.13 Interação com DNA

#### 3.13.1 Titulação de DNA (monitorado por espectroscopia de absorção eletrônica)

Foi realizado uma titulação espectrofotométrica de uma solução do íon complexo de cobre com DNA – Calf - Thymus (DNA - ct) em uma faixa de  $200$  a  $600 \text{ nm}$ , com a finalidade de verificar a interação do complexo com o DNA. As medidas foram realizadas em concentração constante de complexo ( $0,4 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) com sucessivas adições de uma concentração  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  de CT-DNA em tampão PBS,  $\text{pH} = 7,4$ . As variações de absorbância em bandas associadas às transições intraligantes foram registradas e corrigidas pela absorbância de DNA em  $260 \text{ nm}$ . A análise dos dados da titulação permite o cálculo da constante de ligação intrínseca ( $K_b$ ) entre o complexo e o DNA (Equação 7)<sup>76</sup>. A constante  $K_b$  mede a força de ligação do complexo ao DNA e nos permite comparar, quantitativamente, diferentes complexos e estimar os principais tipos de interação que ocorrem.

$$\frac{[DNA]}{(\varepsilon_a - \varepsilon_b)} = \frac{[DNA]}{(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} \quad (7)$$

Onde  $\varepsilon_f$ ,  $\varepsilon_a$  e  $\varepsilon_b$  representam, respectivamente, os coeficientes de extinção molar para o complexo livre, para cada adição de DNA e para o complexo totalmente ligado.

### 3.13.2 Estudo de intercalação com brometo de etídio (EB)

Os espectros de fluorescência foram obtidos utilizando um Fluorímetro modelo QM-40 (PTI). A uma cubeta foram adicionados 2 mL do tampão PBS 2 mmol L<sup>-1</sup>, pH 7,4, contendo 4 μmol L<sup>-1</sup> de brometo de etídio (EB) com 11,4 μmol L<sup>-1</sup> de CT-DNA. Posteriormente, foram realizadas adições sucessivas de 22,4 μL de uma solução 0,35 mmol L<sup>-1</sup> do complexo. Com a finalidade de calcular a supressão de fluorescência, foi utilizada a relação de Stern-Volmer (Equação 8)<sup>77</sup>.

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (8)$$

No qual  $I_0$  e  $I$  são as intensidades de emissão na ausência e presença do supressor (complexo), respectivamente,  $K_{sv}$  é a constante de supressão de Stern-Volmer e  $[Q]$  é a concentração do supressor.

### 3.13.3 Ensaios de clivagem com o plasmídeo pBR322

Os estudos de clivagem do DNA plasmidial superenovelado pBR322 foram realizados empregando a técnica de eletroforese em gel de agarose. As soluções do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  (concentrações 60 – 240 μmol L<sup>-1</sup>) foram adicionadas à solução contendo o DNA (20 μmol L<sup>-1</sup> em pares de base) em tampão tris-HCl, pH = 8) permanecendo incubados por 2 horas em três condições a saber: I) DNA + complexo; II) DNA + complexo + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (concentração de 530 μmol L<sup>-1</sup>); III) DNA + complexo + Ácido Ascórbico (concentração de 530 μmol L<sup>-1</sup>). Com o intuito de estudar a natureza das espécies reativas de oxigênio responsáveis pela clivagem do DNA, foram utilizados os seguintes sequestradores de espécies radicais: catalase (100 μg mL<sup>-1</sup>), D-manitol (50 mmol L<sup>-1</sup>) e superóxido dismutase (SOD) (100 μg mL<sup>-1</sup>) para H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HO<sup>•</sup>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, respectivamente. Ao término do período de incubação, as reações foram interrompidas pela adição de 5 uL de tampão de corrida *Loading Buffer* 5X concentrado (EDTA 0,25 mol L<sup>-1</sup>, glicerol 50% e azul de bromofenol 0,01%, pH 8,0). O padrão de bandas foi verificado em gel de agarose (0,8 %) com tampão TAE, pH 8,0, coradas com GelRed™ e realizada a eletroforese à voltagem constante de 70 mV.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Espectroscopia de RMN

Os espectros RMN de  $^1\text{H}$  em  $\text{CDCl}_3$  dos compostos fen-CHO e fen-Bz-Sme encontram-se ilustrados na Figura 10. As Figuras 11, 12 e 13 ilustram os espectros COSY (do inglês, *Correlation Spectroscopy*),  $^{13}\text{C}$  e HSQC (do inglês, *Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy*) do composto fen-Bz-Sme em  $\text{CDCl}_3$ .

As Tabelas 1 e 2 resumem os valores de deslocamentos químicos observados nos espectros RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , respectivamente.

Figura 10 - Espectros de RMN  $^1\text{H}$  a 300 MHz em  $\text{CDCl}_3$  para os compostos 1,10-fenantrolina-4-carbaldeído (A) e (E)-N-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il)metanimina (B).

Fonte: Autor

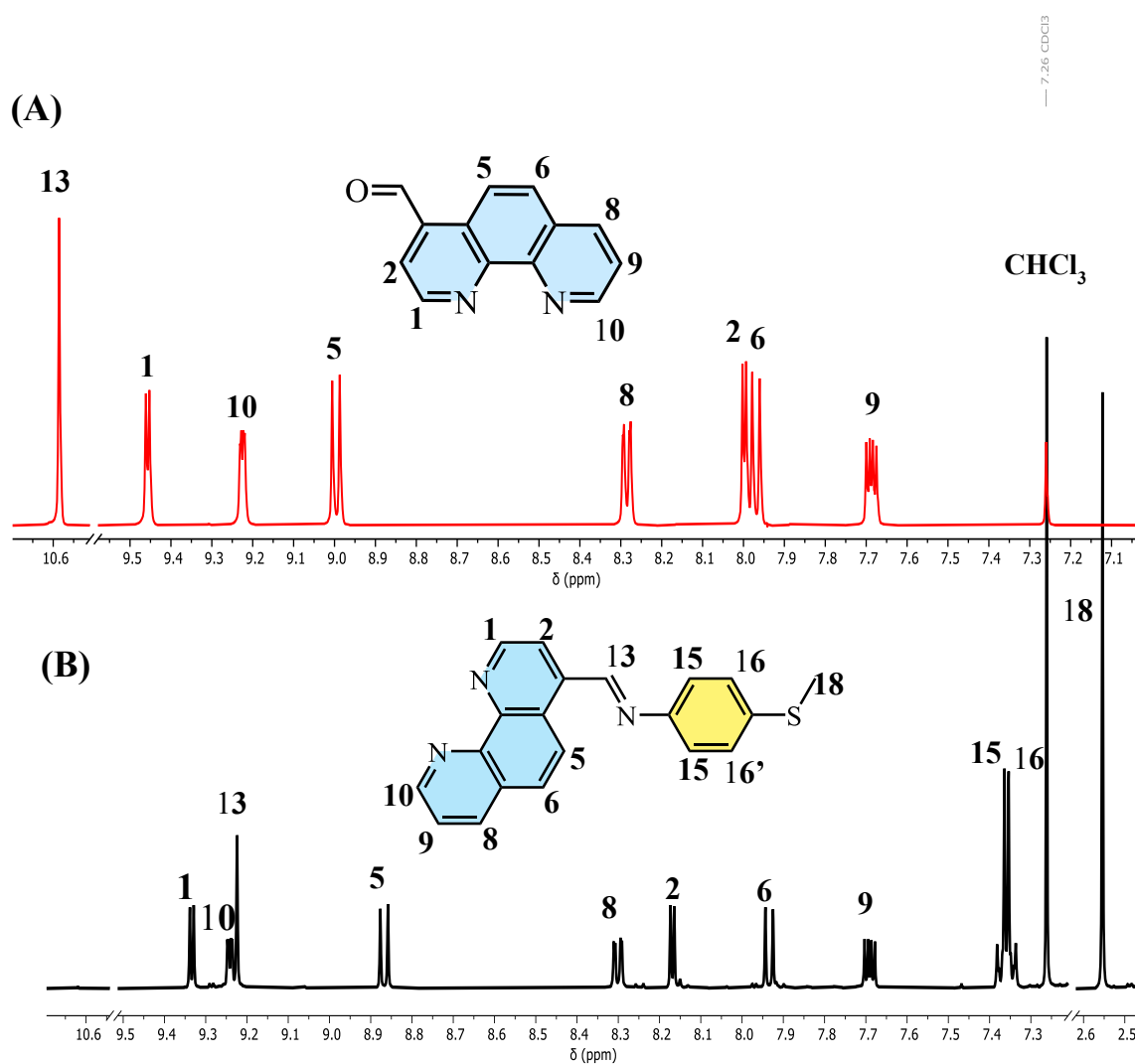


Tabela 1 - Deslocamentos químicos de RMN  $^1\text{H}$  dos compostos fen-CHO e fen-Bz-Sme em  $\text{CDCl}_3$ .

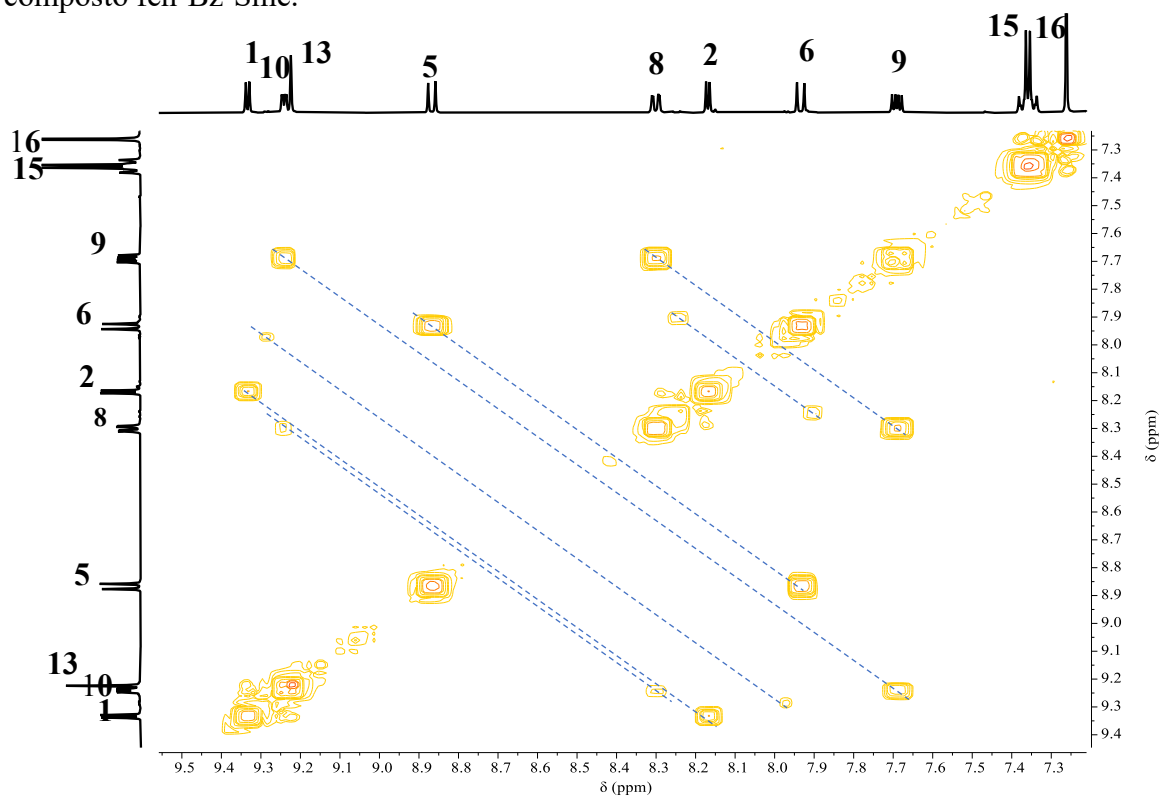
H	fen-CHO	Valores de referência <sup>70</sup> para o composto fen-CHO	fen-Bz-Sme
	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm) (multiplicidade)	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm) (multiplicidade)	$\delta$ $^1\text{H}$ (ppm) (multiplicidade)
1	9,46 (d, 1H)	9,47 (d, 1H)	9,33 (d, 1H)
10	9,22 (dd, 1H)	9,28 (dd, 1H)	9,24 (dd, 1H)
13	10,58 (s, 1H)	10,65 (s, 1H)	9,22 (s, 1H)
5	9,00 (d, 1H)	9,01 (d, 1H)	8,87 (d, 1H)
8	8,28 (dd, 1H)	8,41 (dd, 1H)	8,30 (dd, 1H)
2	7,99 (d, 1H)	8,01 (d, 1H)	8,17 (d, 1H)
6	7,96 (d, 1H)	7,98 (d, 1H)	7,93 (d, 1H)
9	7,68 (dd, 1H)	7,70 (dd, 1H)	7,69 (dd, 1H)
15	*	*	7,36 (d, 2H)
16	*	*	7,35 (d, 2H)
18	*	*	2,55 (s, 3H)

Fonte: Autor

No espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto precursor, é possível observar um sinal em 10,58 ppm característico de hidrogênios de grupos aldeído, os quais experimentam um forte efeito retirador de elétrons<sup>78</sup>. No espectro do ligante fen-Bz-Sme, por sua vez, esse sinal desaparece enquanto surge um novo sinal referente ao hidrogênio imínico (singlete em 9,22 ppm). A substituição do grupo C=O por um grupo C=N justifica a mudança de sinal para uma região de menor deslocamento químico, visto que este grupo possui menor efeito retirador de elétrons<sup>78-82</sup>. Já os deslocamentos químicos característicos<sup>83</sup> de hidrogênios ligados a carbono aromático  $\text{sp}^2$  foram observados na faixa de 9,2 a 7,0 ppm. Além disso, observa-se a correlação

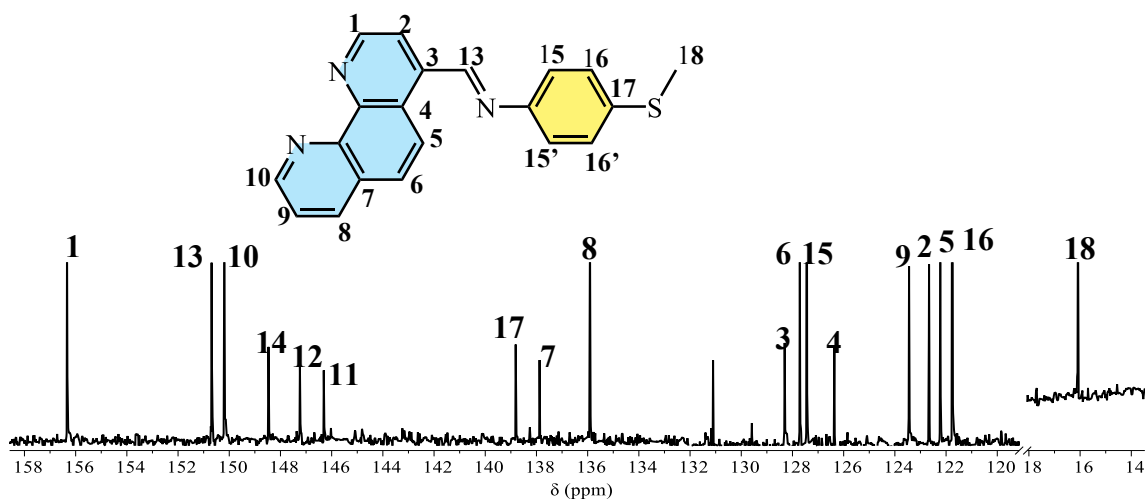
entre os hidrogênios (1 e 2); (3 e 4) e (7, 6 e 5) no espectro COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  do composto fen-Bz-Sme (Figura 11) dando suporte às atribuições resumidas na Tabela 2.

Figura 11 - Espectros de RMN bidimensional COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  a 300 MHz em  $\text{CDCl}_3$  para o composto fen-Bz-Sme.



Fonte: Autor

Figura 12 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  a 300 MHz em  $\text{CDCl}_3$  para o composto fen-Bz-Sme, nas regiões de 158 – 120 ppm e 18 – 14 ppm



Fonte: Autor

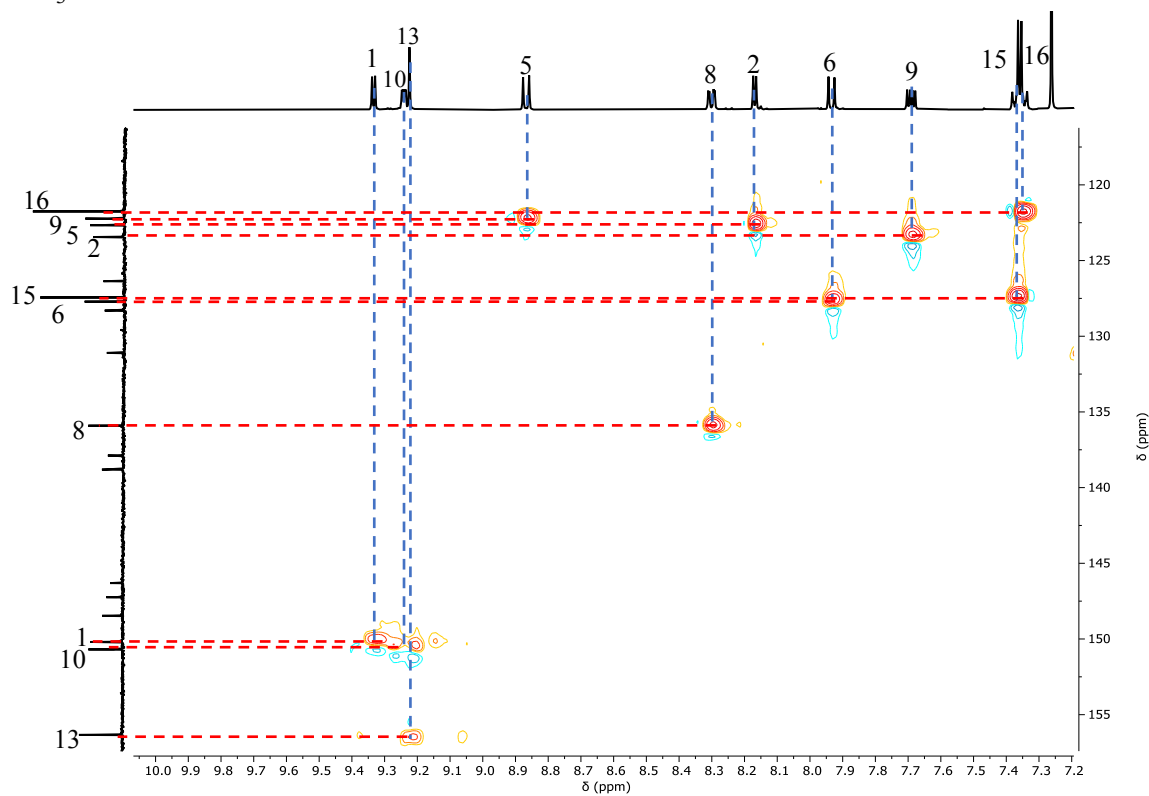
Tabela 2 - Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto fen-Bz-Sme em  $\text{CDCl}_3$ .

$^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$^{13}\text{C}$	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
13	156,34	3	128,30
1	150,69	6	127,71
10	150,19	15	127,44
14	148,47	4	126,36
12	147,24	9	123,44
11	146,31	2	122,66
17	138,81	5	122,23
7	137,88	16	121,76
8	135,91	18	16,09

Fonte: Autor

Os deslocamentos químicos característicos de carbono aromático  $\text{sp}^2$  são normalmente observados<sup>83</sup> na faixa de 110 a 175 ppm, enquanto os deslocamentos de carbonos  $\text{sp}^3$  são observados entre 8 a 30 ppm. No espectro HSQC (Figura 13), foi possível observar a relação entre os hidrogênios e os carbonos hidrogenados permitindo a atribuição. Nesse contexto, os deslocamentos químicos e as multiplicidades dos sinais são correspondentes às estruturas e consistentes com os dados apresentados na literatura, indicando que os compostos de interesse foram obtidos.

Figura 13 - Espectro de RMN bidimensional HSQC para o composto fen-Bz-Sme em  $\text{CDCl}_3$ .



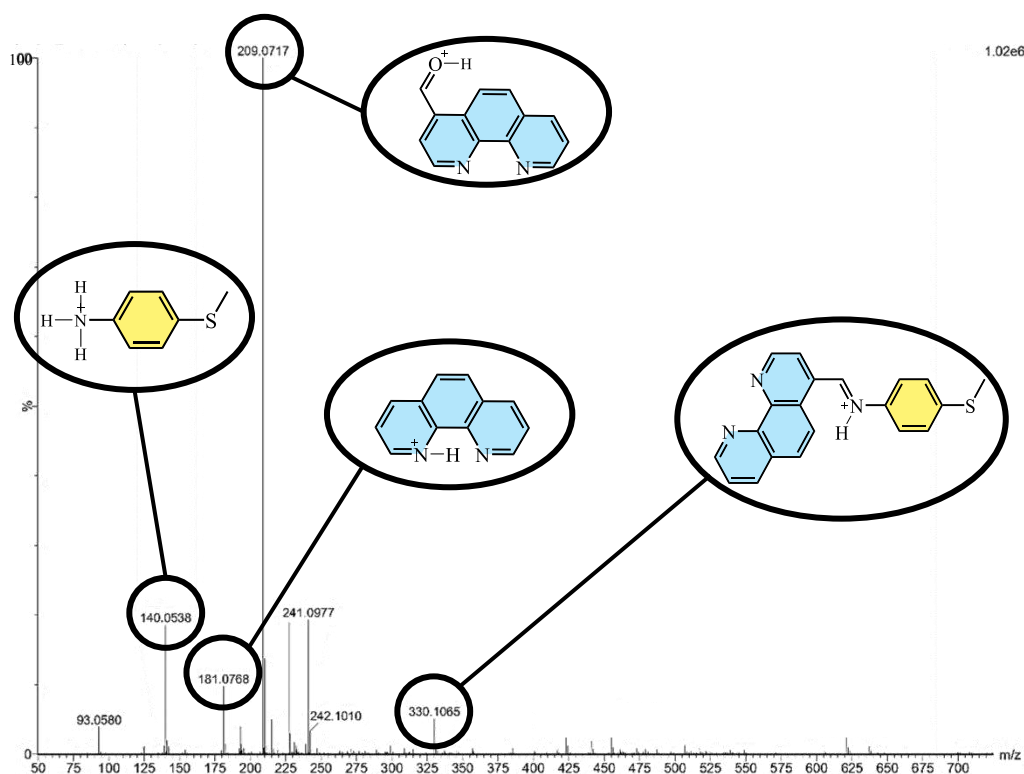
Fonte: Autor

Os deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN apresentados acima são consistentes com o isolamento da base de Schiff fen-Bz-Sme. A fim de melhor elucidação da estrutura do composto, foi realizado espectroscopia de massas.

## 4.2 Espectroscopia de massas

O espectro de massas do composto fen-Bz-Sme encontra-se ilustrado na Figura 14, utilizando metanol como fase móvel.

Figura 14 - Espectro de massas obtido para o composto fen-Bz-Sme utilizando metanol como fase móvel.



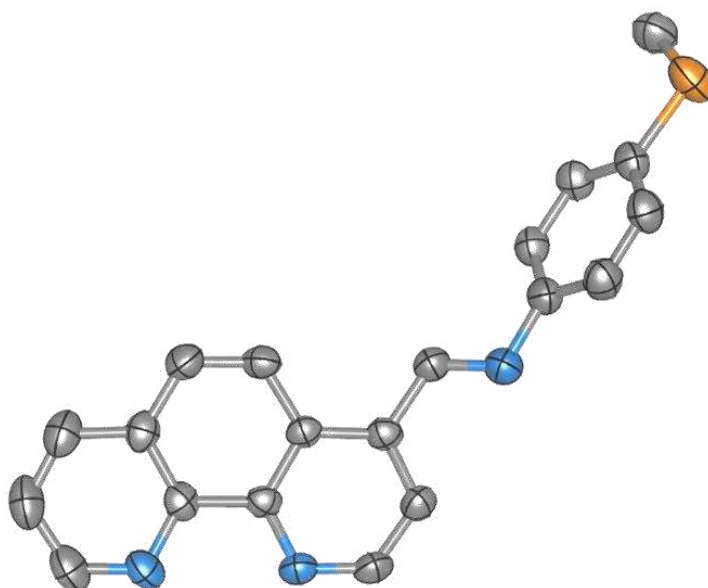
Fonte: Autor

O espectro de massas do composto fen-Bz-Sme (Figura 14) apresentou o pico do íon molecular ( $M^+$ ) em 330.1065. Com a hidrólise da base de Schiff é possível observar o pico base em 209,0717, sendo atribuído ao fragmento da molécula fen-CHO. Foram observados, também, outros picos em 181,0768 e 140,0538 que foram atribuídos aos compostos 1,10-fenantrolina e 4-(metiltio)anilina, respectivamente.

### 4.3 Difração de raios-X de monocristal

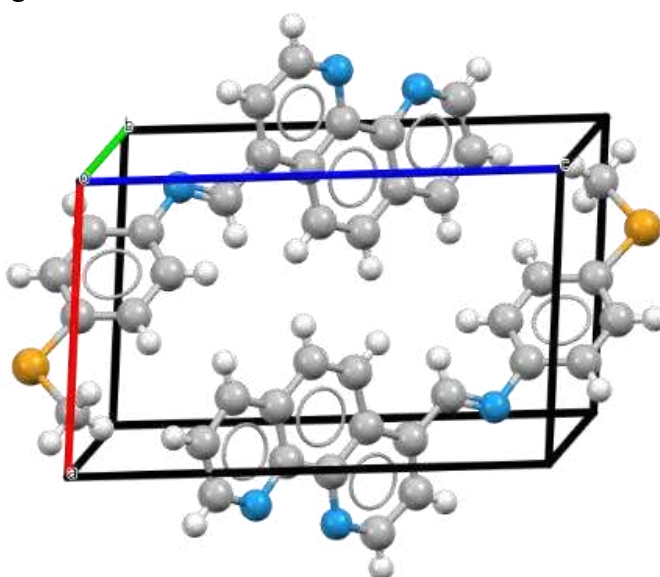
A recristalização do ligante fen-Bz-Sme em clorofórmio resultou na formação de cristais amarelos passíveis de difração por raios-X. A estrutura ORTEP para o ligante é apresentada na Figura 15 com probabilidade de elipsóide de 50%. A representação da célula unitária é apresentada na Figura 16 e os dados coletados e parâmetros de refinamento estão organizados na Tabela 3.

Figura 15 - Estrutura ORTEP do monocristal da molécula fen-Bz-Sme com 50% de probabilidade de elipsoide. Os átomos de hidrogênios foram omitidos para maior clareza.



Fonte: Autor

Figura 16 - Representação da célula unitária do cristal do ligante fen-Bz-Sme.



Fonte: Autor

Tabela 3 - Dados cristalográficos da molécula fen-Bz-Sme.

Fórmula Empírica	$C_{20}H_{15}N_3S$
Massa Molar ( $g\ mol^{-1}$ )	329,42
Sistema Cristalino	Triclínico
Grupo Espacial	$(P\bar{1} (2))$

Comprimentos da Célula (Å)	<b>a:</b> 7,1127(6); <b>b:</b> 9,6611(7); <b>c:</b> 11,6593(9)
Ângulos da Célula (°)	<b>a:</b> 90,367(3); <b>b:</b> 93,557(4); <b>g:</b> 100,652(4)
Volume da Célula (Å <sup>3</sup> )	785,733
Z	4

Fonte: Autor

O ligante fen-Bz-Sme cristalizou no sistema triclinico, com grupo espacial  $P\bar{1}$  (2). Os dados de distância de ligação e de ângulos de ligação, Tabela 4, obtidos experimentalmente estão em consonância com os valores previstos por DFT a partir da geometria otimizada da molécula.

Tabela 4 - Comprimentos e ângulos de ligação selecionados experimentais (Exp.) e teóricos (Calc.) para o ligante fen-Bz-Sme.

Ligação	Distância (Å)		Ângulo (°)		
	Exp.	Calc.	Ligação	Exp.	Calc.
S(1)–CH <sub>3</sub>	1,782	1,820	C(6)–S(1)–C(2)	103,9	103,7
S(1)–C(2)	1,760	1,779	C=N–C(9)	118,1	120,6
C(9)–N(1)	1,423	1,402	NC(16)C(17)	122,2	120,6
C(16)=N(14)	1,255	1,278	C(9)N=C(16)C(17)	177,0	176,3
C(16)–C(17)	1,478	1,472	C(13)C(9)–C=N	48,3	36,3

Fonte: Autor

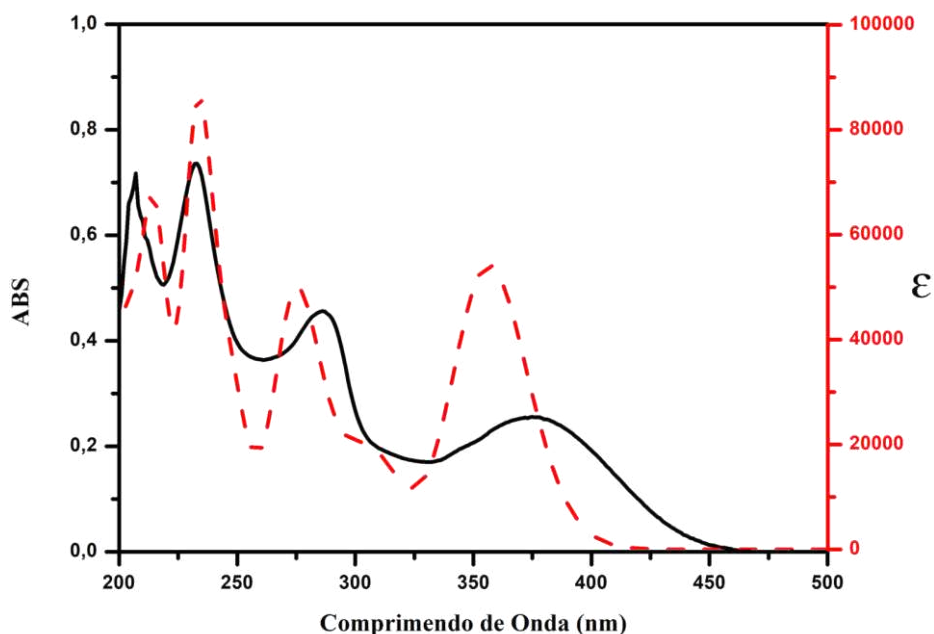
#### 4.4 Espectroscopia eletrônica de absorção nas regiões do UV-vis

##### 4.4.1 Ligante fen-Bz-Sme

Os espectros experimental e teórico de absorção eletrônica nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis) do ligante fen-Bz-Sme em metanol encontram-se ilustrados na Figura 17.



Figura 17 - Espectros UV-Vis experimental ( $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) (linha preta sólida) e teórico (linha vermelha tracejada) da molécula fen-Bz-Sme em metanol. Cálculo realizado em nível de teoria TDA-DFT/ $\omega$ B97X-D/6-311++g(d,p). Valores de  $\lambda(\text{nm})$  e  $\epsilon$  ( $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) foram plotados abaixo.



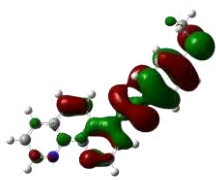
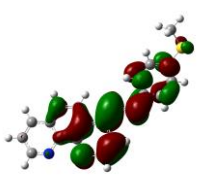
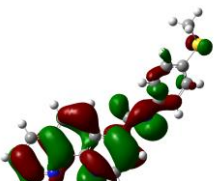
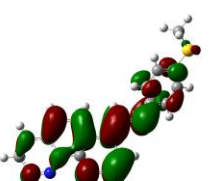
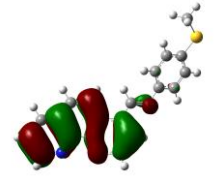
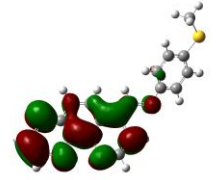
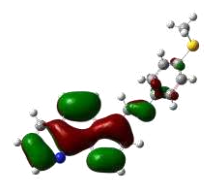
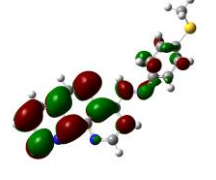
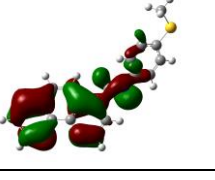
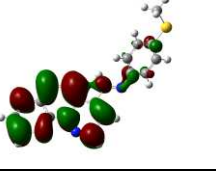
$\lambda(\text{nm})$	$\epsilon$ ( $\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )
207	$1,4 \times 10^4$
232	$1,5 \times 10^4$
286	$9,5 \times 10^3$
305	$4,5 \times 10^3$
378	$5,3 \times 10^3$

Fonte: Autor

O perfil de absorções observado para o ligante fen-Bz-Sme é compatível com sistemas aromáticos polinucleares altamente conjugados<sup>87</sup>. O espectro UV-Vis experimental apresenta cinco bandas em 378, 305, 286, 232 e 207 nm (Figura 17) que, comparado ao espectro calculado, mostra uma boa concordância.

Para avaliação da natureza das transições, utilizou-se a localização dos orbitais naturais de transição (NTO), conforme os dados apresentados na Tabela 8. As três bandas de maiores energias no espectro experimental são atribuídas às transições localmente excitadas (LE), majoritariamente no fragmento fenantrolínico. A banda de menor energia, em 376 nm, apresenta um caráter de transferência de carga intramolecular (TCI) com a densidade eletrônica sendo transferida do fragmento metil-tiobenzeno para o grupo fenantrolínico da molécula. O espectro teórico apresenta, ainda, uma banda de baixa intensidade em 320 nm atribuída a uma transição do tipo LE localizada sobre toda a molécula.

Tabela 5 - Valores de comprimentos de onda ( $\lambda$ , em nm), constante de força do oscilador ( $f$ ), contribuição majoritária (percentual entre parênteses), isosuperfícies dos orbitais naturais de transição (NTO), percentual de contribuição e caráter da transição.

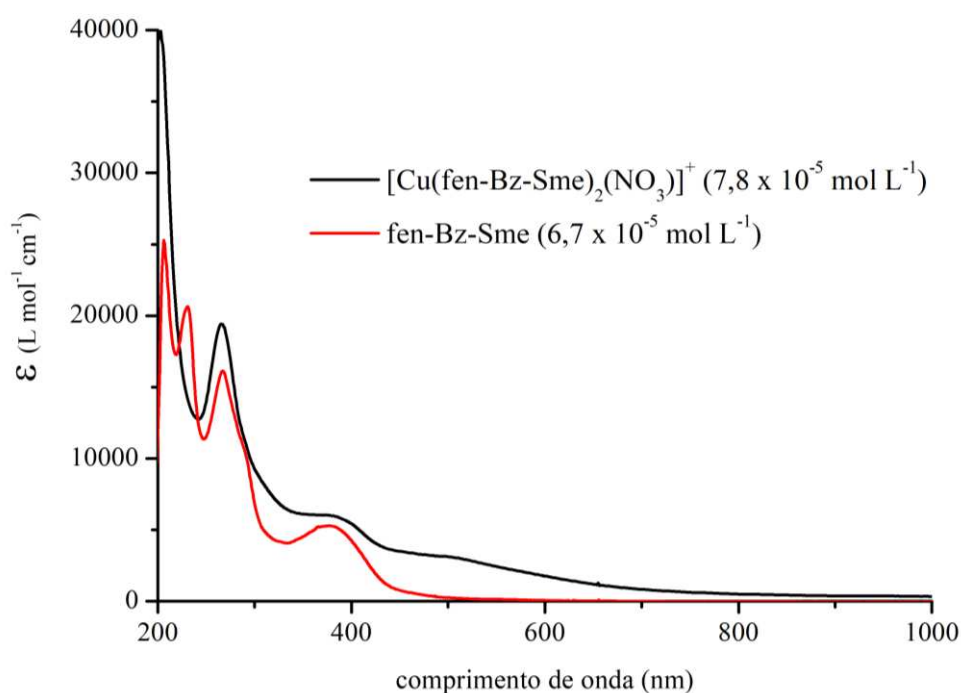
	$\lambda$ (nm)	$f$	Contrib. (%)	$\lambda_{\max}$ Exp. (nm)	NTO Aceptor	NTO Doador	Contrib. (%)	Caráter
S <sub>1</sub>	342	0.8721	H→L (70%)	376			89%	TCI
S <sub>4</sub>	287	0.2106	H-2→L(26%) H-1→L+1 (16%)	320			70%	LE
S <sub>8</sub>	252	0.6264	H-2→L(22%) H-2→L+1 (24%)	286			57%	LE Fen
S <sub>18</sub>	208	0.5234	H-1→L+2 (32%)	232			48%	LE Fen
S <sub>29</sub>	186	0.3347	H-8→L+1 (18%)	<206			38%	LE Fen

Fonte: Autor H: HOMO; L: LUMO; TCI Transferência de carga intramolecular; LE: Localmente excitada

#### 4.4.2 Complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)^+$

Os espectros UV-Vis do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  (preto) e do ligante fen-Bz-Sme (vermelho) em acetonitrila respectivamente, encontram-se ilustrados na Figura 18.

Figura 18 - Espectros UV-Vis do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  ( $7,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) (linha preta) e da molécula fen-Bz-Sme ( $6,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) (linha vermelha) em acetonitrila.



Fonte: Autor

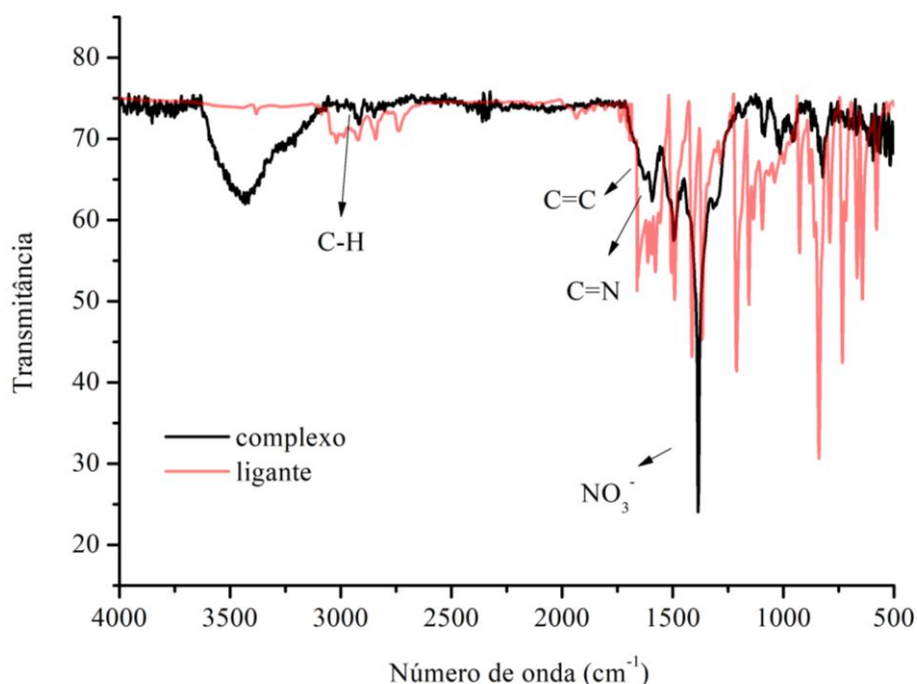
Comparando os espectros do complexo (linha preta) com o do ligante (linha vermelha), é possível observar mudanças indicativas de coordenação. As bandas em regiões mais energéticas, com máximo em 266 nm ( $\epsilon_{\text{máx}}, 19969 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) e 375 nm ( $\epsilon_{\text{máx}}, 6042 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) no espectro do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ , são observadas, também, no espectro do ligante fen-Bz-Sme, sendo atribuídas, portanto, às transições internas dos ligantes. Já a banda menos energética observada com máximo em 502 nm ( $\epsilon_{\text{máx}}, 2864 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) no espectro do íon complexo, é atribuída a uma transição de transferência de carga do ligante para o metal (LMCT), valores semelhantes foram reportados na literatura para compostos de Cu(II) coordenados a ligantes derivados da fenantrolina<sup>84-86</sup>. Além disso, diversos complexos de Cu(II) descritos na literatura<sup>84-86</sup> exibem uma banda ampla e de baixa

intensidade ( $\epsilon \approx 10$  a  $10^2 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$ ) em uma região menos energética ( $<700 \text{ nm}$ ) devido ao efeito Jahn-Teller<sup>87</sup>. No entanto, no caso do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ , essa banda característica não pôde ser observada, provavelmente devido ao alargamento da banda com pico em  $502 \text{ nm}$ .

#### 4.5 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

O espectro vibracional na região do infravermelho do complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  foi investigado na região de  $400$  a  $4000 \text{ cm}^{-1}$  (Figura 19).

Figura 19 - Espectro vibracional na região do infravermelho em pastilha de KBr para o complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (preto) e do ligante fen-Bz-Sme (vermelho).



Fonte: Autor

O espectro vibracional do complexo apresenta as seguintes bandas (Tabela 6), cujas atribuições foram baseadas em trabalhos reportados na literatura<sup>52,88,89</sup>

Tabela 6: Atribuição de sinais dos modos vibracionais do espectro infravermelho para o complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$

Número de onda $\text{cm}^{-1}$	Atribuições
2994 a 2904	v C-H alifático da molécula orgânica

1623	$\nu$ C=C dos anéis aromáticos
1593	$\nu$ C=N das iminas e dos anéis piridínicos
1388	$\nu$ N=O do contra íon $\text{NO}_3^-$
1091	$\delta$ C-H no plano
1018	$\delta$ C-H fora do plano
956	$\nu$ C-C simétricos do anel benzênico
819	$\delta$ C-H fora do plano

Dentre as bandas observadas é possível destacar os  $\nu$  C=C ( $1623 \text{ cm}^{-1}$ ) e  $\nu$  C=N ( $1593 \text{ cm}^{-1}$ ) que são comumente observados, nessa região, em complexos de cobre contendo ligantes derivados da fenantrolina<sup>51,88</sup>. Além disso, é possível observar uma banda de alta intensidade em  $1388 \text{ cm}^{-1}$  muito característica de complexos com  $\text{NO}_3^-$ <sup>84</sup>.

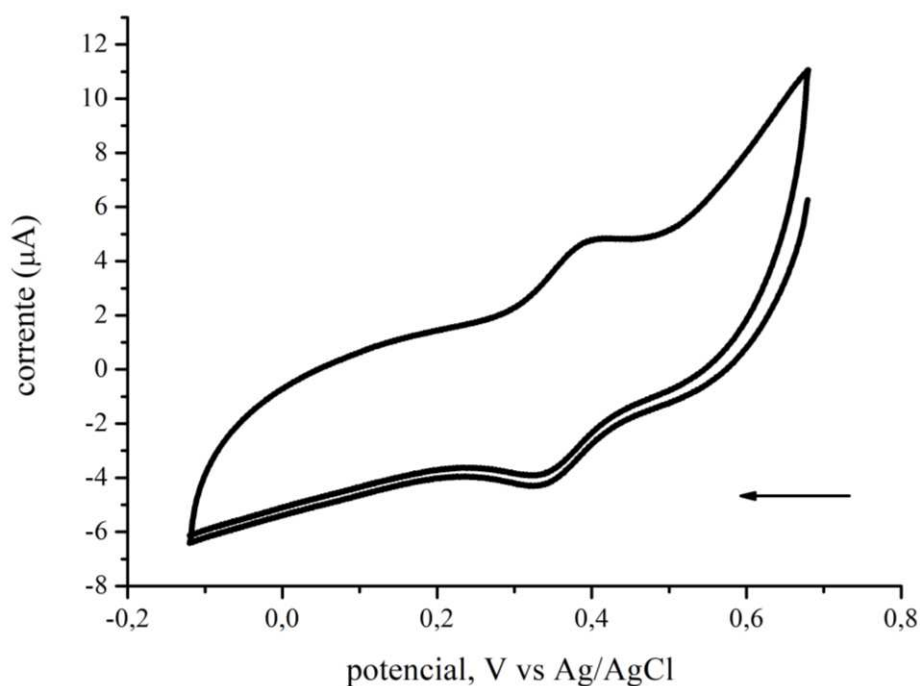
#### 4.6 Condutimetria

De acordo com a literatura<sup>90</sup>, complexos de cobre(II) com ligantes fenantrolínicos apresentam um quinto ligante quando em solução, sendo este uma molécula do solvente ou um contra íon. Visando observar se esse fenômeno também ocorre no complexo estudado, foram medidos os valores de condutividade molar em acetonitrila a  $24^\circ\text{C}$ . O resultado obtido para a condutividade molar ( $\Lambda_m$ ) do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  foi de  $116,7 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ . Tal valor é indicativo de proporção 1:1 conforme dados de referência<sup>57</sup> ( $120\text{-}160 \Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ ) confirmando, assim, a coordenação de um íon  $\text{NO}_3^-$  ao centro metálico.

#### 4.7 Caracterização eletroquímica

Os estudos eletroquímicos do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  foram realizados por meio da técnica de voltametria cíclica e encontra-se ilustrado na Figura 20.

Figura 20 - Voltamograma cíclico de um eletrodo de carbono vítreo a  $100 \text{ mV s}^{-1}$  em acetonitrila contendo TBA  $\text{PF}_6$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ .



Fonte: Autor

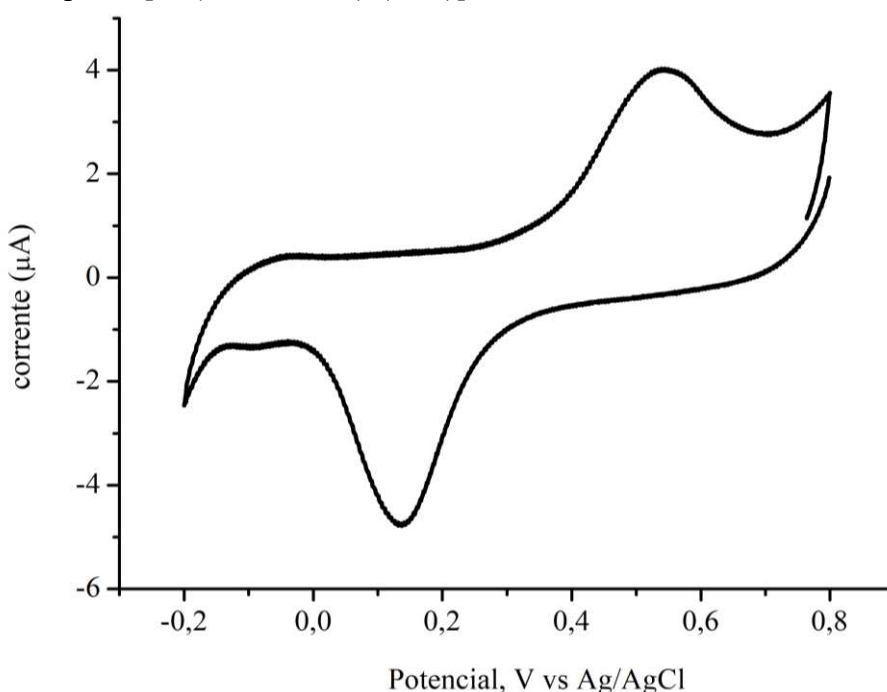
O voltamograma ilustrado na Figura 20 apresentou uma onda atribuída ao par redox  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+ / [\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^0$  com potencial de meia-onda ( $E_{1/2}$ ) em  $0,35 \text{ V vs Ag/AgCl}$ . A diferença entre os potenciais de pico anódico e catódico ( $\Delta E_p$ ) foi de  $70 \text{ mV}$  enquanto a razão entre as correntes de pico catódica e anódica ( $I_{pc} / I_{pa}$ ) indicando se tratar de um sistema *quasi-reversível*.

#### 4.8 Caracterização eletroquímica do eletrodo de ouro modificado com o íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})(\text{NO}_3)]^+$

##### 4.8.1 Voltametria cíclica

A Figura 21 ilustra o voltamograma cíclico do eletrodo de ouro obtido em solução de  $\text{KCl}$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  após modificação com o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$

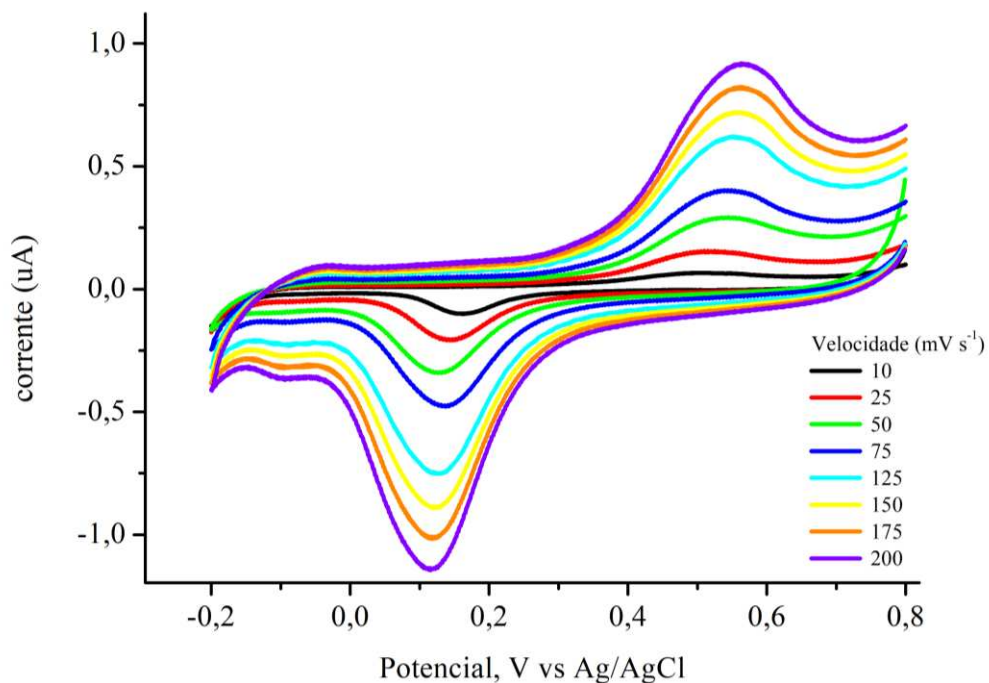
Figura 21 - Voltamograma cíclico a  $75 \text{ mV s}^{-1}$  do eletrodo de ouro em  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$  após 2 h de imersão em uma solução  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ .



Fonte: Autor

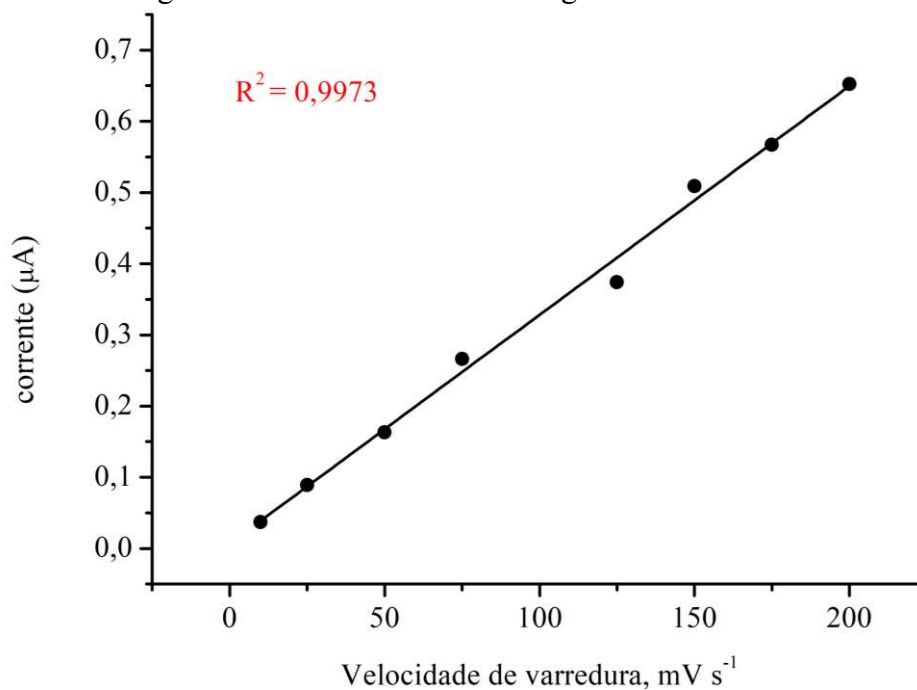
A observação das ondas de oxidação ( $E_{pa} = 0,54 \text{ V}$ ) e redução ( $E_{pc} = 0,13 \text{ V}$ ) atribuídas ao processo redox  $\text{Cu}^{III/I}$  indica que o composto se encontra, efetivamente, adsorvido sobre o eletrodo. A fim de confirmar se o processo redox observado ocorria somente na superfície do eletrodo foram realizados voltamogramas em diferentes velocidades de varredura de potencial (Figura 22). O gráfico de corrente catódica vs velocidade de varredura encontra-se ilustrado na Figura 23.

Figura 22 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo de ouro modificado com o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  em  $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$  em diferentes velocidades de varredura. Pt e  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  foram usados como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente.



Fonte: Autor

Figura 7 - Gráfico de corrente versus velocidade de varredura obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos ilustrados na Figura 22.



Fonte: Autor

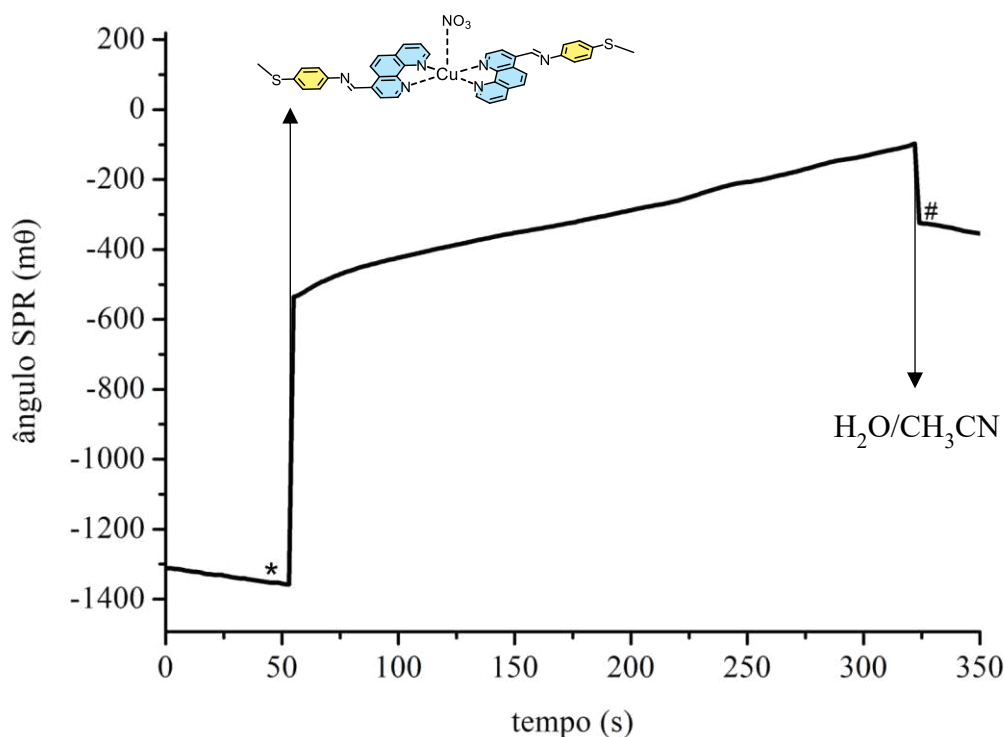


É possível observar uma relação linear no gráfico de corrente versus velocidade de varredura, indicativo de que o processo redox está confinado na superfície do eletrodo<sup>91</sup>. Este resultado sugere fortemente que o composto passou por um processo de adsorção na superfície de ouro. Com o intuito de explorar ainda mais a capacidade intrínseca desse composto em se adsorver em superfícies de ouro, especialmente considerando a perspectiva de futuros experimentos nos quais o composto estará ancorado nessa superfície, realizou-se o experimento de ressonância de plásmons de superfície (SPR).

#### 4.8.2 Estudo gravimétrico da adsorção do íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ sobre ouro

O monitoramento da adsorção do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  foi realizado por ressonância de plásmons de superfície (SPR). A Figura 24 apresenta um sensorgrama com a variação de ângulo SPR ( $\theta$ ) em função do tempo.

Figura 24 - Variação de ângulo SPR em função do tempo durante a adsorção do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  sobre ouro em água. No qual “\*” indica o momento da adição da solução do complexo e “#” indica o momento da lavagem.



Fonte: Autor

Após estabilização do sinal SPR ( $t = 50$  s), foi injetada uma solução de acetonitrila, de concentração  $3,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ , contendo o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ . A mudança

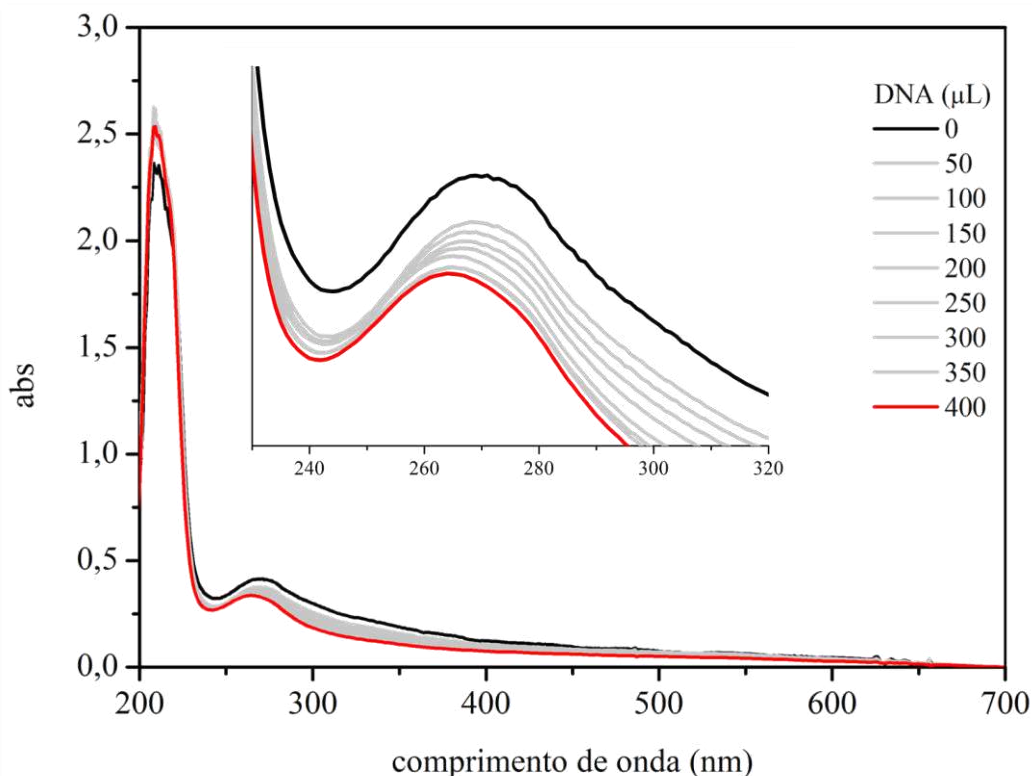
brusca de sinal SPR nesse ponto se deve tanto à mudança de solvente ( $n_{\text{água}} = 1,333$  e  $n_{\text{acetoneitrila}} = 1,344$ ) como a interação do composto à superfície do disco. Em seguida, foi observado um aumento gradual durante 250 s quando, então, procedeu-se a lavagem com acetoneitrila e água a fim de remover moléculas fracamente adsorvidas. A variação de ângulo SPR após lavagem (em relação à linha de base) foi de  $938,72 \text{ m}^\circ$ . A partir da relação<sup>92</sup>  $122 \text{ m}^\circ \rightarrow 1,0 \text{ ng mm}^{-2}$ , determinou-se a densidade de massa adsorvida do complexo  $7,69 \text{ ng mm}^{-2}$  que corresponde a  $9,82 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$ . Dessa forma, no contexto das perspectivas futuras, a promissora conjuntura destes resultados delinea um caminho propício para avanços inovadores em aplicações científicas e tecnológicas. Considerando a capacidade do composto em se adsorver em superfícies de ouro, visualiza-se o potencial emprego desse complexo em um eletrodo de ouro conectado a um catodo. Essa estratégia inovadora permitiria que médicos direcionassem esse eletrodo ao tumor, aplicando potencial no local desejado para gerar espécies reativas de oxigênio de maneira localizada. Esta abordagem, além de minimizar efeitos colaterais indesejados, pode potencializar a eficácia do tratamento, representando um avanço significativo em direção a terapias mais precisas e eficientes.

#### **4.9 Estudo de interação do íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ com DNA**

##### ***4.9.1 Estudo de constante de afinidade do íon complexo $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$ com DNA***

A interação de um complexo com DNA pode ocorrer por diferentes maneiras. Dependendo do tipo de interação, é possível observar alterações no coeficiente de absorção molar ( $\epsilon$ ) de absorções resultantes de transições eletrônicas no complexo<sup>93,94</sup>. De fato, é reportado na literatura a interação significativa entre DNA e complexos de cobre que contêm ligantes derivados da fenantrolina<sup>52,88,95</sup> sendo está ocorrendo por meio de intercalação e/ou interação com os sulcos do DNA. Para estudar a interação do DNA com o complexo de cobre estudado neste trabalho, realizou-se a titulação espectrofotométrica de uma solução aquosa, com menos de 5% de DMSO, do complexo com DNA. O monitoramento foi realizado através das mudanças na banda intraligante observada em 270 nm. Os espectros obtidos encontram-se ilustrados na Figura 25.

Figura 25 - Titulação espectrofotométrica de uma solução  $4,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  com adições sucessivas de  $50 \mu\text{L}$  de DNA ( $4,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ).



Fonte: Autor

A titulação da solução do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]^+$  com DNA resultou em uma diminuição na intensidade da banda em  $270 \text{ nm}$  (hipocromismo) e um deslocamento do máximo de absorção para  $264 \text{ nm}$  (hipsocromismo). De acordo com a literatura, essas mudanças indicam que o composto pode estar interagindo por intercalação e por interação com os sulcos<sup>77,96,97</sup>. A fim de realizar uma análise quantitativa dessa interação, calculou-se a constante de afinidade ( $K_b$ ), utilizando a equação proposta por Schmechel e Crothers<sup>98</sup> (Equação 7). O valor calculado para  $K_b$  foi de  $8,73 (\pm 0,34) \text{ mol L}^{-1} \times 10^5$ . Na Tabela 7 tem-se diferentes complexos de cobre citados na literatura com suas respectivas constantes de ligação.

Tabela 7 - Constantes de ligação ao DNA ( $K_b$ ) para diferentes complexos metálicos de cobre.

Complexo	Geometria	$K_b$ ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Referência
$[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$	Piramidal quadrada distorcida	$8,73 \times 10^5$	Este trabalho
$[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$	Quadrado planar	$2,72 \times 10^3$	99

$[\text{Cu}(\text{dpq})_2]^{2+}$	Quadrado planar	$4.51 \times 10^4$	99
$[\text{Cu}(\text{dppz})_2(\text{Cl})]^+$	Piramidal quadrada	$5,11 \times 10^4$	99
$[\text{Cu}(\text{sal})(5,6\text{-dmp})]^+$	Piramidal quadrada	$4.22 \times 10^4$	100
$[\text{Cu}(\text{sal})(3,4,7,8\text{-tmp})]^+$	Piramidal quadrada	$5.13 \times 10^4$	100
$[\text{Cu}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{phen})]^+$	Piramidal quadrada distorcida	$7.23 \times 10^5$	101
$[\text{Cu}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bipy})]^+$	Piramidal quadrada distorcida	$1.06 \times 10^6$	101
$[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{dppz})]^+$	Tetraédrico distorcido	$1,80 \times 10^4$	88
$[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{dppme})]^+$	Tetraédrico distorcido	$1,85 \times 10^5$	88

Fonte: Autor. Abreviações: phen = 1,10-fenantrolina; dpq = dipirido[3,2-d:2',3' -f]quinoxalina; dppz = dipirido[3,2-a:2',3' -c]fenazina; sal = Salicilaldeído; 5,6-dmp = dmp = 5,6- dimetil-1,10-fenantrolina; 3,4,7,8-tmp = 3,4,7,8-tetrametil-1,10-fenantrolina; 3,5-diCl-salo = 3,5-dicloro-salicilaradeído; bipy = 2,2' -bipiridina; dppme = éster metílico do ácido dipirido[3,2-a:2',3' -c]fenazina-11-carboxílico; PPh<sub>3</sub> = trifenilfosfina.

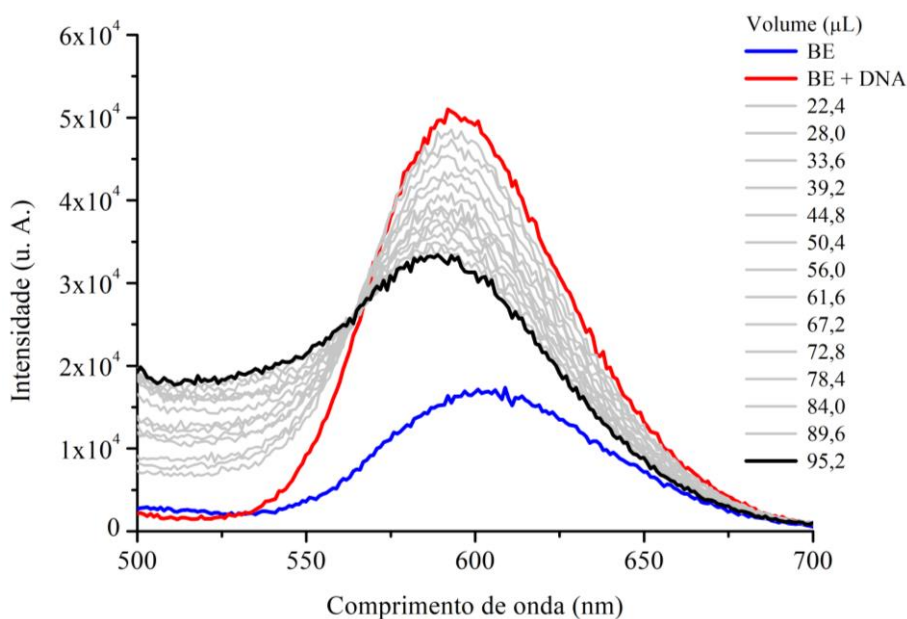
Diversos fatores podem influenciar na forma de interação dos complexos com o DNA<sup>97,102</sup> citando-se, dentre outros, as geometrias dos compostos. Como observado na Tabela 6, complexos com geometria planar apresentam um constante de afinidade de magnitude  $10^6$ , enquanto aqueles com geometria tetraédrica (distorcida ou não) apresentam constantes de afinidade na faixa de  $10^4$  a  $10^5$ . Diversos estudos sugerem que o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$  interage com o DNA, preferencialmente, no sulco menor, com intercalação parcial entre os pares de bases<sup>97,102-104</sup>. Gupta e colaboradores<sup>99</sup> observaram que o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{dppz})_2(\text{Cl})]^+$  exibe capacidade significativa de intercalação de DNA no sulco maior e atribuíram essa propriedade à porção aromática estendida. Desta forma, o elevado valor observado para o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$  pode estar associado a uma intercalação no sulco maior do DNA através da porção aromática do ligante fen-Bz-SMe. Com intuito de averiguar essa hipótese, realizou-se um estudo de competição com o brometo de etídio (BE), um conhecido agente intercalador<sup>105</sup> do DNA.

#### 4.9.2 Estudo de competição com brometo de etídio (EB)

O composto brometo de etídio (BE) é conhecido por interagir com o DNA por intercalação através de empilhamentos  $\pi$  entre os anéis aromáticos e as bases nitrogenadas do

DNA<sup>18</sup>. A intensificação de fluorescência desse composto após intercalação com DNA tem permitido sua ampla utilização como molécula de prova. Tipicamente, são realizados experimentos de competição em que se avalia a capacidade de uma determinada molécula de deslocar o composto BE do DNA. Ocorrendo o deslocamento, há uma diminuição de fluorescência passível de mensuração. Esse princípio foi adotado no estudo de intercalação do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$ . A Figura 26 ilustra os espectros de fluorescência obtidos durante adições sucessivas de uma solução do complexo a uma solução contendo o aduto DNA calf thymus -EB.

Figura 26 - Espectros de fluorescência de BE ( $\lambda_{\text{exc}} = 480 \text{ nm}$ ) na presença de DNA-ct com adições sucessivas de 5,6  $\mu\text{L}$  de uma solução 0,35  $\text{mmol L}^{-1}$  do íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$  em tampão PBS 2  $\text{mmol L}^{-1}$  (pH 7,4).



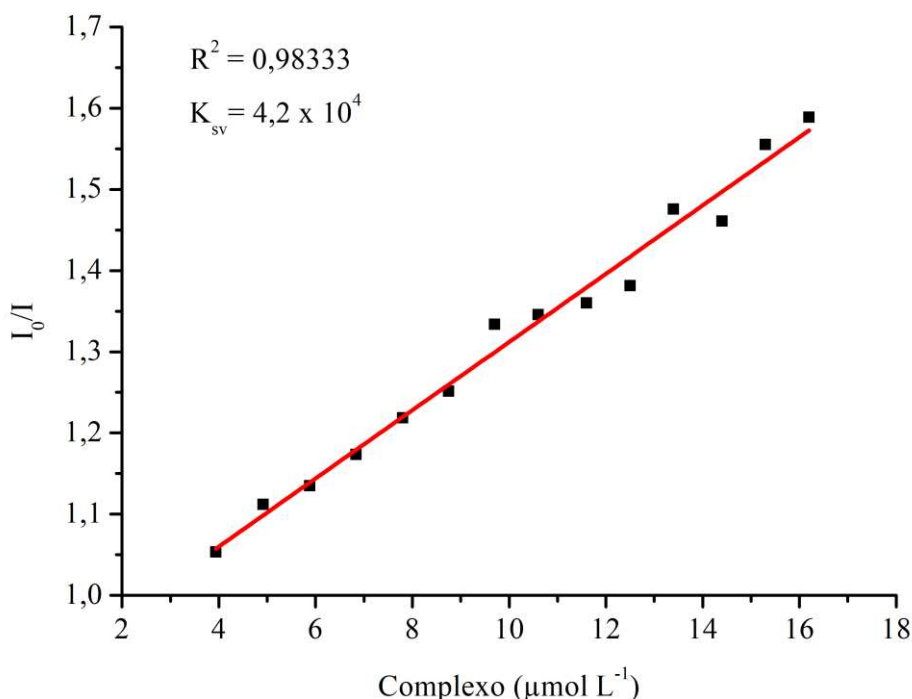
Fonte: Autor

A banda com máximo em 600 nm é atribuída ao composto EB intercalado no DNA<sup>105</sup>. À medida em que são adicionadas alíquotas da solução do íon complexo de cobre, a emissão dessa banda é suprimida ao mesmo tempo em que se observa um deslocamento para regiões de maiores energias. A supressão de emissão é atribuída ao deslocamento das moléculas de EB pelas do íon complexo. A constante de Stern-Volmer<sup>106</sup>,  $K_{sv}$  (Equação 8), permite quantificar a supressão do composto EB e, conseqüentemente, estimar a intercalação do complexo no DNA.

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{sv}[Q] \quad (8)$$

Onde  $I_0$  e  $I$  são as intensidades de emissão na ausência e presença do supressor (complexo), respectivamente,  $K_{sv}$  é a constante de supressão de Stern-Volmer e  $[Q]$  é a concentração do supressor (o íon complexo no sistema estudado). A Figura 27 ilustra graficamente  $I_0/I$  vs  $[\text{Complexo}]$  ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), podendo-se obter  $K_{sv}$  a partir do coeficiente angular da reta formada.

Figura 27 – Gráfico de  $I_0/I$  vs  $[\text{complexo}]$  ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) com  $R^2 = 0,98333$ .



Fonte: Autor

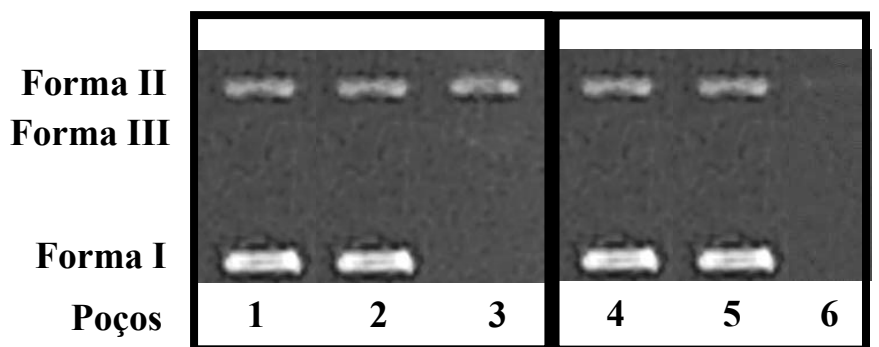
O valor obtido para a constante de Stern-Volmer para o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$  foi de  $4,2 \times 10^4$ . Valores na ordem de grandeza de  $10^4 - 10^5$  são considerados altos<sup>107</sup>, indicando que o composto em estudo é capaz de interagir com o DNA por meio de intercalação. O valor calculado é comparável a valores reportados para complexos de cobre similares<sup>101,88</sup>, tais como  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{dppz})]^+$  ( $2,3 \times 10^5$ ) e  $[\text{Cu}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{phen})]^+$  ( $9,9 \times 10^3$ ). A presença do quinto ligante induz uma distorção na geometria do composto, resultando em uma menor capacidade de intercalação<sup>97</sup>, como pode ser observado nos complexos  $[\text{Cu}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{phen})]^+$  ( $9,9 \times 10^3$ ) e  $[\text{Cu}(3,5\text{-diCl-salo})(\text{bpy})]^+$  ( $1,32 \times 10^4$ )<sup>101</sup>. No entanto, esses compostos exibem um valor de  $K_b$  da ordem de  $10^6$  (Tabela 6) indicando que, mesmo com a diminuição da capacidade de intercalação, ainda ocorre uma forte interação com o DNA. Esse processo ocorre, possivelmente, com o sulco maior do DNA, sendo está a proposta de interação entre as moléculas de DNA e do composto em estudo. Após a investigação da interação do íon

complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$ , foi realizado um estudo de mobilidade em gel por eletroforese para avaliar a capacidade dessa espécie em degradar o DNA.

#### 4.10 Ensaio de clivagem do DNA por eletroforese em gel de agarose

Foram conduzidos estudos de eletroforese em gel de agarose para analisar a degradação do DNA plasmidial pBR322 com o complexo metálico na presença e ausência de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). O DNA plasmidial pode existir em três formas diferentes: Forma I, que é superenovelada e apresenta-se tensionada; Forma II, que ocorre quando uma das fitas está quebrada, resultando em uma conformação relaxada; e Forma III, que ocorre quando ambas as fitas estão quebradas, resultando em uma forma linear de fita<sup>108,109</sup>. Sabendo que a atividade de degradação do DNA por complexos de cobre está associada, em sua grande maioria, à produção de EROs<sup>31,32,40</sup>. A Figura 28 exibe as imagens obtidas por eletroforese durante o estudo de clivagem do DNA utilizando o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$ .

Figura 28 - Clivagem do DNA pBR322 ( $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) na presença do complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  ( $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) na ausência e na presença de AA e  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Poços 1 e 4: apenas DNA pBR322. Poço 2: DNA pBR322 + Cu. Poço 3: DNA pBR322+ AA + Cu. Poço 5: DNA +  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Poço 6: DNA +  $\text{H}_2\text{O}_2$  + Cu. \*Cu =  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$ .



(1) DNA	(4) DNA
(2) DNA + Cu	(5) DNA + $\text{H}_2\text{O}_2$
(3) DNA + AA + Cu	(6) DNA + $\text{H}_2\text{O}_2$ + Cu

Na Figura 28, pode-se observar que ao incubar o íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$  com o DNA (poço 2), ele não gera nenhuma alteração na forma do DNA em relação ao controle (poço 1), indicando que não ocorreu clivagem do DNA plasmidial nessas condições. Todavia, quando é adicionado ácido ascórbico (3), observa-se o desaparecimento da Forma I e o aumento da Forma II, sendo possível observar um pequeno surgimento da Forma III, confirmando que ocorreu a clivagem do DNA. Esse fato pode ser atribuído à geração de EROs que possuem um elevado poder oxidante e são capazes de promover a clivagem do DNA<sup>110</sup>. Os resultados obtidos indicam a geração de EROs, no entanto, não é possível determinar por meio desse experimento quais espécies são geradas, uma vez que o íon complexo tem a capacidade de se intercalar ao DNA, ou seja, a geração de EROs, se ocorrer, se dá dentro da dupla fita. Essa condição implica na dificuldade de detecção dos radicais em solução devido ao tempo de vida muito curto<sup>7,111</sup>. Além disso, trabalhos publicados na literatura<sup>49,52</sup>, indicam que, na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , complexos de cobre(II) podem experimentar reações do tipo Fenton<sup>112</sup> produzindo radicais  $\text{O}_2^{\bullet-}$  e  $\text{HO}^\bullet$ , como explicitado nas Equações 9 e 10.



Nesse contexto, é possível estimar que a clivagem do DNA plasmidial está relacionada à geração de EROs promovidas pelo íon complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-SMe})_2(\text{NO}_3)]^+$ . A fim de determinar quais são os radicais gerados e responsáveis por degradar o DNA, é necessário realizar experimentos, como os de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR), que permitiriam a detecção direta e a identificação do radical produzido durante o processo.



## 5 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo destacam a obtenção da molécula inédita (E)-N-(4-(metiltio)fenil)-1-(1,10-fenantrolin-5-il)metanimina (fen-Bz-Sme), cuja caracterização foi abordada utilizando diversas técnicas analíticas, como espectroscopia na região do UV-Vis, RMN, DRX e EM. A síntese do ligante fen-Bz-Sme, realizada através de uma adição nucleofílica da amina ao carbono da carbonila do aldeído, resultou na formação do aminoálcool intermediário, convertido posteriormente à imina após a eliminação de água. A conclusão dessa etapa de síntese foi confirmada por meio de análises de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , destacando deslocamentos químicos específicos e a estrutura cristalina obtida pela difração de raios-X, que revelou características como o comprimento da ligação C=N e os ângulos de ligação N=CC.

O estudo prosseguiu com a caracterização do complexo  $[\text{Cu}(\text{fen-Bz-Sme})_2(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$ , empregando diversas técnicas, incluindo espectroscopia na região do UV-Vis e Infravermelho, condutividade molar, voltametria cíclica em C vítreo e Au, além de SPR. A comparação entre os espectros do complexo e do ligante evidenciou mudanças indicativas de coordenação, revelando uma banda em 502 nm atribuída à transição de transferência de carga do ligante para o metal (LMCT)<sup>84-86</sup>. A confirmação da adsorção do complexo à superfície de ouro, avaliada por técnicas eletroquímicas, fortalecem a compreensão das propriedades do complexo.

Os resultados relativos à interação com o DNA demonstraram uma notável constante de associação ( $K_b$ ) de  $8,73 \times 10^5 \text{ mol L}^{-1}$ , indicando uma significativa afinidade entre o composto e o DNA, sugerindo possíveis interações por intercalação e sulco maior. A competição com brometo de etídio, apresentou valor de  $K_{sv} = 4,2 \times 10^4$ , um valor considerado elevado de acordo com a literatura<sup>107</sup>. O experimento de eletroforese corrobora a capacidade de intercalação do complexo, bem como sua habilidade em causar clivagem do DNA pBR322 na presença de agentes redutores.

Conclui-se que os estudos revelam o potencial promissor do composto, evidenciando suas propriedades de adsorção em superfícies de ouro e sua eficácia na degradação oxidativa do DNA. Estes resultados, além de contribuírem para a compreensão das características do composto, sugerem aplicações futuras em terapias antitumorais, explorando a possibilidade de direcionar o complexo a tumores utilizando eletrodos de ouro. Essa abordagem inovadora poderia oferecer um tratamento mais preciso e eficiente, reduzindo efeitos colaterais e potencializando o impacto terapêutico.

## REFERÊNCIAS

- 1 BRAY, F.; LAVERSANNE, M.; WEIDERPASS, E.; SOERJOMATARAM, I. **The ever-increasing importance of cancer as a leading cause of premature death worldwide.** *Cancer* 127, 3029–3030, [s.l.] (2021).
- 2 World Health Organization. **"Global health estimates: Leading causes of death."** Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>. Acesso em: 8 nov. 2022.
- 3 SUNG, H. *et al.* **Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.** *CA. Cancer J. Clin.* 71, 209–249, [s.l.] (2021).
- 4 HARTINGER, C. G. *et al.* **From bench to bedside - preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A).** *J. Inorg. Biochem.* 100, 891–904, [s.l.] (2006).
- 5 HALL, M. D.; MELLOR, H. R.; CALLAGHAN, R.; HAMBLEY, T. W. **Basis for design and development of platinum(IV) anticancer complexes.** *J. Med. Chem.* 50, 3403–3411, [s.l.] (2007).
- 6 WOODS, K. C.; MARTIN, S. S.; CHU, V. C.; BALDWIN, E. P. **Quasi-equivalence in site-specific recombinase structure and function: Crystal structure and activity of trimeric Cre recombinase bound to a three-way Lox DNA junction.** *J. Mol. Biol.* 313, 49–69, [s.l.] (2001).
- 7 ARUOMA, O. I.; HALLIWELL, B.; GAJEWSKI, E.; DIZDAROGLU, M. **Copper-ion-dependent damage to the bases in DNA in the presence of hydrogen peroxide.** *Biochem. J.* 273, 601–604, [s.l.] (1991).
- 8 ABREU, F. D. *et al.* **Ruthenium(II) bipyridine complexes with pendant anthracenyl and naphthyl moieties: A strategy for a ROS generator with DNA binding selectivity.** *Inorganica Chim. Acta* 439, 92–99, [s.l.] (2016).
- 9 XIONG, Y.; LI, J.; HUANG, G.; YAN, L.; MA, J. **Interacting mechanism of benzo(a)pyrene with free DNA in vitro.** *Int. J. Biol. Macromol.* 167, 854–861, [s.l.] (2021).
- 10 ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. **Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumour Agents.** *Nature* 222, 385–386, [s.l.] (1969).
- 11 INTINI, F. P. *et al.* **Novel Antitumor Platinum(II) Conjugates Containing the Nonsteroidal Anti-inflammatory Agent Diclofenac: Synthesis and Dual Mechanisms of Antiproliferative Effects.** *Inorg. Chem.* 56, 1483–1497, [s.l.] (2017).
- 12 FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M. J.; VAN DER VEER, J. L.; DEN HARTOG, J. H. J.; LOHMAN, P. H. M.; REEDIJK, J. **Adducts of the antitumor drug cis-**

- diamminedichloroplatinum(II) with DNA: formation, identification, and quantitation.** *Biochemistry* 24, 707–713, [s.l.] (1985).
- 13 NEIDLE, S. **DNA minor-groove recognition by small molecules.** *Nat. Prod. Rep.* 18, 291–309, [s.l.] (2001).
- 14 ZEGLIS, B. M.; PIERRE, V. C.; BARTON, J. K. **Metallo-intercalators and metallo-insertors.** *Chem. Commun.* 7345, 4565–4579, [s.l.] (2007).
- 15 BOER, D. R.; CANALS, A.; COLL, M. **DNA-binding drugs caught in action: The latest 3D pictures of drug-DNA complexes.** *Dalt. Trans.* 399–414, [s.l.] (2009).
- 16 KEENE, F. R.; SMITH, J. A.; COLLINS, J. G. **Metal complexes as structure-selective binding agents for nucleic acids.** *Coord. Chem. Rev.* 253, 2021–2035, [s.l.] (2009).
- 17 STREKOWSKI, L.; WILSON, B. **Noncovalent interactions with DNA: An overview.** *Mutat. Res. - Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 623, 3–13, [s.l.] (2007).
- 18 IZUMRUDOV, V. A.; ZHIRYAKOVA, M. V.; GOULKO, A. A. **Ethidium bromide as a promising probe for studying DNA interaction with cationic amphiphiles and stability of the resulting complexes.** *Langmuir* 18, 10348–10356, [s.l.] (2002).
- 19 NIAL J. W.; CRAIG R. B.; J. GRANT C.; SHARON K.; JANICE, R. **Aldrich-Wright. DNA Intercalators in Cancer Therapy: Organic and Inorganic Drugs and Their Spectroscopic Tools of Analysis.** *Mini-Reviews Med. Chem.* 7, 627–648, [s.l.] (2007).
- 20 ABREU, F. D. *et al.* **Aryl-Substituted Ruthenium(II) Complexes: A Strategy for Enhanced Photocleavage and Efficient DNA Binding.** *Inorg. Chem.* 56, 9084–9096, [s.l.] (2017).
- 21 STRECIWILK, W. *et al.* **Fluorescent organometallic rhodium(I) and ruthenium(II) metallodrugs with 4-ethylthio-1,8-naphthalimide ligands: Antiproliferative effects, cellular uptake and DNA-interaction.** *Eur. J. Med. Chem.* 156, 148–161, [s.l.] (2018).
- 22 PITIÉ, M.; PRATVIEL, G. **Activation of DNA Carbon–Hydrogen Bonds by Metal Complexes.** *Chem. Rev.* 110, 1018–1059, [s.l.] (2010).
- 23 YAHIOGLU, G.; SAMMES, P. **1-10-Phenanthroline: A Versatile Ligand.** *Chem. Soc. Rev.* 23, 327–344, [s.l.] (1972).
- 24 DWYER, F. P.; GYARFAS, E. C.; ROGERS, W. P.; KOCH, J. H. **Biological Activity of Complex Ions.** *Nature* 170, 190–191, [s.l.] (1952).
- 25 NORDÉN, B. **Structure of DNA metal complexes in solution studied by linear and circular dichroism. [Pt(II)(ethylenediamine)(2,2'-dipyridine)]<sup>2+</sup> binds strongly to DNA by intercalation. [Cu(II)(2,2'-dipyridine)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> is not intercalated.** *Inorganica Chim. Acta* 31, 83–95, [s.l.] (1978).

- 26 KELLAND, L. **The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy.** *Nature Reviews Cancer* vol. 7 573–584, [s.l] (2007).
- 27 JUNG, Y.; LIPPARD, S. J. **Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage.** *Chem. Rev.* 107, 1387–1407, [s.l] (2007).
- 28 Cisplatin (Fresenius Kabi USA, LLC): FDA Package Insert, Page 4.  
<https://medlibrary.org/lib/rx/meds/cisplatin-13/page/4/>.
- 29 MASURI, S. *et al.* **Copper(II) phenanthroline-based complexes as potential anticancer drugs: A walkthrough on the mechanisms of action.** *Molecules* 27, [s.l] (2022).
- 30 SCATTOLIN, T.; VOLOSHKIN, V. A.; VISENTIN, F.; NOLAN, S. P. **A critical review of palladium organometallic anticancer agents.** *Cell Reports Phys. Sci.* 2, 100446, [s.l] (2021).
- 31 KRASNOVSKAYA, O. *et al.* **Copper coordination compounds as biologically active agents.** *Int. J. Mol. Sci.* 21, [s.l] (2020).
- 32 TARDITO, S.; MARCHIO, L. **Copper Compounds in Anticancer Strategies.** *Curr. Med. Chem.* 16, 1325–1348, [s.l] (2009).
- 33 GAETKE, L. M.; CHOW, C. K. **Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients.** *Toxicology* vol. 189 147–163, [s.l] (2003).
- 34 LEMUS, L. *et al.* **Resolution and characterization of helicate dimer and trimer complexes of 1,3-bis(9-methyl-1,10-phenanthrolin-2-yl)propane with copper(I).** *Dalt. Trans.* 42, 11426–11435, [s.l] (2013).
- 35 ARMAROLI, N.; ACCORSI, G.; CARDINALI, F.; LISTORTI, A. **Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds: Copper.** *Photochemistry and Photophysics of Coordination Compounds I* 69–115, [s.l] (Springer Berlin Heidelberg, 2005).
- 36 STAROSTA, R. *et al.* **New anticandidal Cu(I) complexes with neocuproine and ketoconazole derived diphenyl(aminomethyl)phosphane: Luminescence properties for detection in fungal cells.** *Dalt. Trans.* 49, 8528–8539, [s.l] (2020).
- 37 SEPPÄLÄ, P.; SILLANPÄÄ, R.; LEHTONEN, A. **Structural diversity of copper(II) amino alcoholate complexes.** *Coord. Chem. Rev.* 347, 98–114, [s.l] (2017).
- 38 DUNCAN, C.; WHITE, A. R. **Copper complexes as therapeutic agents.** *Metallomics* 4, 127–138, [s.l] (2012).
- 39 TISATO, F.; MARZANO, C.; PORCHIA, M.; PELLEI, M.; SANTINI, C. **Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies.** *Med. Res. Rev.* 30, 708–749, [s.l] (2010).

- 40 SANTINI, C. *et al.* **Advances in copper complexes as anticancer agents.** *Chemical Reviews* vol. 114 815–862, [s.l.] (2014).
- 41 HEGG, E. L.; BURSTYN, J. N. **Toward the development of metal-based synthetic nucleases and peptidases: A rationale and progress report in applying the principles of coordination chemistry.** *Coord. Chem. Rev.* 173, 133–165, [s.l.] (1998).
- 42 DHAR, S. *et al.* **Ternary copper complexes for photocleavage of DNA by red light: Direct evidence for sulfur-to-copper charge transfer and d-d band involvement.** *J. Am. Chem. Soc.* 125, 12118–12124, [s.l.] (2003).
- 43 DHAR, S. *et al.* **Effect of steric encumbrance of tris(3-phenylpyrazolyl)borate on the structure and properties of ternary copper(II) complexes having N,N-donor heterocyclic bases.** *Inorg. Chem.* 41, 3469–3476, [s.l.] (2002).
- 44 SANTRA, B. K. *et al.* **Oxidative cleavage of DNA by a dipyridoquinoxaline copper(II) complex in the presence of ascorbic acid.** *J. Inorg. Biochem.* 89, 191–196, [s.l.] (2002).
- 45 TSANG, S. Y., TAM, S. C., BREMNER, I. & BURKITT, M. J. **Copper-1,10-phenanthroline induces internucleosomal DNA fragmentation in HepG2 cells, resulting from direct oxidation by the hydroxyl radical.** *Biochem. J.* 317, 13–16, [s.l.] (1996).
- 46 TAMBOURA, F. B. *et al.* **Synthesis, properties and x-ray structure for the mononuclear complex of [((1-methyl imidazol-2-yl)methylene)-2-aminoethylpyridine]-dichloro copper (II) monohydrate.** *Inorg. Chem. Commun.* 5, 235–238, [s.l.] (2002).
- 47 SHEN, H.-M.; SHI, C.-Y.; SHEN, Y.; ONG, C.-N. **Detection of elevated reactive oxygen species level in cultured rat hepatocytes treated with aflatoxin B1.** *Free Radic. Biol. Med.* 21, 139–146, [s.l.] (1996).
- 48 GOLDSTEIN, S.; CZAPSKI, G. **Mechanisms of the Reactions of Some Copper Complexes in the Presence of DNA with O<sub>2</sub>-, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and Molecular Oxygen.** *J. Photochem. Photobiol* 108, [s.l.] (1986).
- 49 ZHU, Y. *et al.* **A critical review on metal complexes removal from water using methods based on Fenton-like reactions: Analysis and comparison of methods and mechanisms.** *J. Hazard. Mater.* 414, 125517, [s.l.] (2021).
- 50 BARRIENTOS, L.; ARANEDA, C.; LOEB, B.; CRIVELLI, I. G. **Synthesis, spectroscopic and electrochemical characterization of copper(I) complexes with functionalized pyrazino[2,3-f]-1,10-phenanthroline.** *Polyhedron* 27, 1287–1295, [s.l.] (2008).
- 51 VALORA, G.; MUNZI, G.; BONOMO, R. P. **Ternary copper(II) complexes with 1,10-phenanthroline and various aminoacidates: A spectroscopic and voltammetric study in aqueous solution.** *J. Inorg. Biochem.* 191, 40–48, [s.l.] (2019).

- 52 ROMO, A. I. B. *et al.* **Hydroxyl Radical Generation and DNA Nuclease Activity: A Mechanistic Study Based on a Surface-Immobilized Copper Thioether Clip-Phen Derivative.** *Chem. - A Eur. J.* 22, 10081–10089, [s.l] (2016).
- 53 WESSELINOVA, D.; NEYKOV, M.; KALOYANOV, N.; TOSHKOVA, R.; DIMITROV, G. **Antitumour activity of novel 1,10-phenanthroline and 5-amino-1,10-phenanthroline derivatives.** *Eur. J. Med. Chem.* 44, 2720–2723, [s.l] (2009).
- 54 EREMINA, J. A. *et al.* **Nickel(II) and cobalt(II) complexes with 4,5-dichloro-isothiazole-3-carboxylic acid and 1,10-phenanthroline: synthesis, crystal structures and cytotoxicity.** *Transit. Met. Chem.* 47, 19–30, [s.l] (2022).
- 55 LIANG, Z. Q. *et al.* **Triplet-Triplet Annihilation Upconversion from Ru(II) Phenanthroline Complexes and 2-Substituted Anthracene Derivatives.** *ChemistrySelect* 7, 1–6, [s.l] (2022).
- 56 TOKAREV, S. D.; BOTEZATU, A.; FEDOROV, Y. V.; FEDOROVA, O. A. **New heterobimetallic ruthenium(II) complex with imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline-based ligand: synthesis, optical and electrochemical properties.** *Chem. Heterocycl. Compd.* 57, 799–805, [s.l] (2021).
- 57 İNCI, D.; AYDIN, R. **Equilibria Studies on Nickel(II) Complexes with 1,10-Phenanthroline Derivatives and Some Amino Acids in Aqueous Solution.** *J. Solution Chem.* 50, 128–146, [s.l] (2021).
- 58 CHAVIARA, A. T. *et al.* **Copper(II) Schiff base coordination compounds of dien with heterocyclic aldehydes and 2-amino-5-methyl-thiazole: Synthesis, characterization, antiproliferative and antibacterial studies. Crystal structure of CudienOOC12.** *J. Inorg. Biochem.* 98, 1271–1283, [s.l] (2004).
- 59 CHAVIARA, A. T. *et al.* **The unexpected formation of biologically active Cu(II) Schiff mono-base complexes with 2-thiophene-carboxaldehyde and dipropylenetriamine: Crystal and molecular structure of CudptaSCI 2.** *J. Inorg. Biochem.* 99, 467–476, [s.l] (2005).
- 60 TAI, A. W.; LIEN, E. J.; LAI, M. M. C.; KHWAJA, T. A. **Novel N-Hydroxyguanidine Derivatives as Anticancer And Antiviral Agents1.** *J. Med. Chem.* 27, 236–238, [s.l] (1984).
- 61 WANG, P. H.; LIEN, E. J.; KECK, J. G.; LAI, M. M. C. **Design, synthesis, testing, and quantitative structure-activity relationship analysis of substituted salicylaldehyde Schiff bases of 1-amino-3-hydroxyguanidine tosylate as new antiviral agents against coronavirus.** *J. Med. Chem.* 33, 608–614, [s.l] (1990).
- 62 LAYER, R. W. **The Chemistry of Imines.** *Chem. Rev.* 63, 489–510, [s.l] (1963).
- 63 CUI, Y. *et al.* **Synthesis, structures and urease inhibition studies of Schiff base metal complexes derived from 3,5-dibromosalicylaldehyde.** *Eur. J. Med. Chem.* 58, 323–331, [s.l] (2012).

- 64 HODNETT, E. M.; MOONEY, P. D. **Antitumor activities of some Schiff bases.** *J. Med. Chem.* 13, 786–786, [s.l.] (1970).
- 65 KUMAR, S.; DHAR, D. N.; SAXENA, P. N. **Applications of metal complexes of Schiff bases-A review.** *J. Sci. Ind. Res. (India).* 68, 181–187, [s.l.] (2009).
- 66 ROMO, A. I. B. *et al.* **Ascorbyl and hydroxyl radical generation mediated by a copper complex adsorbed on gold.** *Dalt. Trans.* 48, 14128–14137, [s.l.] (2019).
- 67 Ulman, A. **Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers.** *Chem. Rev.* 96, 1533–1554, v (1996).
- 68 SELLERS, H. *et al.* **Structure and binding of alkanethiolates on gold and silver surfaces: implications for self-assembled monolayers.** *J. Am. Chem. Soc.* 115, 9389–9401, [s.l.] (1993).
- 69 TACHIBANA, M. *et al.* **Sulfur–Gold Orbital Interactions which Determine the Structure of Alkanethiolate/Au(111) Self-Assembled Monolayer Systems.** *J. Phys. Chem. B* 106, 12727–12736, [s.l.] (2002).
- 70 BOSSMANN, S. H. *et al.* **Synthesis and Characterization of Nitroxide-Linked Ruthenium Complexes as Molecular Probes for Microheterogeneous Environments.** *Synthesis (Stuttg).* 1996, 1313–1319, [s.l.] (1996).
- 71 KURZ, H. *et al.* **Synthesis and Optical Properties of Phenanthroline-Derived Schiff Base-Like Dinuclear RuII–NiII Complexes.** *Chem. - A Eur. J.* 24, 5100–5111, [s.l.] (2018).
- 72 BEZERRA, L. F. *et al.* **Photophysical properties of push- $\pi$ -pull type chromophores of aryl-substituted bipyridines in different solvents.** *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 425, 113687, [s.l.] (2022).
- 73 Bruker AXS Inc.; Madison, W. No Title, [s.l.] (2021).
- 74 DOLOMANOV, O. V.; BOURHIS, L. J.; GILDEA, R. J.; HOWARD, J. A. K.; Puschmann, H. **OLEX2 : a complete structure solution , refinement and analysis program.** 2008–2010, [s.l.] (2009).
- 75 SHELDRICK, G. M. **research papers SHELXT – Integrated space-group and crystal- structure determination research papers.** 3–8, [s.l.] (2014).
- 76 PYLE, A. M. *et al.* **Mixed-ligand complexes of ruthenium(II): factors governing binding to DNA.** *J. Am. Chem. Soc.* 111, 3051–3058, [s.l.] (1989).
- 77 SIRAJUDDIN, M., Ali, S.; BADSHAH, A. **Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry.** *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* vol. 124 1–19, [s.l.] (2013).
- 78 GODOY-ALCÁNTAR, C.; YATSIMIRSKY, A. K.; LEHN, J. M. **Structure-stability correlations for imine formation in aqueous solution.** *J. Phys. Org. Chem.* 18, 979–

- 985, [s.l] (2005).
- 79 GARCÍA-GIMÉNEZ, J. L. *et al.* **A dinuclear copper(II) complex with adeninate bridge ligands and prominent DNA cleavage activity. Structural and spectroscopic characterization and magnetic properties.** *Inorg. Chem.* 46, 7178–7188, [s.l] (2007).
- 80 CASTELLANO, S.; GÜNTHER, H.; EBERSOLE, S. **Nuclear Magnetic Resonance Spectra of 2,2'-Bipyridyl.** *J. Phys. Chem.* 69, 4166–4176, [s.l] (1965).
- 81 PEEK, B. M. *et al.* **Synthesis of redox derivatives of lysine and related peptides containing phenothiazine or tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II).** *Int. J. Pept. Protein Res.* 38, 114–123, [s.l] (2009).
- 82 ŞENOL, D.; KAYA, I. **Synthesis and characterization of aromatic compounds containing imine and amine groups via oxidative polycondensation.** *Des. Monomers Polym.* 17, 557–575, [s.l] (2014).
- 83 DONALD L. PAVIA, GARY M. LAMPMAN, GEORGE S. KRIZ, J. A. V. *Introdução à espectroscopia*, [s.l] (2016).
- 84 KUMAR, M.; MOGHA, N. K.; KUMAR, G.; HUSSAIN, F.; MASRAM, D. T. **Biological evaluation of copper(II) complex with nalidixic acid and 2,2'-bipyridine (bpy).** *Inorganica Chim. Acta* 490, 144–154, [s.l] (2019).
- 85 NNABUIKE, G. G. *et al.* **Copper(II) complexes containing derivative of aminobenzoic acid and nitrogen-rich ligands: Synthesis, characterization and cytotoxic potential.** *J. Mol. Struct.* 1279, 135002, [s.l] (2023).
- 86 NNABUIKE, G. G. *et al.* **Structural features of nickel(II) mixed ligand complexes with mefenamic acid and nitrogen donor ligands.** *J. Mol. Struct.* 1230, 129632, [s.l] (2021).
- 87 MIESSLER, G. L. *et al.* *Química Inorgânica*. vol. 5ª Edição (2014).
- 88 VILLARREAL, W. *et al.* **Copper(I)-Phosphine Polypyridyl Complexes: Synthesis, Characterization, DNA/HSA Binding Study, and Antiproliferative Activity.** *Inorg. Chem.* 56, 3781–3793, [s.l] (2017).
- 89 PAVIA, D., LAMPMAN, G., KRIZ, G. & VYVYAN, J. *Introduction to spectroscopy*. (2014).
- 90 LEANDRI, V. *et al.* **Electronic and Structural Effects of Inner Sphere Coordination of Chloride to a Homoleptic Copper(II) Diimine Complex.** *Inorg. Chem.* 57, 4556–4562, [s.l] (2018).
- 91 HOLZE, R. **The adsorption of thiophenol on gold – a spectroelectrochemical study.** *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17, 21364–21372, [s.l] (2015).
- 92 STENBERG, E.; PERSSON, B.; ROOS, H.; URBANICZKY, C. **Quantitative**



- determination of surface concentration of protein with surface plasmon resonance using radiolabeled proteins.** *J. Colloid Interface Sci.* 143, 513–526, [s.l] (1991).
- 93 MAHADEVAN, S.; PALANIANDAVAR, M. **Spectroscopic and voltammetric studies of copper(II) complexes of bis(pyrid-2-yl)-di/trithia ligands bound to calf thymus DNA.** *Inorganica Chim. Acta* 254, 291–302, [s.l] (1997).
- 94 ANASTASSOPOULOU, J. **Metal–DNA interactions.** *J. Mol. Struct.* 651–653, 19–26, [s.l] (2003).
- 95 ERXLEBEN, A. **Interactions of copper complexes with nucleic acids.** *Coord. Chem. Rev.* 360, 92–121, [s.l] (2018).
- 96 CUSUMANO, M. *et al.* **DNA Interaction of Platinum ( II ) Complexes with 1 , 10-Phenanthroline and Extended Phenanthrolines.** 45, 230–235, [s.l] (2006).
- 97 ROBERTAZZI, A.; MAGISTRATO, A.; DE HOOG, P.; CARLONI, P.; REEDIJK, J. **Density functional theory studies on copper phenanthroline complexes.** *Inorg. Chem.* 46, 5873–5881, [s.l] (2007).
- 98 SCHAIACHEL, D. E. V & CROTHERS, D. A. L. **Kinetic and Hydrodynamic Studies of the Complex of Proflavine with Poly A-Poly U.** 10, [s.l] (1971).
- 99 GUPTA, T.; DHAR, S.; NETHAJI, M.; CHAKRAVARTY, A. R. **Bis(dipyridophenazine)copper(ii) complex as major groove directing synthetic hydrolase.** *Dalt. Trans.* 1896, [s.l] (2004).
- 100 LOGANATHAN, R. *et al.* **Mixed ligand  $\mu$ -phenoxo-bridged dinuclear copper(ii) complexes with diimine co-ligands: efficient chemical nuclease and protease activities and cytotoxicity.** *Dalt. Trans.* 43, 6177, [s.l] (2014).
- 101 CHRISTIDOU, A.; ZAVALANI, K.; HATZIDIMITRIOU, A. G.; PSOMAS, G. **Copper(II) complexes with 3,5-dihalogeno-salicylaldehydes: Synthesis, structure and interaction with DNA and albumins.** *J. Inorg. Biochem.* 238, 112049, [s.l] (2023).
- 102 PITIÉ, M. *et al.* **DNA cleavage by copper complexes of 2- and 3-Clip-Phen derivatives.** *Eur. J. Inorg. Chem.* 528–540, [s.l] (2003).
- 103 SIGMAN, D. S.; MAZUMDER, A.; PERRIN, D. M. **Chemical nucleases.** *Chem. Rev.* 93, 2295–2316, [s.l] (1993).
- 104 MEIJLER, M. M.; ZELENKO, O.; SIGMAN, D. S. **Chemical Mechanism of DNA Scission by (1,10-Phenanthroline)copper. Carbonyl Oxygen of 5-Methylenefuranone Is Derived from Water.** *J. Am. Chem. Soc.* 119, 1135–1136, [s.l] (1997).
- 105 TUIITE, E.; SEHLSTEDT, U.; HAGMAR, P.; NORDEN, B.; TAKAHASHI, M. **Effects of Minor and Major Groove-Binding Drugs and Intercalators on the DNA Association of Minor Groove-Binding Proteins RecA and Deoxyribonuclease I**

- Detected by Flow Linear Dichroism.** *Eur. J. Biochem.* 243, 482–492, [s.l] (1997).
- 106 OXYGEN H, B. *et al.* **Quenching of fluorescence quenching of fluorescence by oxygen. A Probe for Structural Fluctuations in Macromoleculest.** *Ann. N. Y. Acad. Sci* vol. 158 <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>, [s.l] (1966).
- 107 LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy.** *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (Springer US, 1999).
- 108 EHRENHOFER-MURRAY, A. **DNA: Structure and Function.** *Encyclopedia of Respiratory Medicine, Four-Volume Set*, [s.l] (2006).
- 109 NAVARRO, M. **Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against Leishmania mexicana of [Cu(dppz)<sub>2</sub>]BF<sub>4</sub>.** *J. Inorg. Biochem.* 97, 364–369, [s.l] (2003).
- 110 URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. **Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation.** *Toxicology* 189, 41–54, [s.l] (2003).
- 111 HALIAWELL, B.; GUTRERIDGE, J. M. C.; HUBERMAN, E.; BARR, S. H. **Book Reviews Fee Radicals in Biology and Medicine Carcinogenesis.** *J. Free Radicals Biol. Med.* 1, 331–334, [s.l] (1999).
- 112 LIU, P.; PENG, Y.; DING, J.; ZHOU, W. **Fenton metal nanomedicines for imaging-guided combinatorial chemodynamic therapy against cancer.** *Asian J. Pharm. Sci.* 17, 177–192, [s.l] (2022).